

© Коллектив авторов, 2022

УДК 612.115.3: 615.273.5: 577.112.384.2

Оберган Т.Ю., Шубина Т.А., Григорьева М.Е., Ляпина Л.А.

Влияние композита хитозана с аспарагиновой кислотой на изменение реакций системы гемостаза в условиях экспериментальной гипокоагуляции

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»,
119234, Москва, Россия, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

Введение. Геморрагические состояния, обусловленные нарушением реакций сосудисто-тромбоцитарного и/или плазменного гемостаза при бактериальных инфекциях, воспалении и травмах различного генеза являются серьезной проблемой физиологии и медицины. Представляет интерес использование биополимеров на основе хитозана, обладающих высокой гемостатической активностью.

Цель работы – исследование действия композита хитозана с аспарагиновой кислотой, а также его составных компонентов на противосвертывающий потенциал плазмы крови животных с экспериментальной гипокоагуляцией.

Методика. Исследование выполнено на 48 крысах-самцах Wistar, разделенных на 5 групп. Композит хитозана (100 мг/кг) с аспарагиновой кислотой (2 мг/кг), его составные части в дозах, эквивалентных их содержанию в композите или физиологический раствор (контроль) вводили крысам перорально ежедневно 1 раз в сутки в течение 14 сут. Для моделирования экспериментальной гипокоагуляции через 10 мин после введения исследуемых препаратов животные 1-й – 4-й групп получали ацетилсалициловую кислоту (1,5 мг/кг, перорально). Группу 5-ю составили интактные крысы. Через 20 ч после завершения курса введения в плазме крови животных оценивали АДФ-стимулированную агрегацию тромбоцитов, показатели плазменного гемостаза (АЧТВ, протромбиновое время, тромбиновое время, содержание фибриногена, активность фактора свертывания FXIIIa) и фибринолитическую активность (суммарную, ферментативную и фибриндеполимеризационную).

Результаты. Применение композита хитозана с аспарагиновой кислотой способствовало повышению гемостатического потенциала крови, что выражалось в снижении всех видов фибринолитической активности плазмы крови, ускорении времени свертывания (по АЧТВ и протромбиновому времени), возрастании активности фактора FXIIIa и содержания фибриногена, а также в увеличении агрегации тромбоцитов. Отдельно хитозан также вызывал усиление свертываемости крови животных, но в меньшей степени, чем композит, а аспарагиновая кислота оказывала влияние только на ферментативный фибринолиз и агрегацию тромбоцитов.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о высокой эффективности композита хитозана с аспарагиновой кислотой в качестве средства, нормализующего сосудисто-тромбоцитарный и плазменный гемостаз при гипокоагуляционных состояниях.

Ключевые слова: агрегация тромбоцитов; гемостаз; гипокоагуляция; композит хитозана с аспарагиновой кислотой; фибринолиз

Для цитирования: Оберган Т.Ю., Шубина Т.А., Григорьева М.Е., Ляпина Л.А. Влияние композита хитозана с аспарагиновой кислотой на изменение реакций системы гемостаза в условиях экспериментальной гипокоагуляции. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2022; 66 (4): 20-26.

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.04.20-26

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Оберган Т.Ю., Григорьева М.Е., Ляпина Л.А.; сбор и обработка материала – Оберган Т.Ю., Шубина Т.А., Григорьева М.Е., Ляпина Л.А.; статистическая обработка – Оберган Т.Ю., Шубина Т.А.; написание текста – Оберган Т.Ю., Шубина Т.А.; редактирование – Григорьева М.Е., Ляпина Л.А. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все авторы.

Для корреспонденции: Оберган Тамара Юрьевна, e-mail: tobergan@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена по госбюджетной фундаментальной теме «Регуляторы свертывающей и противосвертывающей систем в норме и при патологии» № 121032300076-3.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 24.05.2022

Принята к печати 27.10.2022

Опубликована 15.12.2022

Obergan T.Y., Shubina T.A., Grigorjeva M.E., Lyapina L.A.

Effect of a chitosan composite with aspartic acid on the change in reactions of the hemostasis system in experimental hypocoagulation

Lomonosov Moscow State University,
Leninskie Gory, 1, Bldg. 12, Moscow, 119234, Russian Federation

Background. Hemorrhagic conditions caused by impaired reactions of vascular-platelet and /or plasma hemostasis in bacterial infections, inflammation and injuries of various origin are a serious challenge to physiology and medicine. It seems promising to use chitosan-based biopolymers with a high hemostatic activity.

The aim of the study was to investigate the effect of a chitosan composite with aspartic acid and its components on the anticlotting potential of blood plasma from animals with experimental hypocoagulation.

Methods. The study was performed on 48 male Wistar rats divided into 5 groups. The chitosan (100 mg/kg) composite with aspartic acid (2 mg/kg), its components at doses equivalent to their content in the composite, or a saline (control) were administered orally to rats daily once a day for 14 days. To simulate experimental hypocoagulation, 10 min after the drug administration, animals of groups 1-4 received acetylsalicylic acid (1.5 mg/kg, orally). Group 5 consisted of intact rats. ADP-stimulated platelet aggregation, plasma hemostasis parameters (APTT, prothrombin time, thrombin time, fibrinogen content, coagulation factor FXIIIa activity) and fibrinolytic activity (total, enzymatic, and fibrin-depolymerization) were evaluated in the blood plasma 20 hours after completion of the course of drug administration.

Results. The chitosan composite with aspartic acid contributed to the increase in the blood hemostatic potential evident as a decrease in all types of plasma fibrinolytic activity, acceleration of clotting (according to APTT and prothrombin time), increased factor FXIIIa activity and fibrinogen content, as well as increased platelet aggregation. Chitosan alone also facilitated blood clotting, although to a lesser extent than the composite, while aspartic acid influenced only enzymatic fibrinolysis and platelet aggregation.

Conclusion. The study showed a high efficacy of the chitosan composite with aspartic acid for normalizing vascular-platelet and plasma hemostasis in hypocoagulation conditions.

For citation: Obergan T.Y., Shubina T.A., Grigorjeva M.E., Lyapina L.A. Effect of a chitosan composite with aspartic acid on the change in reactions of the hemostasis system in experimental hypocoagulation. *Patologicheskaya Fiziologiya Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2022; 66 (4): 20-26. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.04.20-26

Author's contribution: concept and design of the research – Obergan T.Y., Grigorjeva M.E., Lyapina L.A.; collection and processing of material – all authors; statistical processing, writing the text – Obergan T.Y., Shubina T.A.; editing – Grigorjeva M.E., Lyapina L.A.. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: *Tamara Yu. Obergan*, e-mail: tobergan@mail.ru

Information about the authors:

Obergan T.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-3760-3943>

Shubina T.A., <https://orcid.org/0000-0003-0445-2066>

Grigorjeva M.E., <https://orcid.org/0000-0003-0469-3943>

Lyapina L.A., <https://orcid.org/0000-0002-8983-652X>

Financing. The study was carried out on the state budget fundamental topic «Regulators of coagulation and anticoagulation systems in normal and pathological conditions» No. 121032300076-3.

Conflict of interest. The authors declare that there are no conflicts.

Received 24.05.2022

Accepted 27.10.2022

Published 15.12.2022

Введение

Травмы различного генеза, хроническое воспаление, бактериальные инфекции могут приводить к гемокоагуляционным осложнениям с прогрессирующим ДВС-синдромом по фибринолитическому типу вследствие нарушения реакций сосудисто-тромбоцитарного и/или плазменного гемостаза [1]. Это может создавать серьезную проблему для эффективного заживления ран и приводить к массивным кровотечениям, угрожающим жизни пациентов.

В настоящее время все более широкое применение получают фармакологические препараты на основе аминокислот. Известно, что аминокислоты входят в состав коферментов, участвуют в образовании гормонов, медиаторов и нейротрансмиттеров, являются источниками метаболитов, принимающих участие в обмене веществ.

Аспарагиновая кислота (аспартат) является алифатической аминокислотой, при физиологических значениях pH несущей отрицательный заряд. Она присутствует в организме человека в составе белков

и в свободном виде, в результате ферментативной деятельности синтезируются и L-, и D-конфигурации, каждая из которых играет свою роль в организме. L-форма аминокислоты необходима для синтеза белка и выведения лишнего аммиака из организма, а D-форма — отвечает за выработку гормонов и нормальное функционирование мозга, являясь нейромедиатором, влияет на уровень цАМФ, в результате чего действие адреналина становится более выраженным. Недостаток аминокислоты проявляется сильной усталостью, депрессиями, частыми инфекционными заболеваниями. На основе аспарагиновой кислоты создан гемостатический гидрогель для остановки кровотечений и уменьшения кровопотери при травматической ране. В его состав входит полиаспарагиновая кислота, неорганический полифосфат и диальдегид. Он показал хорошую биосовместимость, высокие коагулянтными свойствами и адгезию к эндотелию, особенно в раневых перевязочных материалах при восстановлении тканей [2].

В настоящее время в качестве средств с высокой гемостатической активностью также активно изучаются биополимеры на основе хитозана, который представляет собой полисахарид, полученный из хитина ракообразных. Он обладает широким спектром биологических активностей: антимикробной, антибактериальной, противоопухолевой, иммуномодулирующей, гемостатической [3, 4]. Благодаря своей хорошей биосовместимости, биоразлагаемости и нетоксичности хитозан является широко применяемым биополимером для ускорения ранозаживления. При наружном применении (раневые повязки) один из механизмов его кровоостанавливающего действия обусловлен связыванием положительно заряженных групп хитозана с отрицательно заряженными эритроцитами с образованием гелеобразного сгустка в месте контакта с кровью [5]. Показано, что хитозан обладает умеренной прокоагулянтной активностью при введении в организм [6]. Степень влияния хитозана на структуру и функции белков системы гемостаза при поступлении в организм, определяется не только возможностью электростатического взаимодействия с белками крови, но и степенью деполяризации, а также его молекулярной массой [7].

Ранее в наших экспериментах *in vitro* и при пероральном введении хитозана здоровым животным была доказана способность данного соединения вызывать усиление свертываемости крови за счет повышения агрегации тромбоцитов, снижения фибринолитического потенциала крови и возрастания степени полимеризации фибрина [8, 9]. Уникальные биологические

свойства и преимущества препаратов на основе хитозана, такие как стабильность при перепадах температур, длительный срок хранения, менее вязкая структура и полная растворимость в воде делает представителей данного класса биологических веществ перспективными для дальнейшего изучения и создания новых средств, оказывающих влияние на процессы гемостаза. Однако необходимо учитывать, что влияние хитозана и композитов на его основе на систему свертывания крови в условиях гипокоагуляции остается не до конца выясненным.

Цель исследования — изучении действия композита хитозана с аспарагиновой кислотой и его составных компонентов — хитозана и аспарагиновой кислоты на изменение реакций системы гемостаза у животных с экспериментальной гипокоагуляцией, вызванной пероральным введением ацетилсалициловой кислоты (АСК).

Методика

Проведена серия экспериментов по изучению профилактического действия смеси хитозана с аспарагиновой кислотой на гемостаз в условиях пониженной свертываемости крови, индуцированной введением АСК. В работе использованы водорастворимый сукцинил хитозана, полученный из панцирей красных крабов (ООО «Биопрогресс», Россия), D, L-аспарагиновая кислота (Рехим, Россия) и АСК (Hebei Jiheng (Group) Pharmaceutical Co., Китай).

Исследование выполнено на 48 крысах-самцах Wistar (масса тела 250 – 280 г). Животные содержались в контролируемых условиях вивария при температуре окружающего воздуха 24 ± 2 °С, искусственном освещении день/ночь – 12 ч/12 ч, принудительной вентиляции и влажности воздуха $60 \pm 5\%$. Содержание и манипуляции с животными проводили в соответствии с «Правилами надлежащей лабораторной практики» (приказ Министерства здравоохранения РФ № 199 от 01.04.2016) и «Руководством по содержанию и уходу за лабораторными животными» (согласно Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и в других научных целях, ETS N 123, Страсбург, 18.03.1986, приложение от 15.06.2006). Перед началом исследования животные с экспериментальной гипокоагуляцией были рандомизированы по массе на 4 группы: «Контроль» (группа 1, $n = 10$) — животные, которые получали 0,85%-ый физиологический раствор как растворитель исследуемых препаратов; животные, которые получали раствор композита «хитозан (100 мг/кг) + аспарагиновая кислота (2 мг/кг)» — «ХТЗ + АК» (груп-

па 2, $n = 10$), или хитозана (100 мг/кг) – «ХТЗ» (группа 3, $n = 10$), или аспарагиновой кислоты (2 мг/кг) – «АК» (группа 4, $n = 9$). Дополнительно использовались интактные крысы «ИК» (группа 5, $n = 9$), с которыми не производили никаких манипуляций. Исследуемый композит, хитозан и аспарагиновую кислоту ежедневно растворяли в физиологическом растворе и вводили крысам перорально в объеме 0,5 мл 1 раз в день в течение 14 сут. Животные первых четырех групп через 10 мин после введения исследуемых препаратов перорально получали АСК в терапевтической дозе 1,5 мг/кг для моделирования экспериментальной гипokoагуляции.

Через 20 ч после 14-го введения исследуемых препаратов у крыс производили забор крови из яремной вены с последующим получением плазмы и измерением в богатой тромбоцитами плазме АДФ-стимулированной агрегации тромбоцитов (конечная концентрация 5 мкМ) методом *G. Born* с использованием лазерного агрегометра «АЛАТ-2 ЛА 220» (НПФ «Биола», Россия) по инструкции к прибору. Далее в бедной тромбоцитами плазме определяли активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПВ), тромбиновое время (ТВ), содержание фибриногена по Клауссу с помощью стандартных наборов реактивов («Технология-Стандарт», Россия) на анализаторе свертывания крови АСКa 2-02-Астра (Россия) и уровень активности фактора свертывания FXIIIa с применением набора ре-

активов (НПО «Ренам», Россия) в соответствии с рекомендациями производителей наборов. Фибринолитический потенциал плазмы оценивали по тестам суммарного (СФА) и ферментативного фибринолиза (ФФ), фибриндеполимеризационной активности (ФДПА) согласно стандартным методам [10].

Статистическая обработка результатов исследования выполнена с использованием пакета статистических программ Statistica 8 (StatSoft Inc., США). Соответствие вариационных рядов закону нормального распределения оценивали по критерию Шапиро–Уилка. Для описания данных, распределение которых отличалось от нормального, использованы медиана (Me), первый и третий квартили [Q1; Q3]. Значимость различий в исследуемых группах определяли по тесту Краскела–Уоллиса с последующими апостериорными сравнениями (непараметрический вариант критерия Данна). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

У животных с экспериментальной гипokoагуляцией, которым вводили АСК, (группа 1) по отношению к интактным крысам (группа 5) выявлено повышение ФДПА – на 15% (табл. 1) и удлинение АЧТВ – на 30%, ПВ – на 47%, ТВ – на 34% при снижении уровня активности FXIIIa – на 18% ($p < 0,05$) соответственно (табл. 2). Это сопровождалось снижением агрегации тромбоцитов на 30% ($p < 0,05$, что свидетельствова-

Таблица 1/Table 1

Фибринолитическая активность плазмы крови после введения композита хитозана с аспарагиновой кислотой и его составных компонентов крысам с гипokoагуляцией, (Me [Q1; Q3])

Fibrinolytic activity of blood plasma after administration of chitosan composite with aspartic acid and its constituent components to rats with hypocoagulation, (Me [Q1;Q3])

Показатели Indicators	Группа 1 Контроль $n = 10$ Group 1, Control	Группа 2 Композит «ХТЗ+АК» $n = 10$ Group 2 Composite	Группа 3 Хитозан $n = 10$ Group 3 Chitosan	Группа 4 Аспарагиновая кислота $n = 9$ Group 4 aspartic acid	Группа 5 Интактные крысы $n = 9$ Group 5 Intact rats
СФА, мм ² TFA mm ²	41 [36; 42]	25 [24; 26]**	25,5 [25; 28]*	33 [32; 36]	36 [32; 42]
ФДПА, мм ² FDPA, mm ²	27 [20; 30] $p_{1-5} < 0,05$	16 [15,5; 17]**	20,5 [17; 24,5]*	23 [20; 24]	23,5 [20; 25]
ФФ, мм ² EF, mm ²	15 [12; 16]	8 [5; 9]*	6,5 [5; 9]**	10,5 [7; 16]*	14 [8; 22]

Примечание. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ по сравнению с группой 1 (контроль), p_{1-5} – достоверность различий между группами 1-5; n – количество животных в группе; СФА – суммарная фибринолитическая активность, ФДПА – фибриндеполимеризационная активность, ФФ – ферментативная фибринолитическая активность.

Note. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ compared to the group 1 (control), p_{1-5} – the reliability of differences between groups 1-5; n – the number of animals in the group; TFA – total fibrinolytic activity, FDPA – fibrindepolymerization activity, EF – enzymatic fibrinolytic activity. Composite – chitosan + aspartic acid.

ло о развитии гипокоагуляции, т.е. повышении анти-тромбоцитарного, антикоагулянтного и фибринолитического потенциала крови животных после введения им АСК.

Введение животным композита «ХТЗ + АК» способствовало статистически значимому укорочению АЧТВ и ПВ на 21% ($p < 0,05$) и 34% ($p < 0,01$) соответственно при увеличении уровня активности FXIIIa на 33% ($p < 0,05$) и содержания фибриногена на 53% ($p < 0,01$) в плазме крови относительно контрольных значений. Также применение указанного композита привело к снижению всех видов фибринолитической активности плазмы крови животных: СФА уменьшилась на 39% ($p < 0,01$), ФДПА – на 41% ($p < 0,01$), а ФФ – на 47% ($p < 0,05$) относительно группы «Контроль». При этом у животных группы «ХТЗ + АК» выявлено повышение агрегации тромбоцитов на 58% ($p < 0,05$).

У животных группы «ХТЗ», получавших препарат хитозана, отмечено укорочение ПВ и ТВ на 25 и 23% ($p < 0,05$), соответственно, а также уменьшение уровня активности FXIIIa – на 24% ($p < 0,05$) и возрастание концентрации фибриногена – на 31% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Указанные эффекты были менее выраженными, чем у крыс группы «ХТЗ + АК». В то же время снижение СФА и ФФ на 38% ($p < 0,01$) и 57% ($p < 0,01$), соответственно, относительно группы «Контроль» было сравнимо с группой «ХТЗ+АК», а ослабление ФДПА было меньшим – на 24% ($p < 0,05$) относительно контрольных значений. При этом введение хитозана не оказало значимого влияния ни на АЧТВ, ни на агрегацию тромбоцитов.

На фоне введения животным аспарагиновой кислоты (группа «АК») наблюдалось повышение агрегации тромбоцитов на 36% и снижение фибринолитической активности крови ферментативной природы

Таблица 2/Table 2

Параметры гемостаза после введения композита хитозана с аспарагиновой кислотой и его составных компонентов крысам с гипокоагуляцией, (Ме [Q1; Q3])

Hemostasis parameters after administration of chitosan composite with aspartic acid and its constituent components to rats with hypocoagulation, (Me [Q1;Q3])

Показатели Indicators	Группа 1 Контроль $n = 10$ Group 1, Control	Группа 2 Композит «ХТЗ + АК» $n = 10$ Group 2 Composite	Группа 3 Хитозан $n = 10$ Group 3 Chitosan	Группа 4 Аспарагиновая кислота $n = 9$ Group 4 aspartic acid	Группа 5 Интактные крысы $n = 9$ Group 5 Intact rats
АЧТВ, Activated partial thromboplastin time	33,9 [27,8; 42,2] $p_{1-5} < 0,05$	26,7* [24,2; 30,3]	33,8 [27,0; 39,5]	31,9 [24,3; 39,8]	25,9 [22,9; 33,2]
Протромбиновое время (ПВ), с Prothrombin time, c	26,4 [25,4; 27,2] $p_{1-5} < 0,01$	17,3** [14,6; 24,1]	19,9* [16,0; 22,4]	24,2 [23,5; 25,1]	17,9 [15,6; 20,1]
Тромбиновое время, с Thrombin time, c	21,6 [19,5; 23,5] $p_{1-5} < 0,05$	23,2 [19,5; 25,6]	16,6* [15,7; 17,0]	21,1 [19,5; 22,5]	16,1 [15,7; 16,4]
Фибриноген, г/л Fibrinogen, g/l	3,2 [3,0; 3,7]	5,0** [4,7; 5,2]	4,2* [3,5; 4,8]	3,3 [2,9; 4,0]	3,4 [2,8; 4,0]
Активность FXIIIa, Ед/мл FXIIIa activity, units/ml	103 [95; 110] $p_{1-5} < 0,05$	137,5* [117,5; 155]	128* [125; 160]	112,5 [100; 120]	125 [110; 132]
Агрегация тромбоцитов, % Platelet aggregation %	100 [89; 145] $p_{1-5} < 0,05$	158* [103; 170]	122 [81; 156]	136* [89; 158]	143 [133; 178]

Примечание. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ по сравнению с группой 1 (контроль), p_{1-5} – значимость различий между группами 1-5; n – количество животных в группе.

Note. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ compared to the group 1 (control), p_{1-5} – the reliability of differences between groups 1-5; n – the number of animals in the group;

Composite – chitosan + aspartic acid.

на 30% ($p < 0,05$) относительно значений в контрольной группе, но слабее, чем в группе «ХТЗ + АК». Следует отметить, что на изменение АЧТВ, ПВ, ТВ, концентрации фибриногена и уровня активности FXIIIa применение аспарагиновой кислоты значимого влияния не оказало.

Обсуждение

Нарушение реакций сосудисто-тромбоцитарного и/или плазменного гемостаза вследствие травм различного генеза, возникновения инфекций могут приводить к гемокоагуляционным осложнениям как в сторону гипер-, так и гипокоагуляции [1].

В нашем исследовании для моделирования гипокоагуляции была использована АСК, которая является наиболее широко используемым антиагрегантным препаратом с хорошо известным механизмом действия. Основной антитромботический эффект АСК реализуется за счет необратимого ингибирования циклооксигеназы-1, что блокирует образование тромбоксана А₂ из арахидоновой кислоты, снижает активацию и агрегацию тромбоцитов, препятствуя образованию тромбов [11]. Кроме того, показано, что интрагастральное введение АСК приводит к снижению активности фактора FXIIIa, усилению фибриндеполимеризационной активности крови и активности плазмينا [12].

Результаты настоящего исследования вполне согласуются с данными литературы, поскольку моделирование состояния гипокоагуляции пероральным введением здоровым животным АСК вызывало уменьшение агрегации тромбоцитов с одновременным повышением фибриндеполимеризационной (неферментативной фибринолитической) активности плазмы крови. Следует отметить, что в данных условиях эксперимента длительность применения АСК в течение 14 сут в дозе 2 мг/кг способствовало снижению активности факторов свертывания как внешнего, так и внутреннего пути, что выражалось в удлинении ПВ, АЧТВ, ТВ и возрастании активности FXIIIa. Итак, антиагрегационные и фибринолитические эффекты АСК вызывали ослабление свертывающего потенциала крови.

Применение на этом фоне композита хитозана с аспарагиновой кислотой способствовало восстановлению реакций коагуляционного гемостаза, что выражалось в увеличении агрегации тромбоцитов, повышении содержания фибриногена, активности фактора FXIIIa, укорочении АЧТВ и ПВ, ослаблении фибринолитической и фибриндеполимеризационной активности крови. При этом выраженность эффектов от применения композита была сопоставима с таковы-

ми от применения одного хитозана в отношении ферментативного фибринолиза и свертыванию по внешнему пути (изменение ПВ).

Однако композит обнаруживал более выраженное по сравнению со своими составными частями – хитозаном и аспарагиновой кислотой влияние на первичный гемостаз, значительно усиливая агрегацию тромбоцитов, и факторы свертывания крови, повышая содержание фибриногена, активность фибринстабилизирующего фактора FXIIIa, одновременно снижая ФДПА. Эти факты свидетельствуют о восстановлении плазменного гемостатического потенциала крови за счет усиления как полимеризации, так и стабилизации фибрина, а также активации сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза [1, 13].

В настоящее время известно, что прокоагулянтная функция хитозана, входящего в состав исследуемого композита, обусловлена его катионной структурой и наличие аминогрупп в составе его молекулы индуцирует адсорбцию фибриногена, активацию тромбоцитов, высвобождение факторов коагуляции, что приводит к запуску внешнего пути свертывания [7], что мы и наблюдали в нашем исследовании.

Таким образом, композит на основе хитозана проявляет заметный прокоагулянтный эффект, восстанавливая нарушенный в результате применения АСК гемостатический баланс (гипокоагуляция). Активация процессов агрегации тромбоцитов и повышение факторов свертывания может являться потенциальным механизмом, посредством которого композит хитозана с аспарагиновой кислотой нормализует гемостатические реакции в условиях гипокоагуляции в эксперименте.

Впервые выявлено, что в данных условиях эксперимента у исследуемого композита установлено наличие эффекта синергии, а именно более высокий гемостатический эффект по сравнению с его составными частями. На основании этого композит хитозана с аспарагиновой кислотой может считаться перспективным гемостатическим средством.

Заключение

Проведенное исследование показало, что применение композита хитозана с аспарагиновой кислотой в условиях экспериментальной гипокоагуляции у крыс способствует активации тромбоцитарного и плазменного компонентов гемостаза, что выражалось в повышении агрегационной способности тромбоцитов, увеличении активности фибринстабилизирующего фактора свертывания FXIIIa и факторов свертывания внешнего и внутреннего путей коагуляции, повыше-

нии содержания фибриногена. При этом установлено ослабление фибринолитического потенциала крови, обусловленного как ферментативным фибринолизом, так и фибриндеполимеризационным действием неферментативного характера. Таким образом, комплексы на основе хитозана могут быть отнесены к потенциальным прокоагулянтным средствам, восстанавливающим реакции системы гемостаза в условиях гипокоагуляции.

Литература

(п.п. 2-6; 8; 13 см. References)

1. Бокарев И.Н. *Гематология для практического врача*. М.: Медицинское информационное агентство; 2018.
7. Толстенков С.А., Дрозд Н.Н., Макаров В.А., Банникова Г.Е. Биоспецифичный электрофорез комплексов между низкомолекулярными гепаринами и хитозанами. *Матер. Восьмой Межд. конф.* М.: Изд-во ВНИРО, 2006: 253–56.
9. Ляпина Л.А., Григорьева М.Е., Оберган Т.Ю., Шубина Т.А. Исследование гемостатических свойств препарата на основе хитозана. *Биофармацевтический журнал*. 2022; 14 (1): 3-7. doi: 10.30906/2073-8099-14-1-3-7
10. Шубина Т.А., Оберган Т.Ю. *Функциональное состояние противосвертывающей системы крови. Практические вопросы*. М.: Ким Л.А.; 2021.
12. Ляпина Л.А., Мясоедов Н.Ф., Шубина Т.А., Андреева Л.А., Оберган Т.Ю., Григорьева М.Е. Сравнительное действие пептида Lys-Arg-Arg-Lys-Pro-Gly-Pro варфарина и ацетилсалициловой кислоты при интрагастральном введении на параметры гемостаза и уровень глюкозы крови на фоне развития метаболического синдрома у крыс. *Патологическая физиология и экспериментальная медицина*. 2021; 65(1): 52-9. doi: 10.25557/0031-2991.2021.01.52-59

References

1. Bokarev I.N. *Hematology for a practical doctor [Gematologiya dlya prakticheskogo vracha]*. Moscow: Medical Information Agency; 2018. (In Russian)
2. Chen D., Liu X., Qi Y., Ma X., Wang Y., Song H., Zhao Y., Li W., Qin J. Poly(aspartic acid) based self-healing hydrogel with blood coagulation characteristic for rapid hemostasis and wound healing appli-

- cations. *Colloids Surf Biointerfaces*. 2022; 214: 112430. doi: 10.1016/j.colsurfb.2022.112430
3. Naveed M., Phil L., Sohail M., Hasnat M., Baig M., Ihsan A.U. et al. Chitosan oligosaccharide (COS): An overview. *Int J Biol Macromol*. 2019; 15(129): 827-43. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.01.192
4. Wang W., Xue C., Mao X. Chitosan: Structural modification, biological activity and application. *Int J Biol Macromol*. 2020; 164: 4532-46. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.09.042
5. Zhang W., Zhong D., Liu Q., Zhang Y. Effect of chitosan and carboxymethyl chitosan on fibrinogen structure and blood coagulation. *J Biomater Sci Polym. Ed.* 2013; 24 (13): 1549-63. doi: 10.1080/09205063.2013
6. Guo X., Sun T., Zhong R., Ma L., You C., Tian M. et al. Effects of chitosan oligosaccharides on human blood components. *Front Pharmacol*. 2018; 3(9): 1412. doi: 10.3389/fphar.2018.01412
7. Tolstenkov S.A., Drozd N.N., Makarov V.A., Bannikova G.E. Biospecific electrophoresis of complexes between low molecular weight heparins and chitosans. *Materials of the 8th Intern Conf. Moscow: Izdvo VNIRO*, 2006: 253–56. (In Russian)
8. Lyapina L., Grigorjeva M., Lyapin G., Obergan T., Shubina T. Aggregation effects of chitosan in the blood. *Norwegian Journal Development International Science*. 2021; 61: 13-6. (In Russian)
9. Lyapina L.A., Grigorieva M.E., Obergan T.Yu., Shubina T.A. Investigation of the hemostatic properties of the chitosan-based drugs. *Biopharm J*. 2022; 14 (1): 3-7. (In Russian) doi: 10.30906/2073-8099-14-1-3-7
10. Shubina T.A., Obergan T.Y. *Functional state of the blood anticoagulation system. Practical issues [Funktional'noe sostoyanie protivosvertvyayuschey sistemy krovi. Prakticheskie voprosy]*. Moscow: Kim L.A.; 2021. (in Russian)
11. Wang M.M., Xue M., Xu Y.G., Miao Y., Kon N., Yang L., et al. Panax notoginseng saponine is superior to aspirin in inhibiting platelet adhesion to injured endothelial cells through COX pathway in vitro. *Thrombosis research*. 2016; 141: 146-52. doi: 10.1016/j.thromres.2016.03.022
12. Lyapina L.A., Myasoedov N.F., Shubina T.A., Andreeva L.A., Obergan T.Yu., Grigorieva M.E. Comparative effects of intragastric Lys-ARG-Arg-Lys-Pro-Gly-Pro peptides, warfarin, and acetylsalicylic acid on hemostasis indexes and blood glucose in development of metabolic syndrome in rats. *Patologicheskaya Fizyologiya i Eksperimental'naya terapiya*. 2021; 65(1): 52-9. (In Russian) doi: 10.25557/0031-2991.2021.01.52-59
13. Chou T.C., Fu E., Wu C.J., Yeh J.H. Chitosan enhances platelet adhesion and aggregation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003; 302(3): 480-3. doi: 10.1016/s0006-291x(03)00173-6

Сведения об авторах:

Оберган Тамара Юрьевна, ст. науч. сотр., канд. биол. наук лаб. защитных систем крови им. проф. Б.А. Кудряшова каф. физиологии человека и животных биологического ф-та МГУ, e-mail: tobergan@mail.ru;
Шубина Татьяна Александровна, ст. науч. сотр., канд. биол. наук лаб. защитных систем крови им. проф. Б.А. Кудряшова каф. физиологии человека и животных биологического ф-та МГУ, e-mail: shubina.74@mail.ru;
Григорьева Марина Евгеньевна, вед. науч. сотр., канд. биол. наук лаб. защитных систем крови им. проф. Б.А. Кудряшова каф. физиологии человека и животных биологического ф-та МГУ, e-mail: mgrigorjeva@mail.ru;
Ляпина Людмила Анисимовна, проф., доктор биол. наук, гл. науч. сотр., зав. лаб. защитных систем крови им. проф. Б.А. Кудряшова каф. физиологии человека и животных биологического ф-та МГУ, e-mail: lyapinal@mail.ru