

УДК 577.25:612.111.7:618.3-06

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ДИАДЕНОЗИН ТЕТРАФОСФАТА НА ТРОМБИН-ИНДУЦИРОВАННУЮ АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ

А. В. БАКУНОВИЧ¹⁾, О. Д. БИЧАН²⁾, Л. М. ЛОБАНОК³⁾, К. Я. БУЛАНОВА¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет,
Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова,
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, Минск, Беларусь

²⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Беларусь

³⁾Белорусский государственный медицинский университет, пр. Держинского, 83, 220116, Минск, Беларусь

Образец цитирования:

Бакунович А. В., Бичан О. Д., Лобанок Л. М., Буланова К. Я. Особенности влияния диаденозин тетрафосфата на тромбин-индуцированную агрегацию тромбоцитов беременных женщин с преэклампсией // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 2. С. 71–78.

For citation:

Bakunovich A. V., Bichan O. D., Lobanok L. M., Bulanova K. Ya. Features of diadenosine tetraphosphate influence on thrombin-induced platelet aggregation of pregnant women with pre-eclampsia. *J. Belarus. State Univ. Ecol.* 2018. No. 2. P. 71–78 (in Russ.).

Авторы:

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

Ольга Дмитриевна Бичан – заведующий лабораторией кафедры биофизики физического факультета.

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

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

Authors:

Andrei V. Bakunovich, senior lecturer of the department of ecological chemistry and biochemistry, faculty of environmental medicine.

andy.bakunovich@gmail.com

Olga D. Bichan, head of the laboratory of the department of biophysics, faculty of physics.

bichan@bsu.by

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

andy.bakunovich@gmail.com

Klavdiya Ya. Bulanova, PhD (biology), associate professor; associate professor of the department of ecological chemistry and biochemistry, faculty of environmental medicine.

bichan@bsu.by

У беременных женщин с преэклампсией установлено достоверное повышение степени агрегации тромбоцитов в ответ на действие тромбина, по сравнению с физиологически протекающей беременностью. В экспериментах *in vitro* выявлено, что диаденозин-5',5'''-P¹,P⁴-тетрафосфат (Ap₄A) снижает степень и скорость агрегации тромбоцитов, индуцированной тромбином у беременных женщин с преэклампсией. Ap₄A может быть рекомендован в качестве субстрата для разработки лекарственных препаратов, нацеленных на снижение повышенной функциональной активности тромбоцитов при преэклампсии.

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

FEATURES OF DIADENOSINE TETRAPHOSPHATE INFLUENCE ON THROMBIN-INDUCED PLATELET AGGREGATION OF PREGNANT WOMEN WITH PRE-ECLAMPSIA

A. V. BAKUNOVICH^a, O. D. BICHAN^b, L. M. LOBANOK^c, K. YA. BULANOVA^a

^aBelarusian State University, International Sakharov Environmental Institute,
Dolgobrodskaya street, 23/1, 220070, Minsk, Belarus

^bBelarusian State University, Nezavisimosti avenue, 4, 220030, Minsk, Belarus

^cBelarusian State Medical University, Dzerzhinski avenue, 83, 220116, Minsk, Belarus

Corresponding author: A. V. Bakunovich (andy.bakunovich@gmail.com)

Pregnant women with pre-eclampsia have a significant increase in the degree of platelet aggregation in response to thrombin, in comparison with a physiologically occurring pregnancy. In vitro experiments revealed that diadenosine-5',5'''-P¹,P⁴-tetraphosphate (Ap₄A) reduces the degree and rate of thrombin-induced platelet aggregation in pregnant women with preeclampsia. Ap₄A can be recommended 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, thrombin, diadenosine tetraphosphate.

Введение

Преэклампсия – это мультисистемное осложнение беременности, характеризующееся развитием гипертонии после 20-й недели беременности у ранее нормотензивной женщины с наличием протеинурии или, в ее отсутствие, признаков или симптомов, указывающих на повреждение органов-мишеней [1], включая печень, почки, сердце, легкие, мозг и поджелудочную железу. Данное осложнение может привести к ограничению внутриутробного роста, преждевременному нарушению плаценты или, в большинстве серьезных ситуаций, прекращению беременности и смерти плода [2]. Преэклампсия и ее осложнение – эклампсия считаются основными причинами материнской и перинатальной заболеваемости и смертности [3]. Этими заболеваниями сопровождаются от 3 до 5 % всех беременностей, составляя более 60 тыс. материнских и 500 тыс. смертей плода в год во всем мире [4], а риск его возникновения наиболее велик при активации процессов, вызванных стрессами (психогенными, бытовыми, техногенными и ионизирующим излучением).

Ведущим звеном патогенеза преэклампсии является тромбоцитарно-эндотелиальная дисфункция в результате нарушения адаптационных механизмов системы гемостаза. Нарушения тромбоцитарного звена системы гемостаза усиливаются по мере увеличения степени тяжести изучаемой патологии, приводят к усилению тромбообразования и развитию патологических изменений кровообращения, что чревато обратным эффектом – тромбоцитарной недостаточности. Следовательно, важная роль в патогенезе преэклампсии принадлежит нарушениям функциональной активности тромбоцитов, а исследование механизмов повышенной агрегационной способности тромбоцитов и их коррекции является необходимым этапом для решения проблем лечения и профилактики преэклампсии.

Стандартным способом лечения тромботических осложнений является применение ингибитора активации тромбоцитов посредством синтеза тромбосана A2 (аспирин) и ингибитора P2Y₁₂ пуринорецептора аденозиндифосфата (клопидогрел). Однако рецидивирующие тромботические события могут продолжаться, несмотря на использование стандартных схем двойного антитромбоцитарного лечения [5]. Это объясняется существованием множества путей, способствующих процессам активации и агрегации тромбоцитов. Аспирин и клопидогрел не ингибируют пути, отличные от тех, которые стимулируются тромбосаном A2 и АДФ, оставляя другие (например, опосредованные тромбином) открытыми.

Кроме того, в ряде исследований показано [6; 7], что значительное число пациентов могут иметь неадекватное реагирование на терапию этими препаратами.

Ограничения текущих способов терапии повышенной агрегационной способности тромбоцитов подчеркивают необходимость в выявлении новых способов, направленных на обеспечение регуляции процесса агрегации тромбоцитов.

Материалы и методы исследования

Объекты исследования. Кровь беременных женщин с физиологически протекающей беременностью, составивших контрольную группу (22 пациентки), и беременных с установленным диагнозом преэклампсии (17 пациенток). От пациентов было взято письменное согласие на забор биологического материала, а также разъяснены цели исследования. Забор крови у пациенток 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»). Обогащенную тромбоцитами плазму (ОПТ) и отмывые тромбоциты выделяли при комнатной температуре. ОПТ получали центрифугированием крови при 200 g в течение 10 мин. ОПТ центрифугировали при 600 g в течение 3 мин для полного осаждения тромбоцитов. Бестромбоцитарную плазму удаляли, а к осадку тромбоцитов добавляли Трис-буфер, содержащий ЭДТА (120 ммоль/л NaCl, 15,4 ммоль/л KCl, 1,5 ммоль/л ЭДТА, 6 ммоль/л D-глюкозы, 13,3 ммоль/л Трис-HCl, pH 6,5). Для исследования агрегации отмывых от плазмы тромбоцитов в кювету агрегометра вносили 450 мкл ФСБ с Ca^{2+} и 50 мкл исходной суспензии тромбоцитов в Трис-буфере (конечная концентрация $2,5 \times 10^8$ кл/мл), инкубировали при 37 °C и перемешивании в течение 3-х или более минут (в отсутствие и присутствии Ar_4A), а затем добавляли тромбин. В качестве дезагреганта использовали Ar_4A в концентрациях от 100 до 500 мкмоль/л.

Обработка данных. Характер распределения данных анализировали с применением критерия Шапиро–Уилка. Поскольку распределение экспериментальных данных подчинялось закону нормального распределения, достоверность различий между средними значениями изучаемых параметров оценивалась по t-критерию Стьюдента. Различия рассматривались как статистически достоверные при уровне значимости $P < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Для изучения агрегационной способности тромбоцитов у беременных с физиологически протекающей беременностью и беременных женщин с преэклампсией использовали тромбин как наиболее мощный активатор тромбоцитов [8]. Взаимодействие тромбина с тромбоцитом происходит посредством необратимого связывания с мембранными протеазо-активируемыми рецепторами (PAR), скрепленных с G-белками (G_q , $G_{12/13}$, G_i) [9]. Так, воздействие на G_q -белок активирует фосфолипазу $\text{C}\beta$ и приводит к образованию инозитол-1,4,5-трифосфата (IP_3), который, в свою очередь, за счет связывания с IP_3 рецептором (IP_3R), инициирует изменение формы и агрегацию тромбоцитов за счет мобилизации внутриклеточных запасов ионов кальция. Передача сигналов на $G_{12/13}$ -белок активирует Rho-киназы, участвующие в секреции гранул [10], а воздействие на G_i -белок, приводит к ингибированию аденилатциклазы и, тем самым, снижению уровня цАМФ в тромбоцитах.

На поверхности тромбоцитов человека присутствуют 2 типа PAR рецепторов: PAR-1 и PAR-4 [11]. PAR-1 опосредует активацию тромбоцитов человека при низких концентрациях тромбина, в то время как PAR-4 способствует тромбин-индуцированной активации тромбоцитов только при его высоких концентрациях [11]. PAR-1 способствует резкому увеличению концентрации внутриклеточного кальция, и очень быстро десенсибилизируется при больших концентрациях тромбина, в то время как PAR-4 характеризуется более продолжительным ответом, а также может поддерживать этот эффект при больших концентрациях тромбина [12].

В эксперименте установлено, что при действии тромбина (0,05 мг/мл), степень агрегации у беременных женщин с преэклампсией ($88,4 \pm 7,3$) % была выше степени агрегации у женщин с физиологической беременностью ($74,3 \pm 5,8$) % (рис. 1), указывая на повышенную реактивность тромбоцитов беременных с преэклампсией.

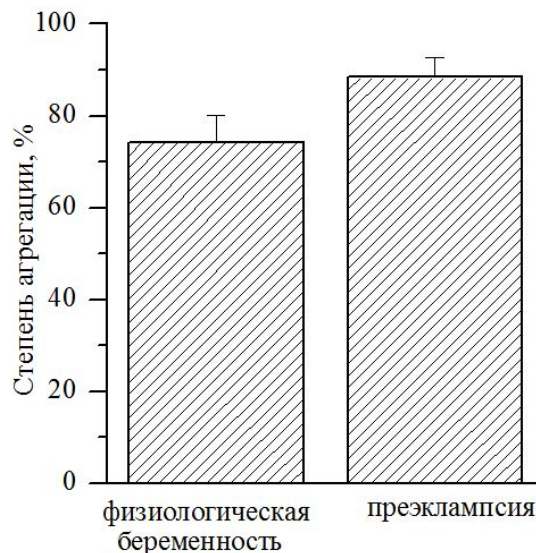


Рис. 1. Степень тромбин-индуцированной агрегации тромбоцитов у беременных женщин с физиологически протекающей беременностью и беременных женщин с преэклампсией

Fig. 1. The degree of thrombin-induced platelet aggregation in pregnant women with a physiologically occurring pregnancy and pregnant women with pre-eclampsia

Важным обстоятельством для выбора сдвига процесса в сторону повышения или снижения степени активности тромбоцитов является состояние баланса между количеством агрегантов и дезагрегантов снаружи и внутри тромбоцитов. Так, при физиологической беременности в цитоплазме тромбоцитов четко выражены плотные гранулы, в состав которых входят не только АДФ, усиливающий агрегацию, но АТФ и диаденозин-5',5'''-P¹,P⁴-тетрафосфат (Ar₄A), способствующие их дезагрегации.

Ar₄A и другие диаденозин полифосфаты (Ar_nA) представляют собой природные соединения, широко распространенные в клетках и тканях млекопитающих, в том числе и тромбоцитах человека [13]. Ar₄A, как и другие Ar_nA, способен модулировать активность мембраносвязанных белков и ферментов, особенно тех, которые участвуют в обмене пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Кроме того, Ar_nA стимулируют различные реакции в сердечно-сосудистой системе, а их метаболиты могут служить потенциальными источниками внеклеточного АТФ и других пуринов [14].

В тромбоцитах беременных с преэклампсией отмечается значительное снижение числа плотных гранул [15], что приводит к уменьшению количества выбрасываемых в кровь дезагрегантов на фоне преобладающего количества токсинов, являющихся стимуляторами агрегации. Активация растворимых компонентов коагуляционного каскада при преэклампсии приводит к чрезмерной генерации тромбина [16], стимулирующего агрегацию. Кроме того, плаценты женщин с преэклампсией продуцируют больше тромбоксана А₂, чем простагличина, что также может вызывать вазоконстрикцию и агрегацию тромбоцитов [2].

Можно полагать, что восполнение дефицита Ar₄A в крови беременных с преэклампсией будет способствовать восстановлению нарушенного функционального состояния тромбоцитов.

На рис. 2 представлены типичные кинетические кривые тромбин-индуцированной агрегации тромбоцитов в группе контроля в присутствии и отсутствие различных концентраций Ar₄A. В концентрации 0,05 мг/мл тромбин индуцировал необратимую агрегацию тромбоцитов. Для данных экспериментов использовали Ar₄A в диапазоне концентраций от 100 до 500 мкмоль/л. Степень ингибирования тромбин-индуцированной агрегации тромбоцитов зависела от концентрации Ar₄A.

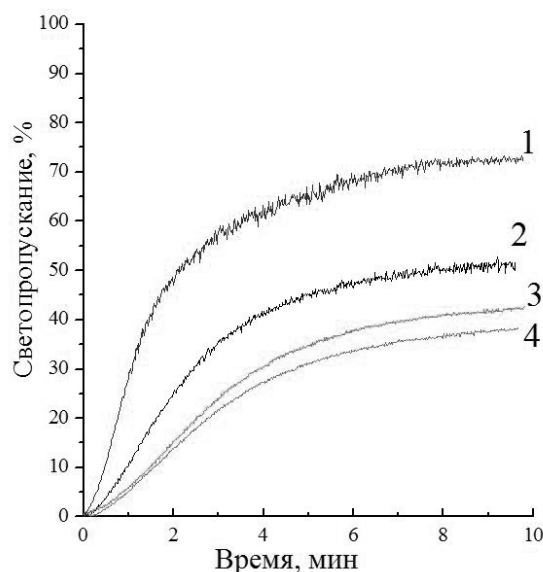


Рис. 2. Кинетические кривые агрегации тромбоцитов, индуцированной тромбином в присутствии и отсутствии Ap_4A . Концентрация тромбина – 0,05 мг/мл: 1 – контроль, 2 – 100 мкмоль/л Ap_4A , 3 – 250 мкмоль/л Ap_4A , 4 – 500 мкмоль/л Ap_4A

Fig. 2. Kinetic curves of thrombin-induced platelet aggregation in the presence and absence of Ap_4A . Thrombin concentration – 0,05 mg/ml: 1 – control, 2 – 100 $\mu\text{mol/l}$ of Ap_4A , 3 – 250 $\mu\text{mol/l}$ of Ap_4A , 4 – 500 $\mu\text{mol/l}$ of Ap_4A

Из рис. 2 следует, что в присутствии Ap_4A происходило ингибирование агрегации тромбоцитов, проявляющееся в снижении степени и скорости агрегации клеток. Наибольший ингибирующий эффект наблюдался в присутствии Ap_4A в концентрации 500 мкмоль/л (рис. 3).

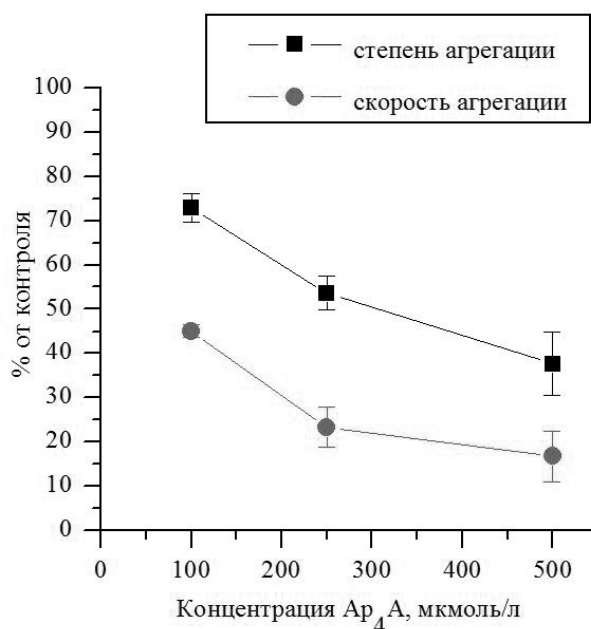


Рис. 3. Зависимость степени и скорости тромбин-индуцированной агрегации от концентрации Ap_4A

Fig. 3. Dependence of the degree and rate of thrombin-induced aggregation on the concentration of Ap_4A

При исследовании дезагрегационной способности Ap_4A при тромбин-индуцированной агрегации тромбоцитов беременных женщин с преэклампсией использовали тромбин в концентрации 0,05 мг/мл, приводящий к необратимой агрегации тромбоцитов и Ap_4A в концентрации 500 мкмоль/л, проявляющий наибольший ингибирующий эффект в контрольной группе.

Таблица

Влияние Ar_4A на параметры тромбин-индуцированной агрегации тромбоцитов беременных женщин с физиологической беременностью и беременных с преэклампсией

Table

Effect of Ar_4A on the thrombin-induced platelet aggregation parameters of pregnant women with physiological pregnancy and pregnant women with preeclampsia

Концентрация внесенных реагентов	Физиологическая беременность		Преэклампсия	
	степень агрегации	скорость агрегации	степень агрегации	скорость агрегации
Тромбин (0,05 мг/мл) + Ar_4A (500 мкМ)	51,8±10,2	34,9±9,4	39,7±8,3	23,5±7,5

Из таблицы следует, что эффект Ar_4A проявляется по-разному для тромбоцитов женщин с физиологической беременностью и беременных с преэклампсией. Так, ингибирование степени агрегации составило (51,8±10,2) % для тромбоцитов женщин с физиологически протекающей беременностью и (39,7±8,3) % для тромбоцитов беременных женщин с преэклампсией. Ингибирование скорости агрегации у женщин с физиологической беременностью и беременных с преэклампсией составило (34,9±9,4) и (23,5±7,5) % соответственно.

Ингибирующий эффект Ar_4A при тромбин-индуцированной агрегации, вероятно, связан с его воздействием на $P2Y_{12}$ рецепторы тромбоцитов. Так, ингибирование $P2Y_{12}$ рецептора приводит к активации аденилатциклазы и увеличению уровня цАМФ в клетке. Антагонистические эффекты цАМФ и цГМФ опосредованы через цАМФ- и цГМФ-зависимые протеинкиназы (РКА и РKG), которые фосфорилируют субстратный белок IP_3R , ингибируя мобилизацию кальция [17]. Кроме того, Ar_4A снижает стабилизацию тромбоцитарных агрегатов и их чувствительность к другим индукторам агрегации, в том числе тромбосану A2, тромбину и коллагену посредством $P2Y_{12}$, воздействуя на активность гликопротеина $IIb-IIIa$ и интегрин $\alpha IIb\beta_3$, имеющих важное значение для полной активации тромбоцитов [18].

В дополнение к этому известно, что Ar_4A является ингибитором $P2Y_1$ рецептора, приводящего к стабилизации внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , блокируя мобилизацию этих ионов из внутриклеточных депо посредством Rho-киназ, связанных с $G_{12/13}$ белками, тем самым снижая вероятность агрегации.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что Ar_4A способен эффективно снижать повышенную агрегационную активность тромбоцитов беременных женщин с преэклампсией. Потенциальное преимущество Ar_4A и его производных в качестве терапевтических антиагрегантных агентов заключается в том, что, в отличие от клопидогрела, аспирина, ворапаксара (антагонист $PAR-1$ [19]) или другого антагониста, механизм действия которых направлен всего на один рецептор, они оказывают синергическое ингибирующее действие сразу на несколько путей активации тромбоцитов ($P2Y_{12}$ и $P2Y_1$ рецепторы), тем самым усиливая возможности терапии и снижая количество препаратов, которые необходимо принимать пациенту.

Заключение

У беременных женщин с преэклампсией установлено достоверное повышение степени агрегации в ответ на действие тромбина, по сравнению с физиологически протекающей беременностью. Увеличение степени агрегации, возможно, связано с нарушением баланса выделяемых в ходе реакции высвобождения биологически активных веществ, регулирующих агрегацию тромбоцитов (АТФ, Ar_4A , Ca^{2+} и др.).

В результате исследования влияния Ar_4A на функциональные свойства тромбоцитов выявлено, что данный динуклеотид обладает способностью снижать тромбин-индуцированную агрегацию тромбоцитов.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют об эффективности Ar_4A в качестве соединения, способного регулировать функциональные свойства клеток крови. Оно может быть использовано для разработки доступных лекарственных препаратов на основе Ar_4A при регуляции функциональной активности тромбоцитов при преэклампсии.

Библиографические ссылки

1. Moussa H. N., Arian S. E., Sibai B. M. Management of hypertensive disorders in pregnancy // Womens Health (Lond). 2014. Vol. 10, № 4. P. 385–404. DOI: 10.2217/whe.14.32.

2. Chaiworapongsa T., Chaemsaitong P., Yeo L., et al. Pre-eclampsia part 1: current understanding of its pathophysiology // *Nat. Rev. Nephrol.* 2014. Vol. 10, № 8. P. 466–480. DOI: 10.1038/nrneph.2014.102.
3. Lindheimer M. D., Taler S. J., Cunningham F. G. Hypertension in pregnancy // *J. Am. Soc. Hypertens.* 2010. Vol. 4, № 2. P. 68–78. DOI: 10.1016/j.jash.2010.03.002.
4. Kuklina E. V., Ayala C., Callaghan W. M. Hypertensive disorders and severe obstetric morbidity in the United States // *Obstet. Gynecol.* 2009. Vol. 113, № 6. P. 1299–1306. DOI: 10.1097/AOG.0b013e3181a45b25.
5. Tello-Montoliu A., Tomasello S. D., Ueno M., et al. Antiplatelet therapy: thrombin receptor antagonists // *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2011. Vol. 72, № 4. P. 658–671. DOI: 10.1111/j.1365-2125.2010.03884.x.
6. Krasopoulos G., Brister S. J., Beattie W. S., et al. Aspirin «resistance» and risk of cardiovascular morbidity: systematic review and meta-analysis // *BMJ.* 2008. Vol. 336, № 7637. P. 195–198. DOI: 10.1136/bmj.39430.529549.BE.
7. Angiolillo D. J., Fernandez-Ortiz A., Bernardo E., et al. Variability in individual responsiveness to clopidogrel: clinical implications, management, and future perspectives // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2007. Vol. 49, № 14. P. 1505–1516. DOI: 10.1016/j.jacc.2006.11.044.
8. Brummel K. E., Paradis S. G., Butenas S., et al. Thrombin functions during tissue factor-induced blood coagulation // *Blood.* 2002. Vol. 100, № 1. P. 148–152. DOI: 10.1182/blood.V100.1.148.
9. Шатурный В. И., Шахиджанов С. С., Свешников А. Н. и др. Активаторы, рецепторы и пути внутриклеточной сигнализации в тромбоцитах крови // *Биомедицинская химия.* 2014. Т. 60, № 2. С. 182–200. DOI: 10.18097/PBMC20146002182.
10. Stalker T. J., Newman D. K., Ma P., et al. Platelet Signaling // *Handb. Exp. Pharmacol.* 2012. № 210. P. 59–85. DOI: 10.1007/978-3-642-29423-5_3.
11. Kahn M. L., Zheng Y. W., Huang W., et al. A dual thrombin receptor system for platelet activation // *Nature.* 1998. Vol. 394, № 6694. P. 690–694. DOI: 10.1038/29325.
12. De Candia E. Mechanisms of platelet activation by thrombin: A short history // *Thromb. Res.* 2012. Vol. 129, № 3. P. 250–256. DOI: 10.1016/j.thromres.2011.11.001.
13. McLennan A. G. Dinucleoside polyphosphates-friend or foe? // *Pharmacol. Ther.* 2000. Vol. 87, № 2–3. P. 73–89. DOI: 10.1016/S0163-7258(00)00041-3.
14. Jankowski V., van der Giet M., Mischak H., et al. Dinucleoside polyphosphates: strong endogenous agonists of the purinergic system // *Br. J. Pharmacol.* 2009. Vol. 157, № 7. P. 1142–1153. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2009.00337.x.
15. Hayashi M., Kiumi F., Mitsuya K. Changes in platelet ATP secretion and aggregation during pregnancy and in preeclampsia // *Am. J. Med. Sci.* 1999. Vol. 318, № 2. P. 115–121.
16. Chaiworapongsa T., Yoshimatsu J., Espinoza J., et al. Evidence of in vivo generation of thrombin in patients with small-for-gestational-age fetuses and pre-eclampsia // *J. Matern Fetal Neonatal Med.* 2002. Vol. 11, № 6. P. 362–367. DOI: 10.1080/jmf.11.6.362.367.
17. Schwarz U. R., Walter U., Eigenthaler M. Taming platelets with cyclic nucleotides // *Biochem. Pharmacol.* 2001. Vol. 62, № 9. P. 1153–1161. DOI: 10.1016/S0006-2952(01)00760-2.
18. Remijn J. A., Wu Y. P., Jenina E. H., et al. Role of ADP Receptor P2Y₁₂ in Platelet Adhesion and Thrombus Formation in Flowing Blood // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002. Vol. 22, № 4. P. 686–691. DOI: 10.1161/01.ATV.0000012805.49079.23.
19. Gryka R. J., Buckley L. F., Anderson S. M. Vorapaxar: The Current Role and Future Directions of a Novel Protease-Activated Receptor Antagonist for Risk Reduction in Atherosclerotic Disease // *Drugs in R&D.* 2017. Vol. 17, № 1. P. 65–72. DOI: 10.1007/s40268-016-0158-4.

References

1. Moussa H. N., Arian S. E., Sibai B. M. Management of hypertensive disorders in pregnancy. *Womens Health (Lond).* 2014. Vol. 10, No. 4. P. 385–404. DOI: 10.2217/whe.14.32.
2. Chaiworapongsa T., Chaemsaitong P., Yeo L., et al. Pre-eclampsia part 1: current understanding of its pathophysiology. *Nat. Rev. Nephrol.* 2014. Vol. 10, No. 8. P. 466–480. DOI: 10.1038/nrneph.2014.102.
3. Lindheimer M. D., Taler S. J., Cunningham F. G. Hypertension in pregnancy. *J. Am. Soc. Hypertens.* 2010. Vol. 4, No. 2. P. 68–78. DOI: 10.1016/j.jash.2010.03.002.
4. Kuklina E. V., Ayala C., Callaghan W. M. Hypertensive disorders and severe obstetric morbidity in the United States. *Obstet. Gynecol.* 2009. Vol. 113, No. 6. P. 1299–1306. DOI: 10.1097/AOG.0b013e3181a45b25.
5. Tello-Montoliu A., Tomasello S. D., Ueno M., et al. Antiplatelet therapy: thrombin receptor antagonists. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2011. Vol. 72, No. 4. P. 658–671. DOI: 10.1111/j.1365-2125.2010.03884.x.
6. Krasopoulos G., Brister S. J., Beattie W. S., et al. Aspirin «resistance» and risk of cardiovascular morbidity: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2008. Vol. 336, No. 7637. P. 195–198. DOI: 10.1136/bmj.39430.529549.BE.
7. Angiolillo D. J., Fernandez-Ortiz A., Bernardo E., et al. Variability in individual responsiveness to clopidogrel: clinical implications, management, and future perspectives. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2007. Vol. 49, No. 14. P. 1505–1516. DOI: 10.1016/j.jacc.2006.11.044.
8. Brummel K. E., Paradis S. G., Butenas S., et al. Thrombin functions during tissue factor-induced blood coagulation. *Blood.* 2002. Vol. 100, No. 1. P. 148–152. DOI: 10.1182/blood.V100.1.148.
9. Shaturny V., Shakhidzhanov S., Sveshnikova A., et al. Activators, receptors and intracellular signaling pathways in blood platelets. *Biomedical Chemistry.* 2014. Vol. 60, No. 2. P. 182–200. DOI: 10.18097/PBMC20146002182 (in Russ.).
10. Stalker T. J., Newman D. K., Ma P., et al. Platelet Signaling. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2012. No. 210. P. 59–85. DOI: 10.1007/978-3-642-29423-5_3.
11. Kahn M. L., Zheng Y. W., Huang W., et al. A dual thrombin receptor system for platelet activation. *Nature.* 1998. Vol. 394, No. 6694. P. 690–694. DOI: 10.1038/29325.
12. De Candia E. Mechanisms of platelet activation by thrombin: A short history. *Thromb. Res.* 2012. Vol. 129, No. 3. P. 250–256. DOI: 10.1016/j.thromres.2011.11.001.
13. McLennan A. G. Dinucleoside polyphosphates-friend or foe? *Pharmacol. Ther.* 2000. Vol. 87, No. 2–3. P. 73–89. DOI: 10.1016/S0163-7258(00)00041-3.

14. Jankowski V., van der Giet M., Mischak H., et al. Dinucleoside polyphosphates: strong endogenous agonists of the purinergic system. *Br. J. Pharmacol.* 2009. Vol. 157, No. 7. P. 1142–1153. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2009.00337.x.
15. Hayashi M., Kiumi F., Mitsuya K. Changes in platelet ATP secretion and aggregation during pregnancy and in preeclampsia. *Am. J. Med. Sci.* 1999. Vol. 318, No. 2. P. 115–121.
16. Chaiworapongsa T., Yoshimatsu J., Espinoza J., et al. Evidence of in vivo generation of thrombin in patients with small-for-gestational-age fetuses and pre-eclampsia. *J. Matern Fetal Neonatal Med.* 2002. Vol. 11, No. 6. P. 362–367. DOI: 10.1080/jmf.11.6.362.367.
17. Schwarz U. R., Walter U., Eigenthaler M. Taming platelets with cyclic nucleotides. *Biochem. Pharmacol.* 2001. Vol. 62, No. 9. P. 1153–1161. DOI: 10.1016/S0006-2952(01)00760-2.
18. Remijn J. A., Wu Y. P., Jeninga E. H., et al. Role of ADP Receptor P2Y₁₂ in Platelet Adhesion and Thrombus Formation in Flowing Blood. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002. Vol. 22, No. 4. P. 686–691. DOI: 10.1161/01.ATV.0000012805.49079.23.
19. Gryka R. J., Buckley L. F., Anderson S. M. Vorapaxar: The Current Role and Future Directions of a Novel Protease-Activated Receptor Antagonist for Risk Reduction in Atherosclerotic Disease. *Drugs in R&D.* 2017. Vol. 17, No. 1. P. 65–72. DOI: 10.1007/s40268-016-0158-4.

Статья поступила в редколлегию 07.05.2018
Received by editorial board 07.05.2018