

## КОРРЕКЦИЯ ПОВЫШЕННОЙ ТРОМБОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ ПРИ ПРЕЭКЛАМПСИИ

УО «Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова Белорусского государственного университета»<sup>1</sup>,  
УО «Белорусский государственный медицинский университет»<sup>2</sup>

У беременных женщин с преэклампсией установлено достоверное повышение степени агрегации тромбоцитов в ответ на действие АДФ, по сравнению с физиологически протекающей беременностью, что позволяет использовать данный критерий в диагностических целях. В экспериментах *in vitro* выявлено, что наибольший ингибирующий эффект на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов проявляли диаденозин-5',5'''-P<sup>i</sup>,P<sup>i</sup>-тетрафосфат (Ap<sub>4</sub>A) и комплекс АТФ-Mg<sup>2+</sup>. При этом снижение степени агрегационной способности тромбоцитов при преэклампсии достигало уровня, отмечаемого при физиологической беременности. Потенциальное преимущество Ap<sub>4</sub>A и его производных в качестве терапевтических дезагрегантов заключается в том, что они оказывают синергическое ингибирующее действие на P2Y<sub>1</sub> и P2Y<sub>12</sub> рецепторы тромбоцитов и обладают большим периодом полураспада в кровяном русле по сравнению с АТФ. Результаты исследований позволяют рекомендовать использование Ap<sub>4</sub>A в качестве субстрата для разработки лекарственных средств, нацеленных на снижение повышенной функциональной активности тромбоцитов при преэклампсии.

**Ключевые слова:** преэклампсия, тромбоциты, агрегация, диаденозин тетрафосфат.

A. V. Bakunovich, V. N. Sidorenko, L. M. Lobanok, K. Ya. Bulanova

## CORRECTION OF INCREASED PLATELET ACTIVITY IN PREECLAMPSIA

Pregnant women with pre-eclampsia have a significant increase in the degree of platelet aggregation in response to ADP, in comparison with a physiologically occurring pregnancy, allowing use this criterion for diagnostic purposes. *In vitro* experiments revealed that diadenosine-5',5'''-P<sup>i</sup>,P<sup>i</sup>-tetraphosphate (Ap<sub>4</sub>A) and ATP-Mg<sup>2+</sup> exhibited the greatest inhibitory effect on ADP-induced platelet aggregation. At the same time, a decrease in the degree of platelet aggregation in pre-eclampsia reached the level noted during physiological pregnancy. The potential advantage of Ap<sub>4</sub>A and its derivatives as therapeutic antiplatelet agents is that they have a synergistic inhibitory effect on the P2Y<sub>1</sub> and P2Y<sub>12</sub> platelet receptors and have a longer half-life in the bloodstream compared to ATP. The research results suggest using Ap<sub>4</sub>A as a substrate for the development of drugs aimed at reducing the increased functional activity of platelets in pre-eclampsia.

**Key words:** pre-eclampsia, platelets, aggregation, diadenosine tetraphosphate.

Нарушения функциональной активности тромбоцитов, связанной с их адгезией и агрегацией, приводят к повышенной кровоточивости или усилению тромбообразования и развитию патологических изменений кровообращения. Изменение содержания тромбоцитов – важнейший этиопатогенетический фактор развития осложнений гестационного процесса – синдрома потери плода, преэклампсии, преждевременной отслойки нормально расположен-

ной плаценты, а также тромботических и тромбоэмболических осложнений [1]. В период беременности у женщин происходит постепенная активация тромбоцитов, что является физиологической перестройкой организма к вынашиванию плода и последующим родам, а при преэклампсии этот процесс значительно усиливается. Активация тромбообразования, приводящая к риску тромботических осложнений, по мере увеличения степени тяжести данной пато-

логии запускает противоположно направленные процессы, повышающие дезагрегирующие способности тромбоцитов из-за неконтролируемого снижения их числа, что в совокупности с предыдущими нарушениями может привести к наиболее опасному для жизни состоянию – HELLP-синдрому [2].

Проведение стандартных лечебно-профилактических мероприятий, к сожалению, не всегда оказывается успешным, что, вероятно, связано с недооценкой общего состояния беременных, а также степени тяжести патологических процессов, происходящих в системе мать – плацента – плод [3]. Так, одним из наиболее распространенных средств профилактики тромбозов является аспирин. Аспирин ингибирует агрегацию тромбоцитов путем необратимого ацетилирования и инактивации циклооксигеназы-1, нарушая синтез простагландинов G<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>, служащих предшественниками тромбоксана A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>), а также синтез простагландина I<sub>2</sub> в эндотелиальных клетках сосудов. Однако, при высоких концентрациях адреналина в плазме проявляется его низкая эффективность, ведущая к возможности развития резистентности [4], а также риска образования язв и желудочных кровотечений, что не позволяет его широко использовать при преэклампсии беременных. Еще одним недостатком является то, что аспирин блокирует только TxA<sub>2</sub>-опосредованную активацию тромбоцитов, указывая на то, что тромбоцитарный эффект может быть компенсирован другими агрегантами (тромбином, коллагеном, АДФ). И несмотря на адекватное ингибирование традиционных тромбоцитарных мишеней, другие поверхностные рецепторы и внутриклеточные сигнальные пути, не подвергшиеся воздействию лекарственного средства, могут продолжать активироваться. Это заключение приводит к необходимости выявления и испытания других соединений, пригодных для снижения агрегационной способности тромбоцитов, при этом не приводящих к нежелательным последствиям при беременности.

**Цель:** Изучить особенности АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов беременных женщин с преэклампсией, а также возможность применения диаденозин-5',5'''-P<sup>1</sup>,P<sup>4</sup>-тетрафосфата (Ar<sub>4</sub>A) для коррекции повышенной тромбоцитарной активности.

**Материалы и методы.** Объектом исследования служила кровь беременных женщин с физиологически протекающей беременностью, составивших контрольную группу (32 пациентки) и беременных с диагнозом преэклампсии (32 пациентки) умеренной степени. Пациенты добровольно подтвердили свое согласие на участие в научном исследовании после того, как они были надлежащим образом проинформированы о целях, методах, ожидаемой пользе и возможном риске исследования. Забор крови проводили в клинических условиях при обязательном контроле отсутствия в течение месяца приема препаратов, влияющих на агрегацию тромбоцитов. Кровь стабилизировали 3,8% раствором цитрата натрия (9:1 по объему). Кинетику агрегации тромбоцитов регистрировали с применением анализатора агрегации AP2110 (ЗАО «СОЛАР»). Обогащенную тромбоцитами плазму (ОПТ) крови беременных женщин выделяли при комнатной температуре. ОПТ получали центрифугированием цитратной крови при 1000 об/мин в течение 10 минут. Бестромбоцитарную плазму (БТП) получали центрифугированием крови при 3000 об/мин в течение 15 минут. Количество тромбоцитов в ОПТ доводили до 2·10<sup>8</sup> кл/мл разбавлением БТП. В качестве индуктора

агрегации тромбоцитов использовали АДФ в концентрациях 2,44·10<sup>-7</sup>–2,44·10<sup>-5</sup>М. В качестве дезагреганта – Ar<sub>4</sub>A в концентрациях 2,44·10<sup>-7</sup>–2,44·10<sup>-6</sup>М, а также динатриевую и магнелиевую соли аденозинтрифосфата (АТФ) в концентрации 7,32·10<sup>-7</sup>М.

Статистический анализ результатов проводился с помощью программы Statistica 10.0. Закон распределения экспериментальных данных оценивался по критерию Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения, достоверность различий оценивалась по t-критерию Стьюдента. При непараметрическом распределении – U-теста Манна-Уитни. Сравнительный анализ эффективности дезагрегантов проводили с поправкой Тьюки (нормальное распределение) или критерия Краскела-Уоллиса (непараметрическое распределение). Различия рассматривались как статистически достоверные при уровне значимости P < 0,05. Результаты представлены в виде M±SD для нормального распределения экспериментальных данных и Me [P<sub>25</sub>-P<sub>75</sub>] для данных, не подчиняющихся закону нормального распределения.

**Результаты и обсуждение.** Добавление АДФ к обогащенной тромбоцитами плазме крови *in vitro*, приводит к изменению формы кровяных пластинок и первичной агрегации. Воздействуя на P<sub>2</sub>-пуринорецепторы, АДФ активирует фосфолипазу C, что приводит к образованию инозитол-1,4,5-трифосфата, мобилизующего кальций из внутриклеточных депо; ингибирует аденилатциклазу, тем самым снижая уровень внутриклеточного цАМФ вызывая изменения формы, секрецию гранул и агрегацию тромбоцитов. После первичной агрегации, АДФ активирует фосфолипазу A<sub>2</sub> и высвобождает арахидоновую кислоту из мембранных фосфолипидов, которая преобразуется в TxA<sub>2</sub>. TxA<sub>2</sub> переводит обратимую агрегацию в необратимую, также называемую – второй волной агрегации. Кроме того, АДФ действует синергически [5] для всех других агонистов, даже слабых, таких как серотонин и адреналин.

В эксперименте выявлено, что на высокие концентрации АДФ (2,44·10<sup>-5</sup>М) тромбоциты женщин всех обследованных групп реагировали сходно, приводя к необратимому процессу вследствие слияния первой и второй волн агрегации (степень и скорость агрегации при физиологической беременности – 52,87±8,69% и 37,2 [26,5–53,4]%/мин; при преэклампсии – 56,19±9,11% и 40,2 [27,65–47,65]%/мин соответственно). При снижении концентрации АДФ на порядок реакция тромбоцитов на индуктор агрегации уменьшилась, не проявляя особых различий в ответах кровяных пластинок беременных женщин с физиологической беременностью и беременных женщин с преэклампсией. При дальнейшем снижении на порядок концентрации АДФ (2,44·10<sup>-7</sup>М) агрегация тромбоцитов проявлялась исключительно у беременных с преэклампсией. Так, степень и скорость агрегации при физиологической беременности находились в пределах 0,8±0,69% и 1,2 [0,35–2,2]%/мин; тогда как при преэклампсии – 5,46±1,72% и 6,35 [3,7–10,7]%/мин, соответственно. Имеющиеся статистически значимые различия в исследуемых группах (P < 0,05) позволяют использовать данный критерий для диагностики преэклампсии. Небольшое повышение концентрации АДФ до 7,32·10<sup>-7</sup>М позволило вызвать агрегацию тромбоцитов, как у женщин с физиологической беременностью, так и у беременных с преэклампсией. Имеющиеся статистические различия в степени и скорости агрегации между нормой и патологией (13,02±4,62% и 13,65 [9,7–18,6]%/мин; и 20,09±4,10%

и 21,4 [15,4–26,6]/мин, соответственно;  $P < 0,05$ ) предотвратили возможность проводить дальнейшие исследования с применением антиагрегантов на этой модели. Причин для повышенной агрегации тромбоцитов при преэклампсии может быть несколько: снижение порога для АДФ-стимулированной агрегации и увеличение секреции ионов  $Ca^{2+}$ , АТФ и АДФ из внутриклеточных депо [6]; уменьшение уровней цАМФ и цГМФ.

Большое количество подтипов пуринорецепторов и появление новых знаний об их распределении в тканях может позволить расширить арсенал применяемых препаратов и нацелиться на конкретную ткань или орган, ограничивая, таким образом, возникновение побочных эффектов в организме. Наибольшее внимание привлекает содержащийся в плотных гранулах тромбоцитов диаденозин-5',5''- $P^1, P^4$ -тетрафосфат [7], являющийся молекулой, которая включена в процессы восстановления, коррекции и защиты организма, как на клеточном, так и на организменном уровне. Внутри клетки  $Ar_4A$  выступает в роли вторичного мессенджера, инициирует репарацию ДНК, участвует в механизмах апоптоза и агрегации/деагрегации тромбоцитов, выполняя роль алармона в клеточном ответе на стресс [8]. Внеклеточный  $Ar_4A$  действует через пуринорецепторы и, возможно, через специфические рецепторные структуры. Представляет интерес провести анализ антиагрегационных способностей  $Ar_4A$  в модельных экспериментах с использованием тромбоцитов женщин с физиологической беременностью и с преэклампсией.

В эксперименте выявлено, что деагрегационные свойства  $Ar_4A$  носят доза-зависимый характер. Так, при добавлении  $Ar_4A$  в концентрации  $2,44 \cdot 10^{-7} M$  в суспензию тромбоцитов индуцированную АДФ отмечается несущественное ингибирование степени и скорости агрегации тромбоцитов до равных значений в обоих исследуемых группах (степень и скорость агрегации при физиологической беременности –  $7,84 \pm 3,21\%$  и  $9,1$  [6,1–12,6]/мин; при преэклампсии –  $8,17 \pm 3,26\%$  и  $8,8$  [5,2–12,6]/мин соответственно). Использование  $Ar_4A$  в концентрации  $7,32 \cdot 10^{-7} M$  значительно снижало функциональную активность тромбоцитов, вызванную аденозиндифосфатом, как у женщин с физиологически протекающей беременностью, так и у беременных женщин с преэклампсией. При этом показатели степени и скорости агрегации составили: при физиологической беременности –  $1,10 \pm 0,64\%$  и  $1,4$  [0,85–2,9]/мин; при преэклампсии –  $0,76 \pm 0,50\%$  и  $0,95$  [0,55–1,25]/мин соответственно. Наибольший ингибирующий эффект диаденозин-5',5''- $P^1, P^4$ -тетрафосфата при АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов был достигнут при концентрации равной  $2,44 \cdot 10^{-6} M$  (степень и скорость агрегации при физиологической беременности –  $0,24 \pm 0,21\%$  и  $0,35$  [0,2–1,2]/мин; при преэклампсии –  $0,33 \pm 0,26\%$  и  $0,6$  [0,4–0,95]/мин соответственно).

Деагрегация тромбоцитов, которая наблюдалась при применении  $Ar_4A$ , позволила предположить, что реализация эффекта происходит вследствие ингибирования  $P2Y_{12}$  пуринорецептора по аналогии с другими антиагрегантами, ингибирующими аденилатциклазу. Таким образом, если  $Ar_4A$  оказывает антагонистическое действие на  $P2Y_{12}$  рецепторы тромбоцитов, то его эффекты могут быть сравнимы с несколькими клинически доступными лекарственными средствами, такими, как клопидогрел и тиклопидин.

Клинические испытания показали, что клопидогрел и тиклопидин уменьшают риск повторных инсультов и сер-

дечных приступов, особенно в сочетании с аспирином, а также используются для профилактики сердечных ишемических осложнений [9]. Однако, они являются пролекарствами, преобразующимися в печени, под действием цитохрома P450-1A в метаболит, который необратимо связывается с  $P2Y_{12}$  рецепторами, тем самым предотвращая АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов. Несмотря на то, что использование данных препаратов в клинической практике имело положительный эффект, все же имеются и некоторые ограничения по их применению. Так, тиклопидин имеет недостаток: риск развития нейтропении и тромбоцитической тромбоцитопенической пурпуры. Также недостатком является латентный период в развитии терапевтического эффекта (антиагрегантный эффект обычно проявляется через 24–48 часов и достигает максимума через 3–5 дней приема препарата), что не позволяет его использовать при неотложной помощи [10]. Клопидогрел, как дополнение к аспирину, оказался эффективнее для предотвращения острого тромбоза. Тем не менее, клопидогрел является довольно слабым антагонистом  $P2Y_{12}$  рецепторов с переменными эффектами, а также обладает рядом противопоказаний к применению и способен вызвать нейтропению и тромбоцитопению. Таким образом, клопидогрел и тиклопидин не могут быть однозначно рекомендованы для использования во время беременности и лактации ввиду отсутствия адекватных данных о безопасности их применения.

Принимая во внимание, что и  $P2Y_1$  и  $P2Y_{12}$  пуринорецепторы необходимы для АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов, можно констатировать, что до сих пор только успешное применение в клинической практике нашли ингибиторы  $P2Y_{12}$  рецепторов. Антагонисты  $P2Y_1$  рецепторов были разработаны и предложены в качестве антиагрегантов, но ни один не продвинулся к клиническим испытаниям. Потенциальное преимущество использования  $Ar_4A$  и его производных в качестве терапевтических деагрегантов заключается в том, что, в отличие от клопидогрела или другого антагониста  $P2Y_{12}$ , они также оказывают синергическое ингибирующее действие на  $P2Y_1$  рецепторы тромбоцитов [7]. Воздействуя на  $P2Y_1$  рецептор,  $Ar_4A$  блокирует активацию фосфолипазы C, тем самым снижая мобилизацию внутриклеточных запасов ионов кальция. Кроме того, ингибирование этого рецептора нарушает работу ряда киназ (Rho/Rho, SFK-Lyn, MAPKs), которые посредством G-белков приводят к секреции  $\alpha$ -гранул и синтезу TxA2 [11]. Ингибирование  $P2Y_{12}$  рецептора при помощи  $Ar_4A$ , дестабилизирует тромбоцитарные агрегаты, нарушая адгезию тромбоцитов к фибриногену и коллагену, а также способствует активации аденилатциклазы, тем самым повышая уровень цАМФ в клетке и снижая ответ тромбоцитов на другие агрегирующие агенты.  $IC_{50}$  для ингибирования каждого из этих рецепторов, было значительно больше, чем  $IC_{50}$  для ингибирования АДФ-стимулированной агрегации тромбоцитов, что свидетельствует о возможном синергическом эффекте ингибирования [12]. Воздействуя на оба этих рецептора можно обеспечить более высокий уровень ингибирования АДФ, нежели только на один из рецепторов.

Анализ ингибирования АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов различными концентрациями  $Ar_4A$  позволяет выбрать условия для проведения сравнительного анализа антиагрегационных способностей данного динуклеотида с уже известными ингибиторами пуринорецепторов аналогичного действия. Так, наиболее известным препаратом, воздействующим на P2 пуринорецепторы

и часто используемым в медицине для профилактики ишемической болезни сердца, аритмии, стенокардии и вегето-сосудистой дистонии, является АТФ – антагонист рецепторов АДФ. При сравнительном анализе эффективности антиагрегационных свойств АТФ и  $Ar_4A$  при преэклампсии использовали его натриевую и магниевую соли (таблицы 1, 2). Известно, что инъекционные препараты АТФ содержат АТФ- $Na_2$ , однако стабильность данному нуклеотиду и его функциональную активность обеспечивают именно ионы  $Mg^{2+}$ , дефицитом которых сопровождается преэклампсия. Также при преэклампсии в крови беременных женщин снижается не только число тромбоцитов, но и количество депонируемого и секретируемого ими АТФ из-за потери плотных телец. В организме АТФ является биологическим реагентом, который проявляет свои основные метаболические и гемодинамические свойства в комплексе с магнием, поэтому в большинстве обменных реакций требуется не только АТФ, как метаболический субстрат, но и магний, как кофактор, препятствующий его разрушению путем ингибирования процессов дезаминирования и дефосфорилирования АТФ тканями.

**Таблица 1. Изменение степени АДФ-индуцированной (7,32·10<sup>-7</sup>М) агрегации тромбоцитов беременных женщин при добавлении в ОТП динатриевой соли АТФ (7,32·10<sup>-7</sup>М), магниевой соли АТФ (7,32·10<sup>-7</sup>М) и  $Ar_4A$  (7,32·10<sup>-7</sup>М)**

| Состояние беременности                   | Дезагреганты      | Степень агрегации (M±SD) | Уровень значимости (P) с поправкой Тьюки |              |
|--|-------------------|--------------------------|--|--------------|
| Физиологическая беременность             | $Ar_4A^{(1)}$     | 1,10±0,65                | $P_{1-2}$                                | P = 0,000106 |
|  | АТФ- $Na_2^{(2)}$ | 2,26±0,96                | $P_{1-3}$                                | P = 0,534643 |
|  | АТФ- $Mg^{2+(3)}$ | 0,90±0,58                | $P_{2-3}$                                | P = 0,000106 |
| Степень агрегации: F = 31,0289, P < 0,05 |                   |                          |  |              |
| Преэклампсия                             | $Ar_4A^{(1)}$     | 0,77±0,50                | $P_{1-2}$                                | P = 0,000106 |
|  | АТФ- $Na_2^{(2)}$ | 2,50±0,82                | $P_{1-3}$                                | P = 0,886746 |
|  | АТФ- $Mg^{2+(3)}$ | 0,84±0,57                | $P_{2-3}$                                | P = 0,000106 |
| Степень агрегации: F = 74,964, P < 0,05  |                   |                          |  |              |

**Таблица 2. Изменение скорости АДФ-индуцированной (7,32·10<sup>-7</sup>М) агрегации тромбоцитов беременных женщин при добавлении в ОТП динатриевой соли АТФ (7,32·10<sup>-7</sup>М), магниевой соли АТФ (7,32·10<sup>-7</sup>М) и  $Ar_4A$  (7,32·10<sup>-7</sup>М)**

| Состояние беременности                       | Дезагреганты      | Me   | P25  | P75  | H (P)     |                        |
|--|-------------------|------|------|------|-----------|------------------------|
| Физиологическая беременность                 | $Ar_4A^{(1)}$     | 1,4  | 0,85 | 2,9  | $P_{1-2}$ | H = 2,493, P = 0,1143  |
|  | АТФ- $Na_2^{(2)}$ | 2,3  | 0,95 | 4,05 | $P_{1-3}$ | H = 6,082, P = 0,0137  |
|  | АТФ- $Mg^{2+(3)}$ | 0,9  | 0,5  | 1,55 | $P_{2-3}$ | H = 14,517, P = 0,0001 |
| тест Краскела-Уоллиса: H=15,457 P=0,0004     |                   |      |      |      |           |                        |
| Преэклампсия                                 | $Ar_4A^{(1)}$     | 0,95 | 0,55 | 1,25 | $P_{1-2}$ | H = 24,198, P = 0,0000 |
|  | АТФ- $Na_2^{(2)}$ | 3,6  | 1,85 | 4,3  | $P_{1-3}$ | H = 3,208, P = 0,0733  |
|  | АТФ- $Mg^{2+(3)}$ | 0,8  | 0,3  | 0,95 | $P_{2-3}$ | H = 29,072, P = 0,0000 |
| тест Краскела-Уоллиса: H = 37,456 P = 0,0000 |                   |      |      |      |           |                        |

В результате проведенных исследований выявлено, что во всех исследуемых группах наибольший ингибирующий эффект на агрегацию тромбоцитов проявляли  $Ar_4A$  и комплекс АТФ- $Mg^{2+}$ . При этом их эффективность не отли-

чается друг от друга при действии на тромбоциты с нормой беременности и с преэклампсией, но снижение степени агрегационной способности тромбоцитов при преэклампсии достигало того уровня, который отмечался при нормальной беременности. Комплекс АТФ- $Na_2$  проявляет более слабые дезагрегационные свойства, как в контрольной, так и в группе женщин с преэклампсией.

Возможно, антиагрегационные эффекты АТФ- $Na_2$  на тромбоциты беременных женщин с преэклампсией менее выражены как раз из-за дефицита иона  $Mg^{2+}$  в крови. По этой причине в медицинской практике рекомендовано параллельно с АТФ- $Na_2$  использовать  $Mg^{2+}$   $B_6$  для профилактики и лечения преэклампсии. Полученные экспериментальные данные позволяют сделать вывод о целесообразности использования для коррекции повышенной агрегационной способности тромбоцитов при преэклампсии магниевых солей АТФ, однако длительность эффекта соединений АТФ, к сожалению, ограничена скоростью дезаминирования и дефосфорилирования.

При проведении анализа изменения скорости АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов беременных женщин выявлено, что в группе женщин с физиологически протекающей беременностью и группе беременных с преэклампсией эффективность  $Ar_4A$  также не отличалась от АТФ- $Mg^{2+}$ .

Обнаруженная высокая физиологическая активность  $Ar_4A$ , может быть обусловлена его полифункциональностью. Это соединение является специфическим ингибитором взаимодействия АДФ с пуриновыми рецепторами тромбоцитов, а также, возможно, действует на многие внутриклеточные системы через свои специфические P2D пуринорецепторы [13]. При проектировании будущих лекарственных средств следует также учитывать, что физиологические эффекты пуринергической сигнальной системы зависят не только от химической структуры или количества нуклеотидов, поступивших во внеклеточное пространство, но и от их соотношения с продуктами деградации, в образовании которых принимает участие ряд ферментов и, в первую очередь, эктонуклеотидазы, среди которых различают как растворимые, так и экспрессированные на поверхности клеток формы. Так, по данным авторов [14] активность экто-АТФазы и экто-АДФазы в 10 раз выше, чем активность гидролазы  $Ar_4A$ . Гематологические исследования показали, что способ, с помощью которого  $Ar_4A$  расщепляется гидролазой, ассиметричен. При этом образуется АТФ и АМФ. АДФ и АТФ способны влиять на скорость гидролиза  $Ar_4A$  в крови, путем конкурентного ингибирования  $Ar_4A$ -гидролазы. При этом, в присутствии АТФ скорость разложения  $Ar_4A$  резко уменьшается. Таким образом, в естественных условиях, после секреции  $Ar_4A$  из тромбоцитов, он оказывается защищенным от деградации и за счет более длительного периода полураспада в кровяном русле, поэтому способен действовать в качестве сигнальной молекулы в отдаленных местах. Вместе с другими эктоэнзимами, которые гидролизуют нуклеотиды, гидролазы  $Ar_4A$  нуждаются в ионах двухвалентного-металла для максимальной каталитической активности [14]. В качестве этих ионов могут выступать:  $Mg^{2+}$  и  $Mn^{2+}$ . Так максимальная активность экто-гидролазы достигается при миллимолярных концентрациях ионов  $Mg^{2+}$ , тогда как при более высоких концентрациях (10 мкМ, а также при 200 мкМ) гидролиз  $Ar_4A$  резко тормозится [14]. Восполнение дефицита  $Mg^{2+}$  при преэклампсии позволяет продлевать также период эффективного влияния  $Ar_4A$  в качестве лекарственного средства.

Таким образом, у беременных женщин с преэклампсией установлено достоверное повышение степени агрегации в ответ на действие АДФ, по сравнению с физиологически протекающей беременностью. Увеличение степени агрегации, возможно, связано с нарушением баланса выделяемых в ходе реакции высвобождения биологически активных веществ, регулирующих агрегацию и дезагрегацию тромбоцитов (АДФ,  $Ar_4A$ ,  $Ca^{2+}$  и др.). Мониторинг и раннее выявление повышенной агрегационной способности тромбоцитов у беременных с преэклампсией может в значительной мере способствовать своевременной диагностики, профилактики и терапии данного осложнения беременности. Также в результате исследования влияния  $Ar_4A$  на функциональные свойства тромбоцитов доказано, что данный динуклеотид обладает способностью снижать АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов до уровня, не выходящего за пределы нормы. Результаты исследований позволяют рекомендовать использование  $Ar_4A$  в качестве основы для получения лекарственного препарата, предназначенного для снижения повышенной агрегационной способности тромбоцитов при заболеваниях, связанных с повышенной реактивностью тромбоцитов, как, например, преэклампсии. Применение  $Ar_4A$  в качестве лекарственного средства позволит обеспечить более совершенный способ профилактики и лечения тромботических состояний, поскольку этот динуклеотид является аналогом природного компонента плотных телец тромбоцитов человека, не вызывающим отрицательных побочных эффектов на систему крови.

### Литература

1. Шматова, А. А. Уровень глюкозы и содержание тромбоцитов в периферической крови у беременных женщин с поздним гестозом / А. А. Шматова // *Репродуктивное Здоровье. Восточная Европа*. – 2012. – Т. 3, № 21. – С. 25–32.
2. Sibai, B. M. Imitators of severe pre-eclampsia/eclampsia / B. M. Sibai // *Clin. Perinatol.* – 2004. – Vol. 31, № 4. – P. 835–852.
3. Сидорова, И. С. Гестоз / И. С. Сидорова // М.: Медицина, 2003. – 406 с.
4. Истинная резистентность и псевдорезистентность к аспирину / А. И. Мартынов [и др.] // *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. – 2013. – № 9(3). – С. 301–305.
5. Mechanisms of platelet activation and modification of response to antiplatelet agents / A. D. Tselepis [et al.] // *Hell. J. Cardiol.* – 2011. – Vol. 52 (2). – P. 128–140.
6. Babic, G. Changes of platelets function in preeclampsia / G. Babic, S. Novokmet, S. Jankovic // *Open Med.* – 2011. – Vol. 6 (6). – P. 696–700.
7. Agonist and Antagonist Effects of Diadenosine Tetraphosphate, a Platelet Dense Granule Constituent, on Platelet P2Y1, P2Y12 and P2X1 Receptors / H. Chang [et al.] // *Thromb. Res.* – 2010. – Vol. 125 (2). – P. 159–165.
8. Endogenous diadenosine tetraphosphate, diadenosine pentaphosphate, and diadenosine hexaphosphate in human myocardial tissue / J. Luo [et al.] // *Hypertens.* – 2004. – Vol. 43 (5). – P. 1055–1059.
9. Efficacy and safety of glycoprotein IIb/IIIa inhibitors during elective coronary revascularization: a meta-analysis of randomized trials performed in the era of stents and thienopyridines / D. E. Winchester [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2011. – Vol. 57 (10). – P. 1190–1199.
10. Шилов, А. М. Антиагреганты – современное состояние вопроса / А. М. Шилов, И. С. Святов, И. Д. Санодзе // *РМЖ*. – 2003. – № 11(9). – С. 552–555.
11. Brass, L. F. Mechanisms of platelet activation / L. F. Brass, T. J. Stalker // *Platelets Hematol. Cardiovasc. Disord.* - Camb. Univ. Press. – 2008. – P. 37–52.
12. Modified diadenosine tetraphosphates with dual specificity for P2Y1 and P2Y12 are potent antagonists of ADP-induced platelet activation / H. Chang [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2012. – Vol. 10 (12). – P. 2573–2580.
13. The diadenosine polyphosphate receptors: P2D purinoceptors / M. T. Miras-Portugal [et al.] // *Ciba Found. Symp.* – 1996. – Vol. 198. – P. 35–47.
14. Identification and partial characterization of an adenosine(5')tetraphospho(5')adenosine hydrolase on intact bovine aortic endothelial cells. / A. Ogilvie [et al.] // *Biochem. J.* – 1989. – Vol. 259 (1). – P. 97–103.