

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ P-СЕЛЕКТИНА И АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

А.Л. Ураков¹, доктор медицинских наук, профессор, **А.В. Самородов**^{2*}, кандидат медицинских наук, **Ф.Х. Камилов**², доктор медицинских наук, профессор, **И.Г. Мустафин**³, доктор медицинских наук, профессор, **Ф.А. Халиуллин**², доктор фармацевтических наук, профессор

¹Ижевская государственная медицинская академия;

Российская Федерация, 426034, Ижевск, ул. Коммунаров, д. 281;

²Башкирский государственный медицинский университет;

Российская Федерация, 450000, Уфа, ул. Ленина, д. 3;

³Казанский государственный медицинский университет;

Российская Федерация, 420012, Казань, ул. Бутлерова, д. 49

Введение. P-селектин выступает рецептором адгезии лейкоцитов, индуцирует экспрессию тканевого фактора на моноциты, обуславливая их связывание с тромбоцитами. Повышение уровня экспрессии P-селектина свидетельствует о нарушениях системы гемостаза. Для оценки активации тромбоцитов широко применяется цитометрический анализ экспрессии P-селектина. Влияние антиагрегационных препаратов на процессы активации тромбоцитов изучено недостаточно.

Целью работы – сопоставление показателей выраженности экспрессии P-селектина и агрегации тромбоцитов под действием антиагрегантов различной химической природы и механизмов действия в условиях *in vitro*.

Материал и методы. Объекты изучения – препараты, применяемые для блокировки процессов агрегации тромбоцитов (ацетилсалициловая кислота, интегрин, тирофибан, пентоксифиллин). Исследовалась кровь здоровых доноров-мужчин в условиях *in vitro*. Определение активности тромбоцитов проводили одновременно методами индуцированной агрегации и проточной цитометрии.

Результаты. Наиболее эффективными оказались блокаторы GPIIb/IIIa интегрин и аспирин. Ацетилсалициловая кислота и пентоксифиллин оказывали влияние исключительно на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов. Под действием аспирина не происходило значительного подавления тромбоцитарной активности по уровню экспрессии P-селектина, несмотря на то, что степень АДФ-индуцированной агрегации достоверно снижалась.

Заключение. Параметры стандартной агрегатометрии не всегда адекватно отражают функциональную активность тромбоцитов.

Ключевые слова: агрегация тромбоцитов, P-селектин, ацетилсалициловая кислота, интегрин, тирофибан, пентоксифиллин.

*E-mail: avsamorodov@gmail.com

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день расширяются представления о связующей роли P-селектина между атеросклерозом, воспалением и тромбозом в месте повреждения сосуда [1]. Установлено, что P-селектин выступает рецептором адгезии лейкоцитов, индуцирует экспрессию тканевого фактора на моноциты, обуславливая их связывание с тромбоцитами и нейтрофилами [2,3]. Поскольку тканевый фактор связывает VII и активирует IX и X факторы свертывания крови, существует гипотеза о том, что экспрессия P-селектининдуцированного тканевого фактора на моноциты обеспечивает локальную коагуляцию в течение нескольких часов после их рекрутмента [4]. По мнению ряда исследователей, P-селектин самостоятельно способен выступать и в качестве агента, стабилизирующего тромб. Повышение уровня экспрессии P-селектина свидетельствует о нарушениях системы

гемостаза и может являться предиктором сердечно-сосудистых катастроф. А цитометрический анализ экспрессии P-селектина находит все более широкое применение в качестве «золотого стандарта» оценки активации тромбоцитов [5].

В клинической практике для блокирования процессов агрегации тромбоцитов широко применяются аспирин, блокаторы гликопротеиновых IIb/IIIa рецепторов (интегрин, тирофибан) и пентоксифиллин. Эффективность данных лекарственных препаратов (ЛП) доказана многочисленными фундаментальными и клиническими исследованиями, где основными целевыми показателями служили частота эпизодов сердечно-сосудистых катастроф и данные агрегации тромбоцитов [6]. Регистрация уровня агрегации тромбоцитов пациентов, принимающих антиагрегационную терапию, на сегодняшний день – наиболее распространенный метод мониторинга эффективности антиагрегантов [7]. Однако данные традиционной агрегатометрии не отражают полностью

процессы внутрисосудистой активации тромбоцитов [8]. Проводя доклинические исследования, направленные на поиск потенциальных антиагрегантов, мы столкнулись с проблемой оценки реальной эффективности практически применяемых и новых антиагрегационных препаратов на процессы активации тромбоцитов у здоровых добровольцев в условиях *in vitro*. Имеются лишь отдельные сообщения о показателях экспрессии Р-селектина при различных заболеваниях на фоне комплексной антиагрегационной терапии.

Цель работы – сопоставление показателей выраженности экспрессии Р-селектина и агрегации тромбоцитов под действием антиагрегантов различной химической природы и механизмов их действия в условиях *in vitro*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объекты исследования: 3,7-диметил-1-(5-оксогексил)ксантин (пентоксифиллин, Россия), 2-ацетилоксибензойная кислота (ацетилсалициловая кислота, Китай), селективный пептидный блокатор рецепторов тромбоцитов ГП IIb-IIIa - L-цистеинамид, N6-(аминоиминометил)-N2-(3-меркапто-1-оксопропил)-L-лизилглицил-L-α-аспартил-L-триптофи-L-пропил-, циклический (1-6)-дисульфид (интегрилин, Великобритания), селективный непептидный блокатор рецепторов тромбоцитов ГП IIb-IIIa - N-(бутилсульфаонил)-4-[4-(4-пиперидин)бутокси]-α-фенилаланина моногидрохлорид моногидрат (тирофибан, Великобритания).

Экспериментальная работа выполнялась на крови здоровых доноров-мужчин в условиях *in vitro*. Средний возраст добровольцев составил – $22 \pm 2,7$ года. Исследование было одобрено этическим комитетом Башкирского государственного медицинского университета (№2 от 17.10.2012). Информированное согласие было получено у всех участников исследования до забора крови. Взятие крови проводили из локтевой вены в стерильных условиях с использованием систем вакуумного забора крови BD Vacutainer®. В качестве стабилизатора венозной крови использовали 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении 9:1.

Для исключения влияния других форменных элементов крови вся исследовательская работа осуществлена на образцах обогащенной тромбоцитами плазмы, которые получали центрифугированием (центрифуга ОПН-3.02) цитратной крови при 100 г в течение 10 мин.

Активность тромбоцитов определяли одновременно методами индуцированной агрегации и проточной цитометрии. Исследование влияния антиагрегантов на агрегацию тромбоцитов осуществляли с помощью лазерного анализатора агрегации тромбоцитов «Биола 230LA» [9]. В качестве индуктора агре-

гации использовали аденозиндифосфат (АДФ) в концентрации 20 мкг/мл и коллаген в концентрации 5 мг/мл. Растворителем служила вода для инъекций [10]. Анализ агрегатограмм выполняли с помощью программного обеспечения AGGR с учетом следующих показателей: общий характер агрегации (одноволновая, двухволновая; полная, неполная обратимая, необратимая), значение максимальной агрегации, дезагрегационный эффект.

При определении методом проточной цитометрии в качестве маркера активации тромбоцитов измеряли экспрессию Р-селектина на поверхности тромбоцитов. Для этого образцы богатой тромбоцитами плазмы разводили в 100 раз 0,15 М фосфатно-солевым буферным раствором (pH=7,0-7,5), вносили исследуемые препараты и инкубировали в течение 5 мин. Для активации тромбоцитов в пробы вносили АДФ до конечной концентрации 20 мкг/мл и перемешивали. Активацию осуществляли в течение 15 мин, останавливали введением 1% раствора формалина. После инкубации образцы богатой тромбоцитами плазмы окрашивали 20 мин при комнатной температуре мышинными моноклональными антителами CD62, мечеными APC (алофикоцианином), согласно рекомендациям производителя (США). Цитофлуориметрический анализ проводили на приборе BD FACSCanto II, используя программное обеспечение «FACSDiva». Параметры настройки прибора были одинаковы для всех измерений. Для каждой пробы собирали не менее 10000 событий. «Тромбоцитарное окно» выделяли по параметрам прямого (FCS) и малоуглового (SSC) светорассеяния в логарифмической шкале координат. Оценивали количество позитивных клеток (%).

Результаты исследования обрабатывали с применением программного статистического пакета Statistica 10,0. Нормальность распределения фактических данных проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Для описания групп были использованы медиана и межквартильный интервал. Дисперсионный анализ проводили с помощью критерия Краскела–Уоллиса (для независимых наблюдений) и Фридмана (для повторных наблюдений). Критический уровень значимости p для статистических критериев принимали равным 0,05. Величину IC50 исследуемых препаратов рассчитывали с помощью нелинейного фиттинга кривых, описывающих показатели агрегации тромбоцитов по логарифмическому уравнению с 4 параметрами, а также программно обеспечения GraphPad Prism.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На 1-м этапе исследования изучили агрегацию тромбоцитов при действии выбранных антиагрегационных препаратов, установили и сравнили показатели IC50. Согласно полученным результатам, наиболее эффективными в условиях эксперимента оказались пре-

параты группы блокаторов ГП IIb-IIIa (табл. 1). Наибольшую активность проявил пептидный блокатор ГП IIb-IIIa – интегрин. Интегрин в концентрации 62 нг/мл одинаково эффективно подавлял агрегацию тромбоцитов, индуцированную АДФ и коллагеном. Агратат, синтетический блокатор рецепторов ГП IIb-IIIa тромбоцитов, снижал агрегацию тромбоцитов на 50% в концентрации 65 нг/мл при агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ. Однако для аналогичного эффекта при коллагениндуцированной агрегации тромбоцитов концентрация агратата возрастала до 257 нг/мл. Ацетилсалициловая кислота и пентоксифиллин оказывали влияние исключительно на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов.

Среди изученных ЛП дезагрегационная активность регистрировалась только у пентоксифиллина и составляла 20,4%, независимо от агониста агрегации тромбоцитов. Способность разрушать сформированные тромбоцитарные агрегаты не свойственна группе селективных антиагрегантов, что обусловлено особенностью механизма действия пентоксифиллина [11]. Как свидетельствует практика, на сегодняшний день четко определены показания к применению пентоксифиллина как компонента современной антитромботической терапии. Результаты рандоми-

зированных исследований и клинических рекомендаций демонстрируют эффективность пентоксифиллина именно при состоявшемся тромбозе сосудов сетчатки и остром нарушении мозгового кровообращения по ишемическому типу [12–14].

Далее были изучены процессы экспрессии P-селектина на поверхности тромбоцитов при действии исследуемых препаратов в концентрациях, соответствующих IC50. Как видно из данных, представленных в табл. 2, количество тромбоцитов, экспрессирующих P-селектин в отсутствие активации *in vitro*, составило около 1,38%, тогда как при активации 20 мкг/мл АДФ число тромбоцитов, несущих на своей поверхности молекулы P-селектина, увеличивалось почти до 17,92%.

Препараты группы блокаторов ГП IIb-IIIa и пентоксифиллин при действии АДФ одинаково эффективно ингибировали уровень экспрессии P-селектина до значений неактивированных тромбоцитов. Наиболее интересным оказался эффект аспирина. По результатам классической агрегатометрии при действии АДФ регистрировалась высокая антиагрегационная активность данного препарата с IC50 равной $4,2 \cdot 10^{-3}$ М/л. Однако при расчете уровня CD62 число клеток, связывающихся с антителами к P-селектину, у доноров в

Таблица 1

ПОКАЗАТЕЛИ АНТИАГРЕГАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ АНТИАГРЕГАНТОВ ПРИ ИНДУКТОР-ИНДУЦИРОВАННОЙ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ Me (25–75)

| Препарат | Концентрация | Антиагрегационная активность, % к контролю | | Дезагрегационная активность, % к контролю |
|---------------------|-------------------|--|-----------------------|---|
| | | АДФ, 20 мкг/мл | коллаген, 5 мг/мл | |
| Аспирин, М/л | $6 \cdot 10^{-3}$ | 61,0** (58,7–64,3) | 21,4* (19,1–24,2) | 0,0 (0,0–0,0) |
| | $3 \cdot 10^{-3}$ | 26,4** (23,5–27,1) | 11,6* (9,5–14,7) | 0,0 (0,0–0,0) |
| | 10^{-3} | 13,6* (10,4–15,4) | 0,0 (0,0–0,0) | 0,0 (0,0–0,0) |
| | IC50 | $4,2 \cdot 10^{-3}$ М/л | – | – |
| Пентоксифиллин, М/л | $4 \cdot 10^{-3}$ | 63,7* (58,9–9,2) | 0,0 (0,0–0,0) | 27,5 (24,3–29,7) |
| | $2 \cdot 10^{-3}$ | 48,4* (42,7–56,5) | 0,0 (0,0–0,0) | 11,7 (9,6–14,8) |
| | 10^{-3} | 12,7** (10,5–15,6) | 0,0 (0,0–0,0) | 0,0 (0,0–0,0) |
| | $5 \cdot 10^{-4}$ | 0,0 (0,0–0,0) | 0,0 (0,0–0,0) | 0,0 (0,0–0,0) |
| | IC50 | $1,4 \cdot 10^{-3}$ М/л | – | $\approx 6,4 \cdot 10^{-3}$ М/л |
| Агратат, нг/мл | 300 | 100,0** (100,0–100,0) | 100,0** (100,0–100,0) | 0,0 (0,0–0,0) |
| | 200 | 100,0** (100,0–100,0) | 39,4* (37,1–44,1) | 0,0 (0,0–0,0) |
| | 100 | 87,4** (85,3–91,4) | 24,5* (22,7–26,3) | 0,0 (0,0–0,0) |
| | 50 | 34,1** (32,7–43,1) | 12,3* (10,4–15,6) | 0,0 (0,0–0,0) |
| | IC50 | 87,4 нг/мл | 254,3 нг/мл | – |
| Интегрин, мг/мл | 100 | 100,0** (100,0–100,0) | 100,0** (100,0–100,0) | 0,0 (0,0–0,0) |
| | 50 | 37,1* (34,4–39,5) | 35,1* (32,3–39,4) | 0,0 (0,0–0,0) |
| | 25 | 12,4* (10,3–14,2) | 14,1* (10,5–16,3) | 0,0 (0,0–0,0) |
| | IC50 | 65,7 мг/мл | 63,1 мг/мл | – |

Примечания. Представлены медиана и межквартильный интервал, n=7; прочерк (–) – расчет IC50 невозможен. Уровень статистической значимости различий признаков в сравнении с агрегацией интактных тромбоцитов: ** – $p \leq 0,05$; * – $p \leq 0,01$.

ПОКАЗАТЕЛИ ЭКСПРЕССИИ P-СЕЛЕКТИНА В ПРИСУТСТВИИ ИЗУЧАЕМЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

| Показатель | Контроль | Лекарственный препарат | | | |
|----------------------|---|--|--|--|---|
| | | интегриллин, 65 мг/мл | агростат, 87 нг/мл | аспирин, 4,2 · 10 ⁻³ м/л | пентоксифиллин, 1,4 · 10 ⁻³ м/л |
| CD62 ^{АдФ-} | 1,3 (1,1–1,4) | 1,1* (0,9–1,4) | 1,2* (1,1–1,2) | 1,3* (1,1–1,4) | 1,2* (1,1–1,4) |
| CD62 ^{АдФ+} | 17,9 (16,5–19,3) p ₂ =0,001 | 1,7** (1,3–1,9) p ₂ =0,5 | 1,4** (1,1–1,6) p ₂ =0,4 | 16,4* (14,5–17,3) p ₂ =0,003 | 3,5* (2,7–4,1) p ₂ =0,3 |

Примечания. Уровень статистической значимости различий признаков в сравнении с контролем: * – p≥0,05, ** – p≤0,001; p₂ – уровень статистической значимости различий признаков групп после активации АДФ.

присутствии аспирина в данной концентрации оставалось на уровне исходных значений и составило 16,4%. Возможное отсутствие эффекта аспирина в отношении экспрессии P-селектина тромбоцитов и ранее настораживало исследователей. Так, имеются отдельные сообщения о высоком уровне экспрессии P-селектина у пациентов, принимающих аспирин в течение 1 нед в дозировке 300 мг в сутки [15]. Сохраняется повышенная активация тромбоцитов и у пациентов, получавших монотерапию аспирином при инфаркте миокарда, прогрессирующей стенокардии, после операции на сонной артерии по поводу атеросклероза [16, 17]. Отсутствовал эффект аспирина и на активацию тромбоцитов, обусловленную физической нагрузкой [18]. Согласно результатам проведенных исследований, под действием аспирина в условиях *in vitro* не происходит значительного подавления тромбоцитарной активности по уровню экспрессии P-селектина, несмотря на то, что степень АДФ-индуцированной агрегации, измеренной фотометрическим методом, достоверно снижается по сравнению с показателями в контрольной группе. Возможно, данный феномен вносит вклад в общий процент резистентных к монотерапии аспирином пациентов и часто является причиной повторных фатальных сердечно-сосудистых катастроф [19]. По данным ряда авторов, аспирин оказывается неэффективным в 5–48% случаев его длительного приема [20,21]. Применение аспирина в сочетании с другими препаратами (клопидогрель, тиклид и др.), у которых установлен ингибирующий эффект на процессы активации тромбоцитов, статистически снижает частоту повторных фатальных эпизодов инфарктов миокарда и инсультов [22].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, параметры стандартной агрегатометрии не всегда адекватно отражают функциональную активность тромбоцитов. Особенности влияния на процессы активации тромбоцитов применяемых в клинической практике антиагрегантов, независимо от показателей антиагрегационной активности, могут обуславливать и их клиническую эффективность, и отсутствие терапевтического эффекта с развитием повторных эпизодов сердечно-сосудистых катастроф.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Palabrica T., Lobb R., Furie B.C., Aronovitz M., Benjamin C., Hsu Y.M., Sajer S.A., Furie B. Leukocyte accumulation promoting fibrin deposition is mediated in vivo by P-selectin on adherent platelets. *Nature*, 1992; 359: 848–51.
- Berger G.L., Hartwell D.W., Wagner D.D. P-Selectin and platelet clearance. *Blood*, 1998; 92 (11): 4446–52.
- Denis C.V., Andre P., Saffaripour S., Wagner D.D. Defect in regulated secretion of P-selectin affects leukocyte recruitment in von Willebrand factor-deficient mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001; 98: 4072–7.
- Celi A., Pellegrini G., Lorenzet R., De Biasi A., Ready N., Furie B.C., Furie B. P-selectin induces the expression of tissue factor on monocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1994; 91: 8767–71.
- Cambien B., Wagner D.D. A new role in hemostasis for the adhesion receptor P-selectin. *Trends in Molecular Medicine*, 2004; 10 (4): 179–186.
- Sikka P., Bindra V.K. Emerging antithrombotic drugs: A review. *Annals of Tropical Medicine and Public Health*, 2011; 4 (2): 138–42.
- Долгов В.В., Свиринов П.В. Лабораторная диагностика нарушений. М.: Медицина, 2005; 358. (Dolgov V.V., Svirin P.V. Лабораторная диагностика нарушений. Moscow: Medicina, 2005; 358) (in Russian).
- Blair P., Faumenhaft R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Rev.*, 2009; 23: 177–189.
- Born G.V. Aggregation of blood platelets by adenosinediphosphate and its reversal. *Nature*, 1962; 194: 927–9.
- Пятигорская Н.В., Самылина И.А., Сапожникова Э.А., Миткина Л.И., Лавренчук Р.А., Багирова В.А. Вода для инъекций. Фармация, 2010; 5: 3-7. (Pyatigorskaya N.V., Samylyna I.A., Sapozhnikova E.A., Mitkina L.I., Lavrenchuk R.A., Bagirova V.L. Вода для инъекций. *Farmatsiya*, 2010; 5: 3–7) (in Russian).
- Государственный реестр лекарственных средств. Том 2. М.: Медицина, 2004; 1141. (Государственный реестр лекарственных средств. Vol. 2. Moscow: Medicina, 2004; 1141) (in Russian).
- De Sanctis M.T., Cesarone M.R., Belcaro G., Incandela L., Steigerwalt R., Nicolaidis A.N., Griffin M., Geroulakos G. Treatment of retinal vein thrombosis with pentoxifylline: a controlled, randomized trial. *Angiology*, 2002; 53: 72–3.
- Hsu C.Y., Norris J.W., Hogan E.L., Bladin P., Dinsdale H.B., Yatsu F.M., Earnest M.P., Scheinberg P., Caplan L.R., Karp H.R. Pentoxifylline in acute nonhemorrhagic stroke. A randomized, placebo-controlled double-blind trial. *Stroke*, 1988; 19 (6): 716–22.
- Lucas M.A. Prevention of Post-Operative Thrombosis in Peripheral Arteriopathies. Pentoxifylline vs. Conventional Antiaggregants: A Six-Month Randomized Follow-up. *Angiology*, 1984; 35 (7): 443–50.
- Chronos N.A., Wilson D.J., Janes S.L., Hutton R.A., Buller N.P., Goodall A.H. Aspirin does not affect the flow cytometric detection of fibrinogen binding to, or release of alpha-granules or lysosomes from, human platelets. *Clin Sci (Lond)*, 1994; 87(5): 575–80.
- Freedman J.E., Loscalzo J., Barnard M.R., Alpert C., Keaney J.F., Michelson A.D. Nitric oxide released from activated platelets inhibits platelet recruitment. *J. Clin. Invest.*, 1997; 100: 350–6.
- Assadian A., Lax J., Meixner-Loicht U., Hagmüller G.W., Bayer P.M., Hübl W. Aspirin resistance among long-term aspirin users after carotid endarterectomy and controls: Flow cytometric measurement of aspirin-induced platelet inhibition. *Journal of Vascular Surgery*, 2007; 45 (6): 1142–7.
- Li N., Wallén N.H., Hjerdahl P. Evidence for prothrombotic effects of exercise and limited protection by aspirin. *Circulation*, 1999; 100:1374–9.

19. Gum P.A., Kottke-Marchant K., Welsh P.A., White J., Topol E.J. A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2003; 41: 961–5.

20. Chen W-H., Cheng X., Lee P.Y., Tse H.F., Lau C.P. Aspirin resistance is associated with a high incidence of myonecrosis after non-urgent percutaneous coronary intervention despite clopidogrel pretreatment. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2004; 43: 1122–6.

21. Patrono C., Collier B., FitzGerald G.A., Hirsh J., Roth G. Platelet-active drugs: the relationships among dose, effectiveness, and side effects. *Chest.*, 2004; 126 (234): 64.

22. Chen Z.M., Jiang L.X., Chen Y.P. Addition of clopidogrel to aspirin in 45852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, 2005; 366: 1607–21.

Поступила 22 ноября 2016 г.

P-SELECTIN EXPRESSION OF AND PLATELET AGGREGATION UNDER THE ACTION OF DRUGS

Professor A.L. Urakov¹, MD; A.V. Samorodov², MD; Professor F.Kh. Kamilov², MD; Professor I.G. Mustafin³, MD; Professor F.A. Khaliullin², PhD

¹*Izhevsk State Medical Academy; 281, Communards St., Izhevsk 426034, Russian Federation;*

²*Bashkir State Medical University; 3, Lenin St., Ufa 450000, Russian Federation;*

³*Kazan State Medical University; 49, Butlerov St., Kazan 420012, Russian Federation*

SUMMARY

Introduction. P-selectin acts as a leukocyte adhesion receptor and induces the expression of tissue factor on monocytes, resulting in their binding to platelets. The higher expression of P-selectin is indicative of impairments in the hemostatic system. Cytometric analysis of P-selectin expression is commonly used to assess platelet activation. The effect of antiaggregatory drugs on the processes of platelet activation has been inadequately studied.

Objective: to compare the level of P-selectin expression and platelet aggregation under the action of antiaggregants of different chemical nature and mechanisms of action *in vitro*.

Material and methods. The investigation objects were drugs used to inhibit platelet aggregation (acetylsalicylic acid, integrilin, tirofiban, and pentoxifylline). Blood from healthy male donors was examined *in vitro*. Platelet activity was determined simultaneously by induced aggregation and flow cytometry.

Results. The most effective glycoprotein IIb/IIIa receptor inhibitors proved to be integrilin and aggrastat. Acetylsalicylic acid and pentoxifylline affected only ADP-induced platelet aggregation. Aspirin failed to substantially inhibit platelet activity in terms of the level of P-selectin expression, despite the fact that the degree of ADP-induced aggregation was significantly decreased.

Conclusion. The parameters of standard aggregatometry not always adequately reflect the functional activity of platelets.

Key words: platelet aggregation, P-selectin, acetylsalicylic acid, integrilin, tirofiban, pentoxifylline.