

ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

УДК 612.115.3-612.115.064

ВЛИЯНИЕ ХИТОЗАНА НА СВЕРТЫВАНИЕ КРОВИ ГЕПАРИНИЗИРОВАННЫХ КРЫС

© 2022 г. Л. А. Ляпина*, @, Т. Ю. Оберган*, М. Е. Григорьева*, Т. А. Шубина*

* ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет,
кафедра физиологии человека и животных, лаборатория защитных систем крови
им. проф. Б.А. Кудряшова, Москва, 119234 Россия

@E-mail: lyapinal@mail.ru

Поступила в редакцию 29.09.2021 г.

После доработки 14.01.2022 г.

Принята к публикации 21.03.2022 г.

Хитозан в условиях *in vitro* в гепаринизированной плазме при концентрациях 10^{-1} , 10^{-2} , 1, 5, 10 мг/мл дозозависимо снижает фибринолиз, протромбиновое время, агрегацию тромбоцитов, свертываемость крови и повышает активность фактора XIIIa. В организме на модели крыс с гипокоагуляцией, вызванной внутривенным введением высокомолекулярного гепарина (ВМГ) (400 МЕ/кг), через 30 мин после инъекции хитозана (10 мг/кг массы тела) также снижается фибринолиз, активность плазмина, повышается активность фактора XIIIa и агрегация тромбоцитов, а концентрация фибриногена восстанавливается до нормального значения. Это сопровождается повышением активности тканевого активатора плазминогена и удлинением свертываемости крови по тесту АЧТВ. Делается вывод о разнонаправленном влиянии хитозана на параметры гемостаза в данных условиях эксперимента и рассматриваются возможные механизмы его действия в организме.

Ключевые слова: хитозан, гепарин, модель гипокоагуляции, фибринолиз, первичный гемостаз, свертываемость крови

DOI: 10.31857/S1026347022060099

Полисахарид хитозан (олигосахарид/хитоолигосахарид) является основным продуктом деградации хитина путем химического гидролиза или ферментативной деградации, включающей процессы дезацетилирования и деполимеризации. Хитозан применяется в биомедицине, сельском хозяйстве и фармацевтической промышленности, в том числе в области лекарственных средств, продуктов питания, косметики, биоматериалов и тканевой инженерии (Lestari *et al.*, 2020). По сравнению с другими доступными полисахаридами хитозан обладает низкой молекулярной массой, более высокой степенью дезацетилирования и полимеризации, менее вязкой и полной растворимостью в воде, что наделяет его уникальными биологическими свойствами, такими как антимикробные, антиоксидантные, противоопухолевые, противовоспалительные, антибактериальные, биологическое распознавание и иммунные усиливающие эффекты, антигипертензивные, а также способностью к доставке лекарств/ДНК (Naveed *et al.*, 2019). Кроме того, он проявляет антидиабетическое, анти-ВИЧ-1, анти-болезнь Альцгеймера, гипохолестеринемическое и гемо-

статическое действие. Показано, что хитозан обладает более высокой клеточной трансдукцией и полностью всасывается через кишечный эпителий благодаря своей катионной сфере, экспонируемой на более коротких *N*-глюкозаминовых (*N*-Glc) единицах (Guo *et al.*, 2018). Хитозан, введенный *in vivo*, будет контактировать с тканью крови или проникать в нее. В этой ситуации взаимодействие хитозана с компонентами крови имеет решающее значение для определения эффективности и безопасности полимера, поскольку была установлена токсичность его высоких доз (Yang *et al.*, 2012). Было показано, что хитозан и фибриноген могут образовывать комплекс главным образом за счет электростатического притяжения, в результате чего структура и конформация фибриногена изменяются (Zhang *et al.*, 2013). Кроме того, хитозан с мол. массой 4 kDa и степенью деполимеризации 85% взаимодействует и с низкомолекулярным гепарином (Толстенков и др., 2006). Хитозан имеет высокие профили абсорбции на кишечном уровне, что позволяет быстро получить доступ к кровотоку и потенциальному контакту с компонентами крови (Zhang *et al.*, 2013).

При действии на эритроциты хитозан не вызывает гемолиза, а при высокой концентрации эритроцитов наблюдается их необратимая агрегация. Имеются сообщения, что по отношению к системе свертывания крови хитозан обладает умеренной антикоагулянтной активностью, не активирует тромбоциты и подавляет агрегацию тромбоцитов (Guo *et al.*, 2018). Отмечают, что хитозан мало влияет на такие параметры свертывания крови как активированное частичное тромбопластиновое время, протромбиновое время (Cassano *et al.*, 2017).

Известно, что сульфатированные хитозаны со степенью замещения 2.13 и мол. массами 71, 35 и 19 кДа обнаруживают антикоагулянтную активность, ускоряя ингибирование тромбина путем создания эквимольного комплекса с антитромбином III. Установлено также, что при совместном внутривенном введении в равных весовых соотношениях гепарина и сульфата хитозана антитромботическая активность гепарина усиливается (Дрозд, Макаров, 2013). Однако влияние хитозана на компоненты крови при сниженной ее свертываемости до сих пор остается неясным.

Цель настоящей работы заключается в выявлении влияния хитозана на свертывание крови в условиях моделирования у крыс гипокоагуляции, вызванной внутривенным введением высокомолекулярного гепарина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали хитозан водорастворимый (сукцинил хитозана), полученный по запатентованной методике из панцирей красноногих крабов в соответствии с ТУ 9284-027-11734126-08 (ООО “Биопрогресс”, Россия). В экспериментах применяли хитозан с мол. массой 150 кДа, степенью дезацетилирования 75.4%, рН 1%-го водного раствора — 7.6 и динамической вязкостью 2150 мПа; динатриевую соль аденозина дифосфата — АДФ (“AppliChem”, Германия); цитрат натрия (“Технология-Стандарт”, Россия), натрия хлорид 0.85%-ный раствор (“Гротекс”, Россия), гепарин высокомолекулярный (ВМГ) (“Richter”, Венгрия).

Эксперименты проводили на лабораторных белых крысах-самцах линии Wistar массой тела 450–500 г. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и документами, рекомендованными Европейским научным фондом и Хельсинской декларацией о гуманном отношении к животным.

В серии экспериментов в условиях *in vitro* использовали модель гипокоагуляции. Для этого получали гепаринизированную плазму крови крыс, которым предварительно вводили ВМГ внутривенным способом в дозе 400 МЕ/кг для создания гипокоагуляционного эффекта, через 30 мин после инъекции гепарина производили забор крови. Затем к 0.1 мл пулированной плазмы крови животных добавляли 0.05 мл раствора хитозана (ХТЗ) в различных концентрациях — 10^{-1} , 10^{-2} , 1, 5 и 10 мг/мл, инкубировали в течение 2 мин при 37°C и проводили коагулологические определения согласно методикам.

Эксперименты *in vivo* проведены на модели гипокоагуляции, вызванной внутривенным введением животным раствора ВМГ в дозе 400 МЕ/кг массы тела в объеме 0.5 мл каждой крысе, через 30 мин после этого инъецировали раствор ХТЗ в дозе 10 мг/кг массы тела крыс в объеме 0.5 мл. Подопытные животные были разделены на 3 группы по 10 крыс: контрольная группа (ВМГ + 0.85%-ый NaCl), опытная группа (ВМГ + ХТЗ) и интактные (норма). Взятие крови осуществляли через яремную вену (vena jugularis) спустя 30 мин после введения ХТЗ (опыт) или 0.85%-ного физиологического раствора NaCl (контроль) с использованием в качестве консерванта 3.8%-го раствора цитрата натрия в соотношении 9 : 1.

Образцы крови центрифугировали на центрифуге TJ-6 Centrifuge (“Beckman”, США) в двух режимах: при 1000 g в течение 5 мин для получения богатой тромбоцитами плазмы и при 2000 g для получения бедной тромбоцитами плазмы.

Фибринолитическую активность — суммарный (СФА), неферментативный (НФ) и ферментативный фибринолиз (ФФ), активность пламина, активность тканевого активатора пламиногена (t-РА) и время лизиса эуглобулинового сгустка в бедной тромбоцитами плазме крови определяли согласно описанным методам (Ляпина и др., 2012).

Агрегацию тромбоцитов в богатой тромбоцитами плазме крови исследовали на агрегометре АЛАТ2 ЛА 220 (“Биола”, Россия) по методу Борна с использованием в качестве индуктора агрегации АДФ в конечной концентрации 10^{-6} М по инструкции к прибору.

Для оценки процесса свертывания крови определяли активность фибринстабилизирующего фактора свертывания (ФХІІа), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), характеризующее внутренний механизм свертывания крови, протромбиновое время (ПВ), характеризующее внешний механизм свертывания крови и

Таблица 1. Влияние разных концентраций хитозана на параметры гемостаза при использовании плазмы крыс с гипокоагуляцией, вызванной ВМГ, в условиях *in vitro* ($M \pm m$)

Показатели гемостаза, %	Добавление к плазме 0.85%-го NaCl	Добавление к плазме разных концентраций хитозана (мг/мл)				
		10^{-1}	10^{-2}	1	5	10
СФА	100 ± 3.7	$82.0 \pm 4.3^*$	$79.7 \pm 2.8^{**}$	$73.1 \pm 4.3^{**}$	$69.4 \pm 4.1^{**}$	$68.3 \pm 1.9^{**}$
НФ	100 ± 2.5	$87.8 \pm 2.9^*$	$68.0 \pm 3.7^{**}$	$57.7 \pm 5.0^{**}$	$59.8 \pm 1.4^{**}$	$55.3 \pm 3.7^{**}$
ФФ	100 ± 1.5	96.6 ± 3.6	96.5 ± 8.8	$87.0 \pm 8.6^*$	$80.1 \pm 8.1^*$	$77.0 \pm 8.8^*$
ПВ	100 ± 1.0	102.0 ± 1.1	$89.0 \pm 8.4^*$	$78.2 \pm 3.5^{**}$	$71.2 \pm 3.6^{**}$	$72.0 \pm 3.3^{**}$
ТВ	100 ± 5.4	—	$302.0 \pm 21.0^{**}$	$254.0 \pm 13.0^{**}$	$307.0 \pm 16.2^{**}$	$131.0 \pm 14.2^*$
АЧТВ	100 ± 3.2	115.0 ± 7.3	$128.5 \pm 8.0^*$	$170.0 \pm *0^{**}$	$142.0 \pm 7.8^{**}$	118.0 ± 7.2
Агрегация тромбоцитов	100 ± 4.5	100.0 ± 3.7	$51.0 \pm 5.0^{**}$	$67.0 \pm 7.5^{**}$	$73.5 \pm 7.7^{**}$	$69.0 \pm 5.5^{**}$
ФХП _а	100 ± 4.5	105.0 ± 4.0	$140.0 \pm 5.0^{**}$	$144.0 \pm 5.2^{**}$	$156.0 \pm 5.5^{**}$	$175.0 \pm 6.0^{**}$

Примечание. Статистические показатели рассчитаны относительно соответствующих проб контроля с NaCl, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

тромбиновое время (ТВ), свидетельствующее об общем процессе свертывания крови по методам, описанным ранее (Баркаган, Момот, 2008; Ляпина и др., 2012).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программного пакета STATISTICA 8.0. При проверке вариационных рядов на нормальность распределения использовали критерий Шапиро–Уилка. Данные представлены в виде среднего $\pm$ ошибка среднего ($M \pm SEM$). Для межгруппового сравнения трех независимых выборок был применен непараметрический критерий Крускала–Уоллиса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В экспериментах *in vitro* при использовании модели гипокоагуляции, имитирующей состояние системы гемостаза с ослабленным свертыванием, было установлено, что добавление ХТЗ к гепаринизированной плазме крови крыс способствовало снижению суммарного и неферментативного фибринолиза, причем эффекты усиливались при увеличении концентрации ХТЗ в системе. Ферментативный фибринолиз изменялся под влиянием ХТЗ слабо и только при высоких его концентрациях в системе (табл. 1).

Исследование свертывания крови показало активирующее действие ХТЗ на факторы внешнего механизма свертывания крови, о чем свидетельствовало укорочение времени образования сгустка по тесту ПВ. В то же время по тестам АЧТВ и ТВ наблюдалось усиление процессов гипокоагуляции, которые ослабевали с увеличением

концентрации ХТЗ. При этом отмечалось подавление АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов. Однако в данных условиях эксперимента активность фибринстабилизирующего фактора свертывания ХП_а повышалась в прямой пропорциональной зависимости от используемых концентраций в системе — чем они выше, тем больший эффект обнаруживался (табл. 1).

В экспериментах *in vivo* на животных с гипокоагуляцией, вызванной введением ВМГ, выявлены следующие эффекты ХТЗ: подавлялись все виды фибринолиза плазмы крови (СФА, НФ, ФФ) на 41, 46 и 32% соответственно, укорачивалось время лизиса эуглобулинового сгустка (ВЛЭС) на 19%, снижалась активность плазмина на 29% при повышении активности t-РА на 37% по сравнению с контролем. Это сопровождалось усилением активности свертывающего фактора ХП_а (на 25%), агрегации тромбоцитов (на 28%) и уменьшением концентрации фибриногена (на 23%) по сравнению с контрольной группой. При этом исследованные показатели приближались или достигали значений группы интактных крыс (норма). Однако удлинение АЧТВ на 41% по сравнению с контролем, характеризующее внутренний механизм свертывания, указывало на снижение активности факторов протромбинового комплекса при действии ХТЗ на фоне гипокоагуляции (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализируя полученные в настоящей работе результаты, необходимо отметить, что хитозан как в условиях *in vitro*, так и *in vivo* оказывал влияние на гемостаз: однозначно подавлял фибринолитическую активность, факторы внешнего пути

Таблица 2. Показатели параметров гемостаза на фоне гипокоагуляции, вызванной введением гепарина, через 30 мин после введения хитозана в дозе 10 мг/кг массы тела (опыт), физиологического раствора (контроль) и в группе норма ($M \pm m$)

Показатели гемостаза	Группы животных		
	контроль (ВМГ + 0.85%-ый NaCl)	опыт (ВМГ + ХТЗ)	норма
СФА, мм ² (%)	71.4 ± 3.5 (100%)	42.3 ± 1.7 (59%)**	38.6 ± 0.5 (54%)**
НФ, мм ² (%)	45.0 ± 1.1 (100%)	24.1 ± 0.5 (54%)**	25.0 ± 0.5 (56%)**
ФФ, мм ² (%)	26.8 ± 1.1 (100%)	18.1 ± 0.7 (68%)**	13.6 ± 0.8 (51%)**
ВЛЭС, мин (%)	120.0 ± 9.3 (100%)	97.5 ± 6.1 (81%)**	73.3 ± 2.9 (61%)**
Активность t-РА, мм ² (%)	40.8 ± 7.7 (100%)	56.0 ± 6.8 (137%)**	83.0 ± 4.4 (203%)**
Активность плазмينا, мм ² (%)	1.4 ± 0.5 (100%)	1.0 ± 0.01 (71%)**	3.7 ± 0.5 (264%)**
АЧТВ, с (%)	49.4 ± 2.9 (100%)	69.8 ± 2.6 (141%)**	39.9 ± 1.6 (81%)*
Агрегация тромбоцитов (%)	2.3 ± 0.2 (100%)	2.95 ± 0.3 (128%)*	3.2 ± 0.3 (139%)*
Концентрация фибриногена, мг %	404 ± 0.3 (100%)	310 ± 2.0 (77%)**	270 ± 2.0 (67%)**
ФХПa, ед (%)	58.0 ± 3.8 (100%)	72.5 ± 3.2 (125%)**	83.4 ± 3.42 (144%)**

Примечание. Статистические показатели рассчитаны относительно соответствующих проб контроля (ВМГ + NaCl), Обозначения: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

свертывания, а также повышал активность фибринстабилизирующего фактора в крови крыс при гипокоагуляции, вызванной гепарином.

Добавление к гепаринизированной плазме крови животных в условиях *in vitro* различных концентраций хитозана способствовало снижению всех видов фибринолиза (суммарного, неферментативного и ферментативного), протромбинового времени и усилению активности фибринстабилизирующего фактора свертывания крови XIIIa. Это связано с влиянием хитозана на полимеризацию фибрина и активацию факторов внешнего пути свертывания крови, в том числе и тканевого фактора. Установленные нами факты согласуются с данными других авторов, показавших, что у людей с пониженной свертываемостью крови после введения непрямого антикоагулянта варфарина применение препарата Celox, содержащего хитозан, укорачивало протромбиновое время вследствие повышения активности тканевого фактора (Актор *et al.*, 2014). Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что хитозан активирует факторы внешнего пути свертывания.

В то же время в наших экспериментах было показано, что используемый полисахарид хитозан на фоне присутствующего в плазме крови крыс гепарина не оказывал влияния на факторы внутреннего механизма свертывания крови. Это можно объяснить способностью гепарина образовывать комплексы с этими факторами, что приводило к снижению активности коагуляционных соедине-

ний, обеспечивающих процесс свертывания, а этот факт согласуется с ранее полученными данными (Дрозд, Макаров, 2013; Толстенков и др., 2006). Возможно, это обусловлено и недостаточной концентрацией хитозана, добавленного к гепаринизированной плазме крови крыс, о чем и свидетельствуют полученные нами данные.

В условиях организма на модели гипокоагуляции, вызванной внутривенным введением ВМГ, после инъекции хитозана крысам отмечалось, как и в условиях *in vitro*, подавление всех видов фибринолиза, активности плазмينا, повышение активности фактора XIIIa. Однако, в отличие от результатов, полученных *in vitro*, в плазме крови животных после введения хитозана наблюдалось удлинение времени лизиса эуглобулинового сгустка, свидетельствующее об участии хитозана в процессах гиперкоагуляции. Это можно объяснить повышением свертываемости крови вследствие активации не только плазменного, но, как показали наши исследования, и первичного гемостаза за счет усиления агрегации тромбоцитов, что согласуется с данными других авторов (Chou *et al.*, 2003). Однако мы установили агрегационную способность хитозана только в организме, и это позволяет сделать вывод, что механизм данного явления обусловлен взаимодействием хитозана с рецепторами тромбоцитов — гликопротеинами Pb/IIIa и образованием фибриногеновых мостиков. Данные факты согласуются с результатами других авторов (Кузник и др., 2010). Кроме того, после перорального

введения хитозана животным наблюдалось восстановление концентрации фибриногена до нормального значения по сравнению с контрольной группой, что указывает на положительную антитромботическую роль хитозана в организме. Одновременно при этом наблюдалось повышение активности тканевого активатора плазминогена и некоторое снижение свертываемости крови по внутреннему пути свертывания вследствие удлинения АЧТВ, что также подтверждает способность хитозана препятствовать процессам тромбообразования даже при активации факторов внешнего механизма свертывания. Таким образом, хитозан, усиливающий процессы свертывания крови (Hu *et al.*, 2018), в организме при гипокоагуляции способствует усилению свертываемости как за счет первичного гемостаза и активации факторов внешнего пути свертывания крови, так и вследствие подавления фибринолиза, что впервые показано в данной работе.

Таким образом, изучение действия хитозана в условиях гипокоагуляции, вызванной гепарином, выявило его разнонаправленное действие на параметры системы гемостаза. В условиях *in vitro*, и *in vivo* хитозан подавляет все виды фибринолиза — суммарный, ферментативный, неферментативный и активность плазмينا. Полученные данные свидетельствуют об активации под влиянием хитозана первичного гемостаза только в условиях организма, что указывает на участие рецепторного аппарата тромбоцитов в этих процессах. Установлен активирующий механизм действия хитозана на факторы внешнего пути свертывания крови.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке МГУ им. М.В. Ломоносова по госбюджетной фундаментальной теме “Регуляторы свертывающей и противосвертывающей систем в норме и при патологии” (номер цитис 121032300076-3).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

Вклад авторов. Идея работы и планирование эксперимента — Л.А. Ляпина, М.Е. Григорьева; проведение экспериментов — все авторы; обработка данных — все авторы; написание статьи — Л.А. Ляпина, М.Е. Григорьева; редактирование статьи — Т.Ю. Оберган.

Благодарности. Выражаем благодарность Г.Ю. Ляпину, способствовавшему проведению работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия системы гемостаза. М.: Ньюдиамед, 2008. 292 с.
- Дрозд Н.Н., Макаров В.А. Антикоагулянтная активность субстанций, нано- и микроструктур на основе производных хитозана // Хитозан: сб. ст. / ред. К.Г. Скрябин, Михайлов С.Н., Варламов В.П. М.: Центр “Биоинженерия”, 2013. С. 530–563.
- Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита: Экспресс издательство, 2010. 832 с.
- Ляпина Л.А., Григорьева М.Е., Оберган Т.Ю., Шубина Т.А. Теоретические и практические вопросы изучения функционального состояния противосвертывающей системы крови. М.: Адвансед Солюшнз, 2012. 160 с.
- Толстенков С.А., Дрозд Н.Н., Макаров В.А., Банникова Г.Е. Биоспецифичный электрофорез комплексов между низкомолекулярными гепаринами и хитозанами // Матер. 8-ой межд. конф. М.: Изд-во ВНИРО, 2006. С. 253–256.
- Aktor S., Emekli-Alturfan E., Ozer C., Gonul O., Garip H., Yarat A., Goker K. Effects of Ankaferd Blood Stopper and Celox on the tissue factor activities of warfarin-treated rats // Clin. Appl. Thromb. Hemost. 2014. V. 20. № 1. P. 16–21.
- Cassano M., Di Gioia M.L., Mellace S., Picci N., Trombino S. Hemostatic gauze based on chitosan and hydroquinone: preparation, characterization and blood coagulation evaluation // J. Mater. Sci. Mater. Med. 2017. V. 28. № 12. P. 190.
- Chou T.C., Fu E., Wu C.J., Yeh J.H. Chitosan enhances platelet adhesion and aggregation // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2003. V. 302. № 3. P. 480–483.
- Guo X., Sun T., Zhong R., Ma L., You C., Tian M., Li H., Wang C. Effects of chitosan oligosaccharides on human blood components // Front. Pharmacol. 2018. V. 3. № 9. P. 1412.
- Hu Z., Lu S., Cheng Y., Kong S., Li S., Li C., Yang L. Investigation of the effects of molecular parameters on the hemostatic properties of chitosan // Molecules. 2018. V. 23. № 12. P. 3147.
- Lestari W., Yusry W., Haris M.S., Jaswir I., Idrus E. (2020) A glimpse on the function of chitosan as a dental hemostatic agent // Jpn. Dent. Sci. Rev. 2020. V. 56. № 1. P. 147–154.
- Naveed M., Phil L., Sohail M., Hasnat M., Baig M.M.F.A., Ihsan A.U., Shumzaid M., Kakar M.U., Mehmood Khan T., Akabar M.D., Hussain M.I., Zhou Q.G. Chitosan oligosaccharide (COS): an overview // Int. J. Biol. Macromol. 2019. V.15. № 129. P. 827–843.
- Yang Z., Han B., Dawei Fu. D., Liu W. Acute toxicity of high dosage carboxymethyl chitosan and its effect on the blood parameters in rats // J. Mater. Sci. Mater. Med. 2012. V. 23. № 2. P. 457–462.
- Zhang W., Zhong D., Liu Q., Zhang Y. Effect of chitosan and carboxymethyl chitosan on fibrinogen structure and bloodcoagulation // J. Biomater. Sci. Polym. Ed. 2013. V. 24. № 13. P. 1549–1563.

Chitosan Effect on Blood Coagulation in Heparinized Rats

L. A. Lyapina^{1, #}, T. Yu. Obergan¹, M. E. Grigorjeva¹, and T. A. Shubina¹

¹ *Lomonosov Moscow State University, Department of biology, Moscow, 119234 Russia*

[#]*e-mail: lyapinal@mail.ru*

The chitosan added to heparinized blood plasma under *in vitro* conditions at concentrations of 10^{-2} , 10^{-1} , 1, 5, 10 mg/mL dose-dependent reduced fibrinolysis, prothrombin time, platelet aggregation, blood clotting and increased the activity of factor XIIIa. *In vivo*, in a rat model with hypocoagulation caused by intravenous administration of high-molecular heparin (400 MEd/kg body weight), 30 minutes after injection of chitosan (10 mg/kg body weight), a decrease in fibrinolysis, plasmin activity, increased FXIIIa activity and platelet aggregation was also detected. At the same time, the fibrinogen concentration was restored to the normal levels. This was accompanied by an increase in the activity of the tissue plasminogen activator and an extension of the blood clotting time (APTT test). The conclusion was made about the multidirectional effect of chitosan on the hemostasis parameters under hypocoagulation and the possible mechanisms of chitosan action were considered.

Keywords: chitosan, heparin, hypocoagulation model, fibrinolysis, hemostasis, blood clotting