

© Коллектив авторов, 2021

УДК 612.115.3

Ляпина Л.А.¹, Мясоедов Н.Ф.², Шубина Т.А.¹, Андреева Л.А.², Оберган Т.Ю.¹, Григорьева М.Е.¹

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

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

²ФГБУН Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт»,
123182, Москва, Россия, площадь акад. Курчатова, д. 2

Введение. Препараты разной структуры – углеводной, пептидной, белковой оказывают значительный противосвертывающий эффект в кровотоке с одновременным улучшением углеводного обмена.

Цель – изучение в сравнительном аспекте влияния препаратов разной структуры (пептида, производного диоксикумарина и ацетилсалициловой кислоты – АСК) на свертывание крови, изменение углеводного обмена при интрагастральном способе их введении крысам.

Методика. Использовались стандартные коагулологические методы и способы определения уровня глюкозы крови крыс. Каждый из препаратов (пептид Lys-Arg-Arg-Lys-Pro-Gly-Pro, варфарин и АСК) вводили лабораторным крысам Wistar интрагастрально в эффективной дозе (100 мкг/кг – пептид и варфарин и 1 мг/кг – АСК) в течение 7 сут на фоне развития метаболического синдрома, индуцируемого высококалорийной диетой (ВКД). Определения производили через 20 и 168 ч после последнего введения препаратов при продолжающемся постоянном кормлении крыс ВКД.

Результаты. Установлено, что как через 20 ч, так и через 168 ч после последнего введения пептида и АСК агрегация тромбоцитов имела тенденцию к снижению и составляла 72-76% (через 20 ч) и 81-66,7% (через 168 ч); фибринолиз статистически значимо повышался при действии пептида на 61-180%, АСК – на 15-41%, варфарина – на 14-34%; активированное частичное тромбопластиновое время значимо удлинялось под влиянием пептида и варфарина на 24-52 и 31-52% соответственно; свертывание крови по тесту протромбинового времени снижалось только под влиянием варфарина (на 12.3%); уровень глюкозы крови нормализовался под влиянием всех использованных препаратов и составлял 4,9–6,5 ммоль/л против 8.1-8.8 ммоль/л при метаболическом синдроме.

Заключение. При сравнении действия пептида, варфарина и АСК установлены гипокоагуляционные и гипогликемические эффекты в разной степени. Максимальным антикоагулянтным и фибринолитическим действием обладал пептид; варфарин проявлял антикоагулянтное действие только по тесту протромбинового времени, ацетилсалициловая кислота обладала антитромбоцитарным и фибриндеполимеризационным действием.

Ключевые слова: варфарин; регуляторный пептид лизин- и аргинин-содержащий; ацетилсалициловая кислота; система гемостаза; глюкоза крови

Для цитирования: 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 терапия.* 2021; (65): 52-59.
DOI: 10.25557/0031-2991.2021.01.52-59

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Мясоедов Н.Ф., написание текста – Ляпина Л.А., редактирование – Андреева Л.А., определение параметров – Шубина Т.А., Оберган Т.Ю., Григорьева М.Е. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все авторы.

Для корреспонденции: Ляпина Людмила Анисимовна, e-mail: lyapinal@mail.ru

Финансирование. Финансовая поддержка гранта РФФИ № 18-04-00260.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 08.07.2020

Принята к печати 21.01.2021

Опубликована 10.03.2021

Lyapina L.A.¹, Myasoedov N.F.², Shubina T.A.¹, Andreeva L.A.², Obergan T.Yu.¹, Grigorieva M.E.¹**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**¹M.V. Lomonosov Moscow State University,
Leninskie Gory 1, Bld. 12, Moscow, 119234, Russia;²Institute of Molecular Genetics of the Russian Academy of Sciences,
Ploshchad Akad. Kurchatova 2, Moscow 123182, Russia

Drugs with different structure, carbohydrates, peptides, and proteins, can produce a significant anticoagulation effect and simultaneously improve carbohydrate metabolism. The aim of this study was to compare effects of drugs with different structure, a peptide, a dioxycoumarin derivative, and acetylsalicylic acid (ASA), on coagulation and changes of carbohydrate metabolism in intragastric administration to rats.

Methods. Standard methods for studying coagulation and measuring blood glucose in rats were used. Each of the study drugs (Lys-Arg-Arg-Lys-Pro-Gly-Pro peptide, warfarin, and ASA) was administered to Wistar rats intragastrically at an effective dose (100 mcg/kg for the peptide and warfarin and 1 mg/kg for ASA) for 7 days during the development of metabolic syndrome (MS) induced by a high-calorie diet (HCD). Measurements were performed at 20 and 168 h after the last administration of the drugs with continuing HCD.

Results. Both at 20 and 168 h after the last administration of the peptide and ASA, platelet aggregation showed a tendency to a decrease and was 72–76% (at 20 h) and 81–66.7% (at 168 h); fibrinolysis significantly increased under the action of the peptide, ASA, and warfarin by 61–180%, 15–41%, and 14–34%, respectively. Activated partial thromboplastin time significantly increased under the action of the peptide and warfarin by 24–52% and 31–52%, respectively; blood clotting as estimated in the prothrombin time test decreased only under the action of warfarin by 12.3%; blood glucose returned to a normal level under the action of each of the three study drugs and was 4.9–6.5 mmol/l vs. 8.1–8.8 mmol/l in MS.

Conclusion. The peptide, warfarin, and ASA produced different degrees of the anticoagulation and hypoglycemic effects. The peptide had the strongest anticoagulation and fibrinolytic effects, warfarin produced an anticoagulant effect only according to the prothrombin time test, and acetylsalicylic acid exerted both antiplatelet and fibrin-depolymerizing effects.

Keywords: warfarin; lysine-and arginine-containing regulatory peptide; acetylsalicylic acid; hemostasis system; blood glucose

For citation: 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 Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(1): 52-59. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.01.52-59

Contribution: study concept and design – Myasoedov N.F.; text writing – Lyapina L.A.; editing – Andreeva L.A.; measurements – Shubina T.A., Obergan T.Yu., Grigorieva M.E. All authors approved the final version of the article and are responsible for the integrity of all its parts.

For correspondence: Lyapina Lyudmila Anisimovna, e-mail: lyapinal@mail.ru

Acknowledgment. The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research grant #18-04-00260.

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

Information about the authors:Lyapina L.A., <http://orcid.org/0000-0002-8983-652X>Myasoedov N.F., <http://orcid.org/0000-0003-1294-102X>Shubina T.A., <http://orcid.org/0000-0003-1092-8382>Andreeva L.A., <http://orcid.org/0000-0002-3927-8590>Obergan T.Yu., <http://orcid.org/0000-0002-3760-3943>Grigorjeva M.E., <http://orcid.org/0000-0003-0469-3943>

Received 08.07.2020

Accepted 21.01.2021

Published 10.03.2021

Введение

Известно, что препараты разной структуры проявляют в организме противосвертывающие эффекты. К ним могут относиться регуляторные пептиды глипролинового ряда [1], непрямые оральные антикоагулян-

ты (НОАК) [2] и ингибитор агрегации тромбоцитов – ацетилсалициловая кислота (АСК), или аспирин [3]. В то же время механизмы противосвертывающего действия в организме этих препаратов различны.

Непрямые антикоагулянты, например, варфарин, являются антагонистами витамина К и ингиби-

руют факторы протромбинового комплекса крови. Это факторы свертывания (II, VII, IX, X), а также протеины С и S, синтезирующиеся в печени, приобретают биологическую активность лишь после реакции γ -карбоксилирования, вследствие чего обеспечивается их способность связывать Ca^{2+} с последующей сборкой активного каталитического комплекса на мембранах. Терапевтические дозы варфарина снижают содержание всех витамин-К-зависимых факторов свертывания на 30–50% [4]. После назначения пациентам препаратов НОАК время достижения постоянной активности каждого фактора определяется их периодом полураспада – $T_{1/2}$ (у фактора VII – 6 ч, IX – 24 ч, X – 36 ч, протромбина – 50 ч, протеина С – 8 ч, протеина S – 30 ч). Благодаря большому $T_{1/2}$ некоторых факторов свертывания (особенно протромбина) антикоагулянтное действие варфарина достигает максимума лишь через несколько суток после начала лечения, хотя протромбиновое время (ПВ) удлиняется гораздо раньше из-за распада факторов с меньшим $T_{1/2}$. На все витамин-К-зависимые факторы свертывания варфарин действует одинаково, хотя его антикоагулянтное действие обычно оценивают по активности протромбина и, в меньшей степени, фактора Ха [5, 6].

Об эффективности антиагрегантного по отношению к тромбоцитам агента – АСК в организме получены убедительные доказательства того, что в малых дозах этот препарат значительно снижает риски сосудистых событий: инфаркта миокарда на 22%, инсульта – на 5%. Во вторичной профилактике этот препарат уменьшает риск повторных инфарктов и инсультов в еще большей степени (на 22–46%). Это обусловлено тем, что АСК как антитромбоцитарное средство ингибирует производство тромбоксана, который в нормальных условиях связывает молекулы тромбоцитов и покрывает поврежденные стенки кровеносных сосудов [3]. Активный компонент АСК был впервые обнаружен в коре ивы в 1763 г. Эдвардом Стоуном из Уэдхем-Колледжа, Оксфорд. АСК применяется для устранения целого ряда симптомов, и лечения воспалительных заболеваний, таких как ревматоидный артрит, перикардит и болезнь Кавасаки, а также опухолевых процессов. Аспирин входит в группу препаратов под названием «нестероидные противовоспалительные препараты» (НПВП). Хотя аспирин и препараты с аналогичной структурой действуют подобно другим НПВП (проявляя жаропонижающее, противовоспалительное, обезболивающее действия) и ингибируют фермент циклооксигеназу (ЦОГ), аспирин отличается от них тем, что действует необратимо. Механизм действия АСК заключается в том, что он подавляет актив-

ность ЦОГ – фермента, регулирующего превращение арахидоновой кислоты в простагландины (ПГ), простациклин (ПГ₂) и тромбоксан (ТхА₂) [7]. При приеме внутрь АСК полностью абсорбируется из желудочно-кишечного тракта и подвергается системной элиминации в стенке кишечника и в печени (деацетируется). Метаболизируется она преимущественно в печени с образованием метаболитов, обнаруживаемых во многих тканях и моче, а выводится преимущественно через почки в неизменной форме (60%) и в виде метаболитов [8].

Пептиды глипролинового ряда, т.е. содержащие группировку Pro-Gly-Pro (PGP), обладают эндотелий-зависимой реакцией экскреции в кровотоке тканевого активатора плазминогена, который активно участвует в процессах ферментативного фибринолиза. Эти пептиды оказывают антитромбоцитарный и антикоагулянтный эффекты в организме. Доказана защитная роль указанных регуляторных пептидов при нарушениях ряда систем организма – гемостаза, углеводного и липидного обмена веществ [1].

Ранее было установлено, что при развитии у человека и животных метаболического синдрома (МС) страдают регуляторные взаимоотношения между свертывающей и противосвертывающей системами, нарушается нормальное функционирование сосудистого эндотелия, поджелудочной железы, других органов и систем организма [1, 9, 10].

Цель настоящей работы заключалась в выявлении сравнительных эффектов 3 веществ – пептида глипролинового ряда Lys-Arg-Arg-Lys-Pro-Gly-Pro (KRRKPGP), непрямого антикоагулянта варфарина и антиагреганта ацетилсалициловой кислоты (АСК) при их пероральном введении животным на параметры гемостаза и уровень глюкозы крови на фоне развития МС.

Методика

В работе применялись пептид Lys-Arg-Arg-Lys-Pro-Gly-Pro (KRRKPGP), синтезированный в Институте молекулярной генетики РАН (Москва), и коммерческие препараты АСК (степень чистоты – 98%) производства Хэбэй Цзихэн (Груп) Фармасьютикал Ко. Лтд (Китай) и варфарина производства Такеда Фарма А/С (Польша). Препараты для введения крысам готовили ежедневно в необходимых концентрациях, используя в качестве растворителя 0,85%-й NaCl.

В экспериментах, проведенных с соблюдением этических правил, принятых Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, применяемых для экспериментальных и иных целей (Страсбург, 15.06.2006), были использованы крысы-самцы Wistar массой тела

300–400 г. Животных содержали в пластиковых клетках в стандартных лабораторных условиях при искусственном освещении (12 ч/12 ч – светлое/темное время суток), принудительной 12-кратной в час вентиляции, температуре 22–26 °С и относительной влажности 50–70%. Животные имели свободный доступ к питью и пище.

Для индуцирования метаболических нарушений использовали высококалорийную диету (ВКД), энергетическая ценность которой составляла не менее 3500 ккал/кг [1]. ВКД включала избыток углеводов, холестерина и насыщенных жирных кислот и содержала жир свиной (15%), манную кашу на молоке (30%), муку пшеничную и хлеб (15%), сахарный песок (5%), животные жиры (маргарин с гидрогенизированными жирами, майонез, сыр) (25%), стандартный гранулированный комбикорм фирмы «Лабораторкорм» (10%). В качестве питья животные получали 10%-ый раствор глюкозы (в среднем 30 мл в сутки на одну крысу). Дополнительно в клетку помещали поилку с обычной водой для исключения дегидратации.

Животные были разделены на 4 группы – получающие пептид (группа 1), или препарат варфарина (группа 2) в ежедневной дозе 100 мкг/кг массы тела, или АСК (группа 3) в ежедневной дозе 1 мг/кг. Все препараты вводили интрагастрально через зонд один раз в сутки (каждые 24 ч) в течение 7 сут. Животные 4-й группы, как и животные 1-й, 2-й и 3-й групп находились постоянно на ВКД. Интактные крысы 5-й группы – (группа «Норма») содержались на стандартном гранулированном комбикорме «Лабораторкорм» (калорийность 2950 ккал/кг) и не получали никаких препаратов. Кровь на исследование брали у животных из *v. jugularis* с использованием в качестве консерванта 3,8%-го цитрата натрия через 20 ч после 7-го (последнего) введения исследуемых препаратов и спустя 7 сут после отмены их введения при продолжающемся кормлении крыс ВКД. В эти периоды брали кровь аналогично и у контрольных крыс (4-я группа) и крыс группы «Норма» (5-я группа).

В плазме крови оценивали фибринолиз по следующим тестам: суммарной (СФА), неферментативной (или фибриндеполимеризационной – ФДПА), ферментативной (ФФ) фибринолитической активности, активности тканевого активатора плазминогена (ТАП), времени лизиса эуглобулинового сгустка (ВЛЭС); изменение свертывания крови по тестам: активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), тромбоинового времени (ТВ); агрегацию тромбоцитов, индуцированную 10^{-6} М АДФ (АТ), концентрацию фибриногена по Клауссу (Ф) и активность фактора XIIIa [11]. Уровень глюкозы в крови определяли на биохимическом анализаторе One Touch Horizon (США) с ис-

пользованием специальных тест-полосок для данного прибора.

Статистический анализ данных осуществляли, используя пакет статистических программ Statistica 8 (StatSoft Inc., США), а также графических программ Microsoft Excel. Эмпирические распределения проводили с использованием критерия Шапиро-Уилка. Для попарного сравнения независимых групп применяли непараметрический критерий Манна Уитни. Полученные данные представлены как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего ($M \pm m$). Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

Результаты

В первой серии экспериментов при развитии МС (1–3-я группы) через 20 ч после 7-го (последнего) введения препаратов установлено, что агрегация тромбоцитов имела тенденцию к снижению при действии всех исследуемых препаратов. Антикоагулянтная активность по тесту АЧТВ возрастала под влиянием пептида и варфарина на 24–52%, по тесту протромбинового времени (ПВ) – только под влиянием варфарина (на 12%). Фибринолиз увеличивался в разной степени по тестам суммарной и фибриндеполимеризационной (ФДП) активности при действии всех препаратов, а по активности тканевого активатора плазминогена (ТАП) – только под влиянием пептида и варфарина. Отмечалось подавление активности свертывающего фактора XIIIa под влиянием всех трех препаратов. При этом наблюдалось снижение концентрации глюкозы крови на 35–44% под влиянием всех препаратов по сравнению с контрольной (4-й) группой животных. Наибольший эффект по параметрам гемостаза и уровню глюкозы крови (**табл. 1**) установлен при введении пептидного препарата.

Сходная картина отмечалась и через 7 сут после отмены введения препаратов на фоне продолжающегося кормления крыс ВКД. В этих условиях агрегация тромбоцитов после введения пептида и варфарина имела тенденцию к снижению (на 14–19%), а после введения АСК снижение было статистически значимым – на 31.3% по сравнению с контролем. Антикоагулянтная активность по тесту АЧТВ была удлинена только после отмены введения варфарина (на 31.5%); СФА оставалась повышенной после введения пептида и АСК на 41–61%, ФДПА – на 42–55%, а ФФ был статистически значимо повышен при действии всех трех препаратов, то есть наблюдался отдаленный эффект по ФФ. Об этом же свидетельствуют параметры ВЛЭС и ТАП. Активность фактора XIIIa оставалась значимо сниженной только после воздействия пептида. Уровень глюкозы в этот период был снижен после воздей-

ствия всех трех препаратов по сравнению с показателем группы контроля (табл. 2).

Обсуждение

Анализируя полученные результаты, необходимо отметить взаимосвязь между веществами с разной химической структурой и их влиянием на восстановление состояния системы гемостаза и углеводного обмена. Установлено, что при развитии нарушений липидного обмена, осложняющегося тромбозами, аргинин- и лизинсодержащий пептид KRRKPGP, как и другие ранее исследованные пептидные препараты глипролинового ряда [1], проявлял антикоагулянтный, фибринолитический и антитромбоцитарный эффекты и усиливал активность тканевого активатора плазминогена, включаясь в процессы фибринолиза и сосудисто-эндотелиальной функции. Наши данные согласуются с исследованиями, показавшими, что использование жировой диеты в течение 3 мес вызывало непереносимость глюкозы [12]. Эти исследователи, рассматривая

жировую ткань в качестве эндокринного органа, отмечают, что ингибитор активатора плазминогена-1 (PAI-1) выделяется в кровоток параллельно с увеличением жировой массы, и он функционирует как важнейший адипокин, который отрицательно влияет на физиологический метаболизм и функционирование сосудов. Повышенные уровни PAI-1 индуцируют инсулинорезистентность, метаболические нарушения, хроническое воспаление и приводят к расстройству фибринолиза через дизрегуляцию процессов свертываемости крови, эндотелиальную дисфункцию и метаболические нарушения. Мы полностью согласны с вышевысказанными соображениями [12], так как в наших экспериментах при моделировании МС снижалась активность тканевого активатора плазминогена, что, возможно, и приводило к увеличению ингибиторов фибринолиза с последующим развитием инсулинорезистентности и ингибированием фибринолиза, а также к дисфункции эндотелия.

Таблица 1

Изменение параметров гемостаза, уровня глюкозы через 20 ч после 7-кратного интрагастрального введения пептида KRRKPGP, варфарина в ежедневной дозе 100 мкг/кг и АСК в ежедневной дозе 1 мг/кг массы тела крыс при развитии метаболического синдрома (МС)

Параметры	Контроль (МС)	Введение пептида KRRKPGP	Введение варфарина	Введение АСК	Норма (здоровые крысы)
Агрегация тромбоцитов, (индекс, %)	2.5 ± 0.6 (100%)	1.8 ± 0.3 (72%)	2.3 ± 0.4 (92%)	1.9 ± 0.3 (76%)	1.5 ± 0.3* (60%)
АЧТВ (с, %)	31.8 ± 2.5 (100%)	39.5 ± 1.2* (124%)	48.4 ± 1.8** (152%)	32.5 ± 2.4 (102%)	36.6 ± 4.2 (115%)
Протромбиновое время (с, %)	20.3 ± 1.2 (100%)	19.4 ± 1.5 (95.5%)	22.8 ± 1.0* (112.3%)	21.6 ± 2.0 (106.4%)	34.8 ± 2.1** (171%)
Активность фактора XIIIa (усл. ед., %)	86.7 ± 2.5 (100%)	56.0 ± 1.9** (64%)	68.8 ± 1.0** (79%)	63.0 ± 2.5** (72%)	65.0 ± 2.9** (75%)
Суммарная фибринолитическая активность (мм ² , %)	19.6 ± 0.9 (100%)	39.4 ± 1.5** (206%)	21.8 ± 1.1 (114%)	22.4 ± 1.3 (115%)	32.5 ± 0.5** (166%)
Фибриндеполимеризационная активность (мм ² , %)	14.2 ± 0.7 (100%)	24.2 ± 1.3** (170%)	15.6 ± 1.8 (109%)	18.0 ± 2.1** (126%)	22.7 ± 0.5** (160%)
Ферментативный фибринолиз (мм ² , %)	5.4 ± 0.5 (100%)	15.2 ± 1.2** (280%)	6.2 ± 0.9 (114%)	4.4 ± 0.7 (81%)	9.7 ± 0.7** (180%)
Время лизиса эуглобулинового сгустка (мин, %)	103.8 ± 2.5 (100%)	88.0 ± 2.7** (85%)	73.0 ± 2.7** (70%)	71.2 ± 1.6** (69%)	71.6 ± 2.8** (69%)
Активность тканевого активатора плазминогена (мм ² , %)	32.2 ± 1.9 (100%)	44.0 ± 3.7* (137%)	75.2 ± 4.9** (234%)	24.4 ± 6.8 (76%)	51.7 ± 1.5** (161%)
Активность плазмينا (мм ² , %)	30.0 ± 3.5 (100%)	16.8 ± 1.1* (56%)	9.0 ± 0.7** (30%)	19.5 ± 1.1* (65%)	28.3 ± 2.8 (94%)
Уровень глюкозы (ммоль/л, %)	8.8 ± 0.7 (100%)	5.7 ± 0.3** (65%)	5.7 ± 0.4** (65%)	4.9 ± 0.6** (56%)	4.2 ± 0.06** (48%)

Примечание. Статистические показатели рассчитаны относительно соответствующих проб контроля, принятого за 100%. Сравнение опыта с контролем: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$.

Следует отметить, что под влиянием исследуемых препаратов активность тканевого активатора плазминогена возрастала, что соответствовало уменьшению активности ингибиторов фибринолиза, которые и способствовали активации противосвертывающей системы. Введение регуляторного глипролинового пептида и каждого из препаратов сравнения – варфарина и АСК, обладающих противосвертывающим действием, приводило к восстановлению указанных параметров гемостаза при МС. Входящий в состав глипролиновых пептидов пролин играет важную роль в метаболизме органов и тканей. Как показано другими авторами [13], пролин и гидроксипролин – самые широко распространенные аминокислоты в белках коллагена млекопитающих, которые могут синтезировать пролин из аргинина и глутамин/глутамата, но скорость эндогенного синтеза недостаточна для новорожденных, птиц и рыб. В этом отношении работа с молодняком свиней (широко используемая модель

для изучения питания) показала, что добавление 0,35; 0,7; 1,05; 1,4 и 2,1% пролина к свободной от пролина диете, содержащей 40% аргинина и 2%-го глутамата, зависимо улучшала ежедневные скорость роста и эффективность питания. Пролин можно рассматривать как функциональную аминокислоту для млекопитающих, птиц и рыб. В наших исследованиях оказалось, что непрямой антикоагулянт варфарин также способствует снижению концентрации глюкозы крови, повышенной при развитии МС. Это согласуется с данными других авторов [14, 15], которые все же высказывают опасения по поводу клинической эффективности и безопасности варфарина, применяемого у больных сахарным диабетом, особенно с фибрилляцией предсердий. Кроме того, поскольку варфарин ингибирует витамин К-зависимое гамма-глутамил-карбоксилирование белков, в том числе остеокальцина и матричного белка Gla, то его применение может повысить риск остеопоротического перелома костей и кальци-

Таблица 2

Изменение параметров гемостаза и уровня глюкозы через 7 сут после отмены введения пептида KRRKPGP, варфарина и АСК крысам при развитии метаболического синдрома (МС); $M \pm m$ (%)

Параметры	Контроль (МС)	Введен KRRKPGP	Введен варфарин	Введена АСК	Норма (здоровые крысы)
Агрегация тромбоцитов (индекс, %)	2.1 ± 0.1 (100%)	1.7 ± 0.2* (81%)	1.8 ± 0.2 (86%)	1.4 ± 0.3** (66.7%)	2.2 ± 0.8 (105%)
АЧТВ (сек, %)	31.7 ± 0.5 (100%)	36.6 ± 0.6 (115.5%)	41.7 ± 2.7* (131.5%)	34.5 ± 0.2 (109%)	35.9 ± 1.4 (113%)
Протромбиновое время (сек, %)	25.1 ± 1.7 (100%)	24.7 ± 2.0 (98.4%)	24.5 ± 0.7 (97.6%)	24.9 ± 2.7 (99.0%)	24.7 ± 0.3 (98%)
Активность фактора XIIIa (усл. ед. %)	88.0 ± 2.5 (100%)	68.0 ± 2.0** (77%)	77.0 ± 2.5* (91%)	80.0 ± 2.7* (87%)	58.8 ± 4.3* (67%)
Суммарная фибринолитическая активность (мм ² , %)	18.0 ± 1.0 (100%)	30.0 ± 0.9** (161%)	23.0 ± 0.7* (120%)	25.4 ± 0.7** (141%)	34.0 ± 2.0** (189%)
Фибриндеполимеризационная активность (мм ² , %)	13.4 ± 1.0 (100%)	20.8 ± 0.9** (155%)	17.4 ± 0.5* (129%)	19.2 ± 1.0** (142%)	23.2 ± 0.9** (173%)
Ферментативный фибринолиз (мм ² , %)	4.6 ± 0.5 (100%)	9.2 ± 1.2** (200%)	6.2 ± 0.9** (134%)	6.4 ± 0.7** (138%)	10.7 ± 0.7** (232%)
Время лизиса эуглобулинов (мин, %)	117.0 ± 4.5 (100%)	85.4 ± 6.3** (73%)	102.0 ± 7.6 (87%)	93.2 ± 5.0** (79%)	78.3 ± 2.9** (67%)
Активность тканевого активатора плазминогена (мм ² , %)	19.6 ± 3.0 (100%)	88.0 ± 2.8** (449%)	32.8 ± 1.6** (167%)	33.0 ± 2.6** (168%)	54.7 ± 0.6** (279%)
Активность плазмينا (мм ² , %)	12.4 ± 2.5 (100%)	4.0 ± 0.1** (32%)	23.2 ± 2.5* (187%)	14.0 ± 1.8 (113%)	23.3 ± 2.8* (188%)
Уровень глюкозы (ммоль/л, %)	8.1 ± 1.0 (100%)	6.3 ± 0.5 (78%)	6.5 ± 0.4 (80%)	5.1 ± 0.9* (63%)	4.1 ± 0.1** (51%)

Примечание. Статистические показатели рассчитаны относительно соответствующих проб контроля, принятого за 100%. Сравнение опыта с контролем: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

фикации сосудов, что является ведущими причинами, снижающими качество жизни у больных сахарным диабетом [16].

Имеются сообщения, что аспирин положительно влияет на уровень глюкозы при развитии сахарного диабета [17], что наблюдалось и в наших исследованиях.

Однако же при сравнительном исследовании эффектов АСК, варфарина и пептида глипролинового ряда, применяемых перорально в максимальных дозах и в одинаковых условиях на фоне развития МС, нами показано, что пептид обладал максимальным антитромботическим и гипогликемическим эффектами. Он не проявлял отрицательных побочных влияний, наблюдаемых при использовании варфарина и АСК, на которые указывается в литературе [15-17]. Поэтому мы можем с уверенностью говорить о преимуществах применения лизин- и аргинин-содержащего пептида в условиях метаболического синдрома в качестве средства, одновременно усиливающего противосвертывающие свойства крови и положительно влияющего на углеводный и липидный обмен.

Заключение

В условиях предтромбоза, вызванного моделированием у крыс метаболического синдрома, проведено сравнительное исследование эффектов препаратов с разным механизмом действия — пептида глипролинового ряда KRRKPGP, производного диоксикумарина — варфарина и ацетилсалициловой кислоты. Выявлены изменения параметров гемостаза в сторону гипокоагуляции и тенденция к нормализации уровня глюкозы крови даже при продолжающемся высококалорийном питании. Наибольший эффект на параметры гемостаза выявлен у пептидного препарата и по уровню глюкозы крови, т.е. пептид проявлял высокие антикоагулянтно-фибринолитические и гипогликемические свойства. Поскольку и через 7 сут после отмены всех препаратов на фоне продолжающегося высококалорийного питания показан подобный эффект всех исследуемых препаратов, то можно говорить о пролонгированном действии в организме указанных препаратов. В отличие от варфарина и ацетилсалициловой кислоты, регуляторный пептид проявлял самый максимальный эффект, так как влиял положительно на каждый из исследуемых параметров — агрегацию тромбоцитов, временные интервалы свертывания, фибринолиз, факторы свертывания, уровень глюкозы). Отмечено максимальное увеличение активности тканевого активатора плазминогена, что свидетельствует об активации функции эндотелия под влиянием регуляторного пептида. Варфарин при этом влиял только

на временные интервалы свертывания крови, эффективно снижал уровень глюкозы только в первые часы после прекращения введения. АСК в основном влияла на снижение агрегации тромбоцитов и в меньшей степени на уровень глюкозы.

Таким образом, поскольку пептид оказывал выраженные эффекты на жировой и углеводный обмен, сосудисто-эндотелиальную функцию организма и систему гемостаза при развитии метаболического синдрома у крыс, защищая организм животных от прогрессирования нарушений обмена веществ и препятствуя процессам тромбообразования, то он является наиболее перспективным средством от тромбозов, атеросклероза и сопутствующих им осложнений — инсультов и инфарктов.

Литература

(п.п. 1-10; 12-17 см. References)

1. Ляпина Л.А., Григорьева М.Е., Оберган Т.Ю., Шубина Т.А. *Теоретические и практические вопросы изучения функционального состояния противосвертывающей системы крови*. М.: Адвансд Солюшнз; 2012.

References

1. Myasoedov N.F., Lyapina L.A., Grigoryeva M.E., Obergan T.Y., Shubina T.A., et al. Mechanism for glyproline protection in hypercholesterolemia. *Pathophysiol.* 2016; 23(1): 27–33.
2. Czuprynska J., Patel J.P., Arya R. Current challenges and future prospects in oral anticoagulant therapy. *Br. J. Haematol.* 2017; 178(6): 838–51. doi: 10.1111/bjh.14714
3. Capodanno D., Angiolillo D. Aspirin for Primary Cardiovascular Risk Prevention and Beyond in Diabetes Mellitus. *Circulation.* 2016; 134(20): 1579–94.
4. Milatová E., Milata V. Warfarin — its synthesis and properties in a twenty-year retrospective. *Ceska. Slov. Farm.* 2013; 62(3): 111–19.
5. Kimmel S.E. Warfarin pharmacogenomics: current best evidence. *J. Thromb. Haemost.* 2015; 13.Suppl.1: S266–71. doi: 10.1111/jth.12978
6. Mohammad I., Korkis B., Garwood C.L. Incorporating Comprehensive Management of Direct Oral Anticoagulants into Anticoagulation Clinics. *Pharmacol. therapy.* 2017; 37(10): 1284–97. doi: 10.1002/phar.1991
7. Lichtenberger L.M., Vijayan K.V. Are Platelets the Primary Target of Aspirin's Remarkable Anticancer Activity? *Cancer Res.* 2019; 79(15): 3820–23. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-19-0762
8. <https://medbe.ru/materials/lekarstva-v-revmatologii/atsetilsalitsilovaya-kislota/>
9. Kina-Tanada M., Sakanashi M., Arasaki A., Tsutsui M. Long-term dietary nitrite and nitrate deficiency causes metabolic syndrome, endothelial dysfunction, and cardiovascular death in mice. *Nihon Yakurigaku Zasshi.* 2018; 151(4): 148–54. doi: 10.1254/fpj.151.148
10. Kostapanos M.S., Florentin M., Elisaf M.S., Mikhailidis D.P. Hemostatic factors and the metabolic syndrome. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2013; 11(6): 880–905.
11. Lyapina L.A., Grigorieva M.E., Obergan T.Yu., Shubina T.A. *Theoretical and practical issues of studying the functional state of the anticoagulant blood system. [Teoreticheskie i prakticheskie voprosy*

- izucheniya funktsional'nogo sostoyaniya protivoversyivayushchey sistemy krovi]. Moscow: Advanced Solutions; 2012. (in Russian)*
12. Kaji H. Adipose Tissue-Derived Plasminogen Activator Inhibitor-1 Function and Regulation. *Compr. Physiol.* 2016; 6(4): 1873-96. doi: 10.1002/cphy.c160004
 13. Wu G., Bazer F.W., Burghardt R.C., Johnson G.A., Kim S.W., Knabe D.A., et al. Proline and hydroxyproline metabolism: implications for animal and human nutrition. *Amino Acids.* 2011; 40(4): 1053-63. doi: 10.1007/s00726-010-0715-Z
 14. Leite P.M., Martins M.A.P., Castilho R.O. Review on mechanisms and interactions in concomitant use of herbs and warfarin therapy. *Biomed. Pharmacother.* 2016; 83: 14-21. doi: 10.1016/j.biopha.2016.06.012
 15. Michalčová J., Buliková A., Zavřelová J., Prudková M., Penka M. The current role of warfarin. *Vnitř. Lek. Winter.* 2018; 63(12): 957-66.
 16. Yamagishi S.I. Concerns about clinical efficacy and safety of warfarin in diabetic patients with atrial fibrillation. *Cardiovasc. Diabetol.* 2019; 18(1): 12. doi: 10.1186/s12933-019-0818-0
 17. Vouillarmet J., Aboyans V. Aspirin in people with diabetes: Time to clean up the prescription list? *Diabetes Res Clin Pract.* 2019; 149: 208-09. doi: 10.1016/j.diabres.2019.02.005

Сведения об авторах:

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 факультета МГУ, e-mail: lyapinal@mail.ru;

Мясоедов Николай Федорович, акад. РАН, зав. отделом химии физиологически активных веществ НИЦ «Курчатowski институт» – ИМГ, доктор хим. наук, проф.; e-mail: nfm@img.ras.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 факультета МГУ, e-mail: shubina.74@mail.ru;

Андреева Людмила Александровна, зав. сектором регуляторных пептидов НИЦ «Курчатowski институт» – ИМГ; e-mail: landr@img.ras.ru;

Оберган Тамара Юрьевна, ст. науч. сотр., канд. биол. наук, лаб. защитных систем крови им. проф. Б.А. Кудряшова каф. физиологии человека и животных биологического факультета МГУ, e-mail: tobergan@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 факультета МГУ, e-mail: mgrigorjeva@mail.ru