

Влияние температурного фактора на показатели коагуляции крови продуктивных животных и рыб *in vitro*

Л. Л. Фомина✉, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Внутренние незаразные болезни, хирургия и акушерство»

Д. И. Березина, кандидат биологических наук, и.о. доцента кафедры «Внутренние незаразные болезни, хирургия и акушерство»

Т. С. Кулакова, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры «Зоотехния и биология»

К. Э. Моданова, студент-специалист 4 курса факультета ветеринарной медицины и биотехнологий ФГБОУ ВО Вологодская ГМХА

160555, Вологодская область, городской округ город Вологда, с. Молочное, ул. Шмидта, д. 2,

✉academy@molochnoe.ru

Резюме. Исследования проведены с целью сравнения показателей гемостаза продуктивных животных, полученных при 37 °С (температуре, при которой проводятся исследования клоттинговыми методами) и при температуре «сердцевины» тела, свойственной этим животным (40°C, 43°C, 18°C («зона температурного комфорта» для форели). Исследование проводили на коровах айрширской породы (n=15), радужной форели (n=15), кур (n=19). Анализировали следующие параметры коагулограммы: тромбиновое время (ТВ), протромбиновое время (ПВ), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), активность фибриногена и антитромбина III, концентрацию растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК). Установлено, что применение медицинских приборов, основанных на измерении времени образования фибринового сгустка и инкубации плазмы при температуре тела человека, возможно только при изучении гемостаза кур, так как не было зарегистрировано достоверных отличий в показателях, полученных на коагулометре и в водяном термостате при 43°C, за исключением ПВ. При изучении коагуляционных механизмов у коров и форели использование медицинского коагулометра приводило к получению скоростей реакций, значительно отличающихся от происходящих при температуре тела этих животных. Количество РФМК у кур превышало в 1,8 раза, у коров – в 4,5, а у форели – почти в 20 раз аналогичный показатель у человека, что может свидетельствовать о видовых особенностях рассматриваемых животных.

Ключевые слова: гемостаз, коагуляция крови, протромбиновое время, фибриноген, антитромбин, продуктивные животные.

Для цитирования: Фомина Л. Л., Березина Д. И., Кулакова Т. С., Моданова К. Е. Влияние температурного фактора на показатели коагуляции крови продуктивных животных и рыб *in vitro* // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2023. № 4 (64). 85-90 С. doi:10.18286/1816-4501-2023-4-85-90

The influence of temperature on blood coagulation parameters of productive animals and fish *in vitro*

L. L. Fomina✉, **D. I. Berezina**, **T. S. Kulakova**, **K. E. Modanova**

FSBEI HE Vologda State Dairy Academy

160555, Vologda region, urban district of the city of Vologda, Molochnoe v., Shmidta st., 2,

✉academy@molochnoe.ru

Abstract. The studies were carried out to compare the hemostasis parameters of productive animals obtained at 37°C (the temperature at which clotting studies are carried out) and at the temperature of the "core" of the body common for these animals (40°C, 43°C, 18°C ("comfort zone temperature" for trout). The study was carried out on Ayrshire cows (n=15), rainbow trout (n=15), hens (n=19). The following coagulogram parameters were analyzed: thrombin time (TT), prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (aPTT), fibrinogen and antithrombin III activity, concentration of soluble fibrin-monomer complexes (SFMC). It was established that usage of medical devices based on measuring the time of formation of a fibrin clot and incubation of plasma at human body temperature is only possible when studying the hemostasis of hens, since no significant differences were recorded in the parameters obtained on a coagulometer and in a water thermostat at 43°C, with the exception of PT. When studying coagulation mechanisms of cows and trout, application of a medical coagulometer led to reaction rates significantly different from those occurring at the body temperature of these animals. The amount of SFMC of hens was 1.8 times higher, of cows – 4.5 times, and of trout – almost 20 times higher than in humans, which may indicate the species characteristics of the animals under study.

Keywords: hemostasis, blood coagulation, prothrombin time, fibrinogen, antithrombin, productive animals.

For citation: Fomina L. L., Berezina D. I., Kulakova T. S., Modanova K. E. The influence of temperature on blood coagulation parameters of productive animals and fish in vitro // Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy. 2023; 4(64) 85-90 doi:10.18286/1816-4501-2023-4-85-90

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда № 23-26-00115, <https://rscf.ru/project/23-26-00115/>.

Введение

Важнейшим диагностическим методом оценки физиологического состояния животных является исследование показателей крови, в число которых входит и коагулограмма, характеризующая вторичный (плазменно-коагуляционный) гемостаз [1, 2, 3]. Гемостаз – защитная реакция организма, обеспечивающая сохранение жидкого состояния крови, предупреждение и остановку кровотечений, а также целостность кровеносных сосудов. Повышенная свертываемость может привести к тромбозу жизненно важных сосудов, провоцировать трофические изменения в органах и тканях, а гипокоагуляция проявляется геморрагическим синдромом. В связи с этим в организме должен поддерживаться определенный баланс между активностью, свертывающей и противосвертывающей системами организма.

В виду большой физиологической значимости и уязвимости гемостаза он всё более активно исследуется у мелких домашних животных, птиц и рыб, в том числе и продуктивных животных, а также гемостазиологические исследования у продуктивных животных проводят с целью создания моделей для медицины человека [4, 5, 6].

Создаются отдельные лаборатории гемостаза животных, такие как Лаборатория сравнительной коагуляции Центра диагностики здоровья животных Корнельского университета [7].

К наиболее часто используемым скрининговым анализам коагуляции относят протромбиновое время (ПВ), которое характеризует первую (образование протромбиназы, внешний путь) и вторую (образование тромбина) фазы свертывания крови, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), которое характеризует первую фазу свертывания крови (образование протромбиназы, внутренний путь). Третью фазу свертывания крови (образование фибрина) оценивают с помощью показателей фибриногена и тромбинового времени (ТВ) [8].

Эти тесты основаны на триггерных реагентах, вызывающих образование фибринового сгустка в образце в присутствии фосфолипидов и кальция. Тромбы обнаруживают различными способами (визуальными, оптическими, механическими), основанными на измерении времени с момента внесения реагента, запускающего ферментативный процесс свертывания, до момента коагуляции (клоттинговыми методами) (рис 1.).

На этом этапе оценки активности плазменного гемостаза возникает много вопросов, связанных с использованием подходов, разработанных для гуманной медицины. Отмечено, что плазма животных

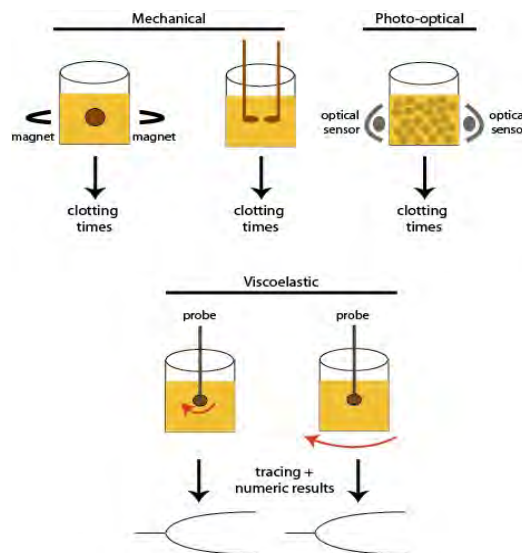


Рис. 1. Методы регистрации сгустка

свертывается намного быстрее, чем плазма человека. У собак, в частности, время коагуляции намного меньше, чем у людей, и инструменты, которые не могут зарегистрировать это быстрое время (многие фотооптические инструменты), могут пропустить образование сгустка, что приведет к ошибочным результатам [9, 10]. Кроме этого, многие взаимодействия белков и липидов, по мнению А. Л. Берковского с соавторами, являются видоспецифичными, что делает невозможным оценить некоторые показатели гемостаза без использования специальных тест-систем [11]. Эти же авторы рекомендуют определение референсных значений гемостатических показателей у различных видов животных с помощью сопряженных систем реагент – анализатор.

Инструменты, которые используются для измерения показателей гемостаза животных, пришли в ветеринарную медицину из гуманной медицины (человека) и рассчитаны на определенную температуру протекания биохимических процессов и не учитывают различных термобиологических статусов животных.

Цель работы – сравнение показателей гемостаза коров, кур и рыб, полученных при 37 °С (температуре, при которой проводятся исследования клоттинговыми методами) и при температуре «сердцевины» тела, свойственной этим животным (40°С, 43°С, 18°С («зона температурного комфорта» для форели)).

Материалы и методы

В исследовании использовали кровь 15 здоровых коров айрширской породы (*Bos taurus* Linnaeus, 1758), принадлежащих СПК «Агрофирма Красная

Звезда» Вологодского района, 15 здоровых особей радужной форели (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792), выращенных в ООО «Аквакультура» (Моткозеро Белозерского района) и 19 здоровых особей домашней курицы (*Gallus gallus* Linnaeus, 1758) породы Род-Айленд красная, кросс Хайсекс Браун, СХПК «Племптица-Можайское».

Отбор проб крови проводили в стеклянные пробирки, содержащие 3,8 % раствора цитрата натрия в соотношении 1:9: у рыб пункцией гемального канала, у птиц – из подкрыльцовой вены, у коров – из хвостовой вены. Объектом исследования была бедная тромбоцитами плазма, полученная в результате центрифугирования крови при 3000 оборотах в минуту в течение 20 мин.

Для оценки состояния плазменно-коагуляционного гемостаза определяли следующие показатели: АЧТВ (активированное частичное тромбопластиновое время), ПВ (протромбиновое время), ТВ (тромбиновое время) с использованием человеческого тромбина, анализ активности фибриногена при температуре 37 °С на коагулометре «Thrombostat» производства Behnk Elektronik (Германия) и с использованием термостата медицинского водяного, серии TW: TW-2 (ELMI TW-2) при температурах 40 °С, 43 °С, 18 °С.

Антикоагулянтные свойства крови оценивали по активности Антитромбина III, которую тестировали по скорости инактивации тромбина в плазме крови, подвергнутой тепловому дефибрированию. Исследование проводили при температурах 18°С, 37°С, 40°С, 43°С.

Фибринолитическую активность в плазме измеряли с помощью обнаружения растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) в о-фенантролиновой пробе (планшетный вариант) (ООО «Технология-Стандарт», Россия) при комнатной температуре.

Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$). Нормальность распределения оценивали при помощи критерия Шапиро-Уилка. Для оценки достоверности различий параметров при разных температурах в парных зависимых выборках использовали критерий Вилкоксона.

Результаты

Оценивая показатели гемостаза коров, можно отметить достоверно более низкую активность фибриногена (на 47,9 %) и удлинение показателя, характеризующего скорость превращения фибриногена в фибрин – тромбинового времени, ТВ (на 41,3 %) при температуре «сердцевины» тела, свойственной данным животным по сравнению с показателями, полученными при 37 °С. Замедление этих реакций компенсируется укорочением протромбинового времени, ПВ – показателя, характеризующего активность внешнего пути образования протромбиназы, на 37,3 % (табл.1).

Таблица 1. Сравнительный анализ показателей гемостаза коров при разных температурах

Показатель	Человек	Коровы (n=14)	
		37°С	40°С
ТВ, с	28...32	26,54±1,74	45,17±4,63*
ПВ, с	12...14	55,13±13,68	34,57±1,68*
АЧТВ, с	35...45	62,83±2,34	64,31±6,85
Фибриноген, с	15...20	12,46±1,20	23,90±5,67*
АТ III, с	70...110	10,53±0,44	10,11±0,22
РФМК, мг/100 мл	3,8...4	17,69±1,93	

* - Различия с аналогичным параметром при 37°С достоверны ($p \leq 0,05$)

Активация внутреннего пути образования протромбиназы (АЧТВ) и активность противосвертывающей системы (АТ III) при различных температурах достоверных отличий не имели, что позволяет определять данные показатели на коагулометре, не опасаясь получить результаты, характеризующие скорость протекания этих коагулогических реакций, отличными от происходящих в организме коров.

Если сравнивать показатели гемостаза коров и человека, можно отметить сопоставимую активность фибриногена у данных видов, но значительно более низкую активность свертывающего (ТВ, ПВ, АЧТВ) и противосвертывающего (АТ III) звеньев коагуляции коров по сравнению с человеком.

Анализируя коагулограмму, полученную у кур, можно отметить низкую активность их фибриногена по сравнению с человеком и достоверно удлиненное протромбиновое время (на 46,2 %), полученное при 43 °С, которое также значительно длиннее, чем протромбиновое время у человека, то есть коагуляция у кур характеризуется значительно более медленным образованием сгустка при добавлении тканевого фактора (табл. 2).

Таблица 2. Сравнительный анализ показателей гемостаза кур при разных температурах

Показатель	Человек	Куры (n=19)	
		37°С	43°С
ТВ, с	28...32	46,39±1,74	45,52±1,64
ПВ, с	12...14	83,13±15,36	154,64±41,71*
АЧТВ, с	35...45	64,56±7,67	78,82±12,41
Фибриноген, с	15...20	93,88±9,75	109,15±11,27
АТ III, с	70...110	33,13±3,35	41,91±12,54
РФМК, мг/100 мл	3,8...4	7,13±0,85	

* - Различия с аналогичным параметром при 37 °С достоверны ($p \leq 0,05$)

Остальные показатели коагулограммы не имели достоверных отличий при разных температурах и могут быть рекомендованы для исследования на коагулометре. С целью создания моделей для гемостазиологических исследований в медицине человека кур сложно использовать, так как показатели гемостаза кур значительно отличаются от показателей человека.

У форели при 18° С достоверно отличались в сторону удлинения показатели, характеризующие свертывающее звено системы гемостаза (ТВ на 82,7 %, АЧТВ на 56,1 %), а активность фибриногена при такой температуре совсем отсутствовала (табл. 3).

Если использовать форель в качестве модели для изучения воздействия гипотермии на гемостаз, то более подходящая температура для *in vitro* исследований составляет 24 °С, так как при этой температуре определяемые показатели гемостаза форели наиболее близки к человеку и возможна их интерпретация.

Количество растворимых фибрин-мономерных комплексов характеризует работу фибринолитического звена системы гемостаза. Механизм образования фибрин-мономерных комплексов заключается в том, что в период активации процессов свертывания и нарастания содержания тромбина образуется большое количество фибрин-мономеров, часть которых не успевает полимеризоваться, но соединяется с фибриногеном, образуя макромолекулярные растворимые комплексы – растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК) [12].

РФМК у человека являются маркерами тромбоза, у животных данный показатель изучен слабо [13]. На рис.2 представлен анализ содержания РФМК у исследуемых животных в сравнении с человеком.

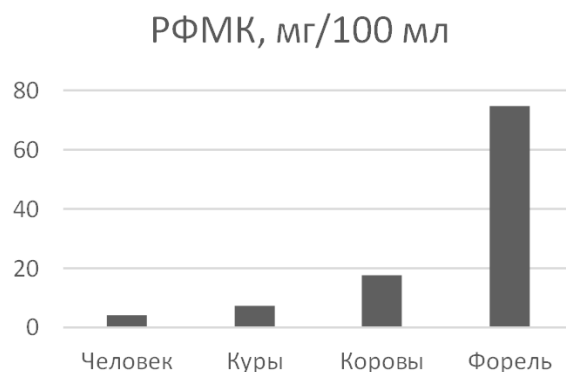


Рис. 2. РФМК в плазме у исследуемых животных в сравнении с человеком

Можно отметить, что количество РФМК у кур превышает в 1,8 раза, у коров – в 4,5, а у форели

Таблица 3. Сравнительный анализ показателей гемостаза форели при разных температурах

Показатель	Человек	Форель (n=15)		
		18°С	24°С	37°С
ТВ, с	28...32	91,76±43,46*	30,16±1,16	15,87±1,44 ^b
ПВ, с	12...14	>250 ^b	98,39±12,39*	>250 ^b
АЧТВ, с	35...45	34,64±1,66*	31,64±7,20	15,21±0,43 ^b
Фибриноген, с	15...20	-	21,39±2,30*	14,18±2,85 ^b
РФМК, мг/100 мл	3,8...4	74,67±11,46		

* - Различия с аналогичным параметром при 37°С достоверны (p≤0,05);

^b - Различия с аналогичным параметром при 24°С достоверны (p≤0,05)

почти в 20 раз аналогичный показатель у человека, что может свидетельствовать о видовых особенностях рассматриваемых животных [14].

Обсуждение

Многие исследователи отмечают, что кровь некоторых животных обладает повышенной склонностью к свертыванию [7, 15], особенно по показателям, характеризующим скорость превращения фибриногена в фибрин (ТВ) и активность фибриногена, что подтвердилось проведенными исследованиями крови у коров при 37°С, но при 40 °С эти показатели оказались намного менее активными, что указывает на необходимость принимать во внимание температуру тела, свойственную животным, при изучении показателей гемостаза и использовании животных в качестве моделей для медицинских исследований гемостазиологических реакций.

Применение медицинских приборов, основанных на измерении времени образования фибринового сгустка и инкубации плазмы при температуре тела человека, возможно только при изучении гемостаза кур, так как не было зарегистрировано достоверных отличий в показателях, полученных на коагулометре и в водяном термостате при 43 °С, за исключением протромбинового времени. При изучении коагуляционных механизмов коров и форели использование медицинского коагулометра привело к получению скоростей реакций, заметно отличающихся от происходящих в организме этих животных. В качестве модели для изучения воздействия гипотермии на гемостаз может служить форель, но более подходящая температура для *in vitro* исследований составляет 24 °С, так как при этой температуре определяемые показатели гемостаза форели наиболее близки к человеку, и возможна их интерпретация.

Количество растворимых фибрин-мономерных комплексов значительно выше у изученных объектов, чем у человека, что по-видимому не является маркером патологии у животных, в отличие от человека, а только видовой особенностью.

Заключение

В связи с тем, что продуктивные животные имеют температуру тела, отличающуюся от человеческой, методы оценки гемостаза, принятые в гуманной медицине, не в полной мере подходят для оценки гемостаза животных.

Применение медицинского коагулометра возможно для оценки АЧТВ и антитромбина у коров, ПВ у форели и всех показателей кроме ПВ у кур. Рекомендуется учитывать выявленные особенности при использовании данных животных в качестве тест-объектов.

Литература

1. Hematologic reference intervals and age effect in European Strigiformes / S. A. Montolio, R. M. Lopez, C. Cray, et. al // *Vet. Clin. Pathol.* 2017. Vol. 46 No 3. P. 483-491.
2. A genetic predisposition for bovine neonatal pancytopenia is not due to mutations in coagulation factor XI / K. Krappmann, R. Weikard, S. Gerst, et al // *The Veterinary Journal.* 2011. Vol. 190. No 2. P. 225-229.
3. Зайцев, В. В., Макурина О. Н. Физиологические особенности гемостаза высокопродуктивных лактирующих коров, получавших антиоксидантный липосомальный препарат Липовитам-бета // *Электронный научно-образовательный вестник Здоровье и образование в XXI веке.* 2017. Том: 19, № 2. С. 19-25.
4. Gong, P. Effect of mild hypothermia on the coagulation-fibrinolysis system and physiological anticoagulants after cardiopulmonary resuscitation in a porcine model / P. Gong, M. Y. Zhang, H. Zhao // *PLoS One.* 2013. Vol. 20. No 8 (6). doi: 10.1371/journal.pone.0067476.
5. Березина, Д. И. Влияние аналогов кортизола на показатели вторичного гемостаза карпа *Cyprinus carpio* / Д. И. Березина, Л. Л. Фомина // *Биология внутренних вод.* 2022. No 5. С. 586-594.
6. Тромбоэластографическая оценка коагуляционного потенциала крови у лошадей / Ю. Л. Ошуркова, О. А. Муллагалиева, Е. А. Воробьева и др. // *Молочнохозяйственный вестник.* 2019. № 1 (33). С. 40-48.
7. Animal Health Diagnostic Center: сайт. URL: <https://www.vet.cornell.edu/animal-health-diagnostic-center/laboratories/comparative-coagulation> (дата обращения 28.06.2023)
8. Involvement of hemostasis in pathophysiology of RAO in horses / A. Pliszcak-Król, M. Gemra, R. Kozdrowski // *Vet Immunol Immunopathol.* 2020. Vol. 230. doi: 10.1016/j.vetimm.2020.110128.
9. eClinPath.com, Корнельский университет: сайт. URL: <https://eclinpath.com/hemostasis/tests/screening-coagulation-assays/clot-detection-method/> (дата обращения 28.06.2023)
10. Culler, C. A., Iazbik C., Guillaumin J. Comparison of albumin, colloid osmotic pressure, von Willebrand factor, and coagulation factors in canine cryopoor plasma, cryoprecipitate, and fresh frozen plasma // *J. Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2017. Vol. 27. No 6. P. 638-644.
11. Берковский, А. Л., Сергеева Е. В., Суворов А. В. Диагностика нарушений гемостаза у животных // *Ветеринария.* 2018. № 5. С. 54-57.
12. Фомина, Л. Л., Кулакова Т. С., Березина Д. И. Определение активности плазменно-коагуляционного звена системы гемостаза рыб клоттинговыми методами с использованием коагулометра // *Актуальные вопросы ветеринарной биологии.* 2019. №3 (35). С.54-58.
13. Sridharan, M. D. Evaluation of soluble fibrin monomer complex in patients in SARS-CoV-2 COVID-19 infection-associated coagulopathy / M. D. Sridharan, S. M. Navitskas, E. E. Kock, et al. // *Eur J Haematol.* 2022. Vol. 108 (4). P. 319-326. doi: 10.1111/ejh.13738
14. Березина Д. И., Фомина Л. Л., Рыжаков А. В. Диагностическая значимость параметров коагулограммы при оценке стрессовых состояний в условиях экспериментальной модели стресса у карпа (*Cyprinus carpio*) и тилапии (*Oreochromis niloticus*) // *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии.* 2022. № 1 (57). С. 120-127.
15. Сравнительная характеристика гемостазиологического профиля овец и пациентов с сердечно-сосудистой патологией - основа для прогнозирования тромботических рисков в ходе преклинических испытаний сосудистых протезов / О. В. Груздева, Е. Е. Бычкова, Т. Ю. Пенская и др. // *Современные технологии в медицине.* 2021. Том 13. № 1. С. 52-58.

References

1. Hematologic reference intervals and age effect in European Strigiformes / S. A. Montolio, R. M. Lopez, C. Cray, et. al // *Vet. Clin. Pathol.* 2017. Vol. 46 No 3. P. 483-491.
2. A genetic predisposition for bovine neonatal pancytopenia is not due to mutations in coagulation factor XI / K. Krappmann, R. Weikard, S. Gerst, et al // *The Veterinary Journal.* 2011. Vol. 190. No 2. P. 225-229.
3. Zaitsev, V. V., Makurina O. N. Physiological features of hemostasis of highly productive lactating cows which are given Lipovitam-beta antioxidant liposomal product // *Electronic scientific and educational bulletin Health and education in the XXI century.* 2017. Volume: 19. No 2. P. 19-25.
4. Gong, P. Effect of mild hypothermia on the coagulation-fibrinolysis system and physiological anticoagulants after cardiopulmonary resuscitation in a porcine model / P. Gong, M. Y. Zhang, H. Zhao // *PLoS One.* 2013. Vol. 20. No 8 (6). doi: 10.1371/journal.pone.0067476.

4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология (ветеринарные науки)

5. Berezina, D. I. The influence of cortisol analogues on parameters of secondary hemostasis of *Cyprinus carpio* carp / D. I. Berezina, L. L. Fomina // *Biology of inland waters*. 2022. No 5. P. 586-594.
6. Thromboelastographic assessment of the coagulation potential of blood of horses / Yu. L. Oshurkova, O. A. Mulagalieva, E. A. Vorobyova, et al. // *Dairy Vestnik*. 2019. № 1 (33). P. 40-48.
7. Animal Health Diagnostic Center: website. URL: <https://www.vet.cornell.edu/animal-health-diagnostic-center/laboratories/comparative-coagulation> (access date: 28.06.2023)
8. Involvement of hemostasis in pathophysiology of RAO in horses / A. Pliszczak-Król, M. Gemra, R. Kozdrowski // *Vet Immunol Immunopathol*. 2020. Vol. 230. doi: 10.1016/j.vetimm.2020.110128.
9. eClinPath.com, Cornell University: website. URL: <https://eclinpath.com/hemostasis/tests/screening-coagulation-assays/clot-detection-method/> (access date: 28.06.2023)
10. Culler, C. A., Iazbik C., Guillaumin J. Comparison of albumin, colloid osmotic pressure, von Willebrand factor, and coagulation factors in canine cryopoor plasma, cryoprecipitate, and fresh frozen plasma // *J. Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2017. Vol. 27. No 6. P. 638-644.
11. Berkovsky, A. L., Sergeeva E. V., Suvorov A. V. Diagnosis of hemostasis disorders among animals // *Veterinary Medicine*. 2018. No 5. P. 54-57.
12. Fomina, L. L., Kulakova T. S., Berezina D. I. Specification of the activity of the plasma-coagulation unit of fish hemostasis system by clotting methods using a coagulometer // *Current issues in veterinary biology*. 2019. No 3 (35). P.54-58.
13. Sridharan, M. D. Evaluation of soluble fibrin monomer complex in patients in SARS-CoV-2 COVID-19 infection-associated coagulopathy / M. D. Sridharan, S. M. Navitskas, E. E. Kock, et al. // *Eur J Haematol*. 2022. Vol.108 (4). P. 319-326. doi: 10.1111/ejh.13738
14. Berezina D. I., Fomina L. L., Ryzhakov A. V. Diagnostic significance of coagulogram parameters when assessing stress conditions under the conditions of an experimental stress model of carp (*Cyprinus carpio*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*) // *Vestnik of the Ulyanovsk State Agricultural academy*. 2022. No 1 (57). P. 120-127.
15. Comparative characteristics of the hemostasiological profile of sheep and patients with cardiovascular pathology - the basis for predicting thrombotic risks during preclinical tests of vascular implants / O. V. Gruzdeva, E. E. Bychkova, T. Yu. Penskaya, et al. // *Modern technologies in medicine*. 2021. Volume: 13. No 1. P. 52-58.