

## **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕЧЕБНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИКОАГУЛЯНТОВ И ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТОРОВ НА МОДЕЛИ ОСТРОГО РЕСПИРАТОРНОГО ДИСТРЕСС-СИНДРОМА**

Пугач В.А., Тюнин М.А., Ильинский Н.С., Левчук Е.В., Залялов М.Н., Ижорская Е.Ю.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая д. 4,*

*Резюме. Цель работы:* экспериментально исследовать лечебную эффективность антикоагулянтов и эндотелиопротекторов при использовании в составе комбинированной фармакологической терапии острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) у крыс. *Материалы и методы:* работа выполнена на 220 взрослых беспородных крысах-самцах, массой тела 300–350 г. ОРДС моделировали посредством однократного внутритрахеального введения липополисахарида (ЛПС) *Salmonella enterica* в дозе 20 мг/кг. Экспериментальная работа была проведена в 2 этапа. На 1-м этапе определяли наиболее эффективные антикоагулянты и эндотелиопротекторы на основании оценки данных гемостазиологических тестов. На 2-м этапе исследовали лечебную эффективность выбранных лекарственных препаратов в комбинации с базовой схемой терапии. Лечение животных начинали через 6 ч после введения ЛПС, при этом продолжительность терапии на 1-м этапе составила 2 сут, а на 2-м этапе – 7 сут. В работе были использованы следующие антикоагулянты: гепарин натрия (642 ЕД/кг подкожно 3 р/сут), эноксапарин натрия (6,0 мг/кг подкожно 2 р/сут), дабигатрана этексилат (13,0 мг/кг интрагастрально 2 р/сут), ривароксабан (10,0 мг/кг интрагастрально 2 р/сут). В качестве эндотелиопротекторов использовали: сулодексид (42,9 Ед/кг интрагастрально 2 р/сут) и дефибротид натрия (56,3 мг/кг внутривентрально 2 р/сут). Антикоагулянты и эндотелиопротекторы применяли в комбинации с базовой схемой терапии: цефтриаксон (50,0 мг/кг внутримышечно 2 р/сут), дексаметазон (0,87 мг/кг внутримышечно 2 р/сут) и эуфиллин (7,0 мг/кг внутримышечно 2 р/сут). *Результаты.* Наилучшим лечебным эффектом на фоне экспериментального ОРДС у крыс обладала комбинация эноксапарина натрия и дефибротида натрия. Лечебный эффект исследованных препаратов проявлялся в снижении выраженности отека легких и дыхательной недостаточности. *Выводы.* Полученные результаты служат обоснованием для дальнейших исследований эффективности и безопасности совместного применения эноксапарина натрия и дефибротида натрия для коррекции гиперкоагуляционных нарушений и эндотелиальной дисфункции на ранних сроках развития ОРДС.

*Ключевые слова:* острый респираторный дистресс-синдром; пульмонотоксичность; липополисахарид; гемостаз; гиперкоагуляция; эндотелиальная дисфункция; терапия  
*Для корреспонденции:* Пугач Виктория Александровна, gniiivm\_7@mil.ru

**EXPERIMENTAL STUDY OF THE THERAPEUTIC EFFICACY OF  
ANTICOAGULANTS AND ENDOTHELIOPROTECTORS ON A MODEL OF ACUTE  
RESPIRATORY DISTRESS-SYNDROME**

Pugach V.A., Tyunin M.A., Ilinskiy N.S., Levchuk E.V., Zalyalov M.N., Izhorskaya E.Yu.

*State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine,  
Lesoparkovaya St. 4, St. Petersburg 195043, Russian Federation*

*Abstract. Aim:* to experimentally investigate the therapeutic efficacy of anticoagulants and endothelioprotectors when used as part of the combined pharmacological therapy of acute respiratory distress syndrome (ARDS) in rats. *Materials and methods:* the work was performed on 220 adult male outbred rats weighing 300-350 g. ARDS was modeled by a single intratracheal injection of Salmonella enterica lipopolysaccharide (LPS) at a dose of 20 mg/kg. The experimental work was carried out in 2 stages. At the 1st stage the most effective anticoagulants and endothelioprotectors were determined based on the evaluation of hemostasis tests. At the 2nd stage the therapeutic efficacy of the selected drugs in combination with the basic therapy scheme was investigated. Treatment of animals was started 6 hours after administration of LPS, while the duration of therapy at the 1st stage was 2 days, and at the 2nd stage - 7 days. The following anticoagulants were used: heparin sodium (642 U/kg subcutaneously 3 times a day), enoxaparin sodium (6,0 mg/kg subcutaneously 2 times a day), dabigatran etexilate (13,0 mg/kg intragastrically 2 times a day), rivaroxaban (10,0 mg/kg intragastrically 2 times a day). Sulodexide (42,9 U/kg intragastrically 2 times a day) and defibrotide sodium (56,3 mg/kg intraperitoneal 2 times a day) were used as endothelioprotectors. Anticoagulants and endothelioprotectors were used in combination with the basic scheme of therapy: ceftriaxone (50,0 mg/kg intramuscularly 2 times a day), dexamethasone (0,87 mg/kg intramuscularly 2 times a day) and aminophylline (7,0 mg/kg intramuscularly 2 times a day). *Results.* The combination of enoxaparin sodium and defibrotide sodium had the best therapeutic effect in experimental ARDS. The therapeutic effect of the studied drugs was manifested in a decrease of pulmonary edema severity and respiratory failure. *Conclusions.* The findings are significant for justification of further studies of the efficacy and safety of the combined use of enoxaparin sodium and defibrotide sodium for the correction of hypercoagulation disorders and endothelial dysfunction in the early stages of ARDS development.

*Key words:* acute respiratory distress syndrome; pulmonotoxicity; lipopolysaccharide; hemostasis; hypercoagulation; endothelial dysfunction; therapy

*Введение.* Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) – остро возникающее диффузное воспалительное поражение паренхимы легких, развивающееся как неспецифическая реакция на различные повреждающие факторы и приводящее к формированию острой дыхательной недостаточности вследствие нарушения структуры легких и уменьшения массы аэрированной легочной ткани. ОРДС является полиэтиологическим синдромом, а все многообразие вызывающих его причин можно классифицировать на легочные (при прямом повреждении легких) и внелегочные (при опосредованном или непрямом повреждении легких) [1]. Наиболее тяжелым течением характеризуется ОРДС, вызванный прямым повреждающим воздействием факторов химической природы (т.е. токсической этиологии). Особенностью патогенеза ОРДС токсической этиологии служит стремительное формирование дыхательной недостаточности в течение 6–12 часов, требующее проведения интенсивной терапии и искусственной вентиляции легких [2, 3]. Несмотря на развитие медицинских технологий и внедрение в клиническую практику новых терапевтических стратегий, летальность при ОРДС колеблется в довольно широких пределах и достигает 40–50 % [4]. Принимая во внимание этот факт, в настоящее время представляется актуальным разработка новых подходов к патогенетической терапии ОРДС, в числе которых рассматривается коррекция ранних гиперкоагуляционных изменений и системной дисфункции эндотелия [5, 6].

Известно, что бурно развивающаяся воспалительная реакция в легких при ОРДС сопровождается повреждением и изменением функционального состояния эндотелия сосудов, что является определяющим событием в развитии гемостазиологических нарушений, которые характеризуются повышением прокоагулянтной активности крови, а также угнетением фибринолитической системы и системы естественных антикоагулянтов [6, 7]. Активация тромбообразования провоцирует расстройства регионарного кровообращения в легких и, как следствие, нарушения вентиляционно-перфузионных отношений с последующим критическим ухудшением газообмена. Одновременно с этим прогрессируют системные гиперкоагуляционные изменения и эндотелиальная дисфункция, приводя к синдрому полиорганной недостаточности с высоким риском летального исхода [4, 6].

Принимая во внимание актуальность рассматриваемой проблемы, перспективными представляются экспериментальные исследования по поиску наиболее эффективных схем применения антикоагулянтов и эндотелиопротекторов, которые могут быть использованы в

составе комбинированной терапии ОРДС токсической этиологии, что и послужило целью настоящего исследования.

*Материалы и методы.* Работа выполнена на 220 взрослых беспородных крысах-самцах, массой тела 300–350 г. (питомник «Рапполово», Ленинградская область). ОРДС моделировали посредством однократного внутритрахеального введения (в/т) липополисахарида (ЛПС) *Salmonella enterica* в дозе 20,0 мг/кг в виде раствора на фосфатно-солевом буфере (ФСБ) в объеме 1,5 мл на 1 кг массы тела. В качестве контроля использовали животных после в/т введения ФСБ в аналогичном объеме. Животных содержали в условиях вивария с соблюдением основных зоогигиенических норм и правил. Экспериментальную работу проводили в соответствии с требованиями приказа Минздрава России от 01.04.2016 г. №199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».

В работе были использованы следующие антикоагулянты: гепарин натрия (642 ЕД/кг подкожно 3 р/сут), эноксапарин натрия (6,0 мг/кг подкожно 2 р/сут), дабигатрана этексилат (13,0 мг/кг интрагастрально 2 р/сут), ривароксабан (10,0 мг/кг интрагастрально 2 р/сут). В качестве эндотелиопротекторов использовали: сулодексид (42,9 ЕД/кг интрагастрально 2 р/сут) и дефибротид натрия (37,5 мг/кг внутривентрально 3 р/сут). Антикоагулянты и эндотелиопротекторы применяли в комбинации с базовой схемой терапии: цефтриаксон (50,0 мг/кг внутримышечно 2 р/сут), дексаметазон (0,87 мг/кг внутримышечно 2 р/сут) и эуфиллин (7,0 мг/кг внутримышечно 2 р/сут). Дозы лекарственных препаратов для введения крысам были рассчитаны с помощью методики межвидового переноса доз с учетом площади поверхности тела [8].

Животные были разделены на группы: интактные животные, контрольная группа с ОРДС (контроль), группа с ОРДС и назначением только базовой схемы терапии (базисная терапия) и экспериментальные группы, где животным после моделирования ОРДС применяли антикоагулянты и эндотелиопротекторы в различных схемах в комбинации с препаратами базовой схемы.

Экспериментальная работа была проведена в 2 этапа. На 1-м этапе определяли наиболее эффективные антикоагулянты и эндотелиопротекторы на основании оценки данных гемостазиологических тестов. На 2-м этапе исследовали лечебную эффективность выбранных лекарственных препаратов в комбинации с базовой схемой терапии. Лечение животных начинали через 6 ч после в/т введения ЛПС, при этом продолжительность терапии на

1-м этапе составила 2 сут, а на 2-м этапе – 7 сут.

На 1-м этапе исследования у животных (n=90) перед эвтаназией отбирали пробы венозной крови (*v. cava caudalis*) для исследования функционального состояния системы

гемостаза. Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПВ), уровень фибриногена и активность антитромбина (в %) определяли на полуавтоматическом анализаторе-коагулометре («Тсоаг КС 4 Delta», Ирландия). Уровень растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) исследовали в паракоагуляционном фенантролиновом тесте (НПО «Ренам», Россия). Анти-Ха-активность определяли на спектрофотометре (ThermoFisher Scientific Multiskan Go 1510, Финляндия) при помощи коммерческих наборов (НПО «Ренам», Россия).

На 2-м этапе исследования в течение 14 сут после введения ЛПС у экспериментальных животных ежедневно оценивали общее состояние, а также измеряли сатурацию при помощи пульсоксиметра MouseOx Plus (США) ( $n=100$ ). У отдельных групп животных ( $n=30$ ) с целью оценки выраженности отека легких рассчитывали массовый коэффициент органа (отношение массы легочного комплекса к массе животного).

Статистический анализ данных проводили при помощи пакетов программ Prism GraphPad 9.0 (GraphPad Software, США) в операционной среде Windows 10. Множественные сравнения несвязанных выборок выполняли с использованием критерия Краскела-Уоллиса. Сравнение бинарных качественных данных проводили с помощью точного критерия Фишера. Вывод о статистической значимости различий между группами принимали при  $p<0,05$ .

*Результаты.* Исследование функционального состояния системы гемостаза у животных контрольной группы показало, что экспериментальная модель ЛПС-индуцированного ОРДС характеризуется развитием гиперкоагуляционных изменений, которые проявляются в увеличении образования тромбина по внешнему пути (укорочение ПВ на 13,04 %,  $p<0,05$ ) и активацией процессов внутрисосудистого свертывания (увеличение РФМК на 286,92 %,  $p<0,05$ ). При этом было установлено, что использование базисной терапии усугубляло выявленные гемостазиологические изменения и приводило также к угнетению противосвертывающей системы крови, что выражалось в снижении активности антитромбина на 31,20 % ( $p<0,05$ ).

Результаты исследования гемостазиологических показателей у крыс на фоне применения антикоагулянтов и эндотелиопротекторов в комбинации с препаратами базисной терапии через 2 сут после моделирования ЛПС-индуцированного ОРДС представлены в таблице 1.

Таблица 1.

**Гемостазиологические показатели у крыс на фоне применения антикоагулянтов и эндотелиопротекторов в составе комбинированной терапии через 2 сут после моделирования ЛПС-индуцированного ОРДС, (Ме [Q1;Q3])**

| Показатель                   | Группы животных         |                           |                          |                           |                            |                           |                           |                           |                            |
|------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
|                              | Интактная группа        | Контрольная группа (ОРДС) | ОРДС+ базисная терапия   | ОРДС+базисная терапия +   |                            |                           |                           |                           |                            |
|                              |                         |                           |                          | антикоагулянт:            |                            |                           |                           | эндотелиопротектор:       |                            |
|                              |                         |                           |                          | гепарин натрия            | эноксапарин натрия         | дабигатран а этексилат    | ривароксабан              | сулодексид                | дефибротид натрия          |
| АЧТВ, с                      | 19,44<br>[17,39;21,03]  | 20,01<br>[18,79;22,68]    | 20,76<br>[19,42;22,54]   | гипокоагуляция            | 28,93*#^<br>[27,60;31,14]  | 26,23*#^<br>[25,13;28,27] | 19,35<br>[18,78;20,38]    | 19,17<br>[17,56;21,49]    | 21,09<br>[19,14;22,87]     |
| ПВ, с                        | 24,15<br>[20,11;25,34]  | 21,00*<br>[19,68;22,17]   | 20,66*#<br>[19,54;21,79] | 23,30<br>[19,85;24,10]    | 24,50<br>[22,15;28,05]     | 23,00<br>[20,50;25,83]    | 36,50*#^<br>[34,00;38,64] | 23,79<br>[22,03;26,46]    | 22,16<br>[20,46;24,65]     |
| Анти-Ха-акт., МЕ/мл          | 0,21<br>[0,18;0,23]     | 0,19<br>[0,16;0,22]       | 0,22<br>[0,17;0,23]      | 2,16*#^<br>[2,14;2,21]    | 1,22*#^<br>[1,17;1,28]     | 0,22<br>[0,16;0,23]       | 0,20<br>[0,17;0,22]       | 0,20<br>[0,17;0,23]       | 0,21<br>[0,18;0,22]        |
| Фибриноген, г/л              | 3,68<br>[3,31;4,22]     | 6,56*<br>[6,16;6,91]      | 6,32*<br>[5,83;6,57]     | 6,27*<br>[5,96;6,43]      | 6,66*<br>[5,79;6,88]       | 6,41*<br>[6,00;6,76]      | 6,37*<br>[5,50;7,01]      | 6,51*<br>[6,13;6,82]      | 6,28*<br>[5,77;7,34]       |
| РФМК, г/л x 10 <sup>-2</sup> | 6,35<br>[5,67;7,98]     | 24,57*<br>[22,63;25,10]   | 26,11*#<br>[21,64;26,94] | 23,14*^<br>[19,42;24,37]  | 15,04*#^<br>[14,11;16,47]  | 22,19*^<br>[19,75;23,16]  | 26,73*#<br>[24,41;27,62]  | 21,73*#^<br>[18,95;23,18] | 16,75*#^<br>[14,28;17,23]  |
| Антитромбин, %               | 115,27<br>[100,66;121,] | 108,32<br>[104,14;113,47] | 79,31*#<br>[73,67;84,47] | 65,43*#^<br>[61,32;72,51] | 100,25*^<br>[95,29;112,76] | 89,26*#^<br>[86,31;93,0]  | 75,15*<br>[72,76;79,53]   | 76,24*<br>[70,63;78,44]   | 97,38*#^<br>[94,06;106,65] |

|  |    |  |   |   |  |    |  |  |  |
|--|----|--|---|---|--|----|--|--|--|
|  | 2] |  | ] | ] |  | 9] |  |  |  |
|--|----|--|---|---|--|----|--|--|--|

Примечания: 1 \* – различия статистически значимы относительно животных интактной группы ( $p < 0,05$ , критерий Краскела-Уоллиса); 2 # – различия статистически значимы относительно животных контрольной группы ( $p < 0,05$ , критерий Краскела-Уоллиса); 3 ^ – различия статистически значимы относительно животных после моделирования ОРДС и применения базисной терапии ( $p < 0,05$ , критерий Краскела-Уоллиса)

На фоне в/т введения ЛПС с последующим применением эноксапарина натрия и дабигатрана этексилата было отмечено увеличение АЧТВ на 44,58 % (в 1,45 раза) и на 31,10 % (1,31 раза) относительно значений показателей у контрольных животных. Использование гепарина натрия сопровождалось критическим увеличением АЧТВ, свидетельствуя о выраженном снижении свертываемости крови. Введение ривароксабана, сулодексида и дефибротида натрия не оказывало влияния на показатели АЧТВ. Одновременно с этим назначение ривароксабана способствовало увеличению ПВ в 1,50 раза (на 51,14 %) ( $p < 0,05$ ), а назначение эндотелиопротекторов приводило к нормализации показателей ПВ до уровней значений у интактных крыс.

При анализе данных анти-Ха-активности было выявлено повышение показателя у животных после введения гепарина натрия (в 10,29 раза) и эноксапарина натрия (5,80 раза) ( $p < 0,05$ ), в то время как назначение дабигатрана этексилата, ривароксабана, сулодексида и дефибротида натрия не оказывало влияния на динамику показателя.

Содержание фибриногена у крыс во всех экспериментальных группах после использования антикоагулянтов и эндотелиопротекторов не отличалось от значений контрольных животных и животных после применения базисной терапии и было увеличено относительно интактных животных в среднем на 74,52 % ( $p < 0,05$ ).

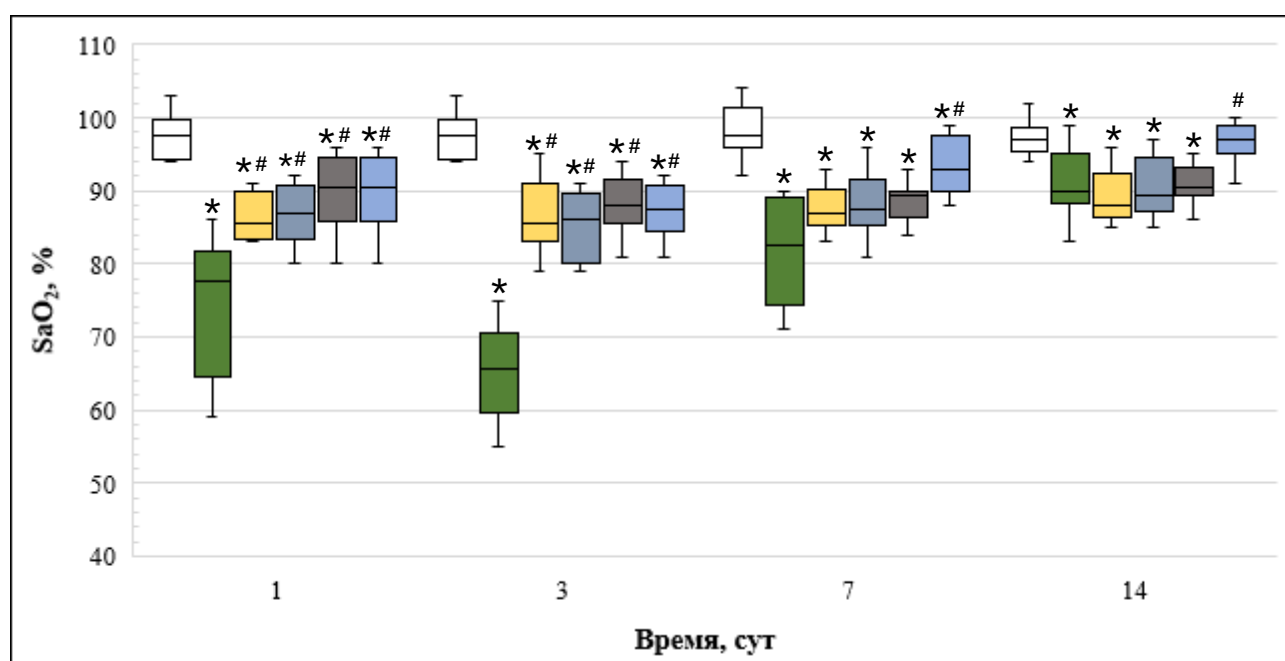
На фоне назначения гепарина натрия и дабигатрана этексилата в сочетании с препаратами базисной терапии значения РФМК не отличались от таковых у животных контрольной группы, однако уровень показателя был ниже, чем у экспериментальных животных при применении только средств базисной терапии в среднем на 13,18 % ( $p < 0,05$ ). Использование эноксапарина натрия, сулодексида и дефибротида натрия вызывало схожие гемостазиологические изменения, которые характеризовались уменьшением содержания РФМК на 40,59 %, 14,25 % и 33,90 % соответственно ( $p < 0,05$ ). Следует отметить, что указанные изменения регистрировали в сравнении как с контрольными животными, так и с животными, которым назначали только препараты базисной терапии. На фоне введения ривароксабана содержание РФМК не отличалось от значений животных после применения базисной терапии.

Активность антитромбина после назначения комбинированной терапии с ривароксабаном или сулодексидом была схожей с таковой у животных на фоне использования базисной терапии. Применение гепарина натрия приводило к снижению этого параметра как в сравнении с интактными животными (на 43,23 %), так и в сравнении с животными из группы контроля и из группы с назначением базисной терапии. Напротив, на фоне введения эноксапарина натрия, дабигатрана этексилата и дефибротида натрия отмечали положительную динамику активности антитромбина. Так, в сравнении с животными без

лечения (контроль) или с назначением базисной терапии, применение дабигатрана этексилата приводило к увеличению исследуемого показателя в среднем на 11,7 %, а использование эноксапарина натрия и дефибротида натрия – на 21,38 % и на 27,7 % соответственно ( $p<0,05$ ).

На основании результатов исследования влияния лекарственных препаратов на динамику гемостазиологических показателей для дальнейшей экспериментальной работы были отобраны антикоагулянт эноксапарин натрия и эндотелиопротектор дефибротид натрия. На 2-м этапе исследования оценивали их лечебную эффективность при назначении как в варианте монотерапии, так и при их комбинированном применении в сочетании со средствами базисной терапии.

При анализе уровня сатурации отмечено, что применение всех использованных терапевтических схем на фоне ЛПС-индуцированного ОРДС приводило к улучшению исследуемого показателя у крыс в сравнении животными, которым не назначали лечение (контроль). На 7 сут эксперимента наибольшим положительным эффектом обладало совместное назначение крысам эноксапарина натрия и дефибротида натрия. В сравнении контрольными животными исследуемый показатель был увеличен на 10,5 % ( $p<0,05$ ), тогда как отдельное назначение антикоагулянта и эндотелиопротектора, а также только средств базисной терапии не оказывало аналогичного эффекта. На 14 сут эксперимента совместное назначение крысам эноксапарина натрия и дефибротида натрия в составе комбинированной терапии ОРДС способствовало нормализации уровня сатурации до значений интактных животных (рисунок).



|                                                                                   |                      |                                                                                   |                                           |                                                                                   |          |                                                                                     |                       |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|----------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
|  | – интакт;            |  | – контроль;                               |  | – базис; |  | – эноксапарин натрия; |
|  | – дефибротид натрия; |  | – эноксапарин натрия + дефибротид натрия. |                                                                                   |          |                                                                                     |                       |

Рисунок – Динамика сатурации у крыс на фоне применения эноксапарина натрия и дефибротида натрия в составе комбинированной терапии после моделирования ЛПС-индуцированного ОРДС.

\* – различия статистически значимы относительно животных интактной группы ( $p < 0,05$ , критерий Краскела-Уоллиса); # – различия статистически значимы относительно животных контрольной группы ( $p < 0,05$ , критерий Краскела-Уоллиса).

По данным динамики массового коэффициента легких (таблица 2) применение средств базисной терапии в комбинации с эноксапарином натрия и дефибротидом натрия через 1 сут после моделирования ОРДС оказывало выраженное противоэдематозное действие. На 3–7 сут эксперимента массовый коэффициент был повышен во всех группах экспериментальных животных, однако наименьшие значения массового коэффициента детектировали при сочетанном применении эноксапарина натрия и дефибротида натрия ( $p < 0,05$ ).

Таблица 2.

**Показатели массового коэффициента легких у крыс на фоне применения эноксапарина натрия и дефибротида натрия в составе комбинированной терапии ЛПС-индуцированного ОРДС, (Me [Q1;Q3])**

| Группа животных               |                    | Срок исследования       |                          |                          |                       |
|-------------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------|
|                               |                    | 1 сут                   | 3 сут                    | 7 сут                    | 14 сут                |
| Интакт                        |                    | 6,77<br>[6,23;7,65]     | 6,93<br>[6,35;8,15]      | 6,87<br>[6,29;7,65]      | 7,18<br>[6,78;7,93]   |
| ОРДС (контроль)               |                    | 18,54*<br>[17,00;19,73] | 28,09*<br>[23,15;30,44]  | 15,11*<br>[13,02;19,37]  | 10,25<br>[7,89;11,08] |
| ОРДС+базисная терапия         |                    | 8,10#<br>[7,05;9,18]    | 21,86*#<br>[19,38;23,00] | 16,06*<br>[15,01;17,13]  | 9,77<br>[8,14;11,33]  |
| ОРДС+<br>базисная<br>терапия+ | эноксапарин натрия | 6,88#<br>[6,15;7,79]    | 20,21*#<br>[19,83;22,11] | 16,14*#<br>[15,56;18,08] | 11,68<br>[8,13;12,35] |
|                               | дефибротид натрия  | 7,15#<br>[6,62;8,03]    | 19,87*#<br>[16,79;21,55] | 17,63*#<br>[15,94;19,14] | 11,03<br>[9,14;13,44] |

|                                                 |                      |                           |                           |                      |
|-------------------------------------------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------|
| эноксапарин<br>натрия +<br>дефибротид<br>натрия | 7,21#<br>[7,00;8,13] | 15,06*#^<br>[13,14;18,99] | 12,49*#^<br>[10,36;13,24] | 8,76<br>[7,49;10,22] |
|-------------------------------------------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------|

Примечания% 1 \* – различия статистически значимы относительно животных интактной группы ( $p<0,05$ , критерий Краскела-Уоллиса); 2 # – различия статистически значимы относительно животных контрольной группы ( $p<0,05$ , критерий Краскела-Уоллиса); 3 ^ – различия статистически значимы относительно животных после моделирования ОРДС и применения базисной терапии ( $p<0,05$ , критерий Краскела-Уоллиса)

*Обсуждение.* Использование антикоагулянтов и эндотелиопротекторов в составе комбинированной терапии ЛПС-индуцированного ОРДС у крыс оказывало ряд положительных эффектов, которые были значимы для преодоления побочного действия глюкокортикостероидной терапии и усиления лечебного эффекта используемых терапевтических схем. Из антикоагулянтных препаратов наибольшим лечебным потенциалом обладали эноксапарин натрия и дабигатрана этексилат, а из эндотелиопротекторов – дефибротид натрия. Показано, что эноксапарин натрия, дабигатрана этексилат и дефибротид натрия снижали риск развития внутрисосудистого свертывания крови (посредством уменьшения уровня РФМК) и повышали активность антитромбина, при этом наилучшие результаты были отмечены для эноксапарина натрия и дефибротида натрия. При мониторинге АЧТВ и анти-Ха-активности для эноксапарина натрия и дабигатрана выявлено, что эти препараты оказывают стабильный антикоагулянтный эффект и не вызывают риска развития геморрагических осложнений. Полученные результаты соответствуют рекомендациям по исследованию безопасности антикоагулянтных препаратов [9]. Применение гепарина натрия при моделировании ЛПС-индуцированного ОРДС в сравнении с базисной терапией обладало рядом неблагоприятных последствий, в их числе критическое увеличение АЧТВ и анти-Ха-активности, а также снижение активности антитромбина, вследствие повышенного его потребления. Указанные изменения не позволяют рекомендовать применение гепарина натрия в использованных дозах в составе комбинированной терапии ОРДС, ввиду высокого риска формирования геморрагических осложнений. Следует отметить, что повышенное потребление антитромбина на фоне гепаринотерапии служит в дальнейшем фактором риска для развития отсроченных тромботических осложнений [10]. Назначение ривароксабана и сулодексиды в настоящем исследовании не оказывало положительного влияния на гемостазиологические показатели у крыс на фоне ОРДС.

Исследование эффективности курсового применения эноксапарина натрия и дефибротида натрия в составе базисной терапии при ОРДС подтвердило целесообразность их комбинированного применения с целью повышения противовоспалительного действия средств базисной терапии. По данным литературы известно, что эноксапарин натрия и дефибротид натрия помимо антикоагулянтной и эндотелиопротективной активности оказывают выраженное противовоспалительное действие, которое проявляется в снижении лейкоцитарной инфильтрации ткани легких, уменьшении продукции провоспалительных медиаторов и в снижении проницаемости структур аэрогематического барьера [5, 7, 11]. Указанные механизмы могут лежать в основе выявленных лечебных эффектов использованной терапевтической схемы.

Результаты недавно проведенного мета-анализа рандомизированных контролируемых исследований по изучению лечебной эффективности низкомолекулярных гепаринов (в том числе эноксапарина натрия) при ОРДС свидетельствовали о высоком потенциале этих препаратов. Показано, что применение антикоагулянтов в составе комбинированной терапии ОРДС способствовало снижению летальности пациентов и коррекции проявлений дыхательной недостаточности, при этом авторы делали акцент на необходимости как можно более раннего назначения этих препаратов [12, 13].

*Выводы.* Таким образом, результаты настоящего исследования позволяют сделать вывод о целесообразности комбинированного применения низкомолекулярных гепаринов и эндотелиопротекторов для повышения эффективности существующих схем противовоспалительной терапии ОРДС. Установлено, что назначение эноксапарина натрия и дефибротида натрия предупреждает развитие гемостазиологических нарушений, вызванных использованием дексаметазона, снижает выраженность отека легких и дыхательной недостаточности. Полученные результаты служат обоснованием для дальнейших исследований эффективности и безопасности совместного применения эноксапарина натрия и дефибротида натрия для коррекции гиперкоагуляционных нарушений и эндотелиальной дисфункции на ранних сроках развития ОРДС.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ярошецкий А.И., Грицан А.И., Авдеев С.Н. и др. Диагностика и интенсивная терапия острого респираторного дистресс-синдрома. *Анестезиология и реаниматология (Медиа Сфера)*. 2020; 2: 5–39. <https://doi.org/10.17116/anaesthesiology20200215>.
2. Angelini D.J., Dorsey R.M., Willis K.L. et al. Chemical warfare agent and biological toxin-induced pulmonary toxicity: could stem cells provide potential therapies? *Inhal. Toxicol.* 2013; 25(1): 37–62. <https://doi.org/10.3109/08958378.2012.750406>.
3. Башарин В.А., Чепур С.В., Щеголев А.В. и др. Роль и место респираторной поддержки в схемах терапии острого легочного отека, вызванного ингаляционным воздействием токсичных веществ. *Военно-медицинский журнал*. 2019; 340(11): 26–32.
4. Huppert L.A., Matthay M.A., Ware L.B. Pathogenesis of Acute Respiratory Distress Syndrome. *Semin Respir Crit Care Med*. 2019; 40(1): 31–39. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1683996>.
5. Camprubí-Rimblas M., Tantinyà N., Bringué J. et al. Anticoagulant therapy in acute respiratory distress syndrome. *Ann. Transl. Med.* 2018; 6(2): 36. <https://doi.org/10.21037/atm.2018.01.08>.
6. Livingstone S.A., Wildi K.S., Dalton H.J. et al. Coagulation Dysfunction in acute respiratory distress syndrome and its potential impact in inflammatory subphenotypes. *Frontiers in medicine*. 2021; 8: 723217. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.723217>.
7. Vassiliou A.G., Kotanidou A., Dimopoulou I. et al. Endothelial damage in acute respiratory distress syndrome. *International journal of molecular sciences*. 2020; 21(22): 8793. <https://doi.org/10.3390/ijms21228793>.
8. Шекунова Е.В., Ковалева М.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Выбор дозы препарата для доклинического исследования: межвидовой перенос доз. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2020; 10(1): 19–28. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-1-19-28>.
9. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.
10. Bravo-Pérez C., Vicente V., Corral J. Management of antithrombin deficiency: an update for clinicians. *Expert Rev Hematol.* 2019; 12(6): 397–405. <https://doi.org/10.1080/17474086.2019.1611424>.
11. Frame D., Scappaticci G.B., Braun T.M. et al. Defibrotide Therapy for SARS-CoV-2 ARDS. *Chest*. 2022; 162(2): 346–355. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2022.03.046>.

12. Li J., Li Y., Yang B. et al. Low-molecular-weight heparin treatment for acute lung injury/acute respiratory distress syndrome: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Clin Exp Med*. 2019; 11(2): 414–422.
13. Jiang X., Feng R., Liu J. et al. Meta-analysis of the curative effect of low molecular weight heparin on acute respiratory distress syndrome. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*. 2020; 32(12): 1472–1478. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn121430-20201019-01426>.

### References

1. Yaroshetskiy A.I., Gritsan A.I., Avdeev S.N. i dr. Diagnostics and intensive therapy of Acute Respiratory Distress Syndrome. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 2020; 2: 5–39 (in Russian). <https://doi.org/10.17116/anaesthesiology20200215>.
2. Angelini D.J., Dorsey R.M., Willis K.L. et al. Chemical warfare agent and biological toxin-induced pulmonary toxicity: could stem cells provide potential therapies? *Inhal. Toxicol*. 2013; 25(1): 37–62. <https://doi.org/10.3109/08958378.2012.750406>.
3. Basharin V.A., Chepur S.V., Shchegolev A.V. i dr. The role and place of respiratory support in the treatment regimens for acute pulmonary edema caused by inhalation of toxic substances. *Voenno-meditsinskij zhurnal*. 2019; 340(11): 26–32 (in Russian).
4. Huppert L.A., Matthay M.A., Ware L.B. Pathogenesis of Acute Respiratory Distress Syndrome. *Semin Respir Crit Care Med*. 2019; 40(1): 31–39. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1683996>.
5. Camprubí-Rimblas M., Tantinyà N., Bringué J. et al. Anticoagulant therapy in acute respiratory distress syndrome. *Ann. Transl. Med*. 2018; 6(2): 36. <https://doi.org/10.21037/atm.2018.01.08>.
6. Livingstone S.A., Wildi K.S., Dalton H.J. et al. Coagulation Dysfunction in acute respiratory distress syndrome and its potential impact in inflammatory subphenotypes. *Frontiers in medicine*. 2021; 8: 723217. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.723217>.
7. Vassiliou A.G., Kotanidou A., Dimopoulou I. et al. Endothelial damage in acute respiratory distress syndrome. *International journal of molecular sciences*. 2020; 21(22): 8793. <https://doi.org/10.3390/ijms21228793>.
8. Shekunova T.V., Kovaleva M.A., Makarova M.N. i dr. Dose selection in preclinical studies: cross-species dose conversion. *The Bulletin of the scientific centre for expert evaluation of medicinal products*. 2020; 10(1): 19–28 (in Russian). <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-1-19-28>.
9. Mironov A.N. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennyh sredstv. Chast' pervaya. M.: Grif I K; 2021. 944 s.

10. Bravo-Pérez C., Vicente V., Corral J. Management of antithrombin deficiency: an update for clinicians. *Expert Rev Hematol.* 2019; 12(6): 397–405. <https://doi.org/10.1080/17474086.2019.1611424>.
11. Frame D., Scappaticci G.B., Braun T.M. [et al.] Defibrotide Therapy for SARS-CoV-2 ARDS. *Chest.* 2022; 162(2): 346–355. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2022.03.046>.
12. Li J., Li Y., Yang B. et al. Low-molecular-weight heparin treatment for acute lung injury/acute respiratory distress syndrome: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Clin Exp Med.* 2019; 11(2): 414–422.
13. Jiang X., Feng R., Liu J. et al. Meta-analysis of the curative effect of low molecular weight heparin on acute respiratory distress syndrome. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.* 2020; 32(12): 1472–1478. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn121430-20201019-01426>.