

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОЦЕНКИ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦЕЛЕВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОСТАТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА *IN VITRO*

М. В. Волкова^{1,2}

¹Московский физико-технический институт, 141701, Долгопрудный, Московской обл., Институтский пер., 9; biotech.volkova@list.ru

²Химическая компания «Орион»

Эффективная первая помощь в остановке кровопотери может выиграть время для спасения жизни, а также снизить смертность и инвалидность раненных. На сегодняшний день разрабатывается большое количество местных гемостатических изделий (ГИ) на основе природных и синтетических материалов в различных формах: порошок, пена и др. В связи с этим возникает необходимость разработки методик изучения ГИ в лабораторных условиях. Гемостатическая активность хитозана и его производных обусловлена его катионной природой, позволяющей взаимодействовать с отрицательно заряженной мембраной форменных элементов крови. Также полимер способен адсорбировать фибриноген и белки плазмы, усиливая агрегацию тромбоцитов. Целью исследования являлся подбор и апробация методик для местных мукоадгезивных ГИ на основе соли хитозана в форме порошка.

В качестве модельных ГИ были использованы несколько коммерческих медицинских изделий. Для апробации методик скрининговых исследований *in vitro* были выбраны следующие показатели: скорость адсорбции эритроцитов и общая емкость. Методика оценки адсорбции эритроцитов включает в себя активацию крови хлоридом кальция, инкубацию с гемостатическим средством, лизирование эритроцитов и спектрофотометрическое измерение. Стоит отметить, что при комнатной температуре процесс свертывания крови занимает от 5 до 10 минут. Короткий промежуток времени не позволяет оценить различия ГИ, поэтому дополнительно кровь разбавляют физиологическим раствором в 3 раза (при этом в разбавлении учитывается объем хлорида кальция). Инкубацию с гемостатическим средством проводят при 37°C в течение 3 и 10 минут, после чего образцы аккуратно разбавляют в 7 раз водой для разрушения не адсорбированных эритроцитов. Высвободившийся гемоглобин определяют спектрофотометрически при длине волны 540 нм. Расчет проводится относительно крови без ГИ. Определение емкости гемостатических изделий осуществляют по аналогичной методике, но с использованием неразбавленной крови в избытке.

Таким образом, были разработаны методики с использованием крови для оценки гемостатических свойств медицинского изделия. Установлено, что ГИ, адсорбирующее $95,00 \pm 1,00$ % и более эритроцитов за 3 минуты, а также имеющее емкость не менее 14 мл крови/г образца, обладает гемостатической эффективностью сопоставимой с результатами экспериментов *in vivo*. За счет использования навески менее 100 мг данная методика позволяет дополнительно оценить однородность ГИ. Высокий показатель адсорбции эритроцитов в совокупности с отклонением менее 1% обеспечивает высокую воспроизводимость результатов, получаемых в экспериментах на животных. Также разработанная методика с небольшими модификациями позволяет оценить гемостатическую активность ГИ в других формах.