

УДК 57:[618.3:616-005.1]

ВЛИЯНИЕ ДИАДЕНОЗИН ТЕТРАФОСФАТА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ БЕРЕМЕННЫХ С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

А. В. БАКУНОВИЧ¹⁾, Л. М. ЛОБАНОК²⁾, А. И. ЗИНЧЕНКО^{1,3)}, К. Я. БУЛАНОВА¹⁾

¹⁾Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова
Белорусский государственный университет,

ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь

²⁾Белорусский государственный медицинский университет,
пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Беларусь

³⁾Институт микробиологии НАН Беларуси,
ул. акад. В. Ф. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Беларусь

Образец цитирования:

Бакунович АВ, Лобанок ЛМ, Зинченко АИ, Буланова КЯ. Влияние диаденозин тетрафосфата на функциональную активность тромбоцитов беременных с преэклампсией при окислительном стрессе. *Журнал Белорусского государственного университета. Экология*. 2019;2:60–67.

For citation:

Bakunovich AV, Lobanok LM, Zinchenko AI, Bulanova KYa. Diadenosine tetraphosphate effect on the functional activity of pregnant women with pre-eclampsia at oxidative stress. *Journal of the Belarusian State University. Ecology*. 2019;2:60–67. Russian.

Авторы:

Андрей Валерьевич Бакунович – старший преподаватель кафедры экологической химии и биохимии.

Леонид Михайлович Лобанок – член-корреспондент НАН Беларуси, доктор медицинских наук, профессор; профессор кафедры нормальной физиологии.

Анатолий Иванович Зинченко – член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук, профессор; заведующий лабораторией молекулярной биотехнологии; профессор кафедры экологической химии и биохимии.

Клавдия Яковлевна Буланова – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры экологической химии.

Authors:

Andrei V. Bakunovich, senior lecturer at the department of ecological chemistry and biochemistry.

andy.bakunovich@gmail.com

Leonid M. Lobanok, corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, doctor of science (medicine), full professor; professor at the department of normal physiology.

Anatoly I. Zinchenko, corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, doctor of science (biology), full professor; head of the laboratory of molecular biotechnology; professor at the department of ecological chemistry and biochemistry. *zinch@mbio.bas-net.by*

Klavdiya Ya. Bulanova, PhD (biology), docent; associate professor at the department of ecological chemistry and biochemistry. *bulanova_home@tut.by*

В результате исследований у беременных женщин с преэклампсией не удалось обнаружить достоверного повышения степени агрегации в ответ на действие пероксида водорода, по сравнению с физиологически протекающей беременностью. В экспериментах *in vitro* выявлено, что диаденозин тетрафосфат снижает степень и скорость агрегации тромбоцитов, индуцированных пероксидом водорода у беременных женщин с физиологической беременностью и преэклампсией.

Ключевые слова: преэклампсия; тромбоциты; агрегация; пероксид водорода; диаденозин тетрафосфат.

DIADENOSINE TETRAPHOSPHATE EFFECT ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF PREGNANT WOMEN WITH PRE-ECLAMPSIA AT OXIDATIVE STRESS

A. V. BAKUNOVICH^a, L. M. LOBANOK^b, A. I. ZINCHENKO^{a,c}, K. Ya. BULANOVA^a

^aInternational Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University,
23/1 Daŭhabrodskaja, Minsk 220070, Belarus

^bBelarusian State Medical University,

83 Dzjarzhinskaga Avenue, Minsk 220116, Belarus

^cInstitute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus,
2 acad. V. F. Kuprevich, Minsk 220141, Belarus

Corresponding author: andy.bakunovich@gmail.com

Pregnant women with pre-eclampsia have no significant increase in the degree of platelet aggregation in response to the action of hydrogen peroxide, compared with a physiologically occurring pregnancy. *In vitro* experiments revealed that diadenosine tetraphosphate reduces the degree and rate of platelet aggregation induced by hydrogen peroxide in pregnant women with physiologically occurring pregnancy and pre-eclampsia.

Key words: pre-eclampsia; platelets; aggregation; hydrogen peroxide; diadenosine tetraphosphate.

Введение

Преэклампсия – это мультисистемное расстройство беременности, характеризующееся гипертонией, протеинурией, отеками беременных и повышенной агрегацией тромбоцитов. Риск возникновения данного осложнения наиболее велик при активации процессов, вызванных стрессами (психогенными, бытовыми, техногенными и ионизирующим излучением). Патологические признаки преэклампсии включают активацию коагуляционного каскада, вазоконстрикцию, приводящую к материнской гипертонии и уменьшенному маточно-плацентарному кровотоку, а также нарушенную целостность и проницаемость сосудистого эндотелия. Предполагается, что оксидативный стресс (ОС), проявляемый на молекулярном уровне, ведет к повышенной продукции окислительных метаболитов, коррелируя с тяжестью клинического течения патологии [1]. ОС можно определить как дисбаланс между продукцией активных форм кислорода (АФК) и возможностями антиоксидантной защиты организма.

В настоящее время известно, что протекание многих клеточных процессов невозможно без участия АФК. Практически все клетки генерируют активные формы кислорода и содержат системы, строго контролируемые их уровень [2]. В норме между прооксидантной и антиоксидантной системами удерживается равновесие, а повреждающее окисление становится возможным только при избыточном образовании свободных радикалов и/или нарушении антиоксидантной защиты организма.

Пероксид водорода, как наиболее стабильная молекула из известных АФК, с одной стороны, может выступать в качестве вторичного мессенджера в клеточной биосигнализации. Его физиологическая роль установлена для различных клеток, включая тромбоциты, лейкоциты, гепатоциты, эндотелиальные клетки и моноциты [2]. Эта молекула играет важную роль в клеточной пролиферации и дифференцировке, участвует в регуляции сигнальных ферментов и транскрипционных факторов, миграции и апоптозе. С другой стороны, в силу того, что все АФК являются окислителями клеточных компонентов в больших концентрациях, свободные радикалы необратимо повреждают клетки. Деструктивное действие заключается в окислительной модификации мембранных белков и липопротеинов низкой плотности, а также повреждении ДНК [3].

Предполагается, что тромбоциты обладают высокой чувствительностью к токсинам, продуктам обмена плода и активным формам кислорода, реакция на которые приводит к функциональным пере-

стройкам, в частности к изменениям агрегационной способности тромбоцитов в ответ на многие физиологические инициаторы агрегации. При изменении структурно-функционального состояния эндотелиальных клеток и их дисфункции при преэклампсии, естественно, нарушается выработка эндотелием многих релаксантов, включая NO и фактор деполяризации. Практика использования при преэклампсии инициаторов продукции NO, способных вызвать расслабление сосудов и снижение тромбоцитарной активности за счет стимуляции синтеза цГМФ в гладкомышечных клетках и тромбоцитах, не привела к ожидаемым результатам [4]. Это вызывает необходимость выявления и испытания других соединений, пригодных для снижения агрегационной способности тромбоцитов, при этом не приводящих к нежелательным последствиям при беременности.

Перспективным соединением для этих целей может служить диаденозин-5',5'''-P¹,P⁴-тетрафосфат (Ar₄A), содержащийся в плотных гранулах тромбоцитов [5]. Являясь молекулой, которая включена в процессы восстановления, коррекции и защиты как на клеточном, так и на организменном уровне, Ar₄A способна проявлять регуляторные функции на разных уровнях организации. Внутри клетки Ar₄A выступает в роли вторичного мессенджера, инициирует репарацию ДНК, участвует в механизмах апоптоза и агрегации-деагрегации тромбоцитов, выполняет роль алармона в клеточном ответе на стресс [6], тем самым повышая выживаемость клеток. Функции Ar₄A вне клетки обусловлены взаимодействием с P2Y₁ и P2Y₁₂ пуринорецепторами, расположенными на поверхности тромбоцитов [5].

Цель исследования: оценить роль окислительного стресса в процессах активации тромбоцитов беременных женщин с преэклампсией, а также возможность участия диаденозин тетрафосфата в регуляции тромбоцитарной активности при H₂O₂-индуцированной агрегации тромбоцитов.

Материалы и методы исследования

Объекты исследования. Кровь беременных женщин с физиологически протекающей беременностью, составивших контрольную группу (24 пациентки), и беременных женщин с преэклампсией умеренной степени (23 пациентки). 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).

Исследование агрегации тромбоцитов. Кинетику агрегации тромбоцитов регистрировали путем измерения светопропускания с применением анализатора агрегации AP2110 (ЗАО «СОЛАР», Беларусь). Обогащенную тромбоцитами плазму (ОТП) крови беременных женщин с физиологически протекающей беременностью и беременных с преэклампсией выделяли при комнатной температуре. ОТП получали центрифугированием цитратной крови при 200 g в течение 5 мин. Бестромбоцитарную плазму (БТП) получали центрифугированием крови при 650 g в течение 15 мин. Количество тромбоцитов в ОТП доводили до $2 \cdot 10^8$ кл/мл разбавлением БТП. В кювету анализатора вносили 400 мкл ОТП, инкубировали при 37 °C при постоянном перемешивании в течение 3 мин, а затем индуцировали агрегацию тромбоцитов добавлением пероксида водорода в концентрациях $1,22 \cdot 10^{-5}$ – $2,44 \cdot 10^{-3}$ М. В качестве дезагреганта использовали диаденозин-5',5'''-P¹,P⁴-тетрафосфат в концентрациях $1,83 \cdot 10^{-7}$ М, $3,66 \cdot 10^{-7}$ М, $7,32 \cdot 10^{-7}$ М.

Обработка данных. Статистический анализ результатов проводился с помощью программы Statistica 10.0. Закон распределения экспериментальных данных оценивался по критерию Шапиро–Уилка. Результаты представлены в виде Me [P25–P75]. Достоверность различий между параметрами степени (Т, %) и скорости (V, %/мин) агрегации тромбоцитов оценивалась по U-тесту Манна–Уитни. Различия рассматривались как статистически достоверные при уровне значимости $P < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Наличие в тромбоцитах микропероксисом, обеспечивающих эндогенный синтез пероксида водорода и его выделение в кровь в ходе реакции освобождения, указывает на участие АФК в регуляции агрегации-деагрегации тромбоцитов и их чувствительности к физиологическим индукторам агрегации. Специфичность сигнально-опосредованных процессов и инициируемых функций АФК, зависит от их концентрации. Так, при действии пероксида водорода в пределах концентраций (1,5–5,0 ммоль/л) инициируется агрегация тромбоцитов, а более низкие (0,05–1,0 ммоль/л) – ингибируют эффекты АДФ [9].

Эффекты H₂O₂ на агрегационную способность тромбоцитов беременных женщин с физиологической беременностью и с преэклампсией представлены в табл. 1.

Таблица 1

Параметры H_2O_2 -индуцированной агрегации тромбоцитов женщин с физиологической беременностью и преэклампсией, Ме [P25–P75]

Table 1

Parameters of H_2O_2 -induced platelet aggregation of women with physiological pregnancy and pre-eclampsia, Me [P25–P75]

[H_2O_2]	Параметры	Состояние беременности		U (P)
		Контроль	Преэклампсия	
$1,22 \cdot 10^{-5} M$	T, %	0,15 [0,05–0,3]	0,1 [0,0–0,3]	U = 249,5 P = 0,580047
	V, %/мин	0,6 [0,15–1,0]	0,5 [0,0–1,8]	U = 272,5 P = 0,949094
$2,44 \cdot 10^{-5} M$	T, %	2,25 [1,55–4,05]	2,4 [1,5–3,8]	U = 272,0 P = 0,940625
	V, %/мин	2,65 [1,65–4,75]	2,6 [0,6–4,8]	U = 244,5 P = 0,509432
$6,1 \cdot 10^{-5} M$	T, %	9,9 [7,85–11,05]	10,9 [7,7–12,3]	U = 225,0 P = 0,282505
	V, %/мин	15,6 [6,85–20,3]	12,8 [6,0–17,6]	U = 247,5 P = 0,551256
$1,22 \cdot 10^{-4} M$	T, %	21,9 [19,05–24,1]	21,9 [17,8–29,5]	U = 248,5 P = 0,565564
	V, %/мин	28,0 [16,4–30,5]	23,6 [17,6–30,4]	U = 263,0 P = 0,790226
$2,44 \cdot 10^{-4} M$	T, %	0,25 [0,0–0,7]	0,4 [0,1–1,1]	U = 195,0 P = 0,086685
	V, %/мин	0,0 [-3,4–1,9]	0,6 [0,0–2,0]	U = 202,5 P = 0,120294
$2,44 \cdot 10^{-3} M$	T, %	0,1 [0,0–0,4]	0,1 [0,0–0,2]	U = 227,5 P = 0,307015
	V, %/мин	0,0 [0,0–0,55]	0,3 [0,0–2,0]	U = 197,0 P = 0,094803

Анализ данных свидетельствует, что пероксид водорода в концентрации $1,22 \cdot 10^{-5} M$ не проявлял себя в качестве индуктора агрегации кровяных пластинок. Незначительная агрегация тромбоцитов наблюдалась во всех исследуемых группах при концентрации H_2O_2 равной $2,44 \cdot 10^{-5} M$. При повышении концентрации пероксида водорода до $6,1 \cdot 10^{-5} M$ степень и скорость агрегации тромбоцитов несколько увеличилась, а при концентрации равной $1,22 \cdot 10^{-4} M$ наблюдался максимальный эффект стимуляции агрегации кровяных пластинок в одинаковой степени как в группе женщин с физиологической беременностью, так и в группе беременных женщин с преэклампсией.

Добавление H_2O_2 в концентрациях $2,44 \cdot 10^{-4} M$ и $2,44 \cdot 10^{-3} M$, превышающих в 2 и 20 раз соответственно, выявленный максимальный ответ тромбоцитов приводил к деструкции кровяных пластинок. Полученный результат подтверждает данные об ограниченности диапазона концентраций H_2O_2 , в области действия которого реализуются его физиологические эффекты, причем превышение границы физиологического оптимума приводит к гибели клеток. Этот вывод в одинаковой мере относится к тромбоцитам беременных женщин с физиологической беременностью и с преэклампсией умеренной степени тяжести.

Сходство реакций тромбоцитов на различные концентрации H_2O_2 у беременных женщин с физиологической беременностью и с преэклампсией умеренной степени тяжести ставит под сомнение гипотезу о триггерном действии АФК в стимуляции повышенной активности кровяных пластинок, а также дальнейших проявлений симптоматики преэклампсии.

Однако выявленные более значительные ответные реакции тромбоцитов беременных женщин с преэклампсией на АДФ и тромбин свидетельствуют о необходимости использования антиагрегантов. Одним из наиболее распространенных средств профилактики тромбозов является аспирин, ингибирующий агрегацию кровяных пластинок путем необратимого ацетилирования и инактивации циклооксигеназы-1, что приводит к нарушению синтеза простагландинов G_2 и H_2 , служащих предшественниками тромбоксана A_2 (TxA_2), а также синтеза простагландина I_2 в эндотелиальных клетках сосудов. Таким образом, при высоких концентрациях адреналина в плазме крови проявляется низкая эффективность

аспирина, ведущая к возможности развития резистентности [8], а также риска образования язв и желудочно-кишечных кровотечений, что ограничивает возможность его использования при преэклампсии беременных.

Другой препарат – клопидогрел (как дополнение к аспирину) также используется для предотвращения острого тромбоза. Однако данное лекарственное средство, как и тиклопидин, является пролекарством, преобразуя в печени в метаболит, который необратимо связывается с $P2Y_{12}$ пуриновых рецепторов, тем самым предотвращая АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов. По нашему мнению, клопидогрел является довольно слабым антагонистом $P2Y_{12}$ рецепторов с переменными эффектами [9], а также обладает рядом противопоказаний к применению и способен вызвать нейтропению и тромбоцитопению. Недостатком тиклопидина является латентный период в развитии терапевтического эффекта (обычно проявляется через 24–48 ч и достигает максимума через 3–5 дней после приема препарата), что не позволяет его использовать при неотложной помощи [10]. Таким образом, клопидогрел и тиклопидин не могут быть рекомендованы для использования во время беременности и лактации ввиду отсутствия адекватных данных о безопасности их применения.

Кроме этого, общим недостатком вышеупомянутых лекарственных средств является то, что они блокируют только один путь активации кровяных пластинок, указывая на то, что тромбоцитарный эффект может быть компенсирован через другие сигнальные пути. Таким образом, несмотря на ингибирование традиционных тромбоцитарных мишеней, другие поверхностные рецепторы и внутриклеточные сигнальные пути, не подвергшиеся воздействию лекарственного средства, могут продолжать активироваться.

Учитывая то, что и $P2Y_1$ и $P2Y_{12}$ рецепторы 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 [11].

Другие стандартные лекарственные средства, применяемые при артериальной гипертензии, также имеют ряд недостатков. Так, нитропруссид натрия, увеличивающий образование цГМФ в гладкомышечных клетках сосудов, способный вызывать вазодилатацию и применяющийся при гипертонической энцефалопатии, может спровоцировать повышение внутричерепного давления [12]. Использование клонидина ограничивается непредсказуемостью его эффектов. Независимо от дозы, помимо коллапса, при парентеральном введении данного лекарственного средства возможно повышение артериального давления за счет стимуляции периферических альфа-адренорецепторов, а также имеется высокая вероятность развития таких осложнений, как нарушение сознания и угнетение дыхания [13].

В более ранних исследованиях [14; 15] выявлено, что Ar_4A оказался способным снижать повышенную агрегацию тромбоцитов при действии АДФ и тромбина у беременных с преэклампсией. Интересно отметить, что каждый из этих стимуляторов агрегации действует через свои сигнальные пути.

Воздействуя на $P2$ -пуриновые рецепторы, АДФ активирует фосфолипазу C (PLC), приводя к образованию инозитол-1,4,5-трифосфата (IP_3), мобилизующего кальций из внутриклеточных депо; ингибирует аденилатциклазу (AC), тем самым снижая уровень внутриклеточного цАМФ и вызывая изменения формы, секрецию гранул и агрегацию тромбоцитов. Далее происходит активация фосфолипазы A2 и высвобождение арахидоновой кислоты с образованием TxA_2 , что в конечном итоге приводит к необратимой агрегации.

В свою очередь, тромбин активирует тромбоциты путем необратимого связывания с мембранными PAR рецепторами, приводя к образованию IP_3 , посредством PLC, который также мобилизует секрецию внутриклеточных запасов ионов Ca^{2+} . Кроме того, данная стимуляция приводит к ингибированию AC и снижению уровня цАМФ в клетке, что вызывает ее агрегацию.

Ингибирование $P2Y_{12}$ рецептора при помощи Ar_4A , приводит к активации аденилатциклазы и увеличению уровня цАМФ в клетке, который, в свою очередь, посредством протеинкиназы A фосфорилирует IP_3 рецептор, ингибируя мобилизацию кальция из внутриклеточных депо [16]. Следует отметить, что Ar_4A снижает стабилизацию тромбоцитарных агрегатов и их чувствительность к другим индукторам агрегации, в том числе тромбоксану A2, тромбину и коллагену посредством $P2Y_{12}$, воздействуя на активность гликопротеина Pb -IIIa и интегрин $\alpha Pb\beta 3$, имеющих важное значение для полной активации тромбоцитов [16].

Воздействуя на $P2Y_1$ рецептор, Ar_4A блокирует активацию фосфолипазы C, тем самым снижая мобилизацию внутриклеточных запасов ионов Ca^{2+} . Итак, ингибирование этого рецептора нарушает работу SFK Lyn-киназы, которая посредством G-белков запускает каскад биохимических реакций, ведущих к секреции α -гранул и синтезу тромбоксана A2 [17]. Таким образом, ингибируя $P2Y_{12}$ и $P2Y_1$ рецепторы, Ar_4A оказывает синергическое действие сразу на несколько путей активации тромбоцитов, проявляя себя как эффективный дезагрегант.

Важным обстоятельством для выбора сдвига процесса в сторону повышения или снижения степени активности тромбоцитов является состояние баланса между количеством агрегантов и дезагрегантов внутри и снаружи кровяных пластинок. Выявлено, что в норме в цитоплазме тромбоцитов содержатся плотные тельца, в состав которых входят не только концентраты индукторов агрегации, секреция которых в крови усиливает агрегацию кровяных пластинок, но и дезагреганты: АТФ и диаденозин-5',5'''-P¹,P⁴-тетрафосфат. При преэклампсии отмечается существенное снижение числа плотных телец [18], что приводит к уменьшению количества выбрасываемых в кровь дезагрегантов на фоне преобладающего количества стимуляторов агрегации. В этой связи использование экзогенного Ар₄А является целесообразным.

В проведенных ранее экспериментах выявлено корректирующее влияние Ар₄А на повышенную АДФ- и тромбин-стимулированную агрегацию тромбоцитов у беременных с преэклампсией, однако не совсем понятно, как повлияет экзогенный Ар₄А на H₂O₂-зависимый сигнальный путь при данном патологическом состоянии.

Активация тромбоцитов при H₂O₂-индуцированной агрегации происходит по циклооксигеназному пути. Стимуляция метаболизма арахидоновой кислоты приводит к увеличению продуцирования некоторых простаноидов, включая ТхА₂ и простациклин (PGI₂). PGI₂ является мощным вазодилататором и ингибитором агрегации тромбоцитов, тогда как ТхА₂ выполняет противоположную функцию, являясь вазоконстриктором и промотором агрегации, поскольку способен мобилизовать кальций из внутриклеточных хранилищ. Однако пероксиды липидов способны ингибировать работу PGI₂ синтазы, что уменьшает продукцию простациклина. В связи с тем что ТхА₂ и PGI₂ выполняют противоположные роли, дисбаланс их синтеза в сторону повышения уровня ТхА₂ при преэклампсии способствует материнской гипертензии, увеличению агрегации тромбоцитов и уменьшению маточно-плацентарного кровотока [19]. Однако следует учесть, что АФК не способны влиять ни на секрецию плотных гранул тромбоцитов, ни на изменение их формы [20].

В следующей серии экспериментов исследовалась реактивность тромбоцитов беременных с преэклампсией, индуцированная пероксидом водорода в присутствии экзогенного Ар₄А. H₂O₂ использовался в концентрации, вызывающей максимальную агрегацию тромбоцитов (1,22·10⁻⁴М), и различные концентрации Ар₄А (табл. 2).

Таблица 2

Влияние различных концентраций Ар₄А на H₂O₂-индуцированную агрегацию тромбоцитов беременных женщин, Me [P25–P75]

Table 2

Effect of different concentrations of Ar₄A on H₂O₂-induced platelet aggregation of pregnant women, Me [P25–P75]

[H ₂ O ₂] + [Ar ₄ A]	Параметры	Состояние беременности		U (P)
		Контроль	Преэклампсия	
H ₂ O ₂ 1,22·10 ⁻⁴ М + Ar ₄ A 1,83·10 ⁻⁷ М	T, %	14,85 [11,75–16,15]	13,95 [12,8–16,0]	U = 262,5 P = 0,291189
	V, %/мин	16,05 [9,9–29,2]	17,05 [10,1–19,8]	U = 262,0 P = 0,973687
H ₂ O ₂ 1,22·10 ⁻⁴ М + Ar ₄ A 3,66·10 ⁻⁷ М	T, %	6,95 [4,5–8,2]	6,15 [5,2–8,3]	U = 248,5 P = 0,741514
	V, %/мин	7,6 [4,5–14,9]	9,5 [4,6–14,2]	U = 252,5 P = 0,808866
H ₂ O ₂ 1,22·10 ⁻⁴ М + Ar ₄ A 7,32·10 ⁻⁷ М	T, %	1,75 [0,95–2,95]	1,4 [0,5–2,8]	U = 215,5 P = 0,291189
	V, %/мин	2,05 [0,35–3,45]	1,05 [0,7–2,8]	U = 247,0 P = 0,716729

Из приведенных в табл. 2 данных следует, что дезагрегационные свойства Ар₄А проявляются дозозависимо и в определенной области его концентраций. Так, при концентрации Ар₄А, равной 1,83·10⁻⁷М, отмечается незначительное ингибирование степени и скорости агрегации тромбоцитов, вызываемой пероксидом водорода (1,22·10⁻⁴М) как у беременных с физиологически протекающей беременностью, так и у беременных с преэклампсией. Использование Ар₄А в концентрации 3,66·10⁻⁷М существенно снижало функциональную активность тромбоцитов, вызванную перекисью водорода (до равных значений) как у женщин с физиологической беременностью, так и у беременных с патологией. Ар₄А в концентрации

$7,32 \cdot 10^{-7}$ М эффективно ингибировал H_2O_2 -индуцированную агрегацию тромбоцитов беременных, не имеющих осложнений, и беременных с преэклампсией, но при этом степень и скорость агрегации в обследованных группах не отличались друг от друга.

Заключение

У беременных женщин с преэклампсией не удалось обнаружить достоверного повышения степени агрегации в ответ на действие пероксида водорода по сравнению с физиологически протекающей беременностью. Сходство реакций тромбоцитов на различные концентрации пероксида водорода у беременных женщин с физиологически протекающей беременностью и беременных женщин с преэклампсией умеренной степени тяжести указывает, что АФК не являются триггерным механизмом, приводящим к прогрессированию преэклампсии, а это ставит под сомнение гипотезу о триггерном действии АФК в стимуляции повышенной активности кровяных пластинок и дальнейших проявлений симптоматики преэклампсии.

В результате исследования влияния Ar_4A на функциональную активность тромбоцитов установлено, что данный динуклеотид обладает способностью ингибировать H_2O_2 -индуцированную агрегацию тромбоцитов, выступая в качестве сигнальной молекулы, снижая степень и скорость агрегации кровяных пластинок как у беременных женщин, не имеющих осложнений, так и у беременных с преэклампсией умеренной степени тяжести.

Библиографические ссылки

1. Киселева НИ. Показатели оксидантного и антиоксидантного статуса при физиологической и осложненной гестозом беременностью. *Медицинский журнал*. 2007;1: 51–52.
2. Воейков ВЛ. Биофизикохимические аспекты старения и долголетия. *Успехи геронтологии*. 2002;9:261–265.
3. Masugata H, Senda S, Murao K, Inukai M, Himoto T, Hosom N, Okada H, et al. Association between urinary 8-hydroxydeoxyguanosine, an indicator of oxidative stress, and the cardio-ankle vascular index in hypertensive patients. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*. 2012;19(8):747–755.
4. Smith MA. Preeclampsia. *Primary care*. 1993;20(3):655–664.
5. Chang H, Yanachkov IB, Michelson AD, Li Y, Barnard MR, Wright GE, et al. Agonist and Antagonist Effects of Diadenosine Tetraphosphate, a Platelet Dense Granule Constituent, on Platelet P2Y₁, P2Y₁₂ and P2X₁ Receptors. *Thrombosis research*. 2010;125(2):159–165. DOI: 10.1016/j.thromres.2009.11.006.
6. Luo J, Jankowski V, Güngör N, Neumann J, Schmitz W, Zidek W, et al. Endogenous diadenosine tetraphosphate, diadenosine pentaphosphate, and diadenosine hexaphosphate in human myocardial tissue. *Hypertension*. 2004;43(5):1055–1059. DOI: 10.1161/01.hyp.0000126110.46402.dd.
7. Буланова КЯ, Сидоренко ВН, Лобанок ЛМ, Герасимович НВ, Кобяшев АА, Жив АЮ, Бокуть ОС. Роль активных форм кислорода в изменении функциональной активности тромбоцитов беременных женщин с гестозами. *Медицинский журнал*. 2009; 2:25–29.
8. Мартынов АИ, Акатова ЕВ, Урлаева ИВ, Николин ОП. Истинная резистентность и псевдорезистентность к аспирину. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2013;9:301–305.
9. Erlinge D, Burnstock G. P2 receptors in cardiovascular regulation and disease. *Purinergic Signal*. 2008;4(1): 1–20. DOI: 10.1007/s11302-007-9078-7.
10. Шилов АМ, Святос ИС, Санодзе ИД. Антиагреганты – современное состояние вопроса. *Российский медицинский журнал*. 2003;11:552–555.
11. Mathieu R, Baurand A, Schmitt M, Gachet C, Bourguignon JJ. Synthesis and biological activity of 2-alkylated deoxyadenosine bisphosphate derivatives as P2Y₁ receptor antagonists. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2004;12(7):1769–1779. DOI: 10.1016/j.bmc.2003.12.041.
12. Чазова ИЕ, Ратова ЛГ, Бойцов СА, Небиеридзе ДВ. Диагностика и лечение артериальной гипертензии (рекомендации Российского медицинского общества по артериальной гипертонии и Всероссийского научного общества кардиологов). *Системные гипертензии*. 2010;3:5–26.
13. Удот ПС. Опыт применения антигипертензивного препарата комбинированного действия урапидил (Эбрантил®) в лечении гипертонических кризов на этапе скорой медицинской помощи в Минске. *Международные обзоры: клиническая практика и здоровье*. 2017;2:86–94.
14. Бакунович АВ, Буланова КЯ, Зинченко АИ. Влияние диаденозин-5',5'''-P¹, P⁴ –тетрафосфата на активированные тромбоциты при гипертензии и преэклампсии. В: Лызиков А. Н. и др. *Проблемы и перспективы развития современной медицины: сборник научных статей IX Республиканской научно-практической конференции с международным участием студентов и молодых ученых (г. Гомель, 28 апреля 2017 года)*. Гомель: ГомГМУ; 2017. с. 55–56.
15. Бакунович АВ, Бичан ОД, Лобанок ЛМ, Буланова КЯ. Особенности влияния диаденозин тетрафосфата на тромбин-индуцированную агрегацию тромбоцитов беременных женщин с преэклампсией. *Журнал Белорусского государственного университета. Экология*. 2018;2:71–78.
16. Remijn JA, Wu YP, Jeninga EH, Ijsseldijk MJ, van Willigen G, et al. Role of ADP Receptor P2Y₁₂ in Platelet Adhesion and Thrombus Formation in Flowing Blood. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2002;22(4):686–691. DOI: 10.1161/01.ATV.0000012805.49079.23.
17. Шатурный ВИ, Шахиджанов СС, Свешникова АН, Пантелеев МА. Активаторы, рецепторы и пути внутриклеточной сигнализации в тромбоцитах крови. *Биомедицинская химия*. 2014;60(2):182–200.

18. Hayashi M, Kiumi F, Mitsuya K. Changes in platelet ATP secretion and aggregation during pregnancy and in preeclampsia. *The American journal of the medical sciences*. 1999;318(2):115–121.
19. Wang Y, Alexander JS. Placental pathophysiology in preeclampsia. *Pathophysiology*. 2000;6(4):261–270. DOI: 10.1016/S0928-4680(99)00026-7.
20. Begonja AJ, Gambaryan S, Geiger J, Aktas B, Pozgajova M, Nieswandt B, et al. Platelet NAD(P)H-oxidase-generated ROS production regulates $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ -integrin activation independent of the NO/cGMP pathway. *Blood*. 2005;106(8):2757–2760. DOI: 10.1182/blood-2005-03-1047.

References

1. Kiseleva NI. *Pokazатели oksidantnogo i antioksidantnogo statusa pri fiziologicheskoy i oslozhnennoy gestozom beremennosti* [Indicators of oxidative and antioxidant status in the physiological and gestosis-complicated pregnancy]. *Medical Journal*. 2007;1:51–52. Russian.
2. Voikov VL. *Biofizikokhimicheskie aspekty starenija dolgoletija* [Biophysical and chemical aspects of aging and longevity]. *Succe of Gerontology*. 2002;9:261–265. Russian.
3. Masugata H., Senda S, Murao K, Inukai M, Himoto T, Hosomi N, Okada H, et al. Association between urinary 8-hydroxydeoxyguanosine, an indicator of oxidative stress, and the cardio-ankle vascular index in hypertensive patients. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*. 2012; 19(8):747–755.
4. Smith MA. Preeclampsia. *Primary care*. 1993;20(3):655–664.
5. Chang H, Yanachkov IB, Michelson AD, Li Y, Barnard MR, Wright GE, et al. Agonist and Antagonist Effects of Diadenosine Tetraphosphate, a Platelet Dense Granule Constituent, on Platelet P2Y₁, P2Y₁₂ and P2X₁ Receptors. *Thrombosis research*. 2010;125(2):159–165. DOI: 10.1016/j.thromres.2009.11.006.
6. Luo J, Jankowski V, Güngör N, Neumann J, Schmitz W, Zidek W, et al. Endogenous diadenosine tetraphosphate, diadenosine pentaphosphate, and diadenosine hexaphosphate in human myocardial tissue. *Hypertension*. 2004;43(5):1055–1059. DOI: 10.1161/01.hyp.0000126110.46402.dd.
7. Bulanova KYa, Sidorenko VN, Lobanok LM, Gerasimovich NV, Kobayashv AA, Zhiv AYu, Bokut OS. *Rol' aktivnykh form kisloroda v izmenenii funktsional'noy aktivnosti trombocitov beremennykh zhenshin v gestozami* [The role of reactive oxygen species in changes in the functional activity of platelets in pregnant women with gestosis]. *Medical Journal*. 2009;2:25–29. Russian.
8. Martynov AI, Akatova EV, Urlaeva IV, Nikolin OP. *Istinnay rezistentnost' i psevdorezistentnost' k aspirinu* [True Resistance and Pseudoresistance to Aspirin]. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2013;9:301–305. Russian.
9. Erlinge D, Burnstock G. P2 receptors in cardiovascular regulation and disease. *Purinergic Signal*. 2008;4(1):1–20. DOI: 10.1007/s11302-007-9078-7.
10. Shilov AM, Svyatov IS, Sanodze ID. *Antiagreganty – sovremennoe sostojanie voprosa* [Antiplatelet agents – the current state of the issue]. *Russian Medical Journal*. 2003;11:552–555. Russian.
11. Mathieu R, Baurand A, Schmitt M, Gachet C, Bourguignon JJ. Synthesis and biological activity of 2-alkylated deoxyadenosine bisphosphate derivatives as P2Y₁ receptor antagonists. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2004;12:1769–1779. DOI: 10.1016/j.bmc.2003.12.041.
12. Chazova IE, Ratova LG, Boytsov SA, Nebieridze DV. *Diagnostika i lechenie arterial'noy (rekomentatsii Rossiyskogo meditsinskogo obshchestva po arterial'noy gipertonii i Vserossiyskogo nauchnogo obshchestva kardiologov* [Diagnosis and treatment of arterial hypertension (Recommendations of the Russian Medical Society for Arterial Hypertension and the Russian Scientific Society of Cardiology)]. *Systemic Hypertension*. 2010; 3:5–26. Russian.
13. Udot PS. *Opyt primeneniya antigipertenzivnogo preparata kombinirovannogo deystviya urapidil (Ebrantil®) v lechenii gipertonicheskikh krizov na etape skoroy meditsinskoy pomoschi v Minske* [Experience of using antihypertensive drug of combined action urapidil (Ebrantil®) in the treatment of hypertensive crises at the stage of emergency medical care in Minsk]. *International reviews: clinical practice and health*. 2017; 2: 86–94. Russian.
14. Bakunovich AV, Bulanova KYa, Zinchenko AI. [The effect of diadenosine-5', 5''-P¹, P⁴-tetraphosphate on activated platelets in hypertension and pre-eclampsia]. In: Lyznikov A. N. i dr. *Problemy i perspektivy razvitiya sovremennoy meditsiny. Sbornik nauchnykh statey IX Respublikanskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem studentov i molodykh uchenykh; 28 aprelja 2017 g.; Gome'l'. Gome'l: GomGMU; 2017. p. 55–56* [Lyznikov A. N., et al. Problems and prospects for the development of modern medicine]. Collection of scientific articles of the IX Republican Scientific and Practical Conference with international participation of students and young scientists; 2017 April 28; Gome'l. Gome'l: GomGMU; 2017. p. 55–56. Russian.
15. Bakunovich AV, Bichan OD, Lobanok LM, Bulanova KYa. [Features of the effect of diadenosine tetraphosphate on thrombin-induced platelet aggregation of pregnant women with preeclampsia]. *Journal of the Belarusian State University. Ecology*. 2018;2:71–78. Russian.
16. Remijn JA, Wu YP, Jenina EH, Ijsseldijk MJ, van Willigen G., et al. Role of ADP Receptor P2Y₁₂ in Platelet Adhesion and Thrombus Formation in Flowing Blood. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2002;22(4):686–691. DOI: 10.1161/01.ATV.0000012805.49079.23.
17. Shaturny VI, Shakhidzhanov SS, Sveshnikova AN, Panteleev MA. *Aktivatory retseptory i puti vnutrikletochnoy signalizatsii v trombocitakh krovi* [Activators, receptors and pathways of intracellular signaling in blood platelets]. *Biomedical Chemistry*. 2014;60(2):182–200. Russian.
18. Hayashi M, Kiumi F, Mitsuya K. Changes in platelet ATP secretion and aggregation during pregnancy and in preeclampsia. *The American journal of the medical sciences*. 1999;318(2):115–121.
19. Wang Y, Alexander JS. Placental pathophysiology in preeclampsia. *Pathophysiology*. 2000;6(4):261–270. DOI: 10.1016/S0928-4680(99)00026-7.
20. Begonja AJ, Gambaryan S, Geiger J, Aktas B, Pozgajova M, Nieswandt B, et al. Platelet NAD(P)H-oxidase-generated ROS production regulates $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ -integrin activation independent of the NO/cGMP pathway. *Blood*. 2005;106(8):2757–2760. DOI: 10.1182/blood-2005-03-1047.