

УДК 612.115.3:612.115.064

РОЛЬ ПЕПТИДОВ ГЛИПРОЛИНОВОГО РЯДА В РЕГУЛЯЦИИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ПРИ СТРЕССОГЕННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

© 2020 г. М. Е. Григорьева¹, *, Л. А. Ляпина¹

¹Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

*e-mail: mgrigorjeva@mail.ru

Поступила в редакцию 28.06.2019 г.

После доработки 01.07.2019 г.

Принята к публикации 01.07.2019 г.

Представлен и проанализирован обширный экспериментальный материал и данные литературы по изучению в сравнительном аспекте влияния коротких регуляторных пептидов на состояние системы гемостаза в условиях стресса. Исследованы эффекты пептидов глипролинового ряда Pro-Gly, Gly-Pro, Pro-Gly-Pro, Gly-Pro-Arg, Arg-Pro-Gly-Pro и препарата семакс при моделировании стрессогенных воздействий у крыс. Использовались две модели стресса – иммобилизационного (острого и многократного) и вынужденного плавания (тест “принудительное плавание”). Установлено, что различные по структуре глипролины в условиях развивающейся в ответ на стресс гиперкоагуляции обладали защитным противосвертывающим действием. При этом выявлена активация функции противосвертывающей системы крови вследствие повышения антитромбоцитарного, антикоагулянтного и фибринолитического потенциала крови. Обнаруженные свойства глипролиновых пептидов позволяют рассматривать их в качестве регуляторов системы гемостаза при повышенной свертываемости крови, возникающей при стрессе. Это открывает перспективы их использования для предупреждения и коррекции постстрессовых нарушений в организме. Проведенное исследование дает возможность оценить участие регуляторных пептидов глипролинового ряда в поддержании адаптационных ресурсов организма при различных состояниях.

Ключевые слова: стресс, система гемостаза, пептиды глипролинового ряда, регуляция

DOI: 10.31857/S0042132420010020

ВВЕДЕНИЕ

Проблемы изучения стресса и вызванных им патологий привлекают особое внимание исследователей, поскольку в мире наблюдается не только постоянно растущая напряженность биосоциального сообщества, но и увеличение уровня заболеваний, напрямую или косвенно опосредуемых стрессом.

Представление о стрессе как об общем адаптационном синдроме позволяет рассматривать этот процесс в аспекте необходимости формирования адекватных изменений в различных системах организма. Реакции практически всех физиологических систем возникают в ответ на стресс различного генеза. Закономерные реакции организма человека и животных, направленные на приспособление к внешним воздействиям и сохранение гомеостаза, обусловлены раздражителями, превышающими пределы физиологического стимула (Соколова и др., 2017). Одни из первых защитных реакций в сложной цепи физиологических процессов – ответ со стороны гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и появляющиеся при ее активации биологически активные вещества. При

попадании организма в экстремальные условия инициируется секреция нескольких гормонов: кортикостерона, кортизола, катехоламинов, пролактина, вазопрессина, окситоцина, аденокортикотропного гормона (АКТГ) и ренина, называемых гормонами стресса, которые являются частью защитного механизма, направленного на выживание (Samson et al., 2007; Fugay et al., 2008). Для успешной адаптации организма необходима не только ответная реакция на стресс, но и способность регулировать выраженность стресс-ответа. Под контролем нервной и эндокринной систем организма (Зубаиров, Зубаирова, 2009) находится, как и любой физиологический процесс, система гемостаза. При этом в зависимости от продолжительности и силы воздействия стрессора наблюдается или активация, или угнетение отдельных ее звеньев (Fugay et al., 2008). При непродолжительном (не более 30 мин) иммобилизационном стрессе установлена активация антикоагулянтного звена гемостаза. В условиях же продолжительного стресса (при иммобилизации длительностью 60–90 мин) активируется тромбоцитарное звено гемостаза и угнетается антикоагулянтно-фибринолитическая актив-

ность крови, что может привести к тромбофилии (Spiezia et al., 2008). Иммунизационный стресс можно отнести как к эмоциональному, так и к физическому стрессу, что выражается в нейроэндокринном ответе организма (Amin et al., 2014; Haider et al., 2015). Однократный иммунизационный стресс вызывает увеличение тревожности и нарушение памяти у крыс (Gouveia et al., 2016; Schwabe, 2017).

В проявлении функциональной активности физиологических систем организма, наряду с ферментами, гормонами и другими биологически активными веществами, участвуют пептидные биорегуляторы, обладающие широким спектром биологической активности. Пептидергическая регуляция определяет основные параметры формирования компенсаторно-приспособительных реакций организма в ответ на изменение гомеостатического баланса (Кузник и др., 2013).

Простейшие пролинсодержащие пептиды, названные глипролинами, образуются в организме в результате постоянного осуществления процессов внутри- и внеклеточного катаболизма коллагена, эластина и других родственных им белков, а также в процессе протеолитического расщепления белков, поступающих с пищей. Они обеспечивают сохранение нормальной функции свертывающей, противосвертывающей, инсулярной и других систем организма и играют ключевую роль в поддержании нормального гомеостаза при стрессе. Глипролины способствуют активации функционального состояния противосвертывающей системы (ПСС), оказывая антикоагулянтное, фибринолитическое и антитромбоцитарное действие в кровотоке (Myasoedov et al., 2016). Особого внимания заслуживают относительно устойчивые к протеолизу пептиды глипролинового ряда Pro-Gly-Pro, Gly-Pro-Gly-Pro, обладающие защитным антистрессовым действием. Механизм такого эффекта пептидов заключается в их воздействии как на клеточные элементы, так и на нервные структуры, участвующие в формировании адекватных регуляторных влияний, поддерживающих физиологический гомеостаз (Бакаева и др., 2008).

Показано, что фрагмент АКТГ_{4–10} – семакс – обладает антигипоксическими, анксиолитическими и антидепрессантными свойствами в условиях повышенного уровня тревожности и депрессивности (Левицкая и др., 2010), а также протекторным действием в модели вызванных однократной иммунизацией нарушений памяти у крыс (Глазова и др., 2018). В настоящее время имеется широкий набор препаратов подобного действия, однако ни один из них не является универсальным. В связи с этим изучение реакций организма на стрессогенные воздействия и поиск новых препаратов для предупреждения и лечения постстрессовых нарушений в организме остаются актуальными задачами современной физиологии. Кроме того, имеются лишь немногочисленные данные о влиянии регуляторных пептидов на показатели системы гемостаза в условиях стрессогенной нагрузки, что и определяет интерес именно к этой проблеме.

Основываясь на том, что глипролиновые пептиды оказывают антикоагулянтно-фибринолитическое действие при повышенной свертываемости крови в организме (Myasoedov et al., 2016), можно предположить, что в условиях гиперкоагуляции, нередко возникающей при стрессогенном воздействии, они также будут активировать функцию ПСС и проявлять защитные противотромботические эффекты.

Цель настоящей работы заключалась в сравнительном изучении и анализе антистрессового действия пептидов глипролинового ряда Pro-Gly, Gly-Pro, Pro-Gly-Pro, Gly-Pro-Arg, Arg-Pro-Gly-Pro и препарата семакс на состояние системы гемостаза при нарушениях, возникших в результате действия различных по характеру и продолжительности действия стресс-факторов в экспериментах на животных.

Материалы и методы

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе применяли пептиды Pro-Gly (PG), Gly-Pro (GP), Pro-Gly-Pro (PGP), Gly-Pro-Arg (GPR), Arg-Pro-Gly-Pro (RPGP) и отечественный коммерческий препарат Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro (семакс), синтезированные в Институте молекулярной генетики РАН (Москва).

Все эксперименты на животных проводились в соответствии с этическими принципами и документами, рекомендованными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 18.03.86). Было использовано 140 белых лабораторных крыс-самцов линии Wistar с массой тела 200–250 г (в возрасте 8–9 мес.), содержащихся на обычном лабораторном рационе. Каждой крысе интраназально ежедневно через каждые 24 ч в течение 4–7 сут вводили либо раствор одного из пептидов или препарат семакс (опытные группы) в дозе 1 мг/кг массы тела, либо 0.85%-ный раствор NaCl (контрольные группы) в объеме 0.05 мл. Взятие крови у животных на анализ параметров гемостаза осуществляли из внутренней вены jugularis с использованием в качестве консерванта 3.8%-ного раствора цитрата натрия в соотношении кровь/консервант = 9/1. Образцы крови центрифугировали в двух режимах: при 1000 об/мин в течение 5 мин для получения богатой тромбоцитами плазмы (определение агрегации тромбоцитов) и при 3000 об/мин в течение 10–12 мин для получения бедной тромбоцитами плазмы (определение параметров плазменного гемостаза).

Эксперименты на животных были проведены на двух моделях стрессогенных воздействий с использованием в качестве стресс-факторов иммунизации и вынужденного плавания (тест “принудительное плавание”).

Иммобилизационный стресс

В первой серии экспериментов выявляли действие пяти пептидов и семакса в условиях однократного (острого) стресса, для чего крысам каждой из 6 опытных групп в течение 4–7 сут вводили один из исследуемых пептидов или семакс и через 1 ч после последнего введения животных подвергали иммобилизации путем фиксации на доске в течение 60 мин.

Во второй серии выявляли эффекты пептидов и семакса в условиях многократного (в течение 7 сут) иммобилизационного стресса, для чего крысам ежедневно сначала вводили пептиды и семакс, а затем через 1 ч животных подвергали иммобилизации в течение 60 мин.

В первой и второй сериях экспериментов кровь на анализы брали сразу после окончания последней иммобилизации.

Тест “принудительное плавание”

Для создания состояния эмоционального напряжения у крыс (появление депрессивных компонентов поведения) применяли метод “принудительное плавание”. Для этого использовали цилиндрический сосуд объемом 25 л, на 2/3 заполненный водой ($t = 26–27^{\circ}\text{C}$), в который на 10 мин поочередно помещали животных. Глубина использованной емкости не позволяла крысе касаться дна хвостом и задними лапами (Левицкая и др., 2010).

В первой серии экспериментов исследовали показатели системы гемостаза в условиях принудительного плавания на фоне предварительного (за 30 мин до начала теста) однократного введения RPGR (профилактический эффект пептида).

Во второй серии исследовали влияние RPGR на свертывание крови при его применении через 5 мин после завершения плавания (лечебное действие пептида).

Кровь на анализы в обоих случаях брали через 60 мин после окончания теста “принудительное плавание” (тпп).

Дополнительно использовали интактных крыс (норма), которые не подвергались никаким манипуляциям и не получали никаких препаратов.

Во всех экспериментах в богатой тромбоцитами плазме крови определяли агрегацию тромбоцитов (АТ) с использованием в качестве агреганта АДФ в концентрации 10^{-6} М. Измерения проводили на агрегометре марки “Биола” (Россия). В бедной тромбоцитами плазме проводили определение показателей плазменного гемостаза: антикоагулянтной активности по тесту активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) на анализаторе свертывания крови марки “Астра 2-01” (Россия); ферментативной фибринолитической активности (ФФА) и активности тканевого активатора плазминогена (ТАП) на пластинах стабилизированного фибрина; нефер-

ментативной фибринолитической активности (НФА) на пластинах нестабилизированного фибрина (Ляпина и др., 2012).

Статистическая обработка данных была проведена с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни (программа STATISTICA 8.0).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Иммобилизационный стресс

В экспериментах на крысах, подвергнутых иммобилизационному стрессу в течение 60 мин (как однократно, так и ежедневно многократно), было показано, что у контрольных животных в этих условиях наблюдались гиперкоагуляция и гипофибринолиз за счет усиления АТ под действием АДФ на 9 и 36% при однократной и многократной иммобилизации соответственно, а также уменьшение антикоагулянтной и фибринолитической активности плазмы крови как неферментативной, так и ферментативной природы. АЧТВ по сравнению с нормой укорачивалось на 32% при однократном стрессе и на 21% – при многократном, НФА снижалась на 43 и 19%, ФФА – на 29 и 28% и активность ТАП – на 28 и 29% соответственно. Таким образом, при многократном иммобилизационном стрессе происходило более значительное и достоверное увеличение АТ, тогда как при однократной 60-минутной иммобилизации в большей степени уменьшалась НФА крови, при этом ФФА изменялась сходным образом в обоих случаях.

Влияние пептидов на показатели системы гемостаза при однократной иммобилизации

В экспериментах было показано, что при однократном 60-минутном иммобилизационном стрессе у животных на фоне предварительного ежедневного в течение 4–7 сут введения пептидов GP, PG, PGP, GPR, RPGR и семакса не отмечалось угнетения функции ПСС крови. При этом только после применения PGP и RPGR антикоагулянтная активность (по тесту АЧТВ) крови превышала тот же показатель у интактных животных на 33 и 93% соответственно. Антикоагулянтная активность остальных пептидов практически не отличалась от нормальных значений, но превышала контрольный уровень на 10–47% (табл. 1). В этих условиях АДФ-индуцированная АТ после введения PG, PGP и семакса по сравнению с показателями у контрольных крыс уменьшалась на 37–41%, после применения RPGR – на 68%. Что касается изменений фибринолитической активности плазмы крови, то после однократного иммобилизационного стресса на фоне введенного GP показатели ФФА и НФА плазмы по сравнению с контролем увеличивались соответственно на 131 и 129%, на фоне семакса – на 72 и 61%, на фоне PG – на 49 и 77%, PGP – на 81 и 80%, GPR – на 30 и 77%, RPGR – на 55 и 70% соответственно. По-

Таблица 1. Параметры системы гемостаза плазмы крови крыс в условиях однократного и многократного иммобилизационного стресса на фоне ежедневного в течение 4–7 сут введения пептидов и семакса в дозе 1 мг/кг массы тела ($M \pm m$)

Группы крыс	Параметры системы гемостаза, %				
	АЧТВ	ФФА	НФА	ТАП	АТ
После однократного иммобилизационного стресса					
0.85% NaCl (контроль)	68 ± 2.4**	71 ± 3.8*	57 ± 3.1**	72 ± 2.5*	109 ± 3.7
GP	110 ± 7.0*	202 ± 4.0***	186 ± 8.4***	315 ± 5.0***	–
PG	115 ± 10.1##	120 ± 6.2***	134 ± 12.4##	214 ± 6.4***	68 ± 8.4*#
RPGP	133 ± 7.2***	152 ± 6.6#	137 ± 14.5***	269 ± 9.9#	69 ± 9.5#
GPR	78 ± 4.3*	101 ± 6.2#	134 ± 7.6***	190 ± 5.0***	–
RPGR	193 ± 12.0***	126 ± 13.9***	127 ± 5.0***	204 ± 36.0***	41 ± 5.5***
Семакс	105 ± 10.8##	143 ± 19.0*#	118 ± 12.4#	219 ± 32.0***	72 ± 7.7*#
После многократного иммобилизационного стресса					
0.85% NaCl (контроль)	79 ± 5.5*	72 ± 3.4*	81 ± 7.4*	71 ± 7.6*	136 ± 17.4*
RPGR	98 ± 1.5#	94 ± 6.7	98 ± 2.6	117 ± 12.3*#	104 ± 4.4#
Семакс	106 ± 5.8#	121 ± 7.4#	116 ± 9.6#	153 ± 20.9***	108 ± 12.7#

Примечание: здесь и в табл. 2 статистические показатели рассчитаны относительно соответствующих проб нормы, принятых за 100%; * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$ (относительно нормы); # – $p < 0.05$, ## – $p < 0.01$ (относительно контроля); “–” – нет данных.

вышение ФФА происходило за счет значительно-го и достоверного увеличения активности ТАП, которая возрастала по сравнению с контролем на 118–243% при применении всех исследованных пептидов (табл. 1).

Таким образом, в условиях однократного иммобилизационного стресса предварительно введенные глипролины и семакс предотвращали развитие гиперкоагуляции и гипофибринолиза, наблюдаемое в контрольной группе животных. Максимальным фибринолитическим действием как ферментативной, так и неферментативной природы обладал дипептид GP. При этом абсолютно все исследуемые пептиды вызывали значительное и достоверное усиление активности ТАП. Аргининсодержащий глипролин RPGR проявлял наиболее выраженное антикоагулянтное и антитромбоцитарное действие.

Влияние пептидов на показатели системы гемостаза при многократной иммобилизации

В следующей серии экспериментов создавали многократный иммобилизационный стресс у крыс на фоне одновременного ежедневного в течение 7 сут введения RPGR или семакса. Было показано, что в этих условиях применение пептидов также предотвращало развитие гиперкоагуляции и гипофибринолиза, возникающих у контрольных животных. После введения RPGR параметры гемостаза: АЧТВ, ФФА, НФА, ТАП – приближались к таковым у интактных животных, превышая те же показатели у контрольной группы крыс. Применение семакса приводило к более выраженным изменениям в системе гемостаза, в основном в ее фибринолитическом звене. НФА увеличивалась по сравнению с нормой на 16%, ФФА и активность ТАП – на 21 и 53% соответ-

ственно. При этом АЧТВ и АТ практически не отличались от нормальных значений (табл. 1).

Таким образом, в условиях многократного иммобилизационного стресса более выраженное противосвертывающее действие проявлял семакс, вызывая увеличение фибринолиза и предотвращая гиперкоагуляцию, наблюдаемую при стрессе.

ТЕСТ “ПРИНУДИТЕЛЬНОЕ ПЛАВАНИЕ”

В экспериментах на крысах, подвергнутых принудительному плаванию было установлено, что через 60 мин после окончания теста в крови (контроль 1: 0.85% NaCl + тпп, контроль 2: тпп + 0.85% NaCl) наблюдалось достоверное снижение всех видов фибринолитической активности на 22–35% и АЧТВ на 25–36% относительно показателей в норме, при этом АТ была достоверно повышена на 25–39% (табл. 2). Таким образом, через 60 мин после окончания тпп у крыс активировалось тромбоцитарное звено гемостаза и угнеталась фибринолитическая и антикоагулянтная активность крови, то есть наблюдалась депрессия ПСС.

Влияние пептидов на показатели системы гемостаза в тесте “принудительное плавание”

При исследовании в этих условиях профилактического действия RPGR (RPGR + тпп) было показано, что на фоне его предварительного введения через 60 мин после завершения тпп в крови крыс увеличивался фибринолиз ферментативной и неферментативной природы на 20 и 45% соответственно и антикоагулянтная активность на 54%, а также снижалась АТ крови на 20% относительно нормы. У крыс же контрольной группы выявлено увеличение свертываемости крови вследствие повышения АТ и снижения антикоа-

Таблица 2. Параметры гемостаза плазмы крови крыс в условиях теста “принудительное плавание” при однократном введении пептида RPGP в дозе 1 мг/кг массы тела и раствора NaCl до и после тпп ($M \pm m$)

Группы крыс	Параметры системы гемостаза, %			
	АЧТВ	НФА	ФФА	АТ
Контроль 1 (0.85% NaCl + тпп)	75 ± 3.2*	78 ± 2.9**	67 ± 6.6**	139 ± 4.1**
Опыт 1 (RPGP + тпп)	154 ± 10.4***#	145 ± 5.3***#	120 ± 6.6***#	80 ± 2.5##
Контроль 2 (тпп + 0.85% NaCl)	64 ± 7.2**	74 ± 3.7**	65 ± 7.0**	125 ± 17.1*
Опыт 2 (тпп + RPGP)	152 ± 14.1***#	131 ± 2.9***#	164 ± 4.0***#	98 ± 5.7#

гулянтной активности (по тесту АЧТВ) и всех видов фибринолиза – ФФА и НФА (табл. 2).

В экспериментах по выявлению лечебного действия RPGP (тпп + RPGP) установлено, что введение пептида через 5 мин после выполнения крысами тпп приводило к увеличению параметров системы фибринолиза на 31–64%, а также антикоагулянтной активности крови на 52% относительно этих же показателей у интактных животных. При этом АТ оставалась на уровне нормы. У крыс контрольной группы в это же время отмечались гиперкоагуляция, о чем свидетельствовало снижение фибринолиза, укорочение АЧТВ и возрастание АТ по сравнению с нормой (табл. 2).

Анализируя полученные результаты, необходимо отметить, что у крыс, подвергнутых как острому, так и многократному иммобилизационному стрессу, возникает состояние гиперкоагуляции и гипофибринолиза за счет усиления АТ под действием АДФ, а также за счет уменьшения антикоагулянтной и фибринолитической активности плазмы крови как неферментативной, так и ферментативной природы. Следует подчеркнуть, что многократный иммобилизационный стресс приводил к более значительному и достоверному увеличению АТ и снижению антикоагулянтной активности крови, тогда как при однократной 60-минутной иммобилизации наблюдалось выраженное в большей степени уменьшение показателей фибринолиза.

В дальнейшем было показано, что как при однократном, так и при ежедневном многократном иммобилизационном стрессе предварительное интраназальное введение в течение 4–7 сут всех исследованных пептидов и семакса предотвращало развитие возможных при данном виде стресса гиперкоагуляции и гипофибринолиза. При применении пептидов и семакса не происходило уменьшения антикоагулянтной активности плазмы крови, а в некоторых случаях наблюдалось даже ее увеличение. АТ не отличалась от нормальных значений при многократном стрессе или даже уменьшалась при острой иммобилизации. Что касается изменений в системе фибринолиза, то после иммобилизационного стресса на фоне введенных пептидов и семакса установлено повышение всех его показателей, которое было более выражено при однократной иммобилизации.

Кроме того, в настоящей работе были проведены эксперименты по моделированию у животных

состояния эмоционального напряжения, для чего использовался тпп. Было установлено угнетение фибринолитической и антикоагулянтной активности крови и активация тромбоцитарного звена гемостаза через 60 мин после окончания этого теста. Аргининсодержащий глипролин RPGP как при предварительном введении, так и при его применении через 5 мин после окончания тпп, защищал организм крыс от гиперкоагуляции, возникающей в ответ на выполнение этого теста, повышая противосвертывающий потенциал крови. Следовательно, пептид RPGP оказывает как профилактический, так и лечебный эффект при повышенной свертываемости крови, наблюдаемой у животных при эмоциональном напряжении в условиях принудительного плавания.

Таким образом, на основании проведенного ряда исследований по моделированию стресса методами вынужденного плавания и иммобилизации разной степени можно утверждать, что применение пролинсодержащих пептидов GP, PG, RGP, GPR, RPGP и препарата семакс приводило к увеличению антитромбоцитарной, антикоагулянтной и фибринолитической активности плазмы крови как ферментативной, так и неферментативной природы, а также активности ТАП.

Механизм снижения АТ (антитромбоцитарная активность) под действием исследованных нами пептидов, вероятно, может быть обусловлен их взаимодействием с рецепторами тромбоцитов, в том числе гликопротеином P_{1b}-III_a, с последующим блокированием этих рецепторов (Кузник, 2010). Известен пептид, ингибирующий связывание фибриногена с тромбоцитами, вследствие чего снижается АТ (Луговской и др., 2013). Исследованные нами пептиды, вероятно, также могут проявлять свое антитромбоцитарное действие по подобному механизму.

Выявленные нами в условиях стресса антикоагулянтные эффекты пептидов объясняются способностью пролин- и глицинсодержащих пептидов ингибировать активность тромбина. Наши результаты подтверждаются данными литературы (Hasan et al., 2003), указывающими, что пептид RPGF ингибирует активность тромбина, что в итоге приводит к антикоагулянтному действию этого пептида.

В наших экспериментах было установлено, что наиболее выраженное антикоагулянтное и антитромбоцитарное действие проявлял аргинин-

содержащий глипролин RPPG. Это, возможно, объясняется присутствием в молекуле пептида аминокислоты аргинина, которая, являясь предшественником оксида азота, также может способствовать усилению антитромбиновой и антитромбоцитарной активности крови (Stief, 2007; Davids, Teerlink, 2013).

Все исследованные пептиды по результатам наших экспериментов оказывали в организме фибринолитическое действие ферментативной и неферментативной природы. Увеличение ФФА обусловлено способностью глипролинов вызывать эндотелий-зависимую реакцию выброса в кровотоки активатора плазминогена, который переводит плазминоген в плазмин – основной фермент фибринолитической системы (Madoiwa, 2014). Повышение неферментативного фибринолиза при введении в организм пептидов основано как на их прямом фибриндеполимеризационном эффекте, так и на их опосредованном действии в качестве гуморальных агентов ПСС: ингибирование тромбина, образование комплексных соединений с гепарином (Ляпина и др., 2012). Кроме того, согласно данным литературы, в экспериментах на животных, а также при наблюдении за пациентами с сердечно-сосудистыми, эндокринными и другими заболеваниями установлено, что ряд коротких пептидов уменьшает гиперкоагуляцию и стимулирует фибринолиз, что может быть объяснено усилением под влиянием пептидов экспрессии генов антитромбина III, протеина С, ТАП и супрессией генов тканевого фактора (Кузник и др., 2013).

Таким образом, в настоящем исследовании обобщены и проанализированы собственные экспериментальные результаты и данные литературы по действию пептидов в условиях разных видов стресса. Доказано, что пептидные препараты, содержащие глицин, пролин, а в некоторых случаях аргинин, защищают организм животных от постстрессовых нарушений. Возможно, это обусловлено и наличием в каждом из пептидов аминокислоты глицин, которая препятствует развитию стресса, в частности оксидативного, участвует в синтезе глутатиона, что приводит к увеличению компенсаторных возможностей клетки в период окислительного стресса (Ruiz-Ramírez et al., 2014; El-Hafidi et al., 2018). Существуют также данные литературы, указывающие, что дипептид GP оказывает протекторное действие, ослабляя постстрессовые нарушения поведения крыс при различных типах стресса (Копылова и др., 2007).

Итак, исследованные пептиды глипролинового ряда участвуют в регуляции гомеостатических реакций организма, в том числе и системы гемостаза, оказывая защитное противосвертывающее действие при моделировании разных видов стрессогенных воздействий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученного нами экспериментального материала и сопоставления его с данными литературы, можно утверждать, что при моделировании стрессогенных воздействий различной этиологии и продолжительности действия, глипролины проявляют антикоагулянтно-фибринолитические и антитромбоцитарные свойства. Они препятствуют возникновению повышенной свертываемости крови, возникающей в ответ на стресс разной степени. В условиях однократной иммобилизации максимальным фибринолитическим эффектом обладал дипептид GP, а наиболее выраженное антикоагулянтное и антитромбоцитарное действие проявлял аргининсодержащий глипролин RPPG. При многократном иммобилизационном стрессе значительное противосвертывающее действие выявлено у препарата семакс, что, возможно, обусловлено его структурными особенностями. При моделировании стресса по тесту “принудительное плавание” аргининсодержащий RPPG обнаруживал как профилактическое, так и лечебное защитное антистрессовое действие.

Установленные свойства пептидов глипролинового ряда позволяют расширить сферу их исследования как антистрессовых препаратов комбинированного действия. Выявление механизмов регуляции системы гемостаза глипролинами открывает широкие перспективы для предупреждения и лечения постстрессовых нарушений в организме. Это позволит по-новому оценить участие регуляторных пептидов в поддержании высоких адаптационных возможностей организма при различных патологических состояниях.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают искреннюю благодарность академику РАН, зав. отделом Института молекулярной генетики РАН Н.Ф. Мясоедову и зав. сектором того же института Л.А. Андреевой за предоставление препаратов пептидов и содействие в работе.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бакаева З.В., Самонина Г.Е., Умарова Б.А. и др. Исследование противовоспалительных свойств глипролинов на экспериментальной модели острого перитонита у крыс // Цитокины и воспал. 2008. № 2. С. 11–15.
- Глазова Н.Ю., Себенцова Е.А., Манченко Д.М. и др. Протекторное действие семакса в модели вызванных

- стрессом нарушений памяти и поведения у белых крыс // Изв. РАН. Сер. биол. 2018. № 4. С. 431–437.
- Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.Д. Микровезикулы в крови: функции и их роль в тромбообразовании. М.: ГЕОТАР-Медиа, 2009. 187 с.
- Копылова Г.Н., Бакаева З.В., Бадмаева С.Е. и др. Терапевтические эффекты глипролинов (PGP, GP, PG) в отношении стрессогенных нарушений поведения крыс // Бюл. эксперим. биол. мед. 2007. Т. 143. № 2. С. 124–127.
- Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита: Экспресс-издательство, 2010. 827 с.
- Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Тарновская С.И., Линькова Н.С. Эпигенетическое действие регуляторных пептидов на цитокиновый профиль и систему гемостаза // Вестн. гематол. 2013. Т. 9. № 2. С. 29–33.
- Левицкая Н.Г., Виленский Д.А., Себенцова Е.А. и др. Влияние семакса на эмоциональное состояние белых крыс в норме и на фоне действия холецистокинина-тетрапептида // Изв. РАН. Сер. биол. 2010. № 2. С. 231–237.
- Луговской Э.В., Макогоненко Е.М., Комисаренко С.В. Молекулярные механизмы образования и разрушения фибрина. Киев: Наукова Думка, 2013. 230 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 солишенз, 2012. 160 с.
- Соколова Н.А., Каменский А.А., Маклакова А.С. и др. Стресс и адаптация. Теория и практика. М.: Перо, 2017. 116 с.
- Amin S.N., Gamal S.M., Esmail R.S. et al. Cognitive effects of acute restraint stress in male albino rats and the impact of pretreatment with quetiapine versus ghrelin // J. Integr. Neurosci. 2014. V. 13. № 4. P. 689–692.
- Daivids M., Teerlink T. Plasma concentrations of arginine and asymmetric dimethylarginine do not reflect their intracellular concentrations in peripheral blood mononuclear cells // Metabolism. 2013. V. 62. № 10. P. 1455–1461.
- El-Hafidi M., Franco M., Ramirez A.R. et al. Glycine increases insulin sensitivity and glutathione biosynthesis and protects against oxidative stress in the model of sucrose-induced insulin resistance // Oxid. Med. Cell. Longev. 2018. Art. 2101562.
- Furay A.R., Bruestle A.E., Herman J.P. The role of the forebrain glucocorticoid receptor in acute and chronic stress // Endocrinology. 2008. V. 149. № 11. P. 5482–5490.
- Gouveia M.K., Miguei T.T., Busnardo C. Dissociation in control of physiological and behavioral responses to emotional stress by cholinergic neurotransmission in the bed nucleus of the stria terminalis in rats // Neuropharmacology. 2016. V. 101. P. 379–388.
- Haider S., Naqvi F., Batoool Z. et al. Pretreatment with curcumin attenuates anxiety while strengthens memory performance after one short stress experience in male rats // Brain Res. Bull. 2015. V. 115. P. 1–8.
- Hasan A.A., Warnock M., Nieman M. et al. Mechanisms of Arg-Pro-Gly-Phe inhibition of thrombin // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2003. V. 285. P. 183–193.
- Madoiwa S. Plasminogen activation and regulation of fibrinolysis // Nihon Rinsho. 2014. V. 72. № 7. P. 1218–1223.
- Myasoedov N.F., Lyapina L.A., Grigorjeva M.E. et al. Mechanism for glyproline protection in hypercholesterolemia // Pathophysiology. 2016. V. 23. № 1. P. 27–33.
- Ruiz-Ramirez A., Ortiz-Balderas E., Cardozo-Saldaña G. et al. Glycine restores glutathione and protects against oxidative stress in vascular tissue from sucrose-fed rats // Clin. Sci. 2014. V. 126. № 1. P. 19–29.
- Samson W.K., Bagley S.L., Ferguson A.V., White M.M. Hypocretin/orexin type 1 receptor in brain: role in cardiovascular control and the neuroendocrine response to immobilization stress // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2007. V. 292. P. R382–R387.
- Schwabe L. Memory under stress: from single systems to network changes // Eur. J. Neurosci. 2017. V. 45. № 4. P. 478–489.
- Stief T.W. Inhibition of thrombin in plasma by heparin or arginine // Clin. Appl. Thromb. Hemost. 2007. V. 13. № 2. C. 146–153.

Role of Glyproline Peptides in the Regulation of Haemostasis System under Stress Conditions

M. E. Grigorjeva^{a,*} and L. A. Lyapina^a

^aLomonosov Moscow State University, Biology Department, Moscow, Russia

*e-mail: mgrigorjeva@mail.ru

Received June 28, 2019

Revised July 1, 2019

Accepted July 1, 2019

Extensive experimental material on the study of the comparative effects of glyproline family peptides – Pro-Gly, Gly-Pro, Pro-Gly-Pro, Gly-Pro-Arg, Arg-Pro-Gly-Pro and Semax on the haemostasis system in the simulation of two types of stress effects in rats: immobilization stress (acute and repeated) and emotional stress (the test “forced swimming”) were presented and analyzed. It was found that different glyprolines and Semax under conditions of developing in response to the stress of different extent hypercoagulation, have a protective anti-stress action, manifested in the activation of the function of the anticoagulation system of blood. This study allows to assess the involvement of regulatory glyproline family peptides in maintaining a high adaptive capacity of the organism in various pathological conditions.

Keywords: stress, hemostasis, glyproline family peptides, regulation