

Роль активных форм кислорода в изменении функциональной активности тромбоцитов беременных женщин с гестозами

Учреждение образования «Международный государственный экологический университет имени А.Д.Сахарова¹», Белорусский государственный медицинский университет², Минск

При гестозах у беременных увеличивается количество продуктов перекисного окисления липидов в крови; снижаются величина $K_{0,5}$ для концентраций H_2O_2 , вызывающих агрегацию тромбоцитов. В экспериментах *in vitro* выявлено сохранение ингибиторных влияний низких концентраций пероксида водорода на АДФ-индуцируемую агрегацию тромбоцитов у женщин с пре-эклампсией. Полученные данные позволяют рассмотреть роль оксидативного стресса при гестозах с позиций сигнального восприятия клетками АФК. Обсуждаются особенности нарушений сигнального восприятия АФК тромбоцитами при гестозе и возможные способы медикаментозной и немедикаментозной коррекции их повышенной активности.

Ключевые слова: беременные женщины с гестозами.

Проблема гестозов относится к одной из наиболее значимых в акушерстве [1,2]. Гестоз при беременности является основной причиной материнской, а также перинатальной смертности. Частота гестозов среди беременных достаточно высока (около 8-12%) и не имеет тенденции к снижению. Согласно современным представлениям, развитие гестозов сопряжено с выраженными повреждениями системы гемостаза, в частности, с изменениями функциональной активности тромбоцитов, как полагают, из-за проявлений оксидативного стресса, когда повышенная продукция активных форм кислорода (АФК), особенно наиболее стабильных (H_2O_2), приобретает ведущее значение в деструктивном преобразовании мембран [3,4].

Цитотоксические эффекты активных форм кислорода ранее были обнаружены при действии на организм ионизирующего и лазерного излучений, ультразвука, токсических соединений и некоторых лекарственных веществ. Идея о повреждающем действии АФК затем активно развивалась и была положена в основу гипотез старения, радиационного поражения организма, а также патогенеза ряда заболеваний, включая гестоз.

Дальнейшие исследования привели к пересмотру концепций о цитотоксическом влиянии АФК, как о единственно возможном способе воздействия на клетки организма. Появилось множество данных о регуляторной роли активных форм кислорода. Показано, что значительное увеличение концентраций АФК во многих клетках и тканях является проявлением их функциональной активности [5]. Обнаружено, что H_2O_2 выступает в качестве биосигнальной молекулы при межклеточных взаимодействиях, а также в качестве вторичного посредника во многих клетках (лейкоцитах, нейронах, гепатоцитах, эндотелиальных клетках, моноцитах, тромбоцитах, тироцитах) [6]. Считается, что реализация цитотоксического или сигнального эффекта – H_2O_2 определяется сочетанием ряда факторов, среди которых концентрация АФК является определяющей. Деструктивные влияния пероксида водорода на клетки проявляются при достаточно высоких (мМ), а сигнальные – при низких (мкМ) концентрациях [6].

Обнаружение систем ферментативного синтеза АФК в тромбоцитах, позволяет предполагать возможность участия редокс-молекул во внутриклеточной сигнализации. Сигнальная роль H_2O_2 в регуляции функции тромбоцитов экспериментально доказана [7,8]. Сигнальные эффекты H_2O_2 на тромбоциты также реализуются разными способами в зависимости от концентрации. При действии относительно высоких концентраций

пероксида водорода (1,5-5,0 ммоль/л) инициируется агрегация тромбоцитов, а при более низких (0,05-1,0 ммоль/л) – ингибируются эффекты АДФ. Разные эффекты перекиси водорода на тромбоциты реализуются посредством специфических молекулярных механизмов. Полагают, что H₂O₂ в высоких концентрациях в тромбоцитах запускает процессы, происходящие с участием G-белков, фосфолипазы A₂: циклооксигеназы, протеинкиназы C, что приводит к увеличению внутриклеточной концентрации свободных ионов Ca²⁺. Тогда как H₂O₂ в пределах концентраций до 1 ммоль/л активирует растворимую гуанилатциклазу тромбоцитов и снижает внутриклеточную концентрацию Ca²⁺ [6, 7, 8]. Наличие в тромбоцитах микропероксисом, обеспечивающих эндогенный синтез пероксида водорода и его выделение в кровь в ходе реакции освобождения [9,10,11] указывает на важную роль АФК в регуляции агрегации-деагрегации тромбоцитов.

Представляется важным выяснить, какой из механизмов действия АФК (деструктивный или сигнальный) реализуются при гестозах.

Материалы и методы

использовалась кровь, полученная в ходе клинических обследований женщин: небеременных – 15, беременных с физиологически протекающей беременностью – 58, беременных с факторами риска - 63, с гестозами: легкой степени (n=58), средней степени (n=45), тяжелый гестоз (n=32). Обследования беременных женщин проводилось на поздних сроках гестации (33-36 недель).

Для исследования агрегационной способности тромбоцитов кровь брали из вены утром натощак при ее свободном истечении из иглы, собирая в пластмассовые пробирки. Обязательно контролировалось отсутствие в течение месяца приема препаратов, влияющих на агрегацию тромбоцитов. Кровь стабилизировали 3,8% раствором цитрата натрия (9:1, объем:объем).

Обогащенную тромбоцитами плазму (ОТП) получали центрифугированием цитратной крови при 200g в течение 5 мин. при комнатной температуре. Бестромбоцитарную плазму (БТП) получали после отбора из пробирок ОТП и последующего центрифугирования при 650g в течение 15 мин. Количество тромбоцитов в ОТП довели до 2.10⁸ кл/мл добавлением бестромбоцитарной плазмы [10].

Агрегацию тромбоцитов исследовали с применением компьютеризированного анализатора агрегации тромбоцитов AP2110 научно-производственного центра «Солар» (Минск, Беларусь). В качестве индуктора агрегации использовали АДФ (2,5.10⁻⁵; 2,5.10⁻⁶; 1,25.10⁻⁶ и 2,5.10⁻⁷ М) и перекись водорода в концентрациях (1,5-5 ммоль/л, 0,05 и 0,08 ммоль/л) [7,8]. Концентрированные растворы АДФ (10-3М, по 50-100 мкл) замораживались отдельными порциями и хранились вплоть до использования в эксперименте. Для разбавления препаратов АДФ применяли физиологический раствор NaCl. Для предупреждения распада АДФ во время эксперимента пробирки с полученными растворами находились на холоду (0о–+4оС). Разбавленные растворы АДФ повторно не замораживались и не использовались.

Переокисление липидов изучалось по методу автора [12]. При определении активности супероксиддисмутазы (СОД) тромбоцитов следовали методическим указаниям, представленным в работе автора [13].

Анализ и статистическая обработка данных проводилась на вычислительном комплексе IBV-PC/AT. Достоверность различий между средними значениями изучаемых параметров оценивалась по t-критерию Стьюдента [14].

Результаты и их обсуждение

Одним из последствий действия H₂O₂ на клетки является активация перекисного окисления липидов (ПОЛ), в первую очередь, ненасыщенных жирных кислот мембран, что, в случаях нарушения систем антиоксидантной защиты (ферментативной и неферментативной), обуславливает накопление в крови вторичных реактивных продуктов – гидроперекисей липидов (ГПЛ), гипохлоридов, а также малонового диальдегида (МДА). Полагают, что именно окислительная деструкция липидного микроокружения в мембранах при гестозе способна нарушить функцию мембранных белков и привести к повышению агрегационной способности тромбоцитов. Не исключено, что в таких случаях тяжесть заболевания может напрямую зависеть от степени повреждения мембран. Критерием для установления факта реализации деструктивного влияния АДФ на тромбоциты может быть необратимость вызванных ими эффектов, в частности, стойкое повышение внутриклеточного уровня Ca²⁺ [6]. В подобных условиях реализация сигнальных эффектов пероксида водорода, предполагающих лабильность уровня этого иона в клетке и его управляемость, становится невозможной.

Первоначально исследовалась особенность АДФ-индуцированной (2,4.10⁻⁷ М АДФ) агрегации тромбоцитов у беременных женщин с различной тяжестью гестоза в сравнении с уровнем накопления продуктов ПОЛ в крови. Обнаружено, что при пре-эклампсии легкой и средней тяжести выраженность эффекта АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов была более значительной по сравнению с нормой (таблица 1). При тяжелых формах АДФ-индуцированная агрегация падает ниже нормы, что и определяет возрастание риска кровотечений.

У женщин этих же групп также было изучено содержание гидроперекисей липидов (ГПЛ) и малонового диальдегида (МДА) в плазме крови (таблица 2). Оценку состояния антиоксидантной системы проводили на основании изучения активности супероксиддисмутазы (СОД) тромбоцитов – фермента, локализованного в цитозоле и митохондриях, способного быстро реагировать на окислительный стресс за счет увеличения своей активности [30]. По этой причине некоторые авторы этот фермент предлагают рассматривать в качестве стресс-белка [31, 32].

Таблица 1. Показатели агрегационной способности тромбоцитов у женщин с гестозами различной тяжести при действии низких концентраций АДФ

Концентрация АДФ, М	Группы обследования	Степень агрегации, %	Скорость агрегации, % /мин
1/4/p> 2,4.10 ⁻⁷	Беременные с факторами риска	3,26±0,47*	4,38±0,51*
	Беременные с гестозом:	5,22±0,81*	7,57±0,66*
	а) легкой степени	7,39 ±	9,07±
	б) средней степени	1,01*	1,98*
	в) тяжелый гестоз	1,12±0,19 \dot{U}	2,24±0,31 \dot{U}
	Беременные (норма)	1,40 ± 0,21	2,60± 0,44

Примечание: * – достоверные различия по отношению к показателям агрегации тромбоцитов женщин с физиологически протекавшей беременностью; \dot{U} – достоверные различия

личия по отношению к показателям агрегации тромбоцитов женщин с легкой и средней степенью гестоза.

Таблица 2. Показатели активности ПОЛ плазмы крови СОД тромбоцитов беременных женщин с гестозами

Показатели	Беременные с факторами риска развития гестоза	Группы обследования			
		Беременные с гестозом легкой степени	Беременные с гестозом средней степени	Беременные с гестозом тяжелой степени	Здоровые беременные
ГПЛ, ед/мл	53,1±2,7	65,0±2,0*	85,0±2,5*	87,3±2,3*	48,8±3,0
МДА, нмоль/мл	14,7±2,16*	21,15±1,32*	25,07±1,47*	27,12±1,62*	10,01±1,12
СОД, ед/мл	413±18	397±15	247±11*	204±10*	390±19

Примечание: * - различия достоверны по отношению к показателю здоровых беременных.

Как следует из представленных в таблицах 1 и 2 данных, изменение степени АДФ-индуцированной агрегации при разных степенях тяжести гестоза не зависело от уровня накопления продуктов перекисного окисления липидов. Не наблюдалось активации СОД (стресс-маркера) ни на ранних, ни на поздних стадиях развития гестоза. Более того, при появлении у беременных симптомов гестоза средней и тяжелой степени активность СОД уменьшалась. пнеются предположения, что именно последствия декомпенсации антиоксидантной защиты, способствуют накоплению продуктов ПОЛ и повышению агрегационной активности тромбоцитов [16].

Действительно, при переходах от легкой к средней и затем к тяжелой степени гестозов выявлено постепенное нарастание уровней ГПЛ и МДА по сравнению с аналогичными показателями в группе здоровых беременных. Сравнительный анализ изменений уровня МДА в различных группах обследованных обнаружил максимальное его превышение (\approx в 2 раза), а увеличение содержания гидроперекисей липидов в 1,7 раза при гестозе наиболее тяжелой формы по сравнению с нормой. С одной стороны, эти изменения можно связать со снижением эффективности систем антиоксидантной защиты, приводящей к патогенезу. С другой – увеличение АФК и продуктов ПОЛ при гестозе может быть следствием адаптивных процессов, определяющих необходимость активации в клетках эндотелия эндоцитоза [29], стимуляции циклооксигеназной активности в эндотелии и тромбоцитах, усилении секреции простагландинов E2 и I2 в них [29, 33]. Реализация этих процессов возможна только за счет сигнально-регуляторных влияний АФК.

пзучение сигнальной функции пероксида водорода, действующего в концентрациях от 1, 0 до 5,0 мкмоль/л, привело к обнаружению стимулирующих агрегацию тромбоцитов эффектов H2O2 как у беременных женщин с гестозами тяжелой степени, так и небеременных. Наблюдающийся при гестозах сдвиг концентрационной кривой влево, смещение параметра K0,5 в область более низких концентраций H2O2 (рисунок 1) указывает на повышение чувствительности тромбоцитов к пероксиду водорода.

Перекись водорода в концентрациях (0,05·10⁻³М и 0,08·10⁻³М) не вызывала активации кровяных пластинок, но ингибировала АДФ-стимулируемую агрегацию тромбоцитов не только у женщин с нормально протекающей беременностью, но и с пре-эклампсией (таблица 3). Протекторные эффекты пероксида водорода реализовались независимо от концентрации аденозиндифосфата.

Таким образом, при гестозах тромбоциты не теряют чувствительность к сигнальному восприятию H₂O₂, что позволяет сделать заключение об отсутствии необратимых процессов в обмене Ca²⁺ в кровяных пластинках при гестозах. Увеличение активности тромбоцитов при гестозе могут быть вызваны не цитотоксическими влияниями АФК, а нарушениями их сигнального восприятия и/или процессов последующей реализации эффекта.

Таблица 3. Действие низких концентраций H₂O₂ на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов беременных женщин с пре-эклампсией

Эффекторы		Контроль	Нормальная	Гестоз	
		(здоровые доноры)	(физиологическая) беременность		
		Степень агрегации, %	Степень агрегации, %	Степень агрегации, %	
М)	АДФ	-	54,58±13,97	52,0±11,5	56,3±2,3
	(5·10 ⁻⁶	H ₂ O ₂	Отсутствие агрегации	Отсутствие агрегации	Отсутствие агрегации
	+ 0,08 1/4/sub> ммоль/л				
		+ H ₂ O ₂	Отсутствие агрегации	Отсутствие агрегации	Отсутствие агрегации
		0,05 ммоль/л			
7 М)	АДФ	-	4,5±0,8	2,4±0,2	9,4±1,78
	(2,5·10 ⁻⁶	H ₂ O ₂	Отсутствие агрегации	Отсутствие агрегации	Отсутствие агрегации
	+ 0,08 ммоль/л				
		+ H ₂ O ₂	Отсутствие агрегации	Отсутствие агрегации	Отсутствие агрегации
		0,05 ммоль/л			

Особенностью сигнальных молекул H₂O₂ и других малых редокс-соединений (O₂, NO) является возможность реализации эффектов не за счет взаимодействия со спе-

цифическими рецепторами, а с белками-мишенями, содержащими SH-группы. Вызывая окисление SH-групп эти молекулы стимулируют структурные перестройки белков, способствующие запуску цепи последующих взаимосвязанных метаболических процессов [6].

Полагают, что при реализации сигнальных эффектов перекись водорода в тромбоцитах окисляет либо особым образом позиционированные SH-группы, либо определенное их количество, способствуя таким образом активации гуанилатциклазы (ГЦ), увеличению внутриклеточной концентрации цГМФ, уменьшению амплитуды АДФ-индуцированного Ca^{2+} -ответа, удалению ионов Ca^{2+} из цитозоля активированных тромбоцитов [6, 7].

Следует отметить, что при гестозе содержание цГМФ в тромбоцитах оказалось увеличенным [17]. Этот эффект можно связать с возрастающей ролью АФК, поступающих из экзо- и /или эндогенных источников.

Одним из эндогенных источников перекиси водорода в тромбоцитах может быть арахидоновая кислота. При гестозах обнаружено снижение регуляторных влияний арахидоновой кислоты на функцию тромбоцитов (АК) [18]. Можно полагать, что при гестозах усиливается влияние на тромбоциты экзогенных АФК. Разработка методов коррекции метаболизма арахидоновой кислоты, возможно, позволит осуществить раннюю профилактику изменения агрегационной способности тромбоцитов, образования ими микроагрегантов при гестозах [18].

Патогенетическая значимость микроагрегации тромбоцитов раскрывается при анализе ангиотрофической функции тромбоцитов. В нормально функционирующем организме тромбоциты не создают стойких микроагрегантов, как это имеет место при гестозе, а функционируют обособленно, что позволяет им внедряться в эндотелий и за счет эндцитоза поглощаться эндотелиоцитами, передавая им тромбопластический фактор, стабилизирующий структуру и функцию эндотелия [19]. В тех случаях, когда тромбоцитов в крови очень мало или они объединены в микроагреганты, ангиотрофическая функция тромбоцитов нарушается, что приводит к дефициту тромбопластического фактора в эндотелиоцитах, утрате способности к синтезу NO и других вазодилататоров, вазоконстрикции, повышению проницаемости сосудов и др. негативным последствиям. Следовательно, при гестозах важно активизировать антиагрегационные механизмы в самих тромбоцитах, и как возможный вариант, за счет стимуляции образования H_2O_2 в низких концентрациях. Чтобы определиться в способах осуществления таких целенаправленных воздействий, представляет интерес проанализировать связь между эффектами АФК на тромбоциты и состоянием активности гуанилатциклазы (ГЦ) в них.

Как известно, ГЦ осуществляет биосинтез вторичного месенджера – цГМФ из гуанозинтрифосфата [10] и представлена в клетках четырьмя формами, обладающими своими специфическими кинетическими, физико-химическими и антигенными свойствами. Три из них – связаны с мембраной, а одна – локализована в цитозоле [20]. В тромбоцитах основные регуляторные функции принадлежат растворимой форме ГЦ [21]. Наличие в ней помимо белковой части второй субъединицы - гема определяет возможность активации цитозольной гуанилатциклазы нитровазодилататорами, высвобождающими свободнорадикальную группу NO. Взаимодействие свободнорадикальной группы NO с гемом гуанилатциклазы приводит к выходу железа гема из плоскости порфиринового кольца, в результате чего комплекс нитрозил-гем приближается по структуре к протопорфиру IX – наиболее сильному активатору гуанилатциклазы [20].

Этот механизм активации ГЦ представлялся бы единственно возможным, если бы не обнаружилось, что преинкубация гуанилатциклазы с азидом натрия (NaN_3), также приводила к значительному усилению синтеза цГМФ. Изучение действия на фермент NaN_3 привело к открытию механизма регуляции его активности с помощью [окислительно-восстановительных процессов](#). Было обнаружено, что эффект активации ГЦ азидом натрия зависел от присутствия пероксидазы – фермента, способного превращать азид в окись азота (NO).

Дальнейшие исследования показали, что роль окислительно-восстановительных реакций в активации ГЦ не ограничивается участием в образовании NO из нитросоединений. Выявлено, что гуанилатциклаза может непосредственно активироваться низкими концентрациями [кислорода](#) и перекиси водорода. Многие агенты, в том числе и канцерогенные, стимулируя окислительные процессы в мембране, приводят к резкому повышению концентрации цГМФ в клетке [20].

Растворимая гуанилатциклаза обладает лабильными сульфгидрильными группами, легко окисляемыми кислородом воздуха, окисью азота, нитро- и нитрозосоединениями, перекисями ненасыщенных жирных кислот и др. [22]. Было высказано предположение об участии в процессах регуляции активности фермента сульфгидрильных групп [22]. Стимулирующий ГЦ эффект АФК определяется степенью окисления SH-групп. Окисление небольшого числа сульфгидрильных групп обуславливает увеличение активности гуанилатциклазы. Длительное или сильное воздействие АФК приводит к окислению большего числа SH-групп, утрате способности синтезировать цГМФ, обладающего способностью снижать эффекты Ca^{2+} . Известно, что для инициации агрегации важное значение имеет не только резкий всплеск содержания Ca^{2+} в цитозоле, но и достижение значительного преобладания Ca^{2+} над содержанием цГМФ. Поэтому активация тромбоцитов может быть достигнута также за счет снижения в клетке концентрации цГМФ и, следовательно, увеличения соотношения Ca^{2+} /цГМФ.

В проведенных ранее исследованиях [17] выявлено, что у женщин с гестозом количество цитозольного Ca^{2+} незначительно превышает норму, но уровень цГМФ повышен, по сравнению с тромбоцитами здоровых беременных женщин. Эффект обусловлен увеличенной активностью ГЦ, возможно, вследствие действия экзогенных АФК. Однако, при действии на тромбоциты женщин с гестозами инициатора агрегации (АДФ) отмечалось ингибирование активности ГЦ, что приводило к преобладанию Ca^{2+} над цГМФ, стимуляции микроагрегации.

Учитывая роль SH-групп в сигнальном восприятии АФК, представляется целесообразным проанализировать возможности использования тиол-регенерирующих препаратов для восстановления нарушенных функций ГЦ тромбоцитов при гестозе. Анализ данных о влиянии тиол-восстанавливающих соединений на активность ГЦ позволил установить неоднозначность их влияний. Обнаружено, что дитиотреитол, 2-меркаптоэтанол и др., с одной стороны, уменьшают активность фермента, а с другой - способствуют проявлению стимулирующего эффекта на гуанилатциклазу со стороны различных окислителей, таких как нитропруссид, нитрозомочевина, нитрозоамины [22]. Поскольку в тромбоцитах при гестозе активность ГЦ повышена [17], а ответная реакция и тромбоцитов, и эндотелиоцитов на NO -стимуляцию снижена [23], то открывается перспектива клинического применения тиол-восстанавливающих соединений для коррекции системы гемостаза при гестозе, особенно в тех случаях, когда иные методы лечения оказываются неэффективными [15].

Подводя итог исследованиям можно констатировать, что при пре-эклампсии происходит увеличение продуктов ПОЛ в крови и повышение чувствительности тромбоцитов к стимулирующим агрегацию регуляторным воздействиям пероксида водорода. Аналогичные изменения чувствительности к H₂O₂ отмечаются и в сосудистой ткани при гестозе [24]. Полученные данные позволяют сделать вывод о реализации при гестозах не цитолитических действий АФК на тромбоциты, а об изменении их сигнально-регуляторных влияний. Это предполагает необходимость пересмотра гипотезы о деструктивных воздействиях АФК на мембраны тромбоцитов, как о пусковом механизме развития гестоза.

Таким образом, сигнальная значимость продуктов окислительно-восстановительных реакций в организме позволяет расширить наши представления о способах участия редокс-молекул в управлении активностью клеток различной специализации. Сравнительный анализ интенсивности генерации АФК в узко специализированных клетках организма выявил наибольшую активность процессов окисления в головном мозге [25] – системе наиболее устойчивой к действию факторов риска [5]. Более того, удалось обнаружить, что реакции образования радикалов в головном мозге сопровождаются излучением фотонов. Ритмы фотонного излучения совпадали с ритмами электроэнцефалограмм, а их интенсивность снижалась при гипоксии, аноксии или гипогликемии [26, 27]. Можно полагать, что свободно-радикальные процессы, происходящие в организме, являются источниками не только сигнальных молекул (АФК), но и сигналов электромагнитной природы, которые могут использоваться организмом в качестве дополнительного или замещающего канала для управления метаболизмом. Обнаружение этого качества окислительно-восстановительных реакций позволяет расширить возможности применения немедикаментозных методов (электромагнитных излучений) для коррекции нарушенного гемостаза при преэклампсии и при заболеваниях, связанных с риском тромбозов [28].

Литература

1. Felferming-Borhm, D. Early detection of preeclampsia by determination of platelet aggregability / D. Felferming-Borhm [et al.] // *Tromb. Res.* 2000. Vol. 98. № 2. P. 139–146.
2. Smiss, M.A. Preeclampsia / M.A. Smiss // *Prim. Care.* 1993. V. 20. № 3. P. 655–664.
3. Bodis, J. Hypothesis of pre-eclampsia requires inclusion of the role of platelets / J. Bodis // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1997. Vol. 177. № 1. P. 146–151.
4. Madazli, R. Lipid peroxidation and antioxidants in preeclampsia / R. Madazli // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 1999. Vol. 85. № 2. P. 205–208.
5. Воейков, В. Л. Биофизикохимические аспекты старения и долголетия / В. Л. Воейков // *Успехи геронтологии.* 2002. Вып. 9. С. 261–265.
6. Гамалея, п. А. Перекись водорода как сигнальная молекула / п. А. Гамалея, п. В. Клыбин // *Цитология.* 1996. Т. 38. № 12. С. 1233–1247.
7. Лойко, Е. Н. Влияние H₂O₂ на АДФ-индуцированную агрегацию и Ca²⁺-ответ тромбоцитов и дезагрегация тромбоцитов / Е. Н. Лойко, А. Б. Самаль // *Весті НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук.* 2003. № 4. С. 80–83.
8. Лойко, Е. Н. Обратимое ингибирование АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов перекисью водорода / Е. Н. Лойко, А. Б. Самаль, С. М. Шуляковская // *Вест. НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук.* 2003. № 2. С. 97–100.
9. Кухаренко, Л. В. Метод атомно-силовой микроскопии в исследовании процессов адгезии и агрегации тромбоцитов в норме / Л. В. Кухаренко, п. А. Стельмах. Минск: БГМУ, 2007. С. 5–7.
10. Самаль, С. Н. Агрегация тромбоцитов: методы изучения и механизмы / С. Н. Самаль, Н. Ф. Черенкевич, Хмара. Минск: Вышэйшая школа, 1990. 104 с.

11. Horn, E.H. Longitudinal studies of platelet cyclic AMP during healthy pregnancy and pregnancies at risk of pre-eclampsia / E.H. Horn [et al.] // Clin.Sci. 1995. Vol. 89. № 1. P. 91–99.
12. Селютина, С. Н. Модификация определения концентрации ТБК-активных продуктов сыворотки крови / С. Н. Селютина, А. Ю. Селютин, Л. п. Паль // Клиническая лабораторная диагностика. 2000. № 2. С. 8–10.
13. Гаврилов, В.Б. Спектрофотометрические критерии определения содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов // Лаб. дело. 1983. № 3. С. 33–36.
14. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика / П. Ф. Рокицкий. 1973. Минск: Высшая школа. 316 с.
15. Сидоренко, В. Н. Коррекция повышенной агрегационной способности тромбоцитов при пре-эклампсии у беременных женщин при помощи АТФ и препаратов, содержащих ионы магния / В. Н. Сидоренко, К. Я. Буланова, Л. М. Лобанок // Вес. Нацыянальнай Акадэміі навук Беларусі. Сер. мед. навук. 2004. № 2. С. 75–79.
16. Шевлюкова, Т. П. Морфофункциональные свойства тромбоцитов у беременных и родильниц с поздним гестозом / Т. П. Шевлюкова // Акушерство и гинекология. 2000. № 1. С. 12–15.
17. Сидоренко, В. Н. Роль циклических нуклеотидов в патогенезе гестоза / В. Н. Сидоренко [и др.] // Вес. НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2005. № 2. С. 27–31.
18. Norris, L.A. Whole blood platelet aggregation in moderate and severe preeclampsia / L.A. Norris [et al.] // Br. J. Obstet. Gynaecol. 1993. Vol. 100. № 7. P. 684–688.
19. Кузник, Б. п. Физиологическая роль тромбоцитов в гемостазе / Б. п. Кузник // Казан. мед. журнал. 1977. Т. 58. № 6. С. 25–29.
20. Северина, п. С. Растворимые формы гуанилатциклаз. Механизм активации оксидом азота, роль в агрегации тромбоцитов / п. С. Северина // Вестн. Росс. Акад. мед. наук. 1995. № 2. С. 41–46.
21. Bourgeois, C. G-protein expression in human fetoplacental vascularization. Functional evidence for Gs alpha and Gi alpha subunits / C. Bourgeois [et al.] // J.Mol. Cell.Cardiol. 1996. Vol. 28. № 5. P. 1009–1021.
22. Бусыгина, О. Г. Роль SH-групп гуанодинотиолов – новых субстратов NO-синтазы в стимуляции активности растворимой гуанилатциклазы / О. Г. Бусыгина, Н. Б. Григорьев, п. С. Северина // Биохимия. 1996. Т. 61. № 1. С. 119–125.
23. Morris, N.H. Nitric oxid syntase activities in placental tissue from normotensive, pre-eclamptic and growth retarded pregnancies / N.H. Morris, S.R. Sooranna, B. Ramsay // Br. J. Obstet Genecol. 1995. Vol. 102. P. 711–719.
24. Сидоренко, В. Н. Констрикторные эффекты перекиси водорода и маркеры оксидативного стресса при поздних гестозах / В. Н. Сидоренко [и др.] // Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования: труды V международной научно-практической конференции 22–23 мая 2008 г. Витебск. Витебск: пзд-во ВитГМУ, 2008. С. 270–273.
25. Rice, M. E. Ascorbate regulation and its neuroprotective role in the brain / M. E. Rice // Trends Neurosci. 2000. V. 23. № 2. P. 209–216.
26. Kobayashi, M. Two-dimensional photon counting imaging and spatiotemporal characterization of ultraweak photon emission from a rat's brain in vivo / M. Kobayashi [et al.] // J. Neurosci. Methods. 1999. V. 93. № 2. P. 163–168.
27. Kobayashi, M. In vivo imaging of spontaneous ultraweak photon emission from a rat's brain correlated with cerebral energy metabolism and oxidative stress / M. Kobayashi [et al.] // Neurosci. Res. 1999. V. 34. № 2. P. 103–113.

28. Комар, С. Н. Гемомагнитотерапия в комплексной профилактике тромботических осложнений в акушерской практике / С. Н. Комар [и др.] // *Здравоохранение*. 2006. № 10. С. 24–26.

29. Ager, A. Differential effect of hydrogen peroxide on induces of endothelial cell function / A. Ager, J. L. Gordon // *J.Exp. Med.* 1984. Vol. 159. P. 592–603.

30. Allen, R.G. Oxigen-reactive species and antioxidant responses during development: the metabolic paradox of cellular differentiation / R.G. Allen // *Proc. Soc.Exp.Biol.Med.* 1991. Vol. 196. P. 117–129.

31. Housset, B. Oxigen toxyty in cultural aortic endothelium: selenium-induced partial protective effect / B. Housset [et al.] // *J.Appl. Physiol.* 1983. Vol. 55. P. 343–352.

32. McCord, J.M. Is superoxide dismutase a stress proein / J.M. McCord // *Stress proeins I inflammation*. London: Richelien Press. 1990. P. 125–134.

33. Pratico, D. Hydrogen peroxide as trigger of platelet aggregation / D. Pratico [et al.] // *Yaemostasis*. 1991. Vol. 21. P. 169–174