

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

ТРИПСИН КАК ИНДУКТОР АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO* И ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЕЁ РЕАЛИЗАЦИИ

Галак И.Р.

ФГБОУ ВО «Читинская государственная
медицинская академия» Минздрава
России, (672000, г. Чита, ул. Горького, 39а,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Галак Иван Русланович
e-mail: vanojan989@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Сериновые протеазы являются наиболее многочисленным каталитическим типом протеолитических ферментов и выполняют в организме разнообразные функции. Они участвуют в процессе пищеварения, являются факторами свёртывания крови, компонентами комплемента и калликреин-кининовой системы и т.д. Наиболее изученным представителем сериновых протеаз является трипсин. Известно, что при некоторых патологических процессах и состояниях, таких как панкреатит и панкреонекроз, трипсин попадает в системный кровоток. Это чревато развитием тромбозов и тромбозмболий, однако механизмы этих нарушений на сегодняшний день изучены недостаточно. Одним из механизмов, предположительно, может быть трипсин-опосредованная активация тромбоцитов с последующей их агрегацией.

Цель исследования. Изучить возможность трипсина индуцировать агрегацию тромбоцитов *in vitro*.

Методы. Эксперименты проведены на богатой тромбоцитами плазме, полученной от 22 относительно здоровых добровольцев. Методом оптической агрегатометрии исследовали агрегацию тромбоцитов трипсином в конечных концентрациях 0,5, 1, 2,5, 5 и 10 μM . На следующем этапе регистрировали трипсин-индуцированную агрегацию тромбоцитов в дефицитной по протромбину плазме.

Результаты. Трипсин способен индуцировать агрегацию тромбоцитов *in vitro*. Минимальный эффект был отмечен при добавлении 2,5 μM . Внесение в тромбоцитарную плазму 5 и 10 μM трипсина индуцировало выраженную и необратимую агрегацию тромбоцитов. Трипсин-индуцированная агрегация реализуется как в гепаринизированной, так и в дефицитной по факторам протромбинового комплекса плазме.

Выводы. В ходе исследования выявлены проагрегантные эффекты трипсина, которые являются самостоятельными и могут быть реализованы без участия тромбина.

Ключевые слова: трипсин, тромбоциты, сериновые протеазы, рецепторы, активируемые протеазами

Статья поступила: 08.04.2026
Статья принята: 15.09.2026
Статья опубликована: 09.10.2026

Для цитирования: Галак И.Р. Трипсин как индуктор агрегации тромбоцитов в эксперименте *in vitro* и предположительные механизмы её реализации. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 251-259. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.25

TRYPSIN AS AN INDUCER OF PLATELET AGGREGATION IN AN *IN VITRO* EXPERIMENT AND ITS PUTATIVE MECHANISMS

Galak I.R.

Chita State Medical Academy, Ministry of Health of the Russian Federation (Gorky Str., 39a, Chita 672000, Russian Federation)

Corresponding author:

Ivan. R. Galak

e-mail: vanojan989@gmail.com

ABSTRACT

Introduction. Serine proteases are the most numerous catalytic type of proteolytic enzymes and perform a variety of functions in the body. They participate in digestion, act as blood clotting factors, are components of complement and the kallikrein-kinin system, among others. Trypsin is the most studied serine protease. It is known that in certain pathological processes and conditions, such as pancreatitis and pancreatic necrosis, trypsin enters the systemic circulation. This can lead to the development of thrombosis and thromboembolism, but the mechanisms underlying these disorders remain poorly understood. One possible mechanism may be trypsin-mediated platelet activation followed by aggregation.

Aim. To investigate the ability of trypsin to induce platelet aggregation *in vitro*.

Methods. Experiments were conducted on platelet-rich plasma obtained from 22 relatively healthy volunteers. Platelet aggregation by trypsin at final concentrations of 0.5, 1, 2.5, 5, and 10 μM was studied using optical aggregometry. Trypsin-induced platelet aggregation was then recorded in prothrombin-deficient plasma.

Results. Trypsin is capable of inducing platelet aggregation *in vitro*. The minimal effect was observed with the addition of 2.5 μM . Addition of 5 and 10 μM trypsin to platelet plasma induced pronounced and irreversible platelet aggregation. Trypsin-induced aggregation occurs in both heparinized plasma and plasma deficient in prothrombin complex factors.

Conclusion. The study revealed proaggregatory effects of trypsin that are thrombin-independent and can occur without its participation.

Keywords: trypsin, platelets, serine proteases, protease-activated receptors

Received: 08.04.2026

Accepted: 15.09.2026

Published: 09.10.2026

For citation: Galak I.R. Trypsin as an inducer of platelet aggregation in an *in vitro* experiment and its putative mechanisms. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(4): 251-259. doi: 10.29413/ABS.2026-11.4.25

ОБОСНОВАНИЕ

Трипсин (ЕС 3.4.21.4) — сериновая эндопептидаза с молекулярной массой ~24 кДа [1, 2], катализирующая гидролиз пептидных связей, образованными карбоксильной группой аргинина или лизина [3].

Его главная физиологическая функция заключается в гидролизе пептидных связей белков в процессе пищеварения. Существует ряд заболеваний, сопровождающиеся попаданием трипсина в кровоток, например, острый панкреатит и панкреонекроз. Кроме того, трипсин участвует в пролиферации и метастазировании солидных злокачественных новообразований, включая рак яичников, толстой кишки, простаты и др. [4–7]. Трипсин является эволюционным предшественником большого количества ферментов, которые называют трипсиноподобными протеазами [8]. Они являются ключевыми участниками многих процессов как в норме, так и при патологии. Сюда можно отнести систему гемостаза, фибринолитическую, калликреин-кининовую системы, комплемент и многие другие [8]. Кузник Б.И. и соавт. (2023 г.) предполагают, что трипсин, концентрация которого резко возрастает при сепсисе, шоках различной этиологии и т.д., может индуцировать агрегацию тромбоцитов и свёртывание крови, что приводит к развитию массивных тромбозов [9].

Главная эффекторная сериновая протеаза системы гемостаза – тромбин – фермент, обладающий двойной трипсиновой и химотрипсиновой специфичностью. Тромбин катализирует превращение фибриногена в фибрин, активирует фактор XIII, который способствует стабилизации фибрина путём формирования поперечных сшивок. Кроме того, тромбин является самым мощным эндогенным индуктором агрегации тромбоцитов. Трипсин, как и тромбин, катализирует гидролиз пептидных связей, образованными аргинином и лизином. Исходя из этих данных возникает предположение, что трипсин, как и тромбин, способен активировать тромбоциты и индуцировать их агрегацию.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить возможность трипсина индуцировать агрегацию тромбоцитов в эксперименте *in vitro*.

МЕТОДЫ

В исследовании использовали богатую тромбоцитами плазму (Platelet Rich Plasma, PRP), полученную от 22 относительно здоровых добровольцев. В работе также использовались кристаллический трипсин (ООО «Самсон-Мед»), ингибитор трипсина из сои (ООО «ПанЭко»), раствор гепарина 5000 МЕ/мл (ООО «Велфарм»), реагенты для определения тромбинового времени (ТВ), протромбинового времени (ПВ), активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ), фибриногена (ООО «Лабораторные решения»),

дефицитная по протромбину плазма (Helena Biosciences), фосфатно-солевой буферный раствор с pH 7.4 (PBS), трис-HCl буфер с pH 7.4, сульфат бария, синтезированный в нашей лаборатории из хлорида бария и сульфата аммония.

Получение богатой и бедной тромбоцитами плазмы. Цитратную кровь центрифугировали при 1500 об/мин в течение 7 минут, после чего снимали 2/3 объёма богатой тромбоцитами плазмы (PRP, Platelet Rich Plasma). После чего, эту же кровь центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 минут, отбирали обеднённую тромбоцитами плазму (PPP, Platelet Poor Plasma).

Исследование проагрегантных свойств трипсина. К богатой тромбоцитами плазме ($n = 8$) добавляли раствор трипсина в PBS в конечных концентрациях 0,5, 1, 2,5, 5 и 10 μM . В качестве контроля отсутствия индуцированной агрегации к PRP добавляли эквивалентный объём PBS, регистрируя спонтанную агрегацию. Так как трипсин способен активировать протромбин, его внесение в плазму приводит к её свёртыванию в кювете, что делает регистрацию агрегатограммы невозможной. По этой причине, в плазму предварительно добавляли раствор гепарина в конечной концентрации ~150 МЕ/мл, что исключало свёртывание, но не отменяло агрегацию тромбоцитов. Чтобы доказать действие непосредственно трипсина, а не присутствующих примесей, записывали агрегатограммы с аналогичными концентрациями трипсина, но с предварительным добавлением в него ингибитора трипсина из сои в конечной концентрации 1 мг/мл ($n = 5$).

Синтез сульфата бария. Для получения BaSO_4 использовали 36,4 г. дигидрата хлорида бария ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) и 20 г. сульфата аммония $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$. К раствору BaCl_2 по каплям добавляли раствор $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ при постоянном перемешивании. После полного смешивания растворов реагентов, реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение часа. По истечению времени, полученный осадок оставляли на ночь, после чего сливали надосадочную жидкость и промывали осадок дистиллированной водой. Процедуру промывки осуществляли до прекращения обнаружения хлорида аммония в надосадочной жидкости. Осадок фильтровали на воронке Бюхнера под вакуумом с дополнительной промывкой. Полученный осадок сушили при комнатной температуре до полного высыхания. Высушенный осадок измельчали в ступке, хранили в плотно закрытой стеклянной таре. Выход конечного продукта составил 27,9 г. (~80 % от теории).

Получение деплетированной по факторам протромбинового комплекса плазмы. Так как трипсин участвует в генерации тромбина, даже небольшие его количества могут индуцировать агрегацию тромбоцитов в гепаринизированной плазме. Для этого, на следующем этапе, получали деплетированную по факторам протромбинового комплекса плазму. Часть порции бедной тромбоцитами плазмы инкубировали с сульфатом бария (200 мг/мл) в термостате при 37°C в течение 40 минут для адсорбции факторов

протромбинового комплекса, по истечению времени, плазму центрифугировали 10 минут при 3000 оборотах в минуту для осаждения сульфата бария. В полученной плазме определяли такие параметры как ПВ, АПТВ, ТВ, фибриноген по Клаусу, а также активность FII методом Сулье–Ларье. Идея состояла в том, чтобы осадить тромбоциты и провести замену плазмы на аутологичную деплетированную с последующим ресуспендированием тромбоцитов в ней. Параллельно центрифугировали еще один образец PRP, после чего ресуспендировали тромбоциты не меняя плазму (для соблюдения одинаковых условий пробоподготовки). В эту пробу перед агрегатометрией добавляли гепарин и параллельно исследовали в тех же условиях в качестве контрольного образца.

Регистрация агрегации тромбоцитов. Запись агрегатограмм проводилась по методу G. Born and J. O'Brien на двухканальном лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов АЛАТ2 (ООО НПФ «БИОЛА»). Калибровку проводили по стандартной методике. В кювету агрегометра добавляли 270 μ l PRP с последующей инкубацией при 37°C в течение 3 минут. По истечении времени, кювету помещали в измерительную ячейку агрегометра и начинали запись. На 30-ой секунде добавляли 30 μ l предварительно разведённого буфером трипсина. Время записи в каждом эксперименте составляло 5 минут. По окончании записи регистрировали следующие параметры:

1. максимальное светопропускание (%);
2. максимальный наклон кривой светопропускания (%/мин);
3. максимальное значение среднего радиуса агрегатов (отн.ед.);

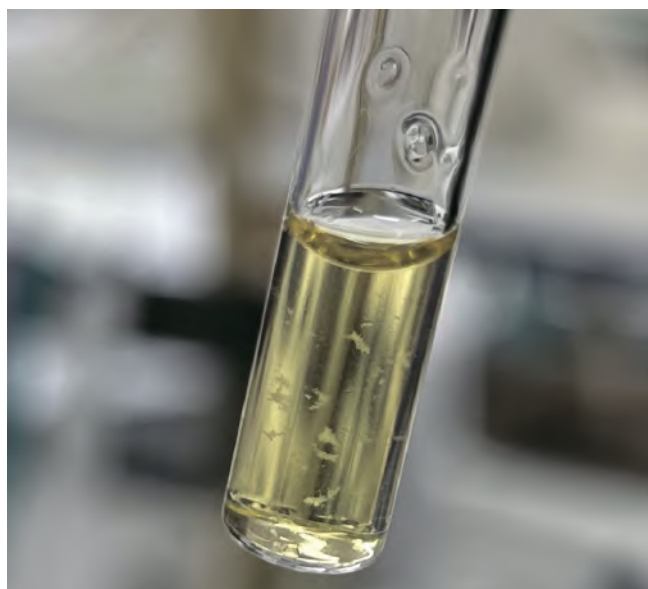


РИС. 1.
Агрегаты тромбоцитов в плазме после внесения трипсина (10 μ M)

FIG. 1.
Platelet aggregates in plasma following the addition of trypsin (10 μ M)

4. максимальный наклон г-кривой (отн.ед/мин).

Этические аспекты. Проведение исследования одобрено на заседании локального этического комитета ФГБОУ ВО ЧГМА Минздрава России (24.11.2025 г., протокол № 132). Все эксперименты выполнены в соответствии с требованиями Хельсинской декларации. У всех добровольцев было взято письменное информированное добровольное согласие.

Статистическая обработка данных. Анализ полученных данных проводили с помощью программ Jamovi 2.7.6 и OriginPro 2024. Ввиду небольшого количества добровольцев, результаты представлены как медиана, первый и третий квартили (Me ([Q1-Q3])). На первом этапе использовали критерий Фридмана. Так как данный тест показал наличие значимых различий, на следующем этапе проводили попарные сравнения Дарбина – Коновера. Для сравнения результатов, полученных в опытах с дефицитной по протромбину плазмой, использовали парный тест Уилкоксона. Статистически значимые различия принимали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведённых экспериментов отмечено, что трипсин дозозависимо стимулирует агрегацию тромбоцитов (табл. 1).

В нашем случае, минимальная концентрация трипсина, которая приводит к статистически значимому увеличению всех параметров (кроме максимального светопропускания) составила 2,5 μ M. Добавление трипсина в концентрациях 5 и 10 μ M приводит к выраженной и необратимой агрегации тромбоцитов. После извлечения кюветы из прибора, в плазме визуализируются агрегаты тромбоцитов (рис. 1). Внесение трипсина в концентрациях 5 и 10 μ M приводит к увеличению максимального светопропускания в ~15 и в ~19 раз соответственно относительно PBS. Максимальное значение среднего радиуса агрегатов увеличивается приблизительно в 5,5 раз относительно буфера.

Предварительное внесение соевого ингибитора к трипсину полностью блокирует проагрегантный эффект трипсина (рис. 2).

Это подтверждает доводы о том, что проагрегантное действие обусловлено именно трипсином, а не какими-либо примесями.

Агрегация тромбоцитов после внесения трипсина может быть следствием генерации тромбина, так как трипсин способен активировать протромбин [9]. Даже несмотря на то, что в плазму добавлялся гепарин, совсем небольшие концентрации образующегося тромбина могут стимулировать агрегацию посредством активации высокоаффинных рецепторов PAR-1. Для подтверждения или опровержения выше сказанного, на следующем этапе была исследована трипсин-индуцированная агрегация в аутологичной дефицитной по факторам протромбинового комплекса плазме, в частности по протромбину. Её коагуляционные свойства отображены в таблице 2.

Добавление трипсина к дефицитной плазме также приводило к выраженному увеличению светопропускания и среднего радиуса агрегатов.

Отмечено, что в присутствии гепарина максимальное светопропускание и максимальный наклон кривой были несколько выше относительно дефицитной плазмы. Возможно, это связано с прямым действием гепарина на тромбоциты, например, посредством активации PEAR-1 (platelet endothelial aggregation receptor 1,

рецептор агрегации тромбоцитов и эндотелия 1) [10], что могло привести к повышению этих параметров. Статистически-значимой разницы по максимальному значению среднего радиуса агрегатов и максимальному наклону R-кривой не выявлено (рис. 3).

Обсуждение. Полученные результаты говорят о том, что трипсин способен индуцировать агрегацию тромбоцитов как в гепаринизированной, так и в дефицитной по факторам протромбинового комплекса плазме.

ТАБЛИЦА 1

ПАРАМЕТРЫ КРИВЫХ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ВНЕСЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ТРИПСИНА В PRP, ME [Q1; Q3]

TABLE 1

PARAMETERS OF PLATELET AGGREGATION CURVES UPON ADDITION OF VARIOUS CONCENTRATIONS OF TRYPSIN TO PRP, ME [Q1; Q3]

Параметр агрегатограммы	PBS (n=8)	Try 0,5 µM (n=8)	Try 1 µM (n=8)	Try 2,5 µM (n=8)	Try 5 µM (n=8)	Try 10 µM (n=8)
Максимальное светопропускание, %	3,88 [3,47;4,86]	5,82 [3,85;6,64] $p_1=0,09$	3,37 [2,19;5,25] $p_1=0,3$ $p_2=0,008$	4,01 [3,15;9,46] $p_1=0,8$ $p_2=0,1$ $p_3=0,2$	59,5 [31,6;80,0] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$ $p_4<0,001$	72,7 [69,7;82,3] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$ $p_4<0,001$ $p_5=0,1$
Максимальный наклон кривой светопропускания%/мин	1,42 [1,31;1,61]	2,13 [1,1;2,43] $p_1=0,4$	1,15 [1,02;1,9] $p_1=0,2$ $p_2=0,06$	2,88 [2,11;5,08] $p_1=0,02$ $p_2=0,1$ $p_3=0,001$	38,1 [21,5;52,1] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$ $p_4=0,001$	47,0 [43,1;54,8] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$ $p_4<0,001$ $p_5=0,03$
Максимальное значение среднего радиуса агрегатов, отн.ед	2,24 [1,94;2,56]	2,4 [2,21;2,56] $p_1=0,6$	2,21 [1,98;2,88] $p_1=0,8$ $p_2=0,4$	3,09 [2,42;6,71] $p_1=0,006$ $p_2=0,02$ $p_3=0,003$	12,3 [10,6;14,0] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$ $p_4=0,002$	12,1 [10,9;14,4] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$ $p_4<0,001$ $p_5=0,8$
Максимальный наклон R-кривой	0,17 [0,08;0,28]	0,28 [0,12;0,4] $p_1=0,1$	0,26 [0,12;0,38] $p_1=0,3$ $p_2=0,6$	1,02 [0,67;2,97] $p_1<0,001$ $p_2=0,003$ $p_3<0,001$	5,54 [2,98;7,85] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$ $p_4=0,002$	4,72 [3,62;5,99] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$ $p_4=0,009$ $p_5=0,6$

Примечания: p_1 – уровень значимости по сравнению с PBS, p_2 – уровень значимости по сравнению с 0,5 µM трипсина, p_3 – уровень значимости по сравнению с 1 µM трипсина, p_4 – уровень значимости по сравнению с 2,5 µM трипсина, p_5 – уровень значимости по сравнению с 5 µM трипсина

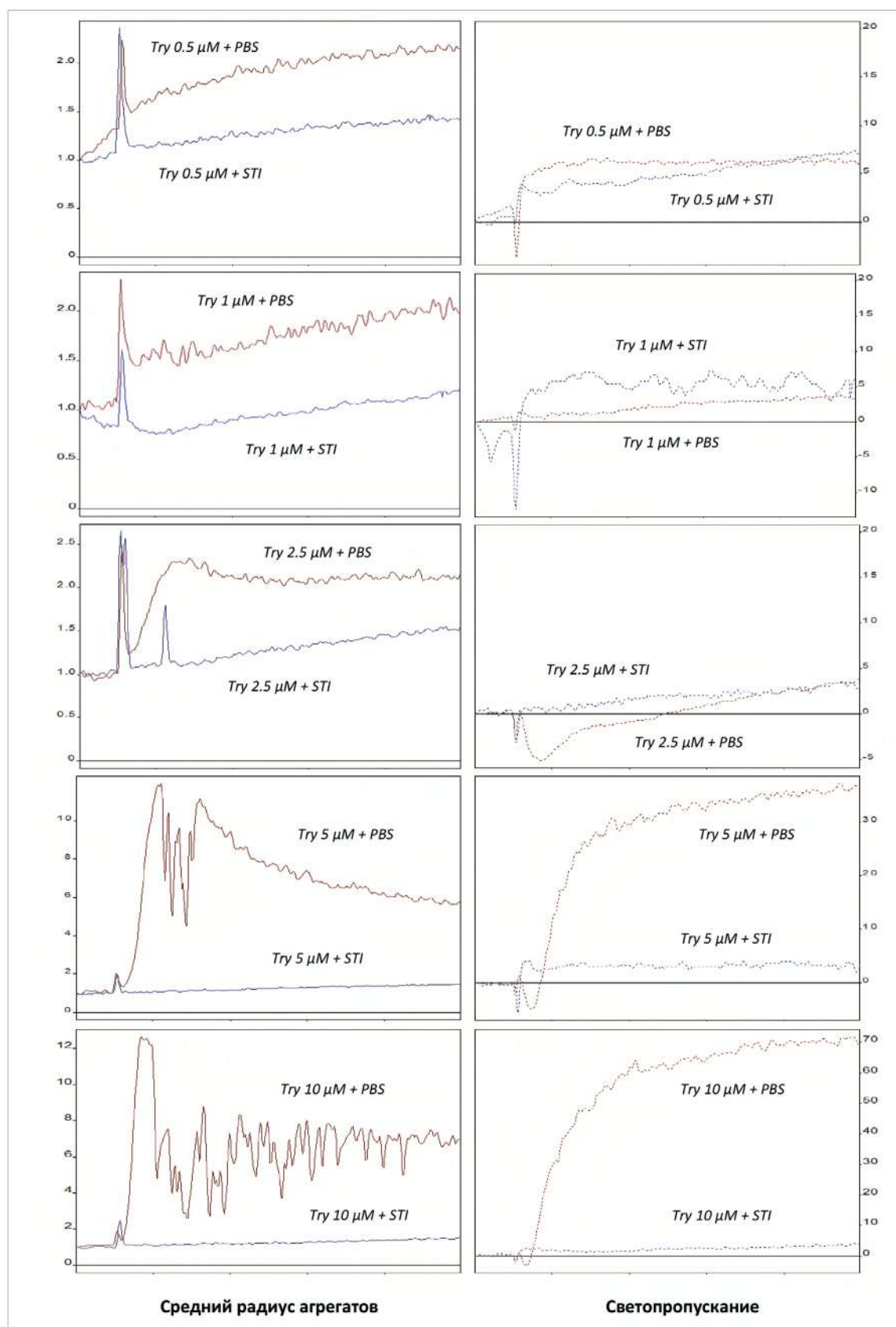
ТАБЛИЦА 2

ИЗМЕНЕНИЕ КОАГУЛЯЦИОННЫХ СВОЙСТВ БЕДНОЙ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМЫ ПОСЛЕ ИНКУБАЦИИ С BASO4 (200 МГ/МЛ, 40 МИНУТ ПРИ 37°C), ME [Q1; Q3]

TABLE 2

CHANGES IN THE COAGULATION PROPERTIES OF PLATELET-POOR PLASMA AFTER INCUBATION WITH BASO4 (200 MG/ML, 40 MINUTES AT 37°C), ME [Q1; Q3]

Исследуемый параметр	До инкубации с BaSO ₄ (n=14)	После инкубации с BaSO ₄ (n=14)
ПВ, сек	12,4 [12,1; 13,1]	Нет свёртывания
АПТВ, сек	41,7 [38,5; 43,6]	Нет свёртывания
ТВ, сек	18,2 [17,4; 18,5]	18,85 [18,2; 18,9]
Фибриноген, г/л	2,25 [2,2; 2,6]	2,3 [2,2; 2,7]
Активность FII, %	108,5 [90,1; 133]	~1



Примечание: PBS – фосфатно-солевой буферный раствор, STI – соевый ингибитор трипсина. Представлены репрезентативные кривые для 5 экспериментов.
Note. PBS – phosphate-buffered saline, STI – soybean trypsin inhibitor. Representative curves for 5 experiments are shown.

РИС. 2.
 Предварительное добавление соевого ингибитора к трипсину полностью блокирует его проагрегантное действие

FIG. 2.
 Preincubation of trypsin with soybean trypsin inhibitor completely blocks its proaggregatory effect

Непосредственное участие тромбина для реализации трипсин-индуцированной агрегации не является обязательным, трипсин способен самостоятельно активировать тромбоциты и стимулировать их агрегацию.

Возможный механизм трипсин-индуцированной агрегации тромбоцитов. Механизмом трипсин-индуцированной агрегации тромбоцитов, предположительно, является активация PAR-4 (Protease Activated Receptor-4). На поверхности тромбоцитов человека имеется два типа PAR: PAR-1 и PAR-4. (рис. 4.) PAR-1 является высокоаффинным рецептором тромбина, за счёт наличия гирудин-подобного домена. Его активация осуществляется путём гидролиза пептидной связи Arg41-Ser42, что приводит к раскрытию «закрытого» лиганда. За счёт наличия гирудин-подобного домена, PAR-1 способен реагировать на тромбин в самых низких концентрациях. PAR-4, в отличие от PAR-1, не содержит высокоаффинный гирудин-подобный домен, вследствие чего он активируется тромбином в более высоких дозах. Однако интересен тот факт, что его активация может быть осуществлена трипсином. Активация PAR-4 осуществляется за счёт протеолиза связи Arg47-Gly48, кроме того, данная пептидная связь является точкой приложения как для тромбина, так и для трипсина [11, 12].

После расщепления вышеописанной связи, происходит раскрытие последовательности Gly-Tyr-Pro-Gly-Gln-Val, которая выступает в роли лиганда. Далее происходит его связывание со второй внеклеточной петлей (ExtraCellular Loop-2, ECL-2) рецептора, что приводит к изменению его конформации. Конформационные изменения активированного PAR-4 приводит к последующей трансдукции сигнала через Gq и $G_{12/13}$ белки. Дальнейшая внутриклеточная сигнализация способствует активации фосфолипазы C, накоплению инозитолтрифосфата и, как следствие, выраженной мобилизации цитоплазматического Ca^{2+} . Образующийся в ходе расщепления фосфолипидов фосфолипазой C диацилглицерол способствует активации протеинкиназы C, которая катализирует фосфорилирование киназы лёгких цепей миозина в присутствии Ca^{2+} , способствуя активации сократительных белков тромбоцитов. Все вышеуказанные механизмы приводят к изменению формы тромбоцитов и секреции гранул с последующей агрегацией.

Наши догадки подтверждаются исследованием, опубликованным Webb E.M., et al. в 2025 году [13]. Они продемонстрировали, что точкой приложения трипсина на тромбоцитах является только PAR-4. При его активации трипсином, запускаются внутриклеточные

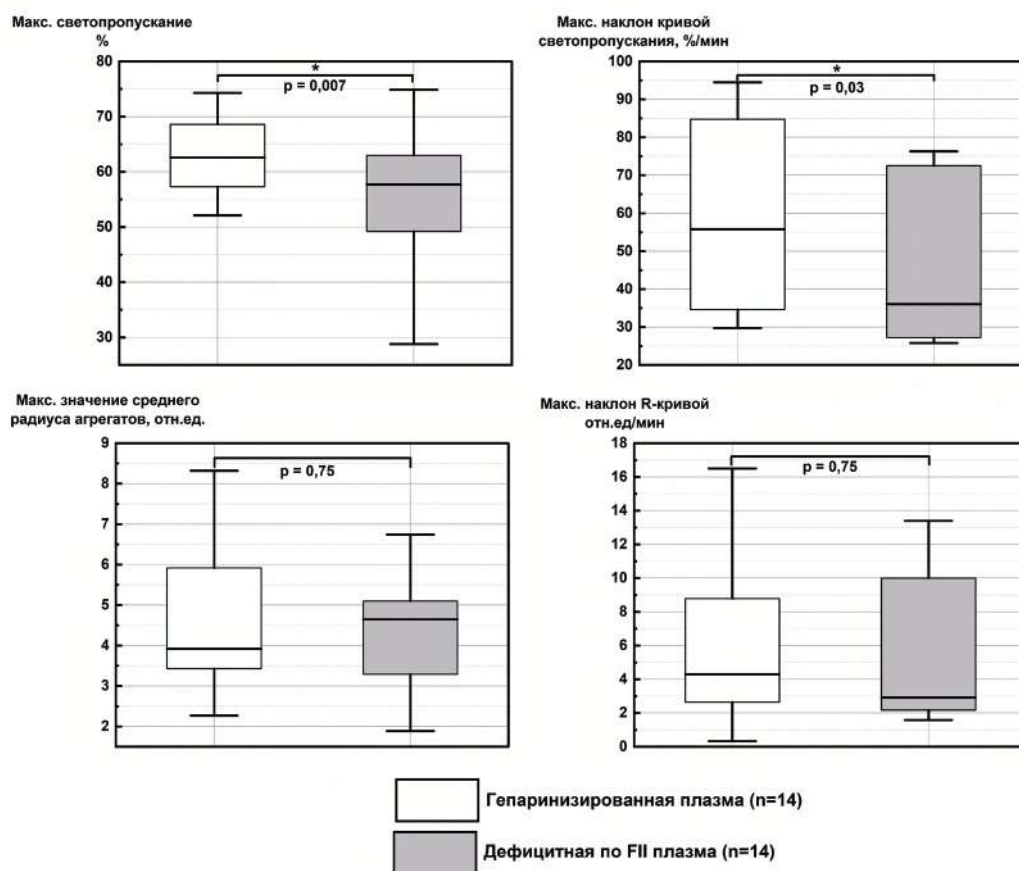


РИС. 3.

Параметры кривой светопропускания и R-кривой в гепаринизированной и дефицитной по FII плазме после внесения трипсина в конечной концентрации 10 μ M, Me [Q1; Q3]

FIG. 3.

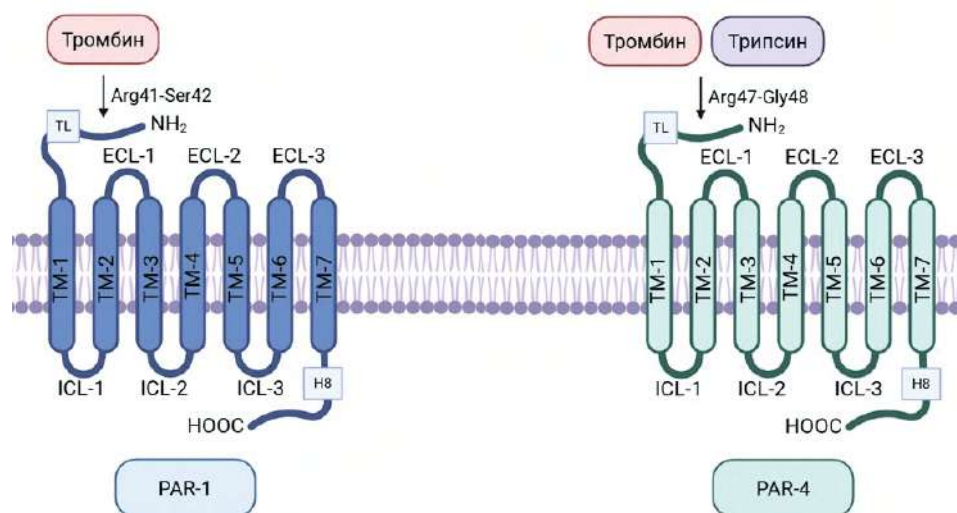
Parameters of the light transmission curve and R-curve in heparinized and FII-deficient plasma after the addition of trypsin at a final concentration of 10 μ M, Me [Q1; Q3]

сигнальные пути, активируемые белками Gq и $G_{12/13}$ [13]. Более того, авторы заявляют, что активация тромбоцитов трипсином осуществляется не менее эффективно, чем альфа-тромбином. Можно сказать, что трипсин способен активировать тромбоциты косвенно, путём активации протромбина, так и прямо – воздействуя на PAR-4 (рис. 5). Следует обратить внимание, что рассматриваемый механизм активации тромбоцитарного PAR-4 трипсином основан лишь на данных литературы, а собственное экспериментальное

подтверждение описываемого пути активации на данный момент отсутствует.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты данного исследования показывают, что трипсин способен индуцировать агрегацию тромбоцитов *in vitro*, а участие тромбина в данном процессе не является обязательным. Это исследование может



Примечание: ECL – внеклеточная петля, ICL – внутриклеточная петля, TM – трансмембранный домен, TL – связанный лиганд, H8 – восьмая спираль.
Note. ECL – extracellular loop, ICL – intracellular loop, TM – transmembrane domain, TL – tethered ligand, H8 – 8-th helix.

РИС. 4.

Сравнительная характеристика механизмов активации рецепторов PAR-1 и PAR-4 по данным Peach C.J., et al. (2023) [11]

FIG. 4.

Comparison of the activation mechanisms of PAR-1 and PAR-4 receptors according to Peach C.J., et al. (2023) [11]

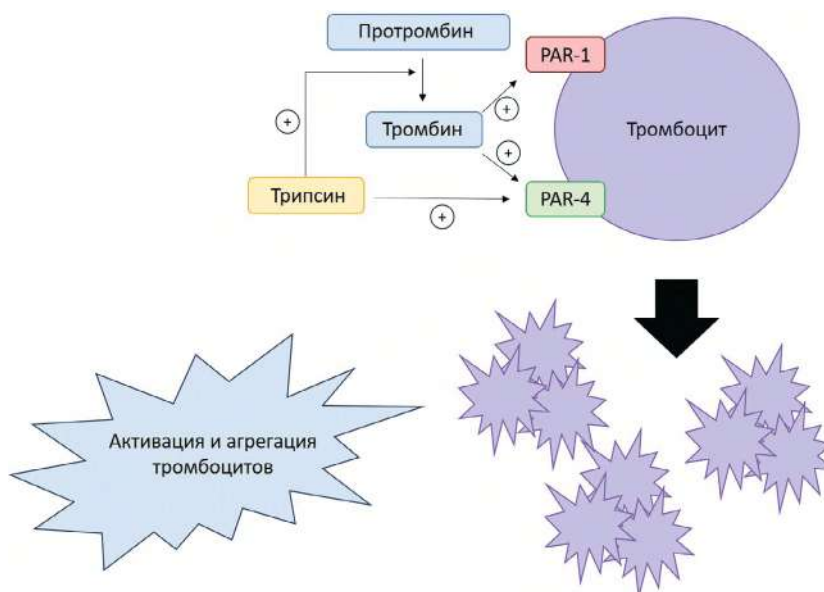


РИС. 5.

Прямой и опосредованный через тромбин механизмы трипсин-индуцированной агрегации тромбоцитов

FIG. 5.

Direct and thrombin-mediated mechanisms of trypsin-induced platelet aggregation

быть полезным в дальнейшем изучении патофизиологических механизмов тромботических и тромбоэмболических осложнений у пациентов с панкреатитом и панкреонекрозом. Несмотря на то, что трипсин один из наиболее изученных ферментов, данных о его влиянии на систему гемостаза *in vivo* на сегодняшний день недостаточно. Кроме того, было бы интересно оценить влияние и других протеолитических ферментов поджелудочной железы на гемостаз. В дальнейшем, данные ферменты могут стать точкой приложения для новых лекарственных препаратов. Ограничением данного исследования является тот факт, что в работе с тромбоцитами человека использовался бычий трипсин, что не позволяет в полной мере экстраполировать полученные результаты на взаимодействие тромбоцитов человека и трипсина. Это должно быть учтено в последующих исследованиях. Механизм активации PAR-4 тромбоцитов трипсином описан в данной работе лишь на основании литературных данных. Кроме того, на сегодняшний день нет информации о влиянии трипсина на тромбоциты *in vivo*. Дальнейшие исследования должны быть направлены на более детальное раскрытие механизма трипсин-индуцированной агрегации тромбоцитов и реализации проагрегантного эффекта в условиях *in vivo*.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Famutimi OG, et al. Trypsin, chymotrypsin and elastase in health and disease. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2024; 10: 126. doi: 10.1186/s43094-024-00709-y
2. Зинкевич О.Д., Сафина Н.А., Чикаев В.Ф., и др. Протеолитические ферменты мочи и сыворотки крови у больных острым панкреатитом. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2017; (11): 86–91. [Zinkevich OD, Safina NA, Chikaev VF, et al. Proteolytic enzymes in urine and blood serum in patients with acute pancreatitis. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2017; (11): 86–91. (In Russ.)].
3. Mousseau CB, et al. Quenching trypsin is unnecessary in filter-based bottom-up proteomics. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 2024; 35(8): 2028–2031. doi: 10.1021/jasms.4c00143
4. Liu SH, et al. The expression and significance of protease activated receptor 2 in ovarian epithelial carcinoma. *ZhonghuaZhongliuzazhi[Chinese Journal of Oncology]*. 2023; 45(1): 64–73. doi: 10.3760/cma.j.cn112152-20211214-00928
5. Koistinen H, et al. The roles of proteases in prostate cancer. *IUBMB life*. 2023; 75(6): 493–513. doi: 10.1002/iub.2700
6. Strong AA, Buzza MS, Antalis TM. Protease-Activated Receptor-2 Promotes Metastasis: An Emerging Therapeutic Target. *Molecular Cancer Research*. 2026; 24(4): 207–220. doi: 10.1158/1541-7786.mcr-25-0788
7. Vetvicka D, et al. Proteinase-activated receptor 2: springboard of tumors. *Anticancer Research*. 2024; 44(1): 1–12. doi: 10.21873/anticancer.16782
8. Anitua E, Prado R, Padilla S. Evolutionary insight into immunothrombosis as a healing mechanism. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23(15): 8346. doi: 10.3390/ijms23158346
9. Кузник Б.И., Ройтман Е.В., Цыбиков Н.Н. и др. Полипотентные механизмы регуляции системы гемостаза и тромбообразования при COVID-19. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2023; 2: 67–89. [Kuznik BI, Roitman EV, Tsybikov NN, et al. Pluripotent mechanisms for regulation of hemostasis and thrombogenesis in COVID-19. *Tromboz, gemostaz i reologiya*. 2023; (2): 67–89. (In Russ.)].
10. Peach CJ, et al. Protease-activated receptors in health and disease. *Physiological Reviews*. 2023; 103(1): 717–785. doi: 10.1152/physrev.00044.2021
11. Kardeby C, et al. Heparin and heparin proteoglycan-mimetics activate platelets via PEAR1 and PI3Kβ. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2023; 21(1): 101–116. doi: 10.1016/j.jth.2022.10.008
12. Zhao P, Metcalf M, Bunnett NW. Biased Signaling of Protease-Activated Receptors. *Front. Endocrinol*. 2014; 5: 67. doi: 10.3389/fendo.2014.00067
13. Webb EM, Seymour K, Hamm HE. Trypsin Activates Human Platelets via Proteolytic Cleavage of Protease-Activated Receptor 4. *Thrombosis and Haemostasis*. 2025. doi: 10.1055/a-2747-9083

Сведения об авторах

Галак Иван Русланович – аспирант кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: vanojan989@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0004-9085-169X>

Information about the authors

Ivan R. Galak – postgraduate student of the Department of Pathological Physiology, Chita State Medical Academy; e-mail: vanojan989@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0004-9085-169X>