

СОНИН Д. Л.^{1, 2}, ПЕТРИЩЕВ Н. Н.^{1, 2},
ТЮКАВИН А. И.^{1, 3}, ИВКИН Д. Ю.^{1, 3}

Экспериментальные модели венозного тромбоза на мелких лабораторных животных

¹Федеральный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

³Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: sonin_d@mail.ru

Реферат

Статья посвящена анализу экспериментальных моделей венозного тромбоза у крыс и мышей. Сделано заключение, что для получения хорошо воспроизводимого венозного тромбоза у мелких лабораторных животных наиболее успешно применяются модели стаза, стеноза, аппликации солевых растворов (хлористого железа) и электролитическая модель. Особое место среди моделей венозного тромбоза занимает тромбоз, инициируемый лазерным излучением. Эта модель позволяет изучать клеточные механизмы тромбообразования в функционирующем микроциркуляторном русле. В последние годы при проведении доклинических исследований эффективности антикоагулянтов используется ультразвуковой метод визуализации, позволяющий прижизненно наблюдать и определять размеры тромба, как в процессе его формирования, так и после введения тестируемых соединений. В обзоре приводятся данные о гендерных различиях и особенностях методов моделирования тромбоза, которые могут влиять на характер тромбообразования, время наблюдения и спектр получаемых результатов.

Ключевые слова: венозный тромбоз, экспериментальная модель, тромбообразование, стаз, хлористое железо, лазериндуцированный тромбоз, фотодинамический тромбоз.

Введение

Проблему венозных тромбозов и тромбоэмболических осложнений в литературе описывают как «молчащую эпидемию», поскольку в большинстве случаев венозные тромбозы в течение длительного времени клинически ничем не проявляются, что не позволяет оценить их истинную встречаемость [9]. Данные эпидемиологических исследований, касающихся только заболеваний с клиническими проявлениями, позволяют отнести венозные тромбозы к числу наиболее распространенных и социально значимых заболеваний системы кровообращения [1]. Ежегодно в большинстве стран, включая Россию, на 100 000 населения первично регистрируют тромбоз глубоких вен у 160 человек, а тромбоэмболию легочной артерии — у 50–60 человек [10, 37]. Тромбоэмболию легочной артерии в зарубежной литературе рассматривают как составную часть синдрома тромбоза системы верхней и нижней полых вен под общим названием «венозный тромбоэмболизм» [37].

Механизмы тромбообразования впервые описал Рудольф Вирхов. Повреждение эндотелия, замедление кровотока и повышенная свертываемость крови составляют классическую триаду, названную его именем. Считается, что наиболее значимыми для возникновения венозного тромбоза являются гемодинамические нарушения, а именно — замедление кровотока, а также нарушения структуры потока крови в области венозных клапанов. При этих условиях ключевую роль в формировании тромба играет по-

вреждение эндотелия сосудистой стенки, экспрессия эндотелиоцитами и лейкоцитами тканевого фактора с последующей активацией каскада системы свертывания крови [52].

Модели тромбоза вен

Модели венозного тромбоза применяются для изучения стадий процесса тромбообразования, роли тромбогенных факторов, а также с целью оценки эффективности фармакологических агентов, которые используются для профилактики и лечения тромбоза вен. Главной проблемой воспроизведения венозного тромбоза в эксперименте является отсутствие, в отличие от человека, тромбофилического синдрома у лабораторных животных.

В современных исследованиях, посвященных доклинической оценке эффективности антикоагулянтов, в качестве моделей венозного тромбоза используется экспериментальная технология локальной гиперкоагуляции, предложенная S. Wessler et al. (1959) [50]. Тромбоз воспроизводится комбинацией гиперкоагуляции с последующим венозным стазом. Для этого животным вводят гетерогенную сыворотку или раствор тканевого тромбопластина. Венозный стаз достигается путем перевязки или пережатия обычно крупной вены. У мелких лабораторных животных это брюшной отдел задней полой вены (ЗПВ), на 15–60 мин [2, 3, 27, 38, 50]. Добавление в кровоток радиоактивно-меченного фибриногена

ОБЗОР

на разных этапах моделирования стаза и введения тромболитиков позволяет оценивать динамику развития тромба [14].

Другим способом активации системы свертывания крови в эксперименте *in vivo* является введение каолин-кефалиновой смеси. Эта смесь служит реагентом для анализа частичного тромбопластинового времени или времени активации фактора X (каолин-контактный активатор и кефалин-фосфолипид). Частичное тромбопластиновое время зависит от содержания в крови ряда факторов свертывания крови (II, V, VIII, IX, X, XI, XII и фибриногена), что позволяет оценить состояние коагуляционного гемостаза. Для моделирования тромбоза сосудов головного мозга К. Ungersöbck et al. (1993) каолин-кефалиновую смесь вводили лабораторным крысам в сагиттальный синус, предварительно вызывая стаз в венозной системе мозга путем перевязки поперечного синуса проксимально и дистально [46].

Ряд исследователей для создания венозного тромбоза использовали только стаз. Для этого перевязывали венозный ствол или устанавливали на него сосудистый зажим без дополнительных вмешательств [6]. J. Zhou et al. (2009) с этой целью перевязывали заднюю полую вену крысы дистальнее места отхождения почечных вен [52]. В этих условиях эксперимента тромбоз развивался у большинства крыс в течение 15 мин, а спустя час тромб регистрировали практически у всех животных. Эта модель подходит для анализа механизмов тромбообразования. В первые минуты после перевязки полую вену наблюдалась дилатация вены дистальнее места наложения лигатуры. Через 15 мин эндотелий и лейкоциты интенсивно вырабатывали тканевой фактор. Механизм его экспрессии при венозном стазе остается неизвестным. Полагают, что экспрессия тканевого фактора, возникающая через 15 мин после перевязки вены, связана с избыточным растяжением сосудистой стенки. Одновременное появление тканевого фактора на эндотелии и лейкоцитах, а также Р-селектина, связывающего лейкоциты с эндотелием, инициирует образование тромбов. Образовавшиеся венозные тромбы состоят из фибрина, тромбоцитов и эритроцитов, а также моноцитов и нейтрофилов. При этом не исключается, что механизмом, подкрепляющим коагуляцию крови, является вызванная стазом локальная гипоксия, опосредующая дисфункцию эндотелия и активацию макрофагов.

При моделировании тромба путем стеноза, под лигатуру (4-0 шелк), которой перевязывают ЗПВ, подкладывают другую нить известного диаметра (например, 5-0 пролен у мышей), которую убирают после завязывания узла вокруг вены [44]. Этой процедурой достигается уменьшение скорости кровотока по дистальному участку ЗПВ на 80–90 % [29]. Преимущество стеноза перед полной перевязкой сосуда заключается в сохранении кровотока по участку, где образуется тромб, что способствует быстрой доставке тестируемых соединений при фармакологических исследованиях. В таблице описаны варианты и особенности моделей венозного стаза и стеноза у мышей.

Другим способом моделирования венозного тромбоза является повреждение сосудистой стенки, что ведет к снижению ее тромборезистентности. С этой целью наиболее часто используют метод аппликации раствора FeCl₃ на поверхность изолированной вены [41]. Технология воспроизведения этого метода у мышей приведена в таблице.

В исследованиях М. N. Aghourian (2012) впервые была использована высокочастотная ультразвуковая технология Vevo 770 для неинвазивного наблюдения за тромбообразованием в ЗПВ мышей [12]. Для индукции венозного тромбоза авторы в одной группе использовали метод аппликации раствора FeCl₃, а в другой — модель стаза ЗПВ. При сравнении результатов, полученных ультразвуковым методом, с результатами, полученных гистопатологически (путем измерения тромбов с помощью линейки) не было выявлено расхождений. Преимущество модели стаза ЗПВ заключалось в хорошей выживаемости мышей по сравнению с методом аппликации раствора FeCl₃. Менее дорогой вариант данного метода визуализации, с использованием стандартной ультразвуковой системы (13 МГц датчик, *Vivid 7 ultrasound system*), предложили F. Guenther et al. (2012) [24]. Используя те же модели венозного тромбоза, авторы показали, что с контрастным усилением ультразвука (микропузырьки гексафторида серы) можно наблюдать в режиме реального времени тромбообразование со стандартной ультразвуковой системой.

J. Millet et al. (1987) предложили способ снижения тромборезистентности сосудистого эндотелия ЗПВ крысы путем нагнетания через иглу физиологического раствора со скоростью 10 мл/мин в течение 15 с [34]. Этим достигалась дискретное повреждение эндотелия. Предварительно, перед «промывкой» физиологическим раствором, для формирования стеноза участок ЗПВ ниже места отхождения почечных вен частично пережимался лигатурой, а на дистальный отдел накладывалась клипса. В результате этих манипуляций в отделе ЗПВ, в котором моделировали тромбоз, наблюдалась дилатация. После «промывки» этого отрезка вены клипса снималась для частичного восстановления кровотока через стеноз, а через 15 мин тромб извлекался для анализа. В эти же годы J. Hladovec (1986) вызывал повреждение эндотелия крысы путем внутривенного введения гипотонического солевого раствора в сочетании с лигированием задней полую вены [28]. Таким образом, повреждение сосудистой стенки и эндотелия для индукции тромбоза можно комбинировать с созданием стеноза или стаза.

Следующим способом повреждения эндотелия, вызывающего формирование тромба у экспериментальных животных, является электролитический метод. В сосудистую стенку вводится микроэлектрод — анод, а подкожно второй — катод. На электроды подается постоянный ток (250 μ A) в течение 15 мин [20]. Функциональная схема такой модели у мышей показана на рисунке, а технология ее воспроизведения описана в таблице. Преимущество электролитического метода состоит в том, что в момент повреждения эндотелия вен кровотоки по сосудам

Модели глубокого венозного тромбоза у мышей согласно J. A. Diaz et al. (2012)

Таблица					
Характеристика	Модель				
	с использованием хлорида железа	стаза с перевязкой ЗПВ	стеноза ЗПВ		Электролитическая модель тромбоза ЗПВ
Краткое описание метода	2–4 мм фильтровальная бумага, пропитанная 3,5–10 %-м раствором FeCl ₃ помещается на поверхность венул, ягулярной или подкожной вен	Нейтральная лигатура помещается вокруг ЗПВ дистальнее почечной вены для создания венозного стаза	Сосудистой клипсой повреждается венозная стенка, затем шелковой лигатурой 4-0 ЗПВ обвязывается вместе с проленовой лигатурой 5-0, поле формирования узла пролен вытаскивается	ЗПВ вместе с 30 G иглой обвязывается проленовой лигатурой 7-0, после формирования узла игла вытаскивается	Игла, помещенная в ЗПВ с проходящим по ней электрическим током, вызывает формирование тромба при непрерывном кровотоке
Ветви	–	Боковые перевязываются, а задние катетеризируются	остаются открытыми	Боковые лигируются, а задние остаются открытыми	Боковые лигируются, а задние остаются открытыми
Преимущества метода	Через минуты после повреждения формируется окклюзирующий тромб, что позволяет изучать скорость тромбообразования	Модель позволяет оценить состояние венозной стенки и окклюзирующего тромба. Модель полезна при изучении взаимоотношения венозной стенки и окклюзирующего тромба с целью наблюдения за переходом острого течения тромбоза в хронический	Сниженный кровотоков в сочетании с временной эндотелиальной компрессией, продуцирует ламинарный тромб, позволяющий изучать клеточную кинетику. Эта модель часто использовалась	–	Одинаковая величина тромбов, которые имеют достаточную величину для изучения тромбогенеза, способов его профилактики и средств для лечения
Недостатки метода	Вызывает повреждение всех слоев венозной стенки, что редко встречается в клинике глубокого венозного тромбоза	Отсутствие кровотока препятствует максимальному воздействию на тромб и венозную стенку системно вводимых терапевтических препаратов	Непостоянство в степени стеноза ведет к выраженным различиям в размерах тромбов. В некоторых случаях растущий тромб окклюзирует зону стеноза, и модель стеноза трансформируется в модель стаза		Требуется 15 мин для воздействия электролитами. Возможно повреждение венозной стенки в месте прокола иглой

Окончание таблицы

Характеристика	Модель			
	с использованием хлорида железа	стаза с перевязкой ЗПВ	стеноза ЗПВ	Электролитическая модель тромбоза ЗПВ
Цель использования	Для изучения острого тромбообразования	Для изучения острого и хронического венозного тромбоза, вызванного стазом	Для изучения острых и хронических венозных тромбозов, не сопровождающихся окклюзией	Для изучения острых и хронических венозных тромбозов, не сопровождающихся окклюзией
Размер тромба	Конечная точка — изучение венозной окклюзии	Незначимая вариация	Значительные вариации в размерах тромбов	Малые вариации в размерах тромбов
Ссылки	[15; 51; 52]	[16, 25, 26, 39, 40]	[13, 17, 18, 20, 36]	[19, 32, 35]
Наблюдения и рекомендации	Трансмуральное повреждение является началом относительно редких случаев глубокого тромбоза вен (ожоговый или посттравматический). Данная модель может быть использована для изучения патогенеза этих состояний	В сравнении с другими моделями, этот способ не может повторить сценарий, в котором тромб реканализуется после формирования, однако этим способом можно смоделировать полную окклюзию	В сравнении с другими моделями, эти модели повторяют клинические случаи реканализации тромба у пациентов	Эта модель повторяет клинические случаи реканализации тромба у пациентов

сохраняется. Недостатком этой модели является необходимость повреждения всей толщи стенки сосуда.

В настоящее время разработан оригинальный физический метод индукции тромбоза с помощью лазерного облучения (лазериндуцированный тромбоз), который лишен ряда недостатков этой технологии [20]. Лазериндуцированный тромбоз широко применяется в экспериментах на мелких лабораторных животных для прижизненного изучения процесса тромбообразования, а также в доклинических испытаниях оригинальных гипокоагулянтов. Главным преимуществом метода лазер-индуцированного тромбоза является возможность послойного повреждения стенки сосуда изнутри, начиная с эндотелия. Это достигается подбором мощности лазерного излучения на сосудистую стенку и использованием веществ, интенсивно поглощающих лазерное излучение.

Принцип этого метода заключается в повреждении эндотелия сосуда вследствие поглощения энергии лазерного излучения кровью или красителем, введенным в кровоток, выделением тепла и, как следствие, повреждением стенки сосуда изнутри. Для поглощения энергии лазерного луча используются такие красители, как флуоресцеин изотиоцианат (FITC)-декстран и синий Эванса [30].

Лазерным воздействием на бедренную вену крысы и введением ей бенгальского розового венозный тромбоз вызывали A. R. Saniabadi et al. (1995) [42]. Животным сначала внутривенно вводили фотосенсибилизатор (бенгальский розовый), а затем производили локальное лазерное облучение вены (длина волны — 520 нм). Фотодинамическое повреждение эндотелия бенгальским розовым связано с образованием синглетного кислорода $1O_2$ в результате возбуждения излучением лазера молекул красителя и молекулярного кислорода.

Таким образом, в современных моделях венозного тромбоза практически всегда используется в качестве ведущего воздействия комбинация двух факторов из триады Вирхова.

Такое сочетание факторов в имеющихся моделях позволяет вызвать тромбообразование у здорового лабораторного животного и получать хорошо воспроизводимые модели венозного тромбоза. Различное сочетание факторов триады Вирхова и острота используемого воздействия позволяют воспроизводить в эксперименте различные клинические ситуации приводящие к тромбозу. Так, использование хлорида железа по механизму развития тромбоза соответствует травматическому или ожоговому тромбооб-

Модель стаза ЗПВ.
Тромб формируется при
отсутствии кровотока

Модель стеноза ЗПВ.
Тромб формируется в условиях
сохраненного кровотока

Электролитическая модель ЗПВ.
Тромб формируется при
наличии кровотока

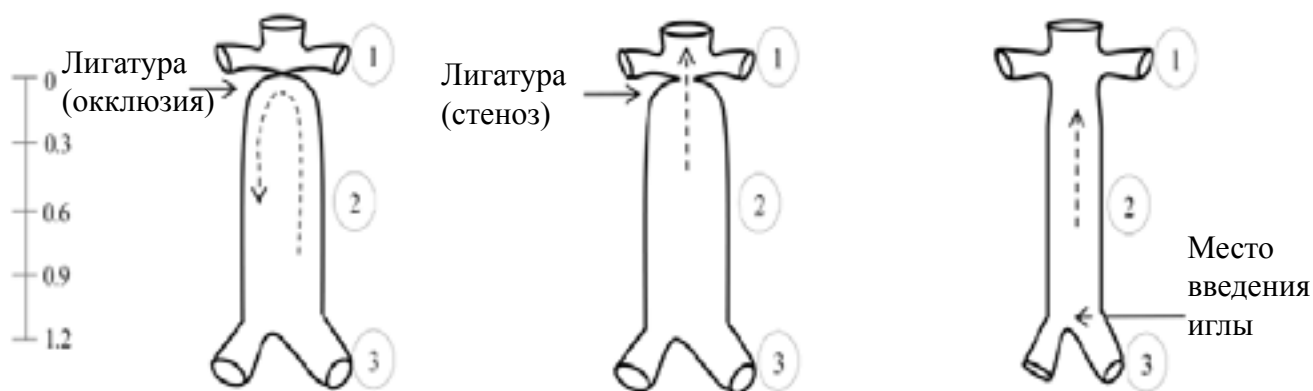


Рис. Модели венозного стаза, стеноза и электролитическая модель с использованием задней полой вены мыши (по J. A. Diaz et al., 2012): 1 — почечные вены; 2 — задняя полая вена; 3 — подвздошные вены

разованию и может использоваться для изучения как острого, так и хронического венозного тромбоза.

Моделирование артериального тромбоза, а также синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови на мелких животных занимают специальный раздел в изучении экспериментальной патологии гемостаза, поскольку их механизмы отличаются от таковых при тромбозах вен.

Время наблюдения

Модели венозного тромбоза разделяют на острые (от начала воздействия до 3-х дней), подострые (от 3-его дня до ~10-го дня) и хронические. При длительном наблюдении обнаруживаются изменения в структуре тромба и сосудистой стенки. В «свежем» тромбе (не более 3-х дней) присутствуют нейтрофилы и мало макрофагов. Макрофаги появляются в структуре тромба с началом коллагенообразования. На 21-й день тромб постепенно становится компактным и плотно связанным с венозной стенкой [21, 45].

В литературе последних лет имеется несколько экспериментальных исследований, в которых оценивалась эффективность профилактики венозного тромбоза и тромболитической терапии у крыс [27, 43, 45, 49]. Так, в исследовании J. M. Herbert et al. (1992) гиперкоагуляция создавалась тромбoplastином до моделирования стаза путем перевязки ЗПВ в двух местах: под отхождением почечных вен и перед делением на подвздошные вены [27]. Исследуемые препараты (гепарин и гирудин) вводились до введения тромбoplastина. Эффективность антитромботической терапии оценивалась по отсутствию тромба или изменению его массы.

М. М. Шамцян и др. (2010) изучили способность ферментного препарата, полученного из нативного раствора культуральной жидкости гриба *Coprinus sp.*, растворять артериальные и венозные тромбы у крыс [11]. В качестве модели венозного тромбоза была использована 24-часовая окклюзия ЗПВ. Об эффективности препарата судили по сухой массе тромбов,

образовавшихся в полой вене, а также по линейной скорости кровотока, определяемой высокочастотной ультразвуковой доплерографией. Показано, что ферментный препарат обладает выраженной тромболитической активностью.

Выбор методики в зависимости от размеров вен

Для моделирования острого и хронического тромбоза чаще всего используют крупные вены. У крыс и мышей это ЗПВ. Для изучения механизмов тромбоза в первые минуты его возникновения используют модель острого тромбоза венул брыжейки (30–50 мкм) с прижизненным микрокопированием [7, 8, 13, 23]. Наиболее адекватным для этих целей является метод лазериндуцированного тромбоза. Для повреждения стенки микрососуда лазером требуется точная фокусировка луча на исследуемую область. А. С. Кондратьев и др. (2013) разработали специальную технологию для дозированного воздействия лазерного луча на микрососуды, сфокусированного в плоскости объекта через объектив микроскопа [4].

В экспериментах F. Doutremepuich et al. (1998) повреждение микрососудов брыжейки (артериолы и венулы) крыс достигалось воздействием аргонового лазера, на фоне гиперкоагуляции, вызванной введением различных концентраций фибриногена, при этом наблюдалась положительная корреляция между количеством эмболий, их продолжительностью и концентрацией фибриногена [22]. Крупные вены используются для моделирования острого и хронического тромбоза глубоких вен. ЗПВ удобна для исследования сосудистой стенки и тромба с целью его биохимического и гистологического анализа и оценки массы тромба, что важно для исследования эффективности перспективных химических соединений.

Анатомия вен и тромбообразование

У мышей латеральные и задние ветки ЗПВ создают кровотоки в области формирующегося тромба и

потенциально могут ограничивать его размер. Большие анатомо-топографические различия в расположении ветвей ЗПВ влияют на размер тромба. В связи с этим для стандартизации группы рекомендуется перевязывать боковые ветви [21]. Заинтересованный читатель может найти иллюстрированное описание способа перевязки боковых ветвей ЗПВ в статье L. A. VanLangevelde et al. (2005) [48].

Гендерные различия

В большинстве экспериментальных исследований используются только самцы животных, однако в доклинических исследованиях препаратов, влияющих на гемостаз, необходимо учитывать возможные гендерные различия. Необходимость использования самок при оценке эффективности антикоагулянтов и антиагрегантов во многом определяется наличием на их сосудах и тромбоцитах рецепторов к эстрадиолу, который обладает вазопротективными свойствами [47]. Это свойство отчасти объясняется уменьшением образования свободных радикалов в гладкомышечных клетках под влиянием эстрогенов [33], а также усилением синтеза оксида азота эндотелиальной синтазой оксида азота. Кроме того, в экспериментах на животных было показано, что эстрадиол обладает противовоспалительным свойством, в отличие от пероральных эстрогенов, используемых в клинической практике [33]. L. A. VanLangevelde et al. (2005) изучили гендерные различия в тромбообразовании и воспалительной реакции сосудистой стенки у крыс, используя модель окклюзии ЗПВ [48].

Хотя масса тромба на 1-й и 3-й день у самок была больше, достоверных различий не было выявлено. В то же время, было установлено достоверное увеличение числа тромбоцитов на 1-й день у самок, а на 3-й день — циркулирующих лейкоцитов у самцов.

Кроме того, у самцов на 3-и сутки была более выраженная инфильтрация венозной стенки нейтрофилами и макрофагами. Авторы предположили, что это могло стать причиной более активной резорбции тромба у самцов и возникновения небольших различий в массе тромбов между самцами и самками.

Литература

1. Белянина Е. О., Гаврилов Е. К., Гудымович В. Г. и др. Основы клинической флебологии. М.: Нац. мед.-хирург. центр им. Н. И. Пирогова. 2005. 312 с.
2. Дрозд Н. Н., Макаров В. А., Мифтахова Н. Т. и др. Антитромботическая активность парааминобензойной кислоты // Эксперимент. и клин. фармакол. 2000. Т. 63. № 3. С. 40–44.
3. Дрозд Н. Н., Макаров В. А., Мифтахова Н. Т. и др. Антитромботическая активность отечественного препарата «антитромбин III» на модели индуцированного венозного тромбоза // Бюлл. эксперимент. биол. и мед. 2006. Т. 142. № 7. С. 75–77.
4. Кондратьев А. С., Михайлова И. А., Петрищев Н. Н. Моделирование различных форм повреждения сосудистой стенки с помощью лазерного излучения // Росс. физиолог. журн. им. И. М. Сеченова. 2013. Т. 99. № 6. С. 745–750.
5. Котельников М. В., Котельникова Н. Ю., Новиков Ю. К., Новиков П. В. Тромбоэмболия легочной артерии:

Заключение

Основной принцип получения венозного тромбоза в эксперименте — это реализация одного-двух факторов триады Вирхова. При создании моделей венозного тромбоза их авторы стремились к максимальному соответствию механизмов тромбообразования в экспериментальной модели с процессами, происходящими у пациентов в клинике.

Сложность достижения идентичности механизмов инициации тромбообразования во многом связано с тем, что у лабораторных животных венозный тромбоз не возникает спонтанно, поэтому при инициации начального этапа тромбообразования часто прибегают к комбинации повреждающих факторов с введением натуральных или искусственных активаторов коагуляции. В связи с этим появилось много модификаций методик венозного тромбоза, и ни одну из них нельзя считать оптимальной. Для получения хорошо воспроизводимого венозного тромбоза у мелких экспериментальных животных наиболее успешно применяются модели стаза, стеноза, аппликации солевых растворов (хлористого железа) и электролитическая модель. По продолжительности наблюдения модели воспроизводят острые, подострые и хронические патологические процессы.

Особое место среди моделей венозного тромбоза занимает тромбоз, инициируемый лазером. Это обусловлено тем, что она точнее, чем электролитический метод, воспроизводит механизмы тромбообразования у пациентов. Немаловажным преимуществом этой модели является возможность изучения клеточных механизмов тромбообразования в функционирующем микроциркуляторном русле.

Одной из последних новаций, которая утверждается как необходимое исследование на доклиническом этапе оценки эффективности антикоагулянтов, является оценка скорости образования тромба и кровотока по сосуду в реальном времени по данным доплерографии [12]. Данный метод визуализации позволяет прижизненно наблюдать и измерять тромб как в процессе его формирования, так и в процессе лизиса после введения тромболитика

совершенствование диагностики и подходы к антикоагулянтной терапии // Клиницист. 2010. № 1. С. 38–47.

6. Кузнецова И. В., Шevela А. И., Морозов В. В. и др. Экспериментальные модели венозного тромбоза и возможность применения клеточных технологий для коррекции тромботических состояний // Флебология. 2012. Т. 6. № 1. С. 43–47.

7. Петрищев Н. Н., Михайлова И. А. Лазер-индуцированный тромбоз микрососудов. СПб.: СПбГМУ, 2001. 88 с.

8. Петрищев Н. Н., Михайлова И. А., Михайлов В. Н. и др. Метод прижизненного тромбообразования с использованием полупроводникового лазера в микрососудах брыжейки у крыс // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2009. Т. 8. № 2. С. 68–72.

9. Родюкова И. С., Прохорович Е. А., Носова А. В. «Молчащая эпидемия»: тромбоэмболия легочной артерии в практике клинициста // Врач скорой помощи. 2012. № 4. С. 55–62.

10. Савельев В. С., Гологорский В. А., Кириченко А. И. и др. *Флебология: рук-во для врачей*. М.: Медицина, 2001. 664 с.
11. Шамцян М. М., Петрищев Н. Н., Денисова Н. П. и др. Ферментный препарат тромболитического и фибринолитического действия из базидиального гриба рода *sorpinus*: пат. на изобретение RUS 2435848. Опубл. 31.05.2010.
12. Aghourian M. N., Lemarié C. A., Blostein M. D. *In vivo monitoring of venous thrombosis in mice* // *J. Thromb. Haemost.* 2012. Vol. 10. № 3. P. 447–452.
13. Andre P., Denis C. V., Ware J. et al. *Platelets adhere to and translocate on von willebrand factor presented by endothelium in stimulated veins* // *Blood*. 2000. № 96. P. 3322–3328.
14. Biemond B. J., Perzborn E., Friederich P. W. et al. *Prevention and treatment of experimental thrombosis in rabbits with rivaroxaban (BAY 597939) — an oral, direct factor Xa inhibitor* // *Thromb Haemost.* 2007. Vol. 97. № 3. P. 471–477.
15. Bonnefoy A., Daenens K., Feys H. B. et al. *Thrombospondin-1 controls vascular platelet recruitment and thrombus adherence in mice by protecting (sub)endothelial VWF from cleavage by ADAMTS13* // *Blood*. 2006. № 107. P. 955–964.
16. Brill A., Fuchs T. A., Chauhan A. K. et al. *Von willebrand factor-mediated platelet adhesion is critical for deep vein thrombosis in mouse models* // *Blood*. 2011. № 117. P. 1400–1407.
17. Burnand K. G., Gaffney P. J., McGuinness C. L. et al. *The role of the monocyte in the generation and dissolution of arterial and venous thrombi* // *Cardiovasc. Surg.* 1998. № 6. P. 119–125.
18. Cooley B. C., Szema L., Chen C. Y. et al. *A murine model of deep vein thrombosis: characterization and validation in transgenic mice* // *Thromb Haemost.* 2005. № 94. P. 498–503.
19. Cooley B. C. *In vivo fluorescence imaging of large-vessel thrombosis in mice* // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011. № 31. P. 1351–1356.
20. Diaz J. A., Hawley A. E., Alvarado C. M. et al. *Thrombogenesis with continuous blood flow in the inferior vena cava: a novel mouse model* // *Thromb Haemost.* 2010. № 104. P. 366–375.
21. Diaz J. A., Obi A. T., Myers D. D. Jr. et al. *Critical review of mouse models of venous thrombosis* // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012. Vol. 32. № 3. P. 556–562
22. Doutremepuich F., Aguejouf O., Belougne-Malfatti E., Doutremepuich C. *Fibrinogen as a factor of thrombosis: experimental study* // *Thromb Res.* 1998. Vol. 90. № 2. P. 57–64.
23. Frenette P. S., Johnson R. C., Hynes R. O., Wagner D. D. *Platelets roll on stimulated endothelium in vivo: an interaction mediated by endothelial P-selectin* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. Vol. 92. № 16. P. 7450–7454.
24. Guenther F., Herr N., Mauler M. et al. *Contrast ultrasound for the quantification of deep vein thrombosis in living mice: effects of enoxaparin and P2Y12 receptor inhibition* // *J. Thromb. Haemost.* 2013. Vol. 11. № 6. P. 1154–1162.
25. Henke P. K., Varga A., De S. et al. *Deep vein thrombosis resolution is modulated by monocyte cxcr2-mediated activity in a mouse model* // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004. № 24. P. 1130–1137.
26. Henke P. K., Mitsuya M., Luke C. E. et al. *Toll-like receptor 9 signaling is critical for early experimental deep vein thrombosis resolution* // *Arterioscler. Thromb Vasc. Biol.* 2011. № 31. P. 43–49.
27. Herbert J. M., Bernat A., Maffrand J. P. *Importance of platelets in experimental venous thrombosis in the rat* // *Blood*. 1992. Vol. 80. № 9. P. 2281–2286.
28. Hladovec J. *A sensitive model of venous thrombosis in rats* // *Thromb Res.* 1986. Vol. 43. № 5. P. 539–544.
29. Humphries J., McGuinness C. L., Smith A. et al. *Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) accelerates the organization and resolution of venous thrombi* // *J. Vasc. Surg.* 1999. Vol. 30. № 5. P. 894–899.
30. Kretz C. A., Vaezzadeh N., Gross P. L. *Tissue factor and thrombosis models* // *Arterioscler. Thromb Vasc. Biol.* 2010. Vol. 30. № 5. P. 900–908.
31. Levi M., Dörffle-Melly J., Johnson G. J. et al. *Cellular and Molecular Models of Thrombosis and Haemostasis of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Usefulness and limitations of animal models of venous thrombosis* // *Thromb Haemost.* 2001. Vol. 86. № 5. P. 1331–1333.
32. Meier T. R., Myers D. D. Jr, Wroblewski S. K. et al. *Prophylactic p-selectin inhibition with psi-421 promotes resolution of venous thrombosis without anticoagulation* // *Thromb Haemost.* 2008. № 99. P. 343–351.
33. Miller V. M., Duckles S. P. *Vascular actions of estrogens: functional implications* // *Pharmacol. Rev.* 2008. Vol. 60. № 2. P. 210–241.
34. Millet J., Theveniaux J., Pascala M. *A new experimental model of venous thrombosis in rats involving partial stasis and slight endothelium alterations* // *Thrombosis. Res.* 1987. Vol. 45. № 2. P. 123–133.
35. Myers D. D. Jr., Schaub R., Wroblewski S. K. et al. *P-selectin antagonism causes dose-dependent venous thrombosis inhibition* // *Thromb Haemost.* 2001. № 85. P. 423–429.
36. Myers D. D. Jr., Rectenwald J. E., Bedard P. W. et al. *Decreased venous thrombosis with an oral inhibitor of p selectin* // *J. Vasc. Surg.* 2005. № 42. P. 329–336.
37. Ouellette D. W., Patocka C. *Pulmonary embolism* // *Emerg. Med. Clin. North. Am.* 2012. Vol. 30. № 2. P. 329–375.
38. Perzborn E., Roehrig S., Straub A. et al. *Rivaroxaban: a new oral factor Xa inhibitor* // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010. Vol. 30. № 3. P. 376–381.
39. Pierangeli S. S., Harris E. N. *Antiphospholipid antibodies in an in vivo thrombosis model in mice* // *Lupus.* 1994. № 3. P. 247–251.
40. Ramacciotti E., Myers D. D. Jr., Wroblewski S. K. et al. *P-selectin/PSGL-1 inhibitors versus enoxaparin in the resolution of venous thrombosis: a meta-analysis* // *Thromb. Res.* 2010. № 125. P. e138–e142.
41. Röttger C., Madlener K., Heil M. et al. *Is heparin treatment the optimal management for cerebral venous thrombosis? Effect of abciximab, recombinant tissue plasminogen activator, and enoxaparin in experimentally induced superior sagittal sinus thrombosis* // *Stroke.* 2005. Vol. 36. № 4. P. 841–846.
42. Saniabadi A. R., Umemura K., Matsumoto N. et al. *Vessel wall injury and arterial thrombosis induced by a photochemical reaction* // *Thromb Haemost.* 1995. Vol. 73. № 5. P. 868–872.
43. Shuster K. A., Wroblewski S. K., Hawley A. E. et al. *Prothrombotic effects of thrombolytic therapy in a rat (Rattus norvegicus) model of venous thrombolysis* // *Comp. Med.* 2013. Vol. 63. № 3. P. 244–251.
44. Singh I., Smith A., Vanzielegem B. et al. *Antithrombotic effects of controlled inhibition of factor VIII with a partially inhibitory human monoclonal antibody in a murine vena cava thrombosis model* // *Blood.* 2002. Vol. 99. № 9. P. 3235–3240.
45. Sood V., Luke C. E., Deatrick K. B. et al. *Urokinase plasminogen activator independent early experimental thrombus resolution: MMP2 as an alternative mechanism* //

Thromb Haemost. 2010. Vol. 104. № 6. P. 1174–1183.

46. Ungersböck K., Heimann A., Kempfski O. Cerebral blood flow alterations in a rat model of cerebral sinus thrombosis // *Stroke*. 1993. Vol. 24. № 4. P. 563–569.

47. Valera M. C., Gratacap M. P., Gourdy P. et al. Chronic estradiol treatment reduces platelet responses and protects mice from thromboembolism through the hematopoietic estrogen receptor α // *Blood*. 2012. Vol. 120. № 8. P. 1703–1712.

48. VanLangevelde L. A., Anchill S. E., Wroblewski S. K. et al. Gender differences in deep venous thrombosis in a rat model: a preliminary study // *Comp. Med.* 2005. № 55 (1). P. 55–60.

49. Wang C., Yang F., Xu Z. et al. Intravenous release of NO from lipidic microbubbles accelerates deep vein thrombosis

resolution in a rat model // *Thromb Res.* 2013. Vol. 131. № 1. P. e31–e38.

50. Wessler S., Reimer S. M., Sheps M. C. Biologic assay of a thrombosis-inducing activity in human serum // *J. Appl. Physiol.* 1959. № 14. P. 943–946.

51. Yang M., Kirley T. L. Engineered human soluble calcium-activated nucleotidase inhibits coagulation in vitro and thrombosis in vivo // *Thromb. Res.* 2008. № 122. P. 541–548.

52. Zhou J., May L., Liao P. et al. Inferior vena cava ligation rapidly induces tissue factor expression and venous thrombosis in rats // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2009. № 29. P. 863–869.

UDK [616.14–005.6]–092.4

Sonin D. L.^{1,2}, Petrishchev N. N.^{1,2}, Tiukavin A. I.^{1,3}, Ivkin D. Yu.^{1,3}

Experimental models of venous thrombosis in small laboratory animals

¹*Federal Almazov Medical Research Center, St. Petersburg, Russia*

²*I. P. Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russia*

³*St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical Academy, St. Petersburg, Russia*
e-mail: sonin_d@mail.ru

Abstract

In this review we describe and critically analyze the experimental models of venous thrombosis in rats and mice. The most commonly used models are stasis, stenosis, application of saline solutions (ferric chloride) and electrolytic model, which allow getting good reproducibility of venous thrombosis in small experimental animals. All of them allow us to study mechanisms of thrombus formation. In particular, microvascular thrombosis models allowing real-time observation and study of cellular mechanisms of thrombus growth. Recently, ultrasound imaging was used in pre-clinical studies on effectiveness of new anticoagulants. It allows observing and measuring thrombus in the process of its formation and after the administration of test compounds. The review provides data on gender differences and the characteristics of methods that can influence the nature of initiation of thrombus formation, the time of observation and the obtaining parameters.

Keywords: venous thrombosis, experimental model, thrombus formation, stasis, ferric chloride, laser-induced thrombosis, photodynamic thrombosis.

References

1. Beljanina E. O., Gavrilov E. K., Gudymovich V. G. et al. *Osnovy klinicheskoy flebologii, [The fundamentals of clinical phlebology]*, Moscow, Nacional'nyj mediko-hirurgicheskij centr imeni N.I. Pirogova, [The Russian National Medical Surgical Center named after N. I. Pirogov]. 2005. 312 p. (In Russian).

2. Drozd N. N., Makarov V. A., Miftahova N. T. et al. *Antitromboticheskaja aktivnost' paraaminobenzojnoj kisloty, [The antithrombotic activity of para-aminobenzoic acid] // ekperimental'eaja i klinicheskaja farmakologija, [Experimental and clinical pharmacology]*, 2000. v. 63. no 3., pp. 40–44. (In Russian).

3. Drozd N. N., Makarov V. A., Miftahova N. T. et al. *Antitromboticheskaja aktivnost' otechestvennogo preparata «antitrombin III» na modeli inducirovannogo venoznogo tromboza, [Antithrombotic activity of Russian antithrombin III preparation on the model of induced venous thrombosis.] // Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny, [Bulletin of experimental biology and medicine]*, 2006. v. 142. no 7., pp. 75–77. (In Russian).

4. Kondrat'ev A. P., Mihajlova I. A., Petrishhev N. N. *Modelirovanie razlichnyh form povrezhdenija sosudistoj stenki s pomoshh'ju lazernogo izlucheniya, [Modeling of different degrees of microvessel laser-induced endothelium damage] // Rossijskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova, [Russian*

journal of physiology (formely I.M. Sechenov Physiological Journal)], 2013, v. 99. no 6, pp. 745–750. (In Russian).

5. Kotel'nikov M. V., Kotel'nikova N. Ju., Novikov Ju. K., Novikov P. V. *Tromboembolija legochnoj arterii: sovershenstvovanie diagnostiki i podhody k antikoagulyantnoj terapii [Pulmonary embolism: diagnosis improvement and approaches to anticoagulant therapy] // Klinicist, [Clinician]*, 2010, no 1, pp. 38–47. (In Russian).

6. Kuznecova I. V., Shevela A. I., Morozov V. V. et al. *Jeksperimental'nye modeli venoznogo tromboza i vozmozhnost' primenenija kletochnyh tehnologij dlja korrekcii tromboticheskikh sostojanij, [Experimental models of venous thrombosis and cell technologies for thrombotic states' correction] // Flebologija, [Phlebology]*, 2012, v. 6, no 1, pp. 43–47. (In Russian).

7. Petrishhev N. N., Mihajlova I. A. *Lazer-inducirovannyj tromboz mikrososudov, [Laser-induced microvascular thrombosis] // Saint-Petersburg, Izdatel'stvo sankt-peterburgskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta, [Publishing house of Saint-petersburg Pavlov State Medical University]*, 2001, 88p. (In Russian).

8. Petrishhev N. N., Mihajlova I. A., Mihajlov V. N. et al. *Metod prizhiznennogo tromboobrazovaniya s ispol'zovaniem poluprovodnikovogo lazera v mikrososudah bryzhejki u krysa, [The method of intravital clot formation*

- using diode laser in the rat mesenteric microvessels] // *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrocirkuljacija, [Regional haemodynamics and microcirculation]*, 2009, v. 8, no 2, pp. 68–72. (In Russian).
9. Rodjukova I. S., Prohorovich E. A., Nosova A. V. «Molchashhaja jepidemija»: tromboembolija legochnoj arterii v praktike klinicista, [«Silent epidemic»: pulmonary embolism in clinical practice] // *Vrach skoroj pomoshhi, [Emergency Physician]*, 2012, no 4, pp. 055–062.
10. Savel'ev V. S., Golgor'skij V. A., Kirienko A. I. et al. *Flebologija - Rukovodstvo dlja vrachej, [Phlebology - Guide for Physicians]* // Moscow, Medicina, [Medicine], 2001. 664 p. (In Russian). (In Russian).
11. Shamcjan M. M., Petrishhev N. N., Denisova N. P. et al. *Fermentnyj preparat tromboliticheskogo i fibrinoliticheskogo dejstvija iz bazidial'nogo griba roda coprinus, [Thrombolytic and fibrinolytic enzyme preparation produced from a basidiomycete of the genus coprinus]. Patent na izobrenenie [Patent for an invention] RUS 2435848 31.05.2010* (In Russian).
12. Aghourian M. N., Lemarié C. A., Blostein M. D. *In vivo monitoring of venous thrombosis in mice* // *J. Thromb. Haemost.* 2012. Vol. 10. no. 3. P. 447–452.
13. Andre P., Denis C. V., Ware J. et al. *Platelets adhere to and translocate on von willebrand factor presented by endothelium in stimulated veins* // *Blood.* 2000. no. 96. P. 3322–3328.
14. Biemond B. J., Perzborn E., Friederich P. W. et al. *Prevention and treatment of experimental thrombosis in rabbits with rivaroxaban (BAY 597939) — an oral, direct factor Xa inhibitor* // *Thromb Haemost.* 2007. Vol. 97. no. 3. P. 471–477.
15. Bonnefoy A., Daenens K., Feys H. B. et al. *Thrombospondin-1 controls vascular platelet recruitment and thrombus adherence in mice by protecting (sub)endothelial VWF from cleavage by ADAMTS13* // *Blood.* 2006. no. 107. P. 955–964.
16. Brill A., Fuchs T. A., Chauhan A. K. et al. *Von willebrand factor-mediated platelet adhesion is critical for deep vein thrombosis in mouse models* // *Blood.* 2011. no. 117. P. 1400–1407.
17. Burnand K. G., Gaffney P. J., McGuinness C. L. et al. *The role of the monocyte in the generation and dissolution of arterial and venous thrombi* // *Cardiovasc. Surg.* 1998. no. 6. P. 119–125.
18. Cooley B. C., Szema L., Chen C. Y. et al. *A murine model of deep vein thrombosis: characterization and validation in transgenic mice* // *Thromb Haemost.* 2005. № 94. P. 498–503.
19. Cooley B. C. *In vivo fluorescence imaging of large-vessel thrombosis in mice* // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011. no. 31. P. 1351–1356.
20. Diaz J. A., Hawley A. E., Alvarado C. M. et al. *Thrombogenesis with continuous blood flow in the inferior vena cava: a novel mouse model* // *Thromb Haemost.* 2010. no. 104. P. 366–375.
21. Diaz J. A., Obi A. T., Myers D. D. Jr. et al. *Critical review of mouse models of venous thrombosis* // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012. Vol. 32. no. 3. P. 556–562.
22. Doutremepuich F., Aguejof O., Beloungne-Malfatti E., Doutremepuich C. *Fibrinogen as a factor of thrombosis: experimental study* // *Thromb Res.* 1998. Vol. 90. no. 2. P. 57–64.
23. Frenette P. S., Johnson R. C., Hynes R. O., Wagner D. D. *Platelets roll on stimulated endothelium in vivo: an interaction mediated by endothelial P-selectin* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. Vol. 92. no. 16. P. 7450–7454.
24. Guenther F., Herr N., Mauler M. et al. *Contrast ultrasound for the quantification of deep vein thrombosis in living mice: effects of enoxaparin and P2Y12 receptor inhibition* // *J. Thromb. Haemost.* 2013. Vol. 11. no. 6. P. 1154–1162.
25. Henke P. K., Varga A., De S. et al. *Deep vein thrombosis resolution is modulated by monocyte cxcr2-mediated activity in a mouse model* // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004. no. 24. P. 1130–1137.
26. Henke P. K., Mitsuya M., Luke C. E. et al. *Toll-like receptor 9 signaling is critical for early experimental deep vein thrombosis resolution* // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2011. no. 31. P. 43–49.
27. Herbert J. M., Bernat A., Maffrand J. P. *Importance of platelets in experimental venous thrombosis in the rat* // *Blood.* 1992. Vol. 80. no. 9. P. 2281–2286.
28. Hladovec J. *A sensitive model of venous thrombosis in rats* // *Thromb Res.* 1986. Vol. 43. no. 5. P. 539–544.
29. Humphries J., McGuinness C. L., Smith A. et al. *Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) accelerates the organization and resolution of venous thrombi* // *J. Vasc. Surg.* 1999. Vol. 30. no. 5. P. 894–899.
30. Kretz C. A., Vaezzadeh N., Gross P. L. *Tissue factor and thrombosis models* // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010. Vol. 30. no. 5. P. 900–908.
31. Levi M., Dörffle-Melly J., Johnson G. J. et al. *Cellular and Molecular Models of Thrombosis and Haemostasis of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Usefulness and limitations of animal models of venous thrombosis* // *Thromb Haemost.* 2001. Vol. 86. no. 5. P. 1331–1333.
32. Meier T. R., Myers D. D. Jr, Wroblewski S. K. et al. *Prophylactic p-selectin inhibition with psi-421 promotes resolution of venous thrombosis without anticoagulation* // *Thromb Haemost.* 2008. no. 99. P. 343–351.
33. Miller V. M., Duckles S. P. *Vascular actions of estrogens: functional implications* // *Pharmacol. Rev.* 2008. Vol. 60. no. 2. P. 210–241.
34. Millet J., Theveniaux J., Pascala M. *A new experimental model of venous thrombosis in rats involving partial stasis and slight endothelium alterations* // *Thrombosis. Res.* 1987. Vol. 45. no. 2. P. 123–133.
35. Myers D. D. Jr., Schaub R., Wroblewski S. K. et al. *P-selectin antagonism causes dose-dependent venous thrombosis inhibition* // *Thromb Haemost.* 2001. no. 85. P. 423–429.
36. Myers D. D. Jr., Rectenwald J. E., Bedard P. W. et al. *Decreased venous thrombosis with an oral inhibitor of p selectin* // *J. Vasc. Surg.* 2005. no. 42. P. 329–336.
37. Ouellette D. W., Patocka C. *Pulmonary embolism* // *Emerg. Med. Clin. North. Am.* 2012. Vol. 30. no. 2. P. 329–375.
38. Perzborn E., Roehrig S., Straub A. et al. *Rivaroxaban: a new oral factor Xa inhibitor* // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010. Vol. 30. no. 3. P. 376–381.
39. Pierangeli S. S., Harris E. N. *Antiphospholipid antibodies in an in vivo thrombosis model in mice* // *Lupus.* 1994. no. 3. P. 247–251.
40. Ramacciotti E., Myers D. D. Jr., Wroblewski S. K. et al. *P-selectin/PSGL-1 inhibitors versus enoxaparin in the resolution of venous thrombosis: a meta-analysis* // *Thromb. Res.* 2010. no. 125. P. e138–e142.
41. Röttger C., Madlener K., Heil M. et al. *Is heparin treatment the optimal management for cerebral venous thrombosis? Effect of abciximab, recombinant tissue plasminogen activator, and enoxaparin in experimentally induced superior sagittal sinus thrombosis* // *Stroke.* 2005. Vol. 36. no. 4. P. 841–846.
42. Saniabadi A. R., Umemura K., Matsumoto N. et al. *Vessel wall injury and arterial thrombosis induced by a photochemical reaction* // *Thromb Haemost.* 1995. Vol. 73. no. 5. P. 868–872.

43. Shuster K. A., Wroblewski S. K., Hawley A. E. et al. Prothrombotic effects of thrombolytic therapy in a rat (*Rattus norvegicus*) model of venous thrombolysis // *Comp. Med.* 2013. Vol. 63. no. 3. P. 244–251.
44. Singh I., Smith A., Vanzielegem B. et al. Antithrombotic effects of controlled inhibition of factor VIII with a partially inhibitory human monoclonal antibody in a murine vena cava thrombosis model // *Blood*. 2002. Vol. 99. no. 9. P. 3235–3240.
45. Sood V., Luke C. E., Deatrick K. B. et al. Urokinase plasminogen activator independent early experimental thrombus resolution: MMP2 as an alternative mechanism // *Thromb Haemost.* 2010. Vol. 104. no. 6. P. 1174–1183.
46. Ungersböck K., Heimann A., Kempfski O. Cerebral blood flow alterations in a rat model of cerebral sinus thrombosis // *Stroke*. 1993. Vol. 24. no. 4. P. 563–569.
47. Valera M. C., Gratacap M. P., Gourdy P. et al. Chronic estradiol treatment reduces platelet responses and protects mice from thromboembolism through the hematopoietic estrogen receptor α // *Blood*. 2012. Vol. 120. no. 8. P. 1703–1712.
48. VanLangevelde L. A., Anchill S. E., Wroblewski S. K. et al. Gender differences in deep venous thrombosis in a rat model: a preliminary study // *Comp. Med.* 2005. no. 55 (1). P. 55–60.
49. Wang C., Yang F., Xu Z. et al. Intravenous release of NO from lipidic microbubbles accelerates deep vein thrombosis resolution in a rat model // *Thromb Res.* 2013. Vol. 131. no. 1. P. e31–e38.
50. Wessler S., Reimer S. M., Sheps M. C. Biologic assay of a thrombosis-inducing activity in human serum // *J. Appl. Physiol.* 1959. no. 14. P. 943–946.
51. Yang M., Kirley T. L. Engineered human soluble calcium-activated nucleotidase inhibits coagulation in vitro and thrombosis in vivo // *Thromb. Res.* 2008. no. 122. P. 541–548.
52. Zhou J., May L., Liao P. et al. Inferior vena cava ligation rapidly induces tissue factor expression and venous thrombosis in rats // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2009. no. 29. P. 863–869.