



DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-169-9-56-61

УДК: 617–089.843:547.458.8

Гемостатический имплантат из производных целлюлозы*

Исмаилов Б. А., Садыков Р. А., Ким О. В.

ГУ «Республиканский специализированный научно-практический центр хирургии имени академика В. Вахидова» (г. Ташкент, Республика Узбекистан)

Hemostatic implant based on cellulose derivatives*

Ismailov B. A., Sadykov R. A., Kim O. V.

SI "Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Surgery named after Academician V. Vakhidov" (Tashkent, Uzbekistan)

Для цитирования: Исмаилов Б. А., Садыков Р. А., Ким О. В. Гемостатический имплантат из производных целлюлозы. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2019;169(9): 56–61. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-169-9-56-61

For citation: Ismailov B. A., Sadykov R. A., Kim O. V. Hemostatic implant based on cellulose derivatives. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2019;169(9): 56–61. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-169-9-56-61

✉ *Corresponding author:*

Исмаилов Баходир Абдимусаевич
Bakhodir A. Ismailov
bakhodirismailov@gmail.com

Исмаилов Баходир Абдимусаевич, Младший научный сотрудник отдела экспериментальной хирургии
Садыков Рустам Абрарович, д.м.н., профессор, руководитель отдела экспериментальной хирургии
Ким Ольга Валерьевна, Младший научный сотрудник отдела экспериментальной хирургии
Bakhodir A. Ismailov, junior researcher of department of experimental surgery; *ORCID: 0000–0001–6150–9386*
Rustam A. Sadykov, DMSc, Prof, Head of department of experimental surgery; *ORCID: 0000–0003–4524–1484*
Olga V. Kim, junior researcher of department of experimental surgery; *ORCID: 0000–0002–1703–1554*

Резюме

* Иллюстрации к статье – на цветной вклейке в журнал.

* Illustrations to the article are on the colored inset of the Journal.

Цель работы: изучить сравнительную эффективность нового гемостатического композиционного полимерного материала на модели раны печени в эксперименте

Материал и методы. Экспериментальные исследования были проведены с использованием разработанного гемостатического композиционного полимерного материала (КПМ) из производных целлюлозы. Основные компоненты имплантата: натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, окисленная целлюлоза, наноцеллюлоза и связанные ионы кальция. Эксперименты проводились на 48 белых половозрелых беспородных крысах обоего пола весом $196,5 \pm 2,8$ гр. Животных подразделяли на две группы: сравнительная группа с применением медицинской марли ($n = 24$) и основная с КПМ ($n = 24$). Гемостатические материалы применялись в равных весовых количествах 30 мг. Модель создавалась для формирования паренхиматозного кровотечения на которую наносили материал для остановки кровотечения. Все оперативные вмешательства на животных выполнялись под общим ингаляционным обезболиванием на модели паренхиматозного кровотечения из раны печени.

Результаты. Гемостаз из раны печени при использовании КПМ наступал в течение $34,0 \pm 2,5$ сек, в контрольной группе с применением марлевой салфетки — $142,2 \pm 7,7$ сек. В контрольной группе повторное кровотечение наблюдалось в 11 (45,8%) случаях, а в основной — 2 (8,3%) случаях. В основной группе после применения КПМ, рассасывание гемостатического имплантата и регенераторные процессы в паренхиме печени, особенно в зоне повреждения наблюдались после 14-х суток, что свидетельствует о восстановлении ткани печени. В сравнительной группе на 14-е сутки было отмечено сохранение структуры материала марлевого тампона без признаков деградации.

Выводы. По данным наших исследований поликомпозиционный гемостатический имплантат плотно адгезируется к ткани печени, останавливает кровотечение без его возобновления. В гистологических исследованиях,

проведенных в динамике заживления ран печени, было установлено, что имплантат не вызывает выраженной воспалительной реакции и биоразложение наступает на 14-е сутки.

Ключевые слова: гемостаз, паренхиматозное кровотечение, печень, производные целлюлозы, экспериментальная хирургия, поликомпозиционный гемостатический имплантат, морфология печени

Summary

Aim of research: to study the comparative effectiveness of new polycompositive of hemostatic implant on in vivo model of liver parenchymal bleeding.

Material and methods. Experimental studies were performed using the developed polycompositive hemostatic implant (CPM) from cellulose derivatives. Main components of implant include: natrium carboxymethylcellulose, oxidized cellulose, nanocellulose and bonded calcium ions. In vivo experiments were conducted in both sexes white 24 utbred rats weighing 196.5 ± 2.8 grams. The animals were divided into two groups: the comparative group ($n = 24$) with an application of polycomposite hemostatic implant and main group ($n = 24$) with medical gauze. The hemostatic materials were used in equal weight 30 mg. All surgical procedures on animals were performed under general inhalation anesthesia in model of liver parenchymal bleeding.

Results. Thus, hemostasis was reached within 34.0 ± 2.5 seconds in the main group with CPM, in the comparative group with medical gauze — 142.2 ± 7.7 seconds. Repeated bleeding was observed in 11 (45.8%) cases of the comparative group and in the main group — 2 (8.3%) cases. Biodegradation of the hemostatic implant and regenerative processes in the liver parenchyma were registered on the 14 day, especially in the injured area that indicates the restoration of liver tissue. In the comparative group on the 30th day, the preservation of medical gauze structure was revealed without degradation signs.

Findings. According to our research data, a polycompositive hemostatic implant adheres tightly to the liver tissue, stops bleeding without its recurrence. In histological studies conducted in the dynamics of wound healing of the liver it was found that the implant does not cause a severe inflammatory reaction and biodegradation occurs after 14 days.

Keywords: hemostasis, parenchymal bleeding, liver, cellulose derivatives, experimental surgery, polycompositive hemostatic implant, liver morphology

Работа выполнялась в соответствии с планом инновационного проекта ГУ «Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр хирургии имени академика В. Вахидова» ИСС-2017–6–8 «Разработка технологии и НТД на производство нового гемостатического имплантата из местного сырья»

На сегодняшний день известно много препаратов и их комбинаций, обладающих гемостатической активностью при местной аппликации. Однако все они имеют определенные ограничения. К традиционным гемостатическим средствам можно отнести материалы на основе желатина, целлюлозы, коллагена (Spongostan, США) и комбинированные гемостатические материалы (Tachocomb, Австрия).

К примеру, препараты на основе коллагена обладают низкой гемостатической активностью во влажной среде, плохо останавливают кровотечение при системных коагулопатиях и при тромбобластемии, обладают риском инфицирования, инактивируются при автоклавировании, что существенно снижает их эффективность и ограничивает сферу применения [1].

Современный гемостатический материал Тахокомб представляет собой губку из коллагена сухожилий лошади, человеческого лиофилизированного фибриногена, свиного фибрина, животного аprotинина. Основным его недостатком является наличие компонентов животного происхождения, которые могут вызывать аллергическую реакцию [2]. Применение препаратов на основе

желатина связано с высокой вероятностью инфицирования в зоне приложения имплантата [3].

Имплантаты на основе полимерных материалов находят все более широкое применение в хирургии. Значительный интерес представляют гемостатические препараты, полученные из производных полисахаридов и, в первую очередь, окисленной целлюлозы (ОЦ) [3–5].

ОЦ обладает кровоостанавливающим действием и широко используется в хирургии для лечения кожных ран, длительно незаживающих хронических язв, резекции почки [6–8]. Принцип гемостатического действия окисленной регенерированной целлюлозы заключается в изменении pH среды в кислую сторону (pH 2,5–3,0), что создает благоприятные условия для образования тромбоцитарного сгустка. Также кислая среда в зоне повреждения способствует неспецифической противомикробной активности ОЦ [4]. ОЦ обладает хорошей биосовместимостью и биодegradацией, не токсична, химически инертна, не растворима в воде, имеет волокнистую структуру и высокую механическую прочность [9].

Гемостатический имплантат на растительной основе Ankaferd Blood Stopper (Турция) был

исследован для остановки кровотечения из костной ткани. Воспалительная реакция была оценена по количеству клеток воспаления: 0–25% – слабая, 25–50% – умеренная, 75–100% – выраженная. Факторы некроза расценивались по качественному признаку: присутствует или отсутствует. Помимо воспалительной реакции оценивалось количество новых образованных остеобластов. По шкале Moretton для имплантатов костных тканей Ankaferd был определен как не вызывающий активного воспаления и способствующий заживлению тканью агентом. [8].

Тканевая реакция, вызванная гемостатическим имплантатом, является одним из достоверных факторов оценки биосовместимости изделия

и обусловлена сроками и характером биодеградации. [10,11].

К тугой марлевой тампонаде прибегают при массивном кровотечении из глубокой труднодоступной раны, когда попытки остановить кровотечение традиционными методами (лигатурой или гемостатическими швами) оказываются неэффективными. Однако марлевая тампонада не обеспечивает надежный гемостаз, нарастающая гематома может вытолкнуть тампон, а кровотечение возобновиться [12,13].

Цель работы: изучить в эксперименте «in vivo» сравнительную эффективность нового поликомпозиционного гемостатического имплантата на модели паренхиматозного кровотечения из печени.

Материал и методы исследования

Исследования проведены с использованием гемостатического композиционного полимерного материала (КПМ), разработанный в ГУ «РСЦНПМХ им. акад. В. Вахидова» с Научно-исследовательским институтом химии-физики полимеров Академии Наук Республики Узбекистан. Основные компоненты имплантата: натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, окисленная целлюлоза, наноцеллюлоза и связанные ионы кальция (Патент № IAP 20160273) [3]. Для сравнительного анализа использовали аппликационный гемостатический материал медицинскую марлю.

Экспериментальные исследования по сравнительной оценке и биосовместимости были проведены в соответствии с ГОСТ Р ИСО 10993–6–2011. Были использованы 48 белых половозрелых беспородных крыс обоего пола весом $196,5 \pm 2,8$ г. Животных подразделяли на две группы: основная группа с применением КПМ ($n = 24$) и сравнительная с медицинской марлей ($n = 24$). Гемостатические материалы применялись в равных весовых количествах 30 мг. Вес материалов измеряли на лабораторных аналитических весах AX 324 (Ohaus) с точностью 0,0001 г.

Операции выполнялись под общим ингаляционным обезболиванием Галотана 2 об%. В асептических условиях под ингаляционным наркозом животным производилась верхнесрединная лапаротомия длиной разреза до 3–4 см. В операционную рану выводили правую долю печени, на поверхности которой формировалась плоскостная рана диаметром до 1 см, глубиной до 0,1 см. Из раны печени наблюдалось активное паренхиматозное кровотечение. Для достижения гемостаза в основной группе применяли КПМ, а в сравнительной

группе гемостаз осуществлялся прикладыванием медицинской марли до полной остановки кровотечения. Наблюдение за возможным возобновлением кровотечения проводилось в течение 10 минут. Животных из эксперимента выводили согласно этическим стандартам и действующим рекомендациям. Эвтаназия осуществлялась согласно положениям ISO 10993–2–2011 под общей анестезией.

Для приготовления морфологических препаратов исследуемый участок печени иссекали и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. По истечении сроков фиксации биоптат заливали парафином в виде блоков. Изготавливали серийные срезы толщиной 3–4 мкм. Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином.

При микроскопии оценивали динамику развития воспалительной реакции, особенности регенерации паренхимы печени, а также степень деструкции исследуемых имплантатов.

Для оценки гистологических изменений в печени применена система баллов согласно ISO 10993–6–2011, где учитывались параметры полукочественной оценки числа и распределения клеток, характеризующих воспалительный процесс (полиморфноядерные нейтрофилы, лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги, эозинофилы и многоядерные клетки). Окраску микропрепаратов производили гематоксилином-эозином.

Экспериментальные исследования проведены с соблюдением правил, принятых Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или иных научных целей (ETS N123), Страсбург, 18.03.1986 г.

Статистика

Полученные результаты подвергали статистической обработке с использованием стандартного пакета программ Microsoft Excel 2013, методом вариационной статистики с оценкой значимости

показателей ($M \pm m$) и различий рассматриваемых выборок по t-критерию Стьюдента. Различия в сравниваемых группах считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования

В сформированной ране печени отмечался активное поступление крови смешанного характера, при использовании марлевой салфетки в группе

контроля, время остановки кровотечения составило $142,2 \pm 7,7$ сек. (рис. 1А). Достижения гемостаза в основной группе нами использовано порошковая

Срок после операции	Тип клеток				Толщина некротического и фиброзного слоя
	Полиморфно-ядерные нейтрофилы	Лимфоциты	Плазматические клетки	Макрофаги	мкм
Контрольная группа					
1-е сутки	32,8±1,5	16,2±0,7	5,3±0,6	8,2±1,0	130,8±2,6
7-е сутки	9,9±0,5	6,8±0,8	4,4±0,4	4,9±0,5	108±3,3
14-е сутки	10,5±0,9	7,0±0,9	3,4±0,4	3,2±0,4	77±2,9
Опытная группа					
1-е сутки	29,8±0,7	13,2±0,7**	2,9±0,4**	7,7±0,3	0*
7-е сутки	4,7±0,6*	7,7±0,4	1,5±0,3*	0*	70,6±5,3*
14-е сутки	1,3±0,4*	5,9±0,4	1,2±0,2*	0*	18,8±2,3*

Таблица № 1.
Сравнительная оценка воспалительной реакции печени в основной и контрольной группе.

Примечание:
*P<0,001, **P<0,01 достоверность различий средних величин по отношению к контрольной группе (рассчитывалась с использованием критерия Стьюдента).

форма КПП. При этом гемостаз достигался в течение 34,0±2,5 сек (рис. 1В, диаграмма 1). При 10-минутном наблюдении возобновление кровотока в контрольной группе наблюдалось в 11 (45,8%) случаях, а в основной группе 2 (8,3%) случаях.

На 1-е сутки эксперимента в контрольной группе в брюшной полости отмечены признаки кровотечения в виде рыхлого тромба на поврежденной поверхности печени и инфильтративный процесс в брюшной полости (рис. 2А). Через 3-е суток в области раневой поверхности печени с применением марлевой салфетки наблюдался воспалительный процесс с переходом в гнойный абсцесс (рис. 2В). На 7-е сутки отмечено плотное сращение марлевой салфетки с раневой поверхностью печени, а также воспалительный конгломерат, включающий в себя фрагмент большого сальника и полых органов (рис. 2С). На 14-е сутки эксперимента раневая поверхность печени была несколько деформирована с рубцовым изменением раны, отмечено сохранение структуры марлевой салфетки (рис. 2D).

В основной группе с использованием КПП на 1-е сутки эксперимента на раневой поверхности печени признаков продолжающегося кровотечения не отмечены. Раневая поверхность покрыта фибриновой пленкой белесоватого цвета (рис. 3А). На 3-и сутки отмечено сформировавшееся пленочное покрытие из КПП без признаков выраженного воспалительного процесса (рис. 3В). На 7-е сутки эксперимента на раневой поверхности печени отмечен регенеративный процесс в виде восстановления целостности печени, сопровождающийся незначительным воспалительным процессом (рис. 3С). На 14-е сутки наблюдалась полная деградация КПП с полным восстановлением целостности ткани печени (рис. 4D).

При микроскопической оценке начиная с 1-х суток в контрольной группе имело место выраженное воспалительное процесса, отмечено выраженная лейкоцитарная инфильтрация. Количественный состав элементов воспаления полиморфноядерные нейтрофилы – до 32,8±1,5, лимфоциты – 16,2±0,7, плазматические клетки – 5,3±0,6, макрофаги – 8,2±1,0 (рис. 4А). На 3-и сутки марлевая салфетка была обильно инфильтрирована лейкоцитами с примесью лимфоцитов и была отделена от окружающей ткани воспа-

лительным валом, состоящим из нейтральных лейкоцитов с небольшой примесью лимфоцитов. Отмечено состояние гепатоцитов вокруг раны, которые были в состоянии белковой дистрофии, границы печеночных долек были не различимы (рис. 4В). На 7-е сутки микроскопически отмечено умеренное стихание воспаления, формирование грануляционной ткани вокруг марлевой салфетки, особенно в зоне повреждения до 108±3,3 мкм (рис. 4С). Согласно балльной оценке воспалительной реакции: полиморфноядерные нейтрофилы – до 9,9±0,5, лимфоциты – 6,8±0,8, плазматические клетки – 4,4±0,4, макрофаги – 4,9±0,5.

На 14-е сутки микроскопически установлено истончение рубцового фиброзного слоя со стиханием воспалительного процесса (рис. 4D).

Через сутки при микроскопическом исследовании в ткани печени основной группы, отмечены признаки воспалительного процесса, при этом количество полиморфноядерных нейтрофилов составило 29,8 ± 0,7, лимфоцитов – 13,2 ± 0,7, плазматических клеток – 2,9 ± 0,4, макрофагов – 7,7 ± 0,3 в поле зрения, толщина имплантата 400 мкм, при этом зона некроза отсутствовала (рис. 5А).

При микроскопии на 3-и сутки отмечается уменьшение воспалительного процесса. Вакуольная дистрофия гепатоцитов визуализируется в субкапсулярной зоне. Толщина имплантата включая фиброзного слоя составила 150 мкм (рис. 5В).

На 7-е сутки эксперимента микроскопически в зоне фиброза капсулы печени уменьшалось количество полиморфноядерных нейтрофилов до 4,7 ± 0,6, лимфоцитов – 7,7 ± 0,4, плазматических клеток – 1,5 ± 0,3. Толщина КПП 70 мкм. (Рис. 5С).

На 14-е сутки гистологически отмечено усиление регенераторных процессов в паренхиме, особенно в зоне повреждения, которое проявлялось восстановлением балочного строения печени, исчезновением отека и полнокровия, уменьшением толщины фиброзной пленки печени до 10–15 мкм. Наблюдалась умеренная лимфоидная инфильтрация капсулы печени с уменьшением в поле зрения количества полиморфноядерных нейтрофилов – 1,3 ± 0,4, лимфоцитов – 5,9 ± 0,4, плазматических клеток – 1,2 ± 0,2. (Рис. 5D). Фрагменты КПП не определялись, что свидетельствовало о его рассасывании.

Обсуждение

Гемостатический имплантат из композиционного полимерного материала состоит из производных целлюлозы, карбоксиметилцеллюлозы, окисленной целлюлозы и наноцеллюлозы, которое отличает от существующих зарубежных гемостатических средств местного действия. Результаты исследований по оценке гемостатической эффективности композиционного полимерного материала имеют схожие результаты с ранее представленными работами при сравнительном исследовании аппликационных гемостатических средств [14, 15]. В одном из исследований при резекции левого каудального полюса почки

у крыс в эксперименте с использованием «Gelitasel» и «Gelaspon», время остановки кровотечения составило $1,40 \pm 0,18$ мин и $2,33 \pm 0,27$ мин, что демонстрирует гемостатическую активность материалов на основе производных целлюлозы [16]. В нашем случае при использовании КПМ время гемостаза составило $34,0 \pm 2,5$ сек. Результаты макроскопических и морфологических исследований указывают на быструю биодеградацию гемостатического композиционного полимерного материала, а также отсутствие выраженного воспалительного процесса с влиянием на формирование спаечного процесса.

Заключение

Таким образом, проведенные результаты исследования показали, что новый поликомпозиционный гемостатический имплантат из производных целлюлозы обладает высокой гемостатической активностью, сравнимой с известными зарубежными аналогами. При контакте с кровью порошковая форма препарата переходит в гелеобразную и в виде пленки покрывает раневую поверхность

печени. Вероятность рецидива кровотечения низкая вследствие того, что формирующаяся пленка в виде вязкого геля препятствует подтеканию крови из паренхимы печени. По данным гистологических исследований КПМ имеет более короткий срок рассасывания – 14 суток и не обладает раздражающим эффектом и не вызывает выраженной воспалительной реакции.

Литература | References

1. *Истранов Л.П., Абоянц Р.К., Истранова Е.В.* Местные гемостатические средства на основе коллагена. ФАРМ Индекс-Практик. – 2006. – № 10. – С. 56–59.
Istranov L. P., Aboyan R. K., Istranova E. V. Mestnye gemostatische sredstva na osnove kollagena. FARM Indeks-Praktik. 2006, no. 10, pp.56–59.
2. *Ikarasi Y., Tsuchiya T., Toyoda K., Kobayashi E. H. and Hamanaka H.* Tissue Reactions and Sensitivity to Iron Chromium Alloys. Mater Trans. 2002, Vol. 43, pp.3065–3071.
3. *Геньш К.В., Базарнова Н.Г.* Окисленная целлюлоза. Получение. Применение в медицине. Химия растительного сырья. 2013, № 4, с. 13–20.
Gen'sh K.V., Bazarnova N. G. Okislennaya cellyuloza. Poluchenie. Primenenie v medicine. Himiya rastitel'nogo syr'ya. 2013, no.4, pp.13–20.
4. *Yin X., Koschella A., Heinze Th.* Reactive and Functional Polymers. – 2009. – vol. 69. – № 6. – pp. 341–346.
5. *Сафронова Е.Ю., Нюшко К.М., Алексеев Б.Я., Калпинский А.С., Поляков В.А., Каприн А.Д.* Способы осуществления гемостаза при выполнении резекции почки Исследования и практики в медицине. – 2016. – т. 3. – № 1. – с. 58–65
Safronova E.YU., Nyushko K. M., Alekseev B.YA., Kalpinskiy A. S., Polyakov V. A., Kaprin A. D. Sposoby osushchestvleniya gemostaza pri vypolnenii rezekcii pochki Issledovaniya i praktika v medicine. 2016, vol.3, no.1, pp. 58–65
6. *Шин Ф.Е., Толстых М.П. и др.* Новое в лечении гнойных ран. Московский хирургический журнал. – 2011. – № 5(18). – С. 51–54.
SHin F.E., Tolstyh M. P. i dr. Novoe v lechenii gnojnyh ran. Moskovskij hirurgicheskij zhurnal. 2011;5(18):51–54.
7. *Martínez Lalis R., Esain M. L., Kokubu G. A., Willis J., Chaves C., Grana D. R., Atalay B.* Rat subcutaneous tissue response to modified Portland Cement, a new mineral trioxide aggregate. Brazilian Dental Journal. 2009;20(2):112–117.
8. *Таркова А.Р., Чернявский А.М., Морозов С.В., Григорьев И.А., Ткачева Н.И.* Гемостатический материал местного действия на основе окисленной целлюлозы. Сибирский научный медицинский журнал. – 2015. – том 35. – № 3. – С. 11–15
Tarkova A. R., CHernyavskij A.M., Morozov S. V., Grigor'ev I.A., Tkacheva N. I. Gemostatische material mestnogo dejstviya na osnove okislennoj cellyulozy. Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal. 2015;35(3):11–15.
9. *Jang Y. Kim H. Roh B. D., Kim E.* Biologic response of local hemostatic agents used in endodontic microsurgery. Restor Dent Endod. 2014, no.39, pp.79–88.
10. *Jensen S.S., Yazdi P. M., Hjørtting-Hansen E., Bosshardt D.D., von Arx T.* Haemostatic effect and tissue reactions of methods and agents used for haemorrhage control in apical surgery. Int Endod J. 2010, no. 43, pp. 57–63.
11. *Kollar P., Suchy P., Muselik J. et al.* Hemostatic effects of oxidized cellulose. Ceska a Slovanska Farmacie. 2008, Vol. 57, no.1, pp.11–16.
12. *Т.В. Хоробрых, А.Н. Антонов, О.Н. Антонов, С.В. Борисова.* Опыт использования фибринового клея для лечения травматических повреждений печени. Анналы хирургии. – 2005. – № 3. – С. 50–53.
T. V. Horobryh, A. N. Antonov, O. N. Antonov, S. V. Borisova. Opyt ispol'zovaniya fibrinovogo kleya dlya lecheniya travmaticheskikh povrezhdenij pecheni. Annaly hirurgii. 2005, no.3, pp. 50–53.
13. *В.В. Бойко, П.Н. Замятина.* Политравма: Руководство для врачей. Харьков-Черновцы. – 2009. – Т. 4. – 475 с.

- V. V. Bojko, P. N. Zamyatina. Politravma: Rukovodstvo dlya vrachej. Har'kov-SHernovsy. 2009, no. 4, 475 p.
14. Millner R. W., Lockhart A. S., Marr R. Chitosan arrests bleeding in major hepatic injuries with clotting dysfunction: an in vivo experimental study in a model of hepatic injury in the presence of moderate systemic heparinisation. *Ann. R. Coll. Surg. Engl.* 2010;92(7):559–561
 15. В. В. Давыденко, Т. Д. Власов, И. Н. Доброскок, Е. Н. Бражникова, Н. М. Забивалова. Сравнительная эффективность аппликационных гемостатических средств местного действия при остановке экспериментального паренхиматозного и артериального кровотечения. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии VIII*:–2015–2–С.186–194.
 16. Davydenko, T. D. Vlasov, I. N. Dobroskok, E. N. Brazhnikova, N. M. Zabivalova. Sravnitel'naya ehffektivnost' aplikacionnyh gemostaticheskikh sredstv mestnogo dejstviya pri ostanovke ehksperimental'nogo parenhimatoznogo i arterial'nogo krvotecheniya. *Vestnik ehksperimental'noj i klinicheskoy hirurgii VIII*: 2015, no.2, pp.186–194.
 16. Chalupová M. Local tissue reaction after the application of topical hemostatic agents in a rat partial nephrectomy model. *J. Biomed. Mater. Res. Pt. A.* 2012;100(6):1582–1590.