УДК 616-001-002.16-005.1-089.811/.814-083.98(047.31)
№ держреєстрації № 0116U006817
Інв. №

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
(СумДУ)
40007, м. Суми, вул. Римського-Корсакова, 2
тел. (0542) 33-35-39 факс. (0542) 33-40-58
e-mail: info@sci.sumdu.edu.ua

ЗАТВЕРДЖУЮ
Проректор з наукової роботи
д-р. фіз.-мат. наук, професор

_____Чорноус А.М.

ЗВІТ
ПРО НАУКОВО-ДОСЛІДНУ РОБОТУ
Розроблення та дослідження засобів місцевого призначення з гемостатичними властивостями для невідкладної допомоги та хірургії

СТВОРЕННЯ ЗАСОБІВ МЕДИЧНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ ДЛЯ ЗУПИНКИ КРОВОТЕЧІ
(проміжний)

Начальник НДЧ
канд. фіз - мат. наук, снс Д.І. Курбатов

Науковий керівник
д-р.мед наук, доцент М.В. Погорєлов

2017

Рукопис закінчено 25 грудня 2017 р.

Результати роботи розглянуто науковою радою СумДУ, протокол №2 від 29 листопада 2017 р.

СПИСОК АВТОРІВ

Керівник НДР, гол.наук. співроб., д-р.мед. наук, доцент	_____ (25.12.2017)	Погорєлов Максим Володимирович *(реферат, вступ, висновки, розділи 1,2,3*)
Молодший наук. співроб.	_____ (25.12.2017)	Дейнека Володимир Миколайович (розділ 1,2,3)
Молодший наук. співроб., канд.мед.наук.	_____ (25.12.2017)	Олешко Олександр Миколайович (розділ 2)
Молодший наук. співроб.	_____ (25.12.2017)	Гусак Євгенія Володимирівна (розділ 2, 3)
Лаборант	_____ (25.12.2017)	Дригваль Богдан Олександрович (розділ 2)
Лаборант	_____ (25.12.2017)	Козик Євгеній Володимирович (розділ 2)
Лаборант	_____ (25.12.2017)	Юсупова Азіза Фарходіївна (розділ 2)
Лаборант	_____ (25.12.2017)	Любчак Ірина Володимировна (розділ 3)
Лаборант	_____ (25.12.2017)	Тищенко Анна Сергіївна (розділ 2)

РЕФЕРАТ

Звіт про НДР: 23 с., 9 рис., 29 джерел.

ГЕМОСТАЗ, ХІТОЗАН, ОРГАНІЧНІ КИСЛОТИ, ПАРЕНХІМАТОЗНІ ОРГАНИ, КРОВОТЕЧА.

Об’єкт дослідження – гемостаз паренхіматозних органів.

Предмет досліджень – особливості гемостазу паренхіматозних органів (печінка) при застосування гітозанових губок на основі різних розчинників.

Мета роботи – створення гемостатичних засобів для зупинки кровотечі з паренхіматозних органів із застосуванням хітозану на основі різних розчинників.

Для досягнення поставленої мети були визначені такі завдання:

- Створення хітозанових губок з використанням різних органічних кислот (оцтова, аскорбінова, молочна);
- Використання «зшиваючих» агентів для формування стійких матеріалів;
- Оцінка фізико-хімічних та гемостатичних властивостей матеріалів in-vitro;
- Оцінка ефективності матеріалів на експериментальних тваринах.

Отримані дані щодо швидкості деградації гемостатичних засобів різного складу, визначена залежність ступеню та швидкості деградації в залежності від молекулярної маси хітозану та cross-linking агентів. Проведений експеримент дозволив вибрати оптимальний склад зразків та спланувати експеримент на модельних тваринах. В результаті есперименті на тваринах доведена високі гемостатичні властивості зразків з ацетату хітозану з додаванням транексамової кислоти та лактату хітозану, модифікованого кКар.

ЗМІСТ

Вступ----------	5
1 Літературний огляд ----------	7
2 Отримання матеріалу та методи оцінки його ефективності----------	10
3 Результати дослідження----------	13
Висновки----------	19
Перелік джерел посилання----------	20

ВСТУП

Адекватне гемостаз після травми і при хірургічних втручаннях є великою проблемою в сучасній медицині. Біля 40% травматичних і більше 90% бойових втрат відбувається на догоспітальному етапі. І біля 50% від цих смертей були зареєстровані у зв'язку з масивною крововтратою [1]. Біля 80% цивільних смертельних травм в США викликані неконтрольованою кровотечею. Крім того, крововилив у травматологічних хворих є основною причиною повторних операцій [2]. Успіхи в галузі біотехнологій привели до вибухового зростання кровоспинних препаратів в останні два десятиліття [3].

Hardean Achneck класифікував всі місцеві гемо статичні засоби в кілька груп - фізичні агенти, синтетичні агенти, і кровоспинні пов'язки [4]. Останні є найбільш розповсюдженими для місцевого гемостазу у зв'язку з ефективністю і простотою використання. Кровоспитті засоби на основі хітину і хітозану є найбільш перспективними у зв'язку з ефективною зупинкою кровотечі і наявністю додаткових властивостей, таких як антибактеріальний ефект і стимуляція регенерації [5]. В даний час доступні більше 10 комерційних засобів на основі хітозану, які широко використовується як в полі бою, так і для цивільної невідкладної допомоги.

Так доведено, що використання кровозупинного засобу на основі хітозану CELOX під час військової операції в Іраку, дозволило ефективно зупинити кровотечу у 90% поранень. При цьому не спостерігалось побічних ефектів та ускладнень навіть у віддалений період [6]. Доведене також зменшення гнійно-септичних ускладнень у військових після поранень, для зупинки кровотечі з яких використовували інший засіб медичного призначення на основі хітозану ChitoGauze [7].

Забезпечення адекватного гемостазу при травмі, таких органів як печінка, селезінка, нирки є складним завданням навіть в умовах операційної, коли звичайні хірургічні методи не завжди ефективні. Сьогодні в клінічній практиці для зупинки внутрішніх кровотеч непогано зарекомендували себе

препарати синтетичного та біологічного походження такі як: сульфокрилатні та ціанокрилатні клеї [8], матеріали на основі фібрину та тромбіну [9], проте вони мають чисельні протипокази та обмеження. Засоби для контролю гемостазу в паренхіматозних органах знаходяться на експериментальній стадії дослідження [10]. В Україні відсутні системні розробки в даній галузі.

Неконтрольована кровотеча є причиною більш ніж 50% смертей на полі бою та до 80% догоспітальних летальних випадків при травмуванні в мирний час. Кровотеча з паренхіматозних органів є однією з основних причин смерті при травмах печінки, нирок, селезінки та більш ніж 20% релапаротомій. Наявність доступного та ефективного засобу для зупинки кровотечі дозволяє знизити смертність удвічі та значно скоротити час перебування пацієнта в стаціонарі. На сьогодні в світі використовуються засоби на основі каоліну, цеоліту та хітозану для зупинки кровотечі на догоспітальному етапі та в умовах операційної, які показали високу ефективність при застосуванні у військовій та цивільній медицині. Проте, враховуючи складну схему виробництва та високу вартість препаратів, застосування даних засобів є економічно необґрунтованим в умовах вітчизняної медицини. Тому, основною проблемою, на вирішення якою спрямований даний етап дослыдження – це створення високопористих засобыв медичного призначення з ефективними гемостатичними властивостями.

1 ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

Специфічний механізм дій хітозану залишається невідомим але інформація надає три можливих способи контролювати кровотечу: 1) сорбція плазми, 2) коагуляція еритроцитів, 3) адгезія тромбоцитів, агрегація та активація.

Сорбція плазми є ключовим фактором в застосуванні хітозану як гемостатика. Хітозан може абсорбувати від 50 до 300% рідини від його початкової ваги, що призводить до концентрації еритроцитів та тромбоцитів у пошкодженому місці. Темп сорбції залежить як від молекулярної маси та ступеню дезацетилювання, так і від типу хітозанового матеріалу. Молекули води, абсорбовані активними центрами полісахаридів збільшують темп сорбції у хітозану високого ступіню дезацетилювання. Ліофілізація або заморажувальне гелєутворення також покращює сорбцію. Тим не менш, сорбція не є основним фактором, що може зупинити кровотечу.

Коагуляція еритроцитів напряму пов’язана з гемостатичними властивостями. Коагуляція еритроцитів підвищується в присутності хітозану через поєднання еритроцитів. Вони зв’язуються докупи полімерними ланцюгами хітозану та реполімерізуються формуючи сітку, потрапляючи до якої захоплені клітини формують штучний тромб [11]. Контакт хітозану з кров’ю призводить до змін в морфології еритроцитів. Вони втрачають типічну двовігнуту будову [12]. de Lima та ін. показали, що низький рівень pH нейтралізації цього розчину спричиняє високий рівень гемаглютинації [13]. Хітозан може напряму спричинити адгезію еритроцитів зовсім без формування будь-яких просторових сіткових структур або адгезування протеїнів плазми. Він також абсорбує фібриноген та інші плазматичні протеїни, що поліпшує адгезію еритроцитів та коагуляцію в поєднанні з хітозаном. Fan W. показав, що молекулярна вага хітозану може напряму зціплюватись з оболонками еритроцитів через свої катіонні властивості, що може бути основним механізмом гемаглютинації [14]. Але вплив хітозану на

еритроцити, перешкоджаючий втрату сформованого тромбу може пояснити лише частину його гемостатичної функції.

Основна причина гемостатичної дії хітозану пов’язана з адгезією, агрегацією та активацією тромбоцитів. Було продемонстровано, що хітозанові плівки можуть покращити адгезію, агрегацію та активацію внутрішнього згортання крові [15]. Shen E.C. та ін. довели, що агрегація відноситься до концентрації тромбоцитів у плазмі. Також наявна інформація, що хітозан діє ефективніше, аніж хітин для агрегації тромбоцитів. Основані на морфологічному досліді під скануючим електронним мікроскопом, тромбоцити були сильніше приєднані до поверхні хітину та хітозану у більш довгому процесі. Тромбоцити приєднувались та кріпились один до одного, формуючи агреговану масу неправильної форми. [16] Також хітозан може генерувати міжклітинні сигнальні реакції, що активують глікопротеїн IIb/IIIa та вивільнення тромбоксану A2/ADP. Ці сигнали поліпшують поширення тромбоцитів, посилюють стабільність адгезії [17]. Виявлено, що підвищений рівень інтегріну α2β3 експерсується тромбоцитами, присталими до хітозану. Та останнім механізмом, що асоціюється з адгезією тромбоцитів, пов’язаний з об’єднанням кальцію з молекулою хітозану, що спричиняє активацію актинового цитоскелету присталих тромбоцитів [18].

Підсумовуючи гемостатичні механізми матеріалів на основі хітозану, можна припустити, що по першу чергу сорбція плазми призводить до концентрації клітин крові у пошкодженому місці. В той же час, коагуляція еритроцитів та склеювання та агрегація тромбоцитів призводять до швидкого формування тромбу без систематичної активації гемостазу.

Найбільш вивченими кровоспинними пов’язками на основі хітозану є Celox та HemCon. Обидва перев’язувальні матеріали були оцінені експериментально та показали високий рівень ефективності. Доведено, що HemCon викликає гемостаз в середньому від 6.9±3.9 хвилин проти 10.8±2.8 хвилин для стандартної компресії в гепарінізованній вівці. Також автори довели меншу кількість гематом та відсутність ускладнень протягом

застосування HemCon. Він має ефективні властивості як насичений тромбоцитами фібрин в зубній хірургії. Mark A. Brown пропонує, що пов’язка HemCon – це ефективний ад'юнкт для неконтрольованого екстреного крововиливу до традиційних заходів, такі як жгути та марлеві пов’язки у медичному обслуговуванні в цивільній лікарняній системі [19]. Пов’язки HemCon також утворюють антибактеріальний бар’єр проти широкого діапазону мікроорганізмів. Спеціальний звіт «HemCon Current Combat Operations» показує велику ступінь ефективності пов’язок на основі хітозану. В 62 (92%) випадків пов’язка HemCon повністю зупиняла чи значно зменшувала кровотечу. Було лише два випадки, коли пов’язка не змогла зупинити чи сповільнити кровотечу. В обох випадках пов’язка була розташована сліпо на порожнинні рани [20].

Celox це ще одна ефективна пов’язка для лікування тяжких кровотеч. На тваринних моделях показане повне зупинення кровотечі в усіх випадках порівняно з HemCon та QuikClot та подовження часу життя тварин [21]. Інша модель статистично показує значні відмінності в часі кровотечі між Celox та контрольним зразком та між TraumaDEX і контрольним зразком, але не виявлено статистичних відмінностей в часі зупинки кровотечі між Celox та Trauma Dex [22, 23, 24]. Özlem Koksal вивчав кровоспинну ефективність Celox на щурах під гіпотермією або застосуванням варфаріну. Гемостаз було досягнуто в 4 з 8 щурів у групі з нормотермією + стандартна пов’язка (50%), в той час як його було забезпечено у всіх щурів в групі з використанням Celox (100%). В групах, у яких було застосовано терапію варфарином, контроль над кровотечею був встановлений тільки у 2 з 8 щурів в при застосування стандартної схуми, проте це було вдалим в усіх щурів при використанні Celox [25, 26]. Ці результати показують високу ефективність Celox в різних станах, і навіть в стані коаголюційної патології [27, 28, 29].

Таким чином, клінічна та експериментальна оцінка кровоспинних пов’язок на основі хітозану показує їхню високу ефективність та безпеку в цивільних та військових застосуваннях.

2 ОТРИМАННЯ МАТЕРІАЛУ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ЙОГО ЕФЕКТИВНОСТІ

1. **Отримання губки**

За основу використовувався розчин хітозану з ступенем деацетилювання 85-92% у вигляді гелю з концентрацією діючої речовини 2% і молекулярною масою 300 кДа. Для створення гелю хітозану застотовується 1% оцтова кислота, молочна кислота, аскорбінова кислота та оксалат. В отриманому гелі розчинялась транексамова кислота з розрахунку 0,005 г на 1 мл., далі заморожувалась за температури -25 ^{o}C протягом 24. Замороженні зразки висушувались у камері ліофільної сушилки при температурі +20 ^{o}C та атмосферному тиску від 0,01 атм. протягом 24 годин. В результаті отримували хітозанову високопористу, помірно еластичну губку.

2. **Растрова електронна мікроскопія**

Скануючу електронну мікроскопію проводили з використанням електронного мікроскопа REMMA102 (SELMI, Україна) для отримання інформації про розподіл пор та структуру матеріалу. Щоб уникнути накопичення заряду на поверхні зразків, хітозанові губки покрили тонким (30-50 нм) шаром срібла у вакуумній кстановці VUP- 5M (SELMI, Україна).

3. Забір крові

В Медичному інституті Сумського державного університету медичною сестрою була взята кров в об’ємі 80 мл у трьох волонтерів. Дослідження було схвалене Етичним комітетом медичного інституту Сумського державного університету. Відповідну інформовану згоду було отримано від усіх волонтерів. Суб'єкти були здорові дорослі у віці 20, 22, і 24 роки.

2.5 мл крові відразу було розміщено в Becton Dickinson Vacutainers® з 3,6 мг ЕДТА для повного аналізу крові (CBC) і з 0,109 М цитрату натрію – для тесту коагулограми. 20 мл крові центрифугували, щоб зробити еритроцитарну масу для тесту аглютинації.

4. Blood clotting test

Смужки матеріалу на основі хітозану вагою 100 мг помістили в Becton Dickinson Vacutainers® і витримували в термостаті при температурі 36 ° C протягом 10 хв. Всі зразки були видалені і кров перемістили до гематологічних тестів. Необроблена кров була використана в якості контролю.

5. Сорбція крові

Всі зразки видалені з Becton Dickinson Vacutainers® з людською кров'ю зважували, щоб оцінити сорбцію крові. Сорбційна здатність була вирахована з використанням наступної формули (1):

$$S = W1-W2 \quad (1)$$

де S - сорбція крові (мг);

W1 - вага зразка після експерименту (мг);

W2 - вага зразка, до експерименту (мг).

6. Загальний аналіз крові (CBC-тест)

CBC-тест і коагулограма були проведені в Медичному центрі "Флоріс". CBC-тест здійснювали за допомогою гематологічного аналізатора CELL-DYN 3700 (Abbott,США), використовуючи реагенти DIAGON (Угорщина). Ми визначили рівень гемоглобіну (HGB, g/L), еритроцитів (RBC, T/L), середній об'єм еритроцитів (MCV, fL), відсотковий вміст еритроцитів (RDW, %), тромбоцити (PTL, G/L), середнє об’єм тромбоцитів (MPV, fL), і середня ширина тромбоцитів (PDW,%). Вивчення згортання крові проводили на автоматизованій системі ACL 7000 (Instrumentation Laboratory, USA) з використанням реагентів RecombiPlasTin 2G і SynthASil (HemosIL, США). Ми визначили протромбіновий час (PT, sec), протромбіновий індекс (PI,%), міжнародне нормалізоване відношення (INR, EU), фібриноген (Fg, gram perliter), і частково активований тромбопластиновий час (APTT, sec).

7. Цитотоксичність матеріалів.

Дермальні фібробласти (DFBs) було вилучено шляхом ферментативного розщеплення підшкірної жирової клітковини та дерми. Потім ці клітини було культивовано у α –MEM, доповненому 10% FBS (фетальна бичача сироватка) та ростовим фактором фібробластів (basic fibroblast growth factor - bFGF) – 1 нг/мл, в умовах 5% O2 (Sigma-Aldrich, США). Хітозанові губки були засіяні культивованими клітинами (10^4 клітин для кожного зразка) у 24 лунках культуральних планшетів та інкубовані протягом 7 днів. Життєздатність та ступінь проліферації клітин ми підтвердили на 1-шу, 3-,5- та 7-му добу шляхом комбінованого забарвлення флюоресцеїном діацетатом та пропідіум йодидом (FDA/PI) з подальшою візуалізацією клітин за допомогою флуоресцентного мікроскопу.

8. Експеримент in- vivo

Наркотизовані тварини (10 кролів) укладалися на спину. Після попереднього гоління шерсті виконували верхньсередину лапаротомію пошарово розсікаючи шкіру, підшкірну клітковину, білу лінію живота та очеревину протягом 2,5 - 3,0 см. В рану виводили ліву медіальну частку печінки в центральній частині якої тупим шляхом за допомогою кровоспинного затискача Більрота зруйновували паренхіму печінки разом з кровоносними судинами на ділянці 1,0 х 1,0 х 1,0 см. Після появи кровотечі проводили аплікацію хітозанової губки з пальцевим тисненням до повної зупинки кровотечі, що не перевищувала 5 хв. Після закінчення експозиції пов'язку забирали, кровотеча не відновлювалась.

3 РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Структура матеріалів.

Растрова електронна мікроскопія показала наявність пор та їх з'єднань в матеріалах, створених на основі молочної кислоти та «зшиваючих» агентів – ТРР та кКар. Застосування в якості розчинника аскорбінової та оцтової кислоти призводить до утворення високопористих матеріалів з усіма типами «зшиваючих» агентів (рис. 1). Оксалат в якості розчинника є ефективним для створення губок з ТРР, ПВС та NaOH.

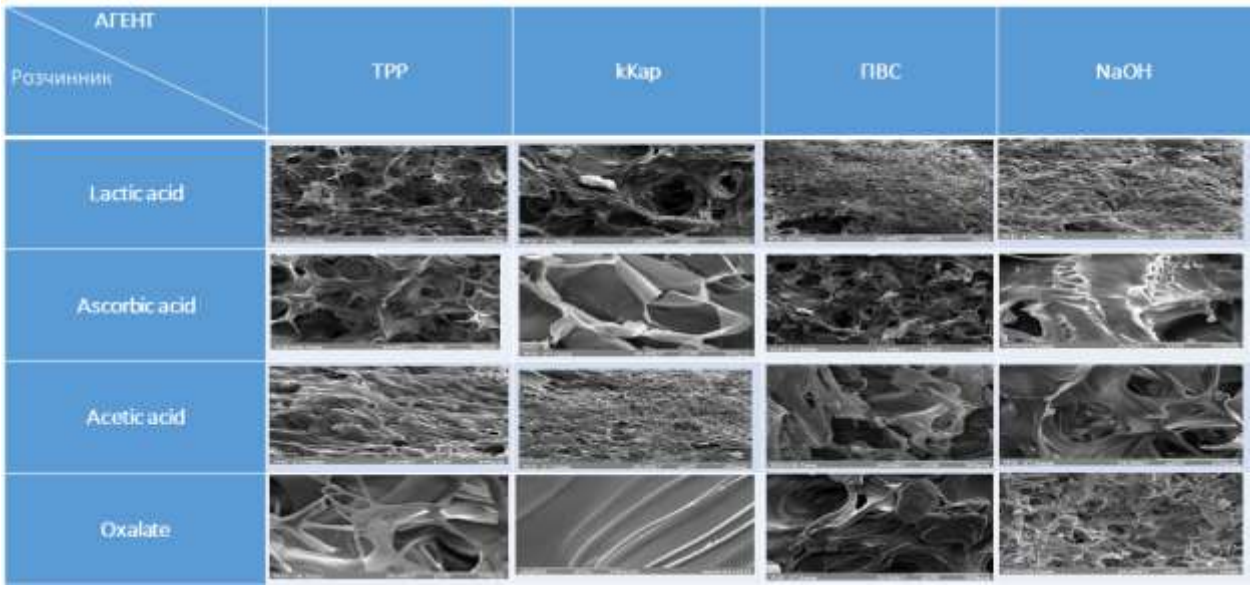


Рисунок 1 – Растрова мікроскопія зразків на основі хітозану з використанням різних розчинників та «зшиваючих» агентів.

Застосування «зшиваючих» агентів є необхідним для створення стабільних матеріалів, які здатні до тривалого зберігання (більше року) та повільної біодеградації. Знаходження матеріалу в рані упродовж 5-10 днів (повільна біодеградація) необхідна для забезпечення стабільного гемостазу після первинної зупинки кровотечі.

Аналіз розподілу розмірів пор показало наявність в основному макропор розміром від 500 до 1200 мкм в матерілах на основі молочної та аскорбінової кислоти. Оцтова кислота призводить до формування пор меншого діаметру – від 150 до 400 мкм, що з одного боку підвищує

ефективну поверхню сорбції, з іншого – уповільнює деградацію матеріалу при дії фізіологічних розчинників.

Сорбція рідини

Первинним механізмом гемостазу за умов застосування губок на основі хітозану є сорбція рідкої частини крові з формуванням згустку тромбоцитів та запуском каскаду гемостазу.

Як видно з графіку (рис. 2), найбільш адекватна сорбція рідини в експерименті характерна для матеріалів на основі молочної та аскорбінової кислоти з ТРР та кКар.

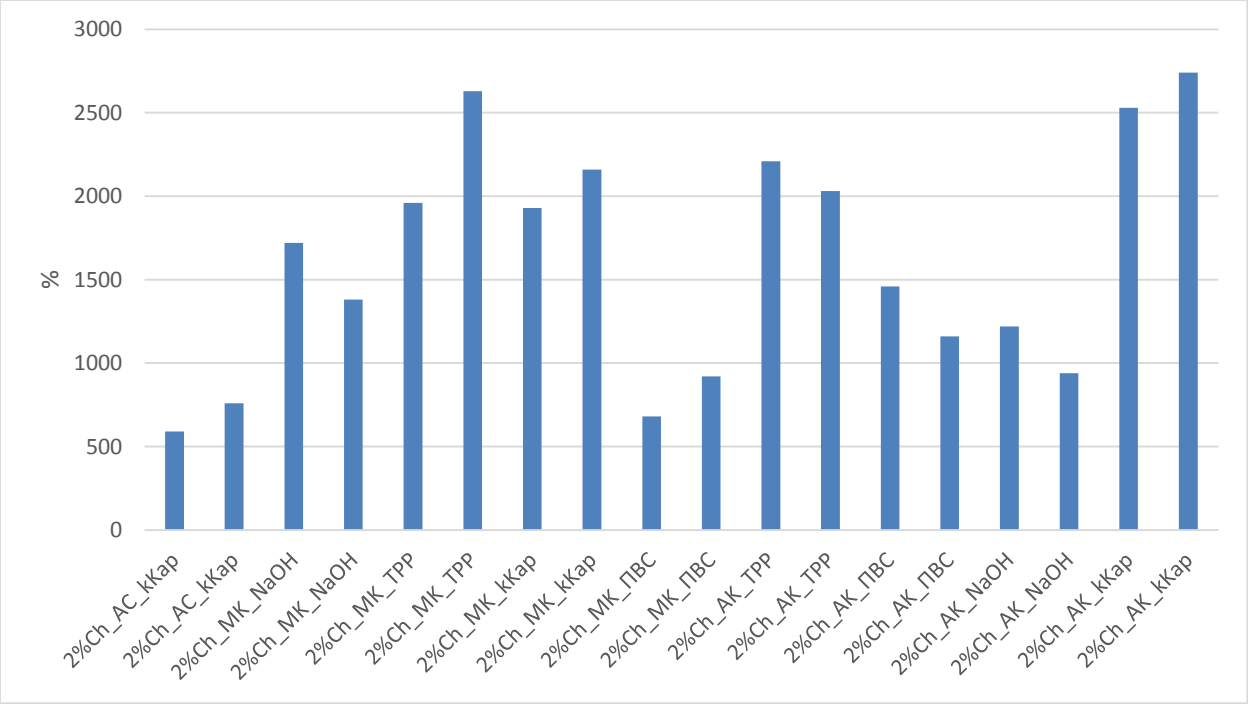


Рисунок 2 – Результати сорбційної активності матеріалів на основі хітозана з різними типами розчинників.

Blood clotting test

Blood clotting test використовується для визначення спроможності утворювати тромб без використання тваринних моделей. Таким чином нам вдається провести скринінг матеріалів, які будуть використані в експерименті на тваринах.

Основними показниками здатності утворювати тромб за умови контакту з кров'ю є зміна кількості тромбоцитів та їх морфологічних характуристик, зокрема їх об'єму.

Експеримент без використання транексамової кислоти показав, що матеріали, отримані із застосуванням молочної кислоти та кКар призводять до зменшення вмісту тромбоцитів майже в 4 рази у порівнянні з контролем (рис. 4).

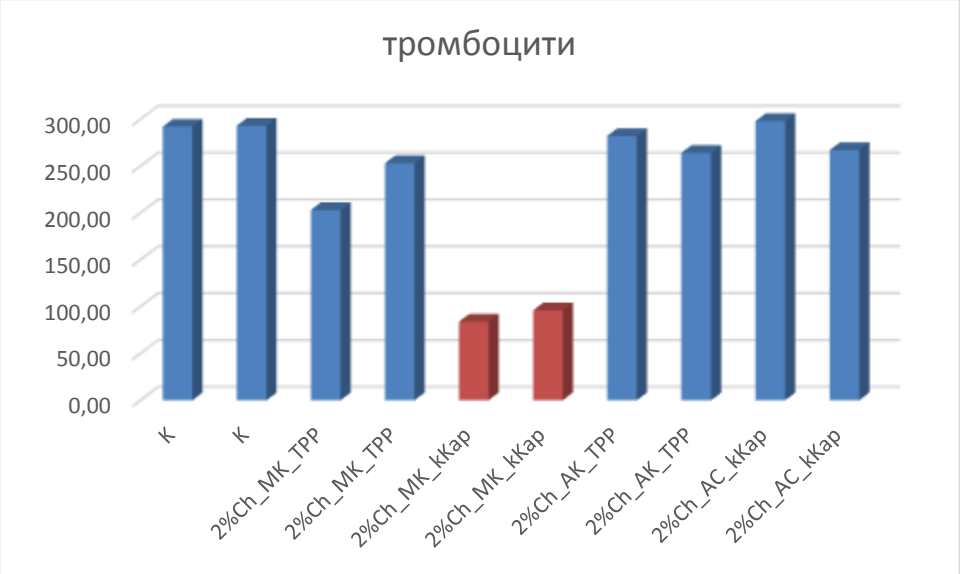


Рисунок 4 – Вміст тромбоцитів крові після проведення Blood clotting test з матеріалами на основі різних розчинників.

Об'єм тромбоцитів при контакті з кров'ю зростає майже в усіх експериментальних групах, при цьому комбінація молочної кислоти та кКар призводить до зростання показника на 32%, що свідчить про набуття тромбоцитами морфологічних ознак дегрануляції та формування тромбу (рис. 5).

Рисунок 5 - Об’єм тромбоцитів крові після проведення Blood clotting test з матеріалами на основі різних розчинників.

Додавання в розчин хітозану транексамової кислоти в якості додаткового гемостатичного агенту показало зменшення кількості тромбоцитів в матеріалах на основі ацетату хітозану, що особливо помітно у порівнянні з контролем (без оцтової кислоти). Введення транексаму до розчину лактату хітозану майже не впливає на показники кількості тромбоцитів (рис. 6).

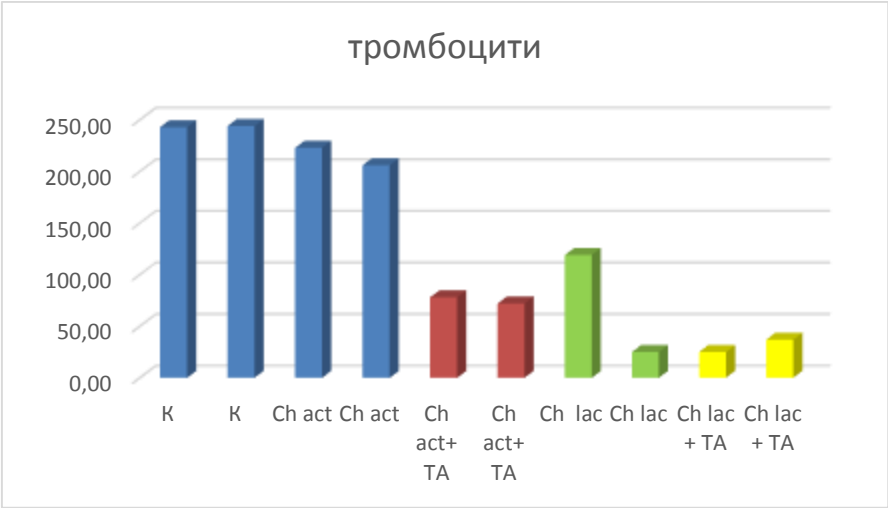


Рисунок 6 – Вміст тромбоцитів крові після проведення Blood clotting test з матеріалами на основі різних розчинників.

Цитотоксичність матеріалів

Визначення цитотоксичності матеріалів необхідне з метою визначення можливої токсичної дії продуктів деградації на оточуючі тканини в умовах застосування в клінічній практиці.

В нашому дослідженні матеріали на основі аскорбінової та оцтової кислоти показали відсутність токсичної дії на дермальні фібробласти упродовж 7 днів культивування (рис. 7). Молочна кислота володіє помірною токсичністю, що дає можливість застосування матеріалів на її основі в експерименті. Оксалат хітозану показав абсолютну токсичніть і був виключений з подальшого дослідження.

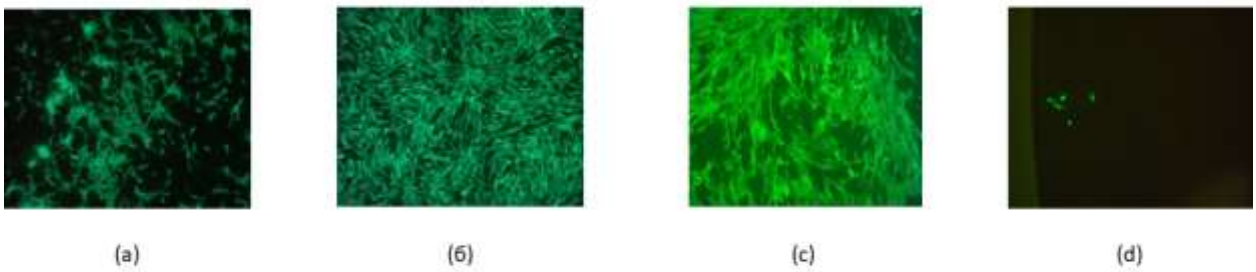
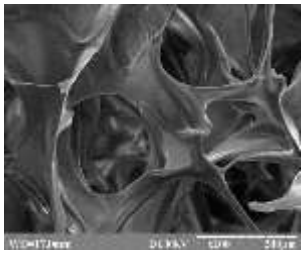
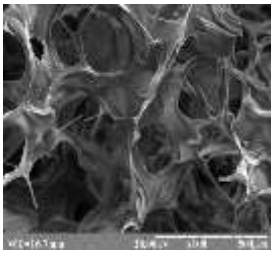


Рисунок 7 – Результати цитотоксичності матеріалів на основі лактату (a), ацетату (б), аскорбату (c) та оксалату (d) через 7 днів культивування дермальних фібробластів.

Експеримент in- vivo

З урахуванням результатів попередніх досліджень для експерименту на тваринах були обрані губки складу «хітозан-молочна кислота» та «ацетат-хітозану з транексамовою кислотою». Мікроскопічна структура зразків представлена на рис. 8. В якості «золотого стандарту» зупинки кровотечі в есперименті був обраний препарат «Tachocomb», який широко використовується в медичній практиці та дозволений до використання в Україні.





A **B**

Рисунок 8 – Растрова електронна мікроскопія губок складу хітозан-молочна кислота» (А) та «ацетат-хітозану з транексамовою кислотою» (В).

Після формування V-подібного дефекту печінки тварин та виникнення профузної паренхіматозної кровотечі через пошкодження магістральної судини на поверхню дефекту прикладався матеріал та визначався час зупинки кровотечі. Як видно з таблиці 1, застосування препарату «Tachocomb» та експериментальних губок призводить до 100% зупинки кровотечі у експериментальних тварин. Час зупинки кровотечі достовірно не відрізнявся в різних експериментальних групах.

Таблиця 1 – Час зупинки кровотечі у тварин разних експериментальних груп.

Матеріал	**Зупинка кровотечі**	**Час зупинки, секунди**
Tachocomb	+	16,5±4,2
Ch-MK	+	18,2±5,1
Ch-Ac-TA	+	14,9±4,6

ВИСНОВКИ

1.Використання органічних кислот для формування гелу хітозану з подальшою ліофілізацією дозволяє отримати високопористі зразки з розмірами пор від 150 до 1200 мкм. Аскорбінова та оцтова кислота дозволяє утворювати пори з більшою площею, що має забезпечувати ефективну сорбцію рідкої частини крові.

2.Матеріали на основі молочної та аскорбінової кислоти мають найбільшу ефективність сорбції рідкої частини крові, особливо за умов додавання ТРР та кКар.

3.Лактат хітозану з кКар забезпечує ефективне зменшення кількості тромбоцитів та зміну їх морфологічних ознак (ширина) при проведенні реакції Blood clotting test. Додавання в розчин хітозану транексамової кислоти в якості додаткового гемостатичного агенту показало зменшення кількості тромбоцитів в матеріалах на основі ацетату хітозану.

4.Матеріали на основі скорбінової та оцтової кислоти є нетоксичними у відношенні до культури клітин (дермальні фібробласти). Використання оксалату хітозану в експериментах на тваринає є неможливим через їх високу цитотоксичність.

5.Матеріали складу «хітозан-молочна кислота» та «ацетат-хітозану з транексамовою кислотою» забезпечують ефективну зупинку кровотечі в експерименті з пошкодженням паренхіми печінки.

ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ

1. Leonard J, Zietlow J, Morris D, Berns K, Eyer S, Martinson K, Jenkins D, Zietlow S. A Multi-Institutional Study of Hemostatic Gauze and Tourniquets in Rural Civilian Trauma J Trauma Acute Care Surg. 2016 May 27. [Epub ahead of print]
2. Stanek M, Pędziwiatr M, Radkowiak D, Zychowicz A, Budzyński P, Major P, Budzyński A. Early results of liver resection using laparoscopic technique. Pol Przegl Chir. 2016 Jan 1;88(1):20-5. doi: 10.1515/pjs-2016-0022
3. Khoshmohabat H, Paydar S, Kazemi HM, Dalfardi B. Overview of Agents Used for Emergency Hemostasis. Trauma Mon. 2016 Feb 6;21(1):e26023. doi: 10.5812/traumamon.26023
4. Hardean E. Achneck, BantayehuSileshi, Ryan M. Jamiolkowski, BA, David M. Albala,Mark L. Shapiro, Jeffrey H. LawsonA Comprehensive Review of Topical Hemostatic AgentsEfficacy and Recommendations for Use. Ann Surg2010;251: 217–228
5. Zou P, Yang X, Wang J, Li Y, Yu H, Zhang Y, Liu G. Advances in characterisation and biological activities of chitosan and chitosan oligosaccharides. Food Chem. 2016 Jan 1;190:1174-81. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.06.076.
6. Zhang YJ, Gao B, Liu XW. Topical and effective hemostatic medicines in the battlefield. Int J Clin Exp Med. 2015 Jan 15;8(1):10-9.
7. Satterly S, Nelson D, Zwintscher N, Oguntoye M, Causey W, Theis B, Huang R, Haque M, Martin M, Bickett G, Rush RM Jr. Hemostasis in a noncompressible hemorrhage model: an end-user evaluation of hemostatic agents in a proximal arterial injury. J Surg Educ. 2013 Mar-Apr;70(2):206-11. doi: 10.1016/j.jsurg.2012.11.001

8. Nouri S, Sharif MR, Afzali H, Sharif A, Satkin M. The Advantages and Disadvantages of Methods Used to Control Liver Bleeding: A Review. Trauma Mon. 2015 Nov;20(4):e28088. doi: 10.5812/traumamon.28088.
9. Watson JT, Webb DL, Stoikes NF, Voeller GR. Fibrin Sealant: A Review of the History, Biomechanics, and Current Applications for Prosthetic Fixation in Hernia Repair. Surg Technol Int. 2015 Nov;27:140-5.
10. Xiaofei H., Yongfu S., Jingyi N. Using absorbable chitosan hemostatic sponges as a promising surgical dressing. International Journal of Biological Macromolecules 75 (2015) 322–329
11. Arand AG. Intraoperative chemical hemostasis in neurosurgery / AG Arand, R Sawaya // Neurosurg. – 1986. – V.18: – P. 223.
12. The effect of chitosan on lingual hemostasis in heparinized rabbits / PR Klokkevold, H Fukayama, EC Sung et al // J Oral Maxillofac Surg. – 1999. – V. 57. – P. 49–52.
13. Evaluation of Hemagglutination Activity of Chitosan Nanoparticles Using Human Erythrocytes / Muniz de Lima Jefferson, Rodrigues Sarmento Ronaldo, Rodrigues de Souza Joelma, et al // BioMed Research International. – 2015, 6 pages. Article ID 247965. doi:10.1155/2015/247965
14. Erythrocytes load of low molecular weight chitosan nanoparticles as a potential vascular drug delivery system / W Fan, W Yan, Z Xu et al // Colloids Surf B Biointerfaces. – 2012. – V. 95. – P. 258-265.
15. Collagen/Chitosan Matrices for Artificial Livers / XH Wang, DP Li, WJ Wang, et al // Biomaterials. – 2003. – V. 24. – P. 3213– 3220.
16. Analgesic effects of chitin and chitosan / Y Okamoto, K Kawakami, K Miyatake, et al // Carbohydr Polym. – 2002. – V. 49. – P. 249–252.
17. Mechanism sregulated platelet spreading after initial platelet contact with collagen / CC Wu, FN Ko, TF Hung, et al // Biochem Biophys Res Com. – 1996. – V. 220. – P. 388–393.

18. Preparation and characterization of chitosan–heparin composite matrices for blood contacting tissue engineering / H Qing, A Qiang, KaiGong, et al // Biomed Mater. – 2010. – V. 5.

19. Mark A. Brown. Worley Experience with Chitosan Dressings in a Civilian EMS System / A. Brown Mark, R. Daya Mohamud, A. Joseph // The Journal of Emergency Medicine. – 2009. – V. 37(1). – P. 1-7.

20. A Special Report on the Chitosan-based Hemostatic Dressing: Experience in Current Combat Operations / Wedmore Ian, G McManus John, E. Pusateri Anthony et al // Trauma. – 2006. – V. 60. – P. 655– 658.

21. Hemostatic effect of a chitosan linear polymer (Celox®) in a severe femoral artery bleeding rat model under hypothermia or warfarin therapy / O.Koksal, O.Fatma, CE Betül, et al // Turkish Journal of Trauma & Emergency Surgery. – 2011. – V. 17(3). – P. 199 – 204.

22. Imamura H, Seyama Y, Kokudo N, Maema A, Sugawara Y, Sano K, Takayama T, Makuuchi M (2003) One thousand fifty six hepatectomies without mortality in 8 years . Arch Surg 138 (11): 1198– 1206

23. Kawasaki S., Origasa H., Tetens V., Kobayashi M. Comparison of TachoSil and TachoComb in patients undergoing liver resection—a randomized, double-blind, non-inferiority trial. Langenbecks Arch Surg (2017) 402:591–598

24. K. A. Simo, E. M. Hanna, D. K. Imagawa, and D. A. Iannitti Hemostatic Agents in Hepatobiliary and Pancreas Surgery : A Review of the Literature and Critical Evaluation of a Novel Carrier-Bound Fibrin Sealant (TachoSil). ISRN Surgery. Volume 2012, Article ID 729086, 12 pages. doi:10.5402/2012/729086

25. W. D. Spotnitz and S. Burks, “Hemostats, sealants, and adhesives II: update as well as how and when to use the components of the surgical toolbox,” Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis, vol. 16, no. 5, pp. 497–514, 2010.

26. J. Briceno, A. Naranjo, R. Ciria et al., “A prospective study of the efficacy of clinical application of a new carrier-bound fibrin sealant after liver resection,” Archives of Surgery, vol. 145, no. 5, pp. 482–488, 2010.
27. Krishna S. Vyas, Sibu P. Saha Comparison of hemostatic agents used in vascular surgery. Expert Opin Biol Ther. 2013 December ; 13(12): 1663–1672
28. Oryan A, Sahvieh S. Effectiveness of chitosan scaffold in skin, bone and cartilage healing. Int J Biol Macromol. 2017 Jul 3;104(Pt A):1003-1011.
29. Millner R.W.J., Lockhart A.S., Bird H., Alexiou C. A new hemostatic agent: initial life-saving experience with Celox (chitosan) in cardiothoracic surgery. Ann. Thorac. Surg. 2009;87:e13–e14.