

А. В. Бакунович¹, Л. М. Лобанок², В. Н. Сидоренко²,
К. Я. Буланова¹

ПОВЫШЕННАЯ ТРОМБОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРИ УМЕРЕННОЙ ПРЕЭКЛАМПСИИ И ЕЁ КОРРЕКЦИЯ

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

У всех беременных женщин с умеренной 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''-P¹,P⁴-тетрафосфат (Ap₄A) и комплекс АТФ-Mg²⁺. При этом, снижение степени агрегационной способности тромбоцитов при преэклампсии достигало уровня, отмечаемого при физиологической беременности.

Потенциальное преимущество Ap₄A и его производных в качестве терапевтических дезагрегантов заключается в том, что они оказывают синергическое ингибирующее действие на P2Y₁ и P2Y₁₂ рецепторы тромбоцитов и обладают большим периодом полураспада в кровяном русле по сравнению с АТФ. Результаты исследований позволяют рекомендовать использование Ap₄A в качестве субстрата для разработки лекарственных средств, нацеленных на снижение повышенной функциональной активности тромбоцитов при преэклампсии.

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

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

CORRECTION OF INCREASED PLATELET ACTIVITY IN MODERATE 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''-P¹,P⁴-tetraphosphate (Ap₄A) and ATP-Mg²⁺ 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 Ap₄A and its derivatives as therapeutic antiplatelet agents is that they have a synergistic inhibitory effect on the P2Y₁ and P2Y₁₂ platelet receptors and have a longer half-life in the bloodstream compared to ATP. The research results suggest using Ap₄A as a substrate for the development of drugs aimed at reducing the increased functional activity of platelets in pre-eclampsia.

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

Известно, что 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 расположенной

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 патологии 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 G₂ и H₂ служащих предшественниками тромбоксана A₂ (TxA₂), а также синтез простагландина I₂ 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 TxA₂-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 работы – изучение особенностей АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов беременных женщин с преэклампсией, а ей также возможность применения диаденозин-5',5'''-P¹,P⁴-тетрафосфата (Ar₄A) для коррекции повышенной тромбоцитарной активности.

Материалы и методы. Объект исследования – кровь беременных женщин с физиологически протекающей беременностью, составивших контрольную группу (32 пациентки) и беременных с диаг-

нозом 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 $2 \cdot 10^8$ кл/мл разбавлением БТП. В качестве индуктора агрегации тромбоцитов использовали АДФ в концентрациях $2,44 \cdot 10^{-7}$ – $2,44 \cdot 10^{-5}$ М. В качестве дезагреганта – Ar₄A в концентрациях $2,44 \cdot 10^{-7}$ – $2,44 \cdot 10^{-6}$ М, а также динатриевую и магниевую соли аденозинтрифосфата (АТФ) в концентрации $7,32 \cdot 10^{-7}$ 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 $M \pm SD$ для нормального распределения экспериментальных данных и Me [P25–P75] 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 P₂-пуринорецепторы, АДФ активирует фосфолипазу C, что приводит к образованию инозитол-1,4,5-трифосфата, мобилизующего кальций из внут-

риклеточных депо; ингибирует аденилатциклазу, тем самым снижая уровень внутриклеточного цАМФ, вызывая изменения формы, секрецию гранул и агрегацию тромбоцитов. После первичной агрегации АДФ активирует фосфолипазу А2 и высвобождает арахидоновую кислоту из мембранных фосфолипидов, которая преобразуется в ТхА2. ТхА2 переводит обратимую агрегацию в необратимую, также называемой – 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 ($2,44 \cdot 10^{-5}$ 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 – $52,87 \pm 8,69$ % и $37,2$ [26,5–53,4]%/мин; при преэклампсии – $56,19 \pm 9,11$ % 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 ($2,44 \cdot 10^{-7}$ М) агрегация тромбоцитов проявляясь исключительно у беременных с преэклампсией. Так, степень и скорость агрегации при физиологической беременности находились в пределах $0,8 \pm 0,69$ % и $1,2$ [0,35–2,2]%/мин; тогда как при преэклампсии – $5,46 \pm 1,72$ % и $6,35$ [3,7–10,7]%/мин, соответственно. Имеющиеся статистически значимые различия в исследуемых группах ($P < 0,05$), позволяет использовать данный критерий для диагностики преэклампсии. Небольшое повышение концентрации АДФ до $7,32 \cdot 10^{-7}$ 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 ($13,02 \pm 4,62$ % и $13,65$ [9,7–18,6]%/мин; и $20,09 \pm 4,10$ % и $21,4$ [15,4–26,6]%/мин, соответственно; $P < 0,05$), предоставили 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 секре-

ции 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, выполняет 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 дезагрегационные свойства Ar_4A носят доза-зависимый характер. Так, при добавлении Ar_4A в концентрации $2,44 \cdot 10^{-7}$ М в суспензию тромбоцитов индуцированную АДФ отмечается незначительное 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 $7,32 \cdot 10^{-7}$ М 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 $2,44 \cdot 10^{-6}$ М (степень и скорость агрегации при физиологической бере-

менности – $0,24 \pm 0,21$ % и $0,35$ [$0,2-1,2$]/мин; при преэклампсии – $0,33 \pm 0,26$ % и $0,6$ [$0,4-0,95$]/мин соответственно).

Дезагрегация 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 сердечных приступов, особенно в сочетании с аспирином, а также используются для профилактики сердечных ишемических осложнений [9]. Однако, они являются пролекарствами, преобразующиеся 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 имели положительный эффект, все же имеются и некоторые ограничения их применению. Так, тиклопидин имеет недостаток: риск развития нейтропении и 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 приме-

нение 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 дезагрегантов 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 α -гранул и синтезу TxA_2 [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 синергетическом 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 (таблица 1, 2). Известно, что инъекционные препараты АТФ содержат АТФ- Na_2 , однако стабильность данному нуклеотиду и его функциональную активность обеспечивают именно ионы Mg^{2+} ,

Таблица 1. Изменение степени АДФ-индуцированной ($7,32 \cdot 10^{-7} \text{M}$) агрегации тромбоцитов беременных женщин при добавлении в ОТП динатриевой соли АТФ ($7,32 \cdot 10^{-7} \text{M}$), магниевой соли АТФ ($7,32 \cdot 10^{-7} \text{M}$) и Ar_4A ($7,32 \cdot 10^{-7} \text{M}$)

Состояние беременности	Дезагреганты	Степень агрегации (M \pm SD)	Уровень значимости (P) с поправкой Тьюки	
Физиологическая беременность	$\text{Ar}_4\text{A}^{(1)}$	$1,10 \pm 0,65$	P_{1-2}	$P = 0,000106$
	АТФ- $\text{Na}_2^{(2)}$	$2,26 \pm 0,96$	P_{1-3}	$P = 0,534643$
	АТФ- $\text{Mg}^{2+(3)}$	$0,90 \pm 0,58$	P_{2-3}	$P = 0,000106$
Степень агрегации: $F = 31,0289, P < 0,05$				
Преэклампсия	$\text{Ar}_4\text{A}^{(1)}$	$0,77 \pm 0,50$	P_{1-2}	$P = 0,000106$
	АТФ- $\text{Na}_2^{(2)}$	$2,50 \pm 0,82$	P_{1-3}	$P = 0,886746$
	АТФ- $\text{Mg}^{2+(3)}$	$0,84 \pm 0,57$	P_{2-3}	$P = 0,000106$
Степень агрегации: $F = 74,964, P < 0,05$				

Таблица 2. Изменение скорости АДФ-индуцированной ($7,32 \cdot 10^{-7} \text{M}$) агрегации тромбоцитов беременных женщин при добавлении в ОТП динатриевой соли АТФ ($7,32 \cdot 10^{-7} \text{M}$), магниевой соли АТФ ($7,32 \cdot 10^{-7} \text{M}$) и Ar_4A ($7,32 \cdot 10^{-7} \text{M}$)

Состояние беременности	Дезагреганты	Me	P25	P75	H (P)	
Физиологическая беременность	$\text{Ar}_4\text{A}^{(1)}$	1,4	0,85	2,9	P_{1-2}	$H = 2,493, P = 0,1143$
	АТФ- $\text{Na}_2^{(2)}$	2,3	0,95	4,05	P_{1-3}	$H = 6,082, P = 0,0137$
	АТФ- $\text{Mg}^{2+(3)}$	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	$\text{Ar}_4\text{A}^{(1)}$	0,95	0,55	1,25	P_{1-2}	$H = 24,198, P = 0,0000$
	АТФ- $\text{Na}_2^{(2)}$	3,6	1,85	4,3	P_{1-3}	$H = 3,208, P = 0,0733$
	АТФ- $\text{Mg}^{2+(3)}$	0,8	0,3	0,95	P_{2-3}	$H = 29,072, P = 0,0000$
Тест Краскела-Уоллиса: $H = 37,456 P = 0,0000$						

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.

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 отличается 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+} В₆ 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 по-

лифункциональностью. 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-АДФазы 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_nA -гидролаз. 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 нуждается 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.

Выводы

1. У беременных женщин с преэклампсией установлено достоверное повышение степени агрегации в ответ на действие АДФ, по сравнению с физиологически протекающей беремен-

ностью. Увеличение степени агрегации, возможно, связано с нарушением баланса выделяемых в ходе реакции высвобождения биологически активных веществ, регулирующих агрегацию и дезагрегацию тромбоцитов (АТФ, Ar_4A , Ca^{2+} и др.). Мониторинг и раннее выявление повышенной агрегационной способности тромбоцитов у беременных с преэклампсией может в значительной мере способствовать своевременной диагностике, профилактике 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.

2. 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, на пример, 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 на систему крови отрицательных побочных эффектов.

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 pre-eclampsia / G. Babic, S. Novokmet, S. Jankovic // Open Med. – 2011. – Vol. 6 (6). – P. 696–700.

❑ Оригинальные научные публикации

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. Святков, И. Д. Сандозе // *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.