

© Коллектив авторов, 2022

УДК 612.116.2:612.111.7+578.282

Баринов Э.Ф., Малинин Ю.Ю., Григорян Х.В.

## Молекулярные механизмы, контролирующие выраженность геморагии при ингибировании синтеза ТхА2 в тромбоцитах

ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский институт им. М. Горького»,  
283064, Донецк

**Цель исследования** – оценка патогенетических и компенсаторных механизмов, участвующих в поддержании и ограничении гематурии при длительном назначении НПВП пациентам с нефролитиазом.

**Методика.** В исследование включены пациенты (21 человек) с нефролитиазом, у которых для анальгезии назначались высокие дозы НПВП в течении 9 сут. Тяжесть гематурии и лейкоцитурии оценивали на момент госпитализации, через 24 ч и 48 ч после уретеролитотрипсии (УЛТ) в верхнем отделе мочеточника. Статистический анализ осуществлялся с использованием пакета MedCalc. В исследовании применялись участвующие в модуляции тромбогенеза агонисты рецепторов в частности: АДФ, АТФ, ангиотензин-2, адреналин, коллаген IV-типа, фактор активации тромбоцитов (ФАТ), аденозин, изадрин. Агонисты использовали в концентрациях  $EC_{50}$  и  $EC_{10}$ . Анализ функциональной активности рецепторов и оценку агрегации АТЦ проводили турбидиметрическим методом на анализаторе ChronoLog (США). Анализ агрегатограмм проводили по следующим параметрам: амплитуда агрегации тромбоцитов; максимальный наклон кривой (Slope); площадь под кривой (AUC).

**Результаты.** На фоне назначения пациентам НПВП через 48 ч после УЛТ сохранялась частота гематурии; выраженность микрогематурии уменьшилась ( $p < 0,001$ ) по сравнению с уровнем через 24 ч после оперативного вмешательства. Уровень лейкоцитурии снижался ( $p < 0,001$ ) через 24 ч и 48 ч после УЛТ. Гематурия поддерживалась на фоне гиперреактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора, нормореактивности ФАТ-рецептора и пуринового  $P2X_1$ -рецептора. При сравнении параметров кривых агрегации установлено, что максимальный эффект агрегации Тц воспроизводился при взаимодействии  $\alpha_2$ -адренорецептора и  $P2X_1$ -рецептора. Менее значимый эффект синергизма выявлен при одновременной стимуляции  $\alpha_2$ -адренорецептора и ФАТ-рецептора, а также  $P2X_1$ -рецептора и ФАТ-рецептора.

**Заключение.** Анализ функциональной активности рецепторов на тромбоцитах после УЛИ при назначении высоких доз НПВП свидетельствует, что активация симпато-адреналовой системы является триггером компенсаторной реакции направленной на ограничение гематурии. Эффективность компенсаторной реакции гемостаза усиливается в результате потенцирования проагрегантных эффектов  $\alpha_2$ -адренорецептора,  $P2X_1$ -рецептора и ФАТ-рецептора.

**Ключевые слова:** нестероидные противовоспалительные препараты; уретеролитотрипсия, гематурия; рецепторы тромбоцитов; гемостаз

**Для цитирования:** Баринов Э.Ф., Малинин Ю.Ю., Григорян Х.В. Молекулярные механизмы, контролирующие выраженность геморагии при ингибировании синтеза ТхА2 в тромбоцитах. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2022; 66(1): 78–84.

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.01.78-84

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования, исследование активности рецепторов тромбоцитов, интегральный анализ полученных данных, редактирование рукописи – Баринов Э.Ф.; набор клинического материала, статистическая обработка данных, анализ полученных результатов, написание текста – Малинин Ю.Ю.; проведение лабораторных исследований, статистическая обработка данных – Григорян Х.В.

**Для корреспонденции:** Баринов Эдуард Федорович, e-mail: barinov.ef@gmail.com

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 26.11.2021

Принята к печати 20.01.2022

Опубликована 15.03.2022

Barinov E.F., Malinin Yu.Yu., Grigoryan Kh.V.

## Molecular mechanisms controlling the severity of hemorrhage after inhibition of TxA2 synthesis in platelets

M. Gorky Donetsk National Medical University,  
Donetsk 283064

**The aim** of the study was to establish the pathogenetic and compensatory mechanisms involved in maintaining and limiting hematuria when prescribing high-dose NSAIDs in patients with nephrolithiasis.

**Methods.** The study included 21 patients with nephrolithiasis, in whom high doses of NSAIDs were prescribed for analgesia for 9 days. The severity of hematuria and leukocyturia was assessed at the time of hospitalization, and at 24 hrs, and 48 hrs after ureterolithotripsy (ULT) in the upper ureter. The study used receptor agonists involved in the modulation of thrombogenesis, in particular, ADP, ATP, angiotensin II, adrenaline, type IV collagen, platelet activating factor (PAF), adenosine, and isoprenaline. Agonists were used at a concentration of EC50 and EC10. The analysis of the functional activity of the receptors was performed by the turbidimetric method on a ChronoLog analyzer (USA). The analysis of the aggregates was performed according to the following parameters: the amplitude of platelet aggregation; maximum slope of the curve (Slope); area under the curve (AUC). Statistical analysis was performed using the MedCalc package.

**Results.** When NSAIDs were prescribed, the incidence of gross hematuria persisted for 48 hrs after URT; the severity of microhematuria decreased ( $p < 0.001$ ) compared to the level 24 hrs after minimally invasive surgery. Leukocyturia decreased ( $p < 0.001$ ) 24 hrs and 48 hrs after ULT. Hematuria persisted in the presence of  $\alpha_2$ -adrenoceptor hyperreactivity and of PAF receptor and purine P2X1 receptor normoreactivity. When comparing the parameters of the aggregation curves, it was found that the maximum effect of platelet aggregation was observed during the interaction of the  $\alpha_2$ -adrenoceptor and the P2X1 receptor. A less significant synergistic effect was evident with simultaneous stimulation of the  $\alpha_2$ -adrenoceptor and PAF receptor, as well as the P2X1 receptor and the PAF receptor.

**Conclusion.** Analysis of the functional activity of platelet receptors after ULT with high doses of NSAIDs indicates that the activation of the sympathoadrenal system is a trigger of a compensatory response aimed at limiting hematuria. The effectiveness of the compensatory reaction of hemostasis is enhanced as a result of the potentiation of the pro-aggregant effects of the  $\alpha_2$ -adrenoceptor, the P2X1 receptor, and the PAF receptor.

**Keywords:** non-steroidal anti-inflammatory drugs; ureterolithotripsy; hematuria; platelet receptors; hemostasis

**For citation:** Barinov E.F., Malinin Yu.Yu., Grigoryan Kh.V. Molecular mechanisms controlling the severity of hemorrhage after inhibition of TxA2 synthesis in platelets. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2022; 66(1): 78–84. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.01.78-84

**Author's contribution:** Barinov E.F. – research concept and design, integrated analysis of the data obtained, editing of the manuscript; Malinin Yu.Yu. – set of clinical material, statistical analysis of the results, text writing; Grigoryan Kh.V. – laboratory research, statistical data processing.

**For correspondence.** **Edward F Barinov**, Doctor of Med. Sciences, Prof., head of the department the Histology, Cytology and Embryology, «M. Gorky Donetsk National Medical University», 83003 Donetsk, e-mail: barinov.ef@gmail.com

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Financing.** The study had no sponsorship.

**Information about the authors:**

Barinov E.F., <https://orcid.org/0000-0002-8070-2242>

Received 26.11.2021

Accepted 20.01.2022

Published 15.03.2022

До настоящего времени отсутствует концепция формирования компенсаторных механизмов гемостаза при длительном назначении нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП). Актуальность данной проблемы просматривается в урологии, когда НПВП используются для обезболевания у пациентов с мочекаменной болезнью в процессе литокинетической терапии и/или после малоинвазивного опе-

ративного вмешательства. Однако, как известно, при подобных вмешательствах возможно усиление гематурии [1, 2]. Значимость фундаментальных знаний в области поддержания гемостаза при блокаде циклооксигеназы (ЦОГ) в тромбоцитах (Тц) – очевидна, т.к. арсенал фармакологических препаратов для остановки кровотечений ограничен и, в основном, сориентирован на повышение коагуляции крови. С нашей точки

зрения, к факторам риска выраженности гематурии при нефролитолизе следует отнести и наличие воспаления (пиелонефрит), поскольку активированные лейкоциты: а) вызывают дегградацию коллагена IV типа и гликопротеинов в базальной мембране сосудов микроциркуляторного русла, что способствует диapedезу эритроцитов [3]; б) секретируют в периваскулярное пространство различные биологически активные вещества, влияющие на проницаемость эндотелиального монослоя [4]. Казалось бы, назначение НПВП после литотрипсии закрывает эту проблему, однако ингибирование ЦОГ и снижение синтеза ТхА2 в Тц, как уже отмечалось, вызывает нарушение их адгезии и агрегации, что может провоцировать геморрагию. Спонтанное ограничение гематурии после оперативного лечения свидетельствует о включении компенсаторных механизмов гемостаза, однако, от чего зависит их эффективность остается не ясным.

**Гипотеза.** При длительном назначении пациентам НПВП возможна гетерогенность активности рецепторов Тц, в силу как резистентности ЦОГ, так и «ускользания» от ингибирующего воздействия лекарственных форм [5]. Нельзя исключить функционирование ЦОГ-независимых внутриклеточных сигнальных путей в Тц, которые определяют спектр и эффективность компенсаторных реакций ограничивающих гематурию. В этой связи моделирование взаимодействия рецепторов Тц *in vitro* позволило бы анализировать проагрегантный потенциал механизмов, способных ограничивать послеоперационную гематурию. В перспективе такой подход открывает возможности прогнозирования риска развития макрогематурии и позволяет уточнить пути разработки эффективных методов фармакологической коррекции геморрагии, возникающей после оперативного вмешательства.

**Цель исследования** – установить патогенетические и компенсаторные механизмы, участвующие в поддержании и ограничении гематурии при длительном назначении НПВП пациентам с нефролитолизом.

### Методика

Исследование носило проспективный характер и включало 61 пациента с визуализационными признаками наличия конкрементов в верхней трети мочевого пузыря. Всем пациентам на этапе госпитализации проведено комплексное клиническое обследование по традиционной схеме, принятой для диагностики нефролитолиза (жалобы, сбор анамнеза, физикальный осмотр, клинко-инструментальные исследования, ультразвуковое обследование и компьютерная томография почек, микробиологический посев мочи, ла-

бораторные исследования крови и мочи). В соответствие с поставленной целью отобраны 21 пациент (10 мужчин и 11 женщин; средний возраст  $60,3 \pm 3,5$  года), у которых на фоне стандартной литокинетической терапии (включающей диклофенак натрия, 100-150 мг/сут) в течение 7 сут по данным визуализационного контроля не произошло перемещение конкремента из пиело-уретеральной зоны в среднюю треть мочевого пузыря. Средний размер конкремента составил  $14,3 \pm 0,9$  мм (min-max 8,0-30,0 мм). По показаниям проведена антеградная перкутанная уретеролитотрипсия (УЛТ) с использованием электроимпульсного литотриптера «Уролит» (ООО «МедЛайн»), ультразвукового литотриптера Karl Storz CALCUSON, гольмиевого лазерного литотриптера KARL STORZ Calculase II или их комбинации. После операции в течении 2 сут с целью анальгезии сохранялась стандартная противовоспалительная терапия, включающая НПВП и антибиотики.

Контрольными точками исследования у пациентов были момент госпитализации, через 24 ч и 48 ч после УЛТ (последний срок назначения НПВП, общая длительность назначения препарата в дозе 100-150 мг/сут составила 9 сут). Микрогематурию определяли при наличии 3 и более эритроцитов в поле зрения при микроскопии осадка мочи; при этом выделяли легкую степень – 3-10 э/пз, среднюю 11-49 э/пз и тяжелую степень микрогематурии 50-100 э/пз. Макрогематурия диагностировалась, если количество эритроцитов составляло  $\frac{1}{2}$  и более поля зрения. Для оценки показателей плазменного гемостаза использовался метод оптической коагулометрии (Коагулометр К-3002 OPTIC, Польша). Анализ функциональной активности Тц проводили *in vitro*, для чего из периферической крови путем центрифугирования выделяли обогащенную тромбоцитами плазму. В пробе содержание тромбоцитов в 1 мкл составляло  $200\ 000 \pm 20\ 000$ . В исследовании применяли агонисты рецепторов ( $EC_{50}$ ), участвующие в модуляции тромбогенеза, в частности: АДФ (лиганд пуриновых P2Y-рецепторов), АТФ (лиганд пуриновых P1X-рецепторов), ангиотензин-2 (лиганд AT<sub>1</sub>-рецептора), адреналин (неселективный лиганд  $\alpha_2$ -адренорецептора), коллаген IV-типа (лиганд GPVI-рецептора), фактор активации тромбоцитов (лиганд ФАТ-рецептора), аденозин (лиганд A2A-рецептора), изадрин (лиганд  $\beta_2$ -адренорецепторов). В работе также были использованы субпороговые концентрации агонистов, которые в контрольной группе (5 здоровых доноров) вызывали АТц на уровне 10% ( $EC_{10}$ ). Оценку агрегации АТц проводили турбидиметрическим методом на анализаторе ChronoLog (США). Анализ агрегатограмм про-

водили по следующим параметрам: амплитуда агрегации тромбоцитов (%); максимальный наклон кривой (Slope, %/мин); площадь под кривой (AUC, U). У всех обследованных пациентов получено информированное согласие на участие в исследовании. Статистический анализ осуществлялся с использованием пакета MedCalc 18.10.2. Во всех случаях отличие считалось статистически значимым при уровне значимости  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

*Выраженность гематурии, тяжесть лейкоцитурии и функциональная активность рецепторов тромбоцитов после УЛТ на фоне назначения НПВП.* Через 24 ч после УЛТ микрогематурия имела место у 15 (71,4%) и макрогематурия – у 6 (28,6%) пациентов. У 14 (93,3%) пациентов имела место тяжелая степень микрогематурии, в среднем  $-75,6 \pm 2,1$  э/пз (95% ДИ 71,1 -80,2 э/пз); и у 1 (6,7%) пациента – средняя степень тяжести. Через 48 ч после оперативного вмешательства микрогематурия выявлена у 12 (80,0%) и макрогематурия – у 9 (20,0%) пациентов. У 5 (41,7%) пациентов микрогематурия соответствовала средней степени тяжести  $-45,8 \pm 1,5$  э/пз (95% ДИ 41,5 -50,1 э/пз) и у 7 (58,3%) пациентов тяжелой степени –  $63,6 \pm 4,0$  э/пз (95% ДИ 54,5-72,6 э/пз;  $p=0,002$ ). Таким образом, после УЛТ на фоне назначения НПВП сохранялась частота макрогематурии; выраженность микрогематурии

уменьшилась на 25,7% ( $p < 0,001$ ), в среднем до  $56,2 \pm 3,4$  э/пз (95% ДИ 48,6-63,7 э/пз) по сравнению с уровнем через 1 сут после оперативного вмешательства. О целесообразности и эффективности назначения НПВП свидетельствует динамика лейкоцитурии. Через 24 ч после УЛТ уровень лейкоцитурии уменьшился на 19,4% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с таковой на момент госпитализации, соответственно,  $17,5 \pm 0,8$  э/пз (95% ДИ 15,8-19,3 э/пз) и  $21,7 \pm 0,8$  э/пз (95% ДИ 20,1-23,4%); через 48 ч показатель снизился еще на 22,3% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с предыдущим сроком наблюдения – до  $13,6 \pm 0,7$  э/пз (95% ДИ 12,4-14,8 э/пз).

Анализ функциональной активности рецепторов Тц позволяет установить спектр рецепторов принимающих участие в гемостазе после оперативного вмешательства на мочеточнике при назначении пациентам НПВП. Выявленная корреляционная связь между гематурией и тромбиновым временем ( $-0,503$ ;  $p < 0,05$ ) свидетельствует о сохранении конечного этапа коагуляции крови на момент завершения введения НПВП (через 48 ч после УЛТ). Установлена гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, нормореактивность ФАТ-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, а также гипореактивность P2Y-рецепторов,  $\beta_2$ -адренорецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора, GPVI-рецептора и А2А-рецептора (табл. 1).

Таким образом, предполагаемыми триггерами активации Тц, обеспечивающими ограничение гематурии

Таблица 1/ Table 1

#### Функциональная активность рецепторов тромбоцитов у пациентов через 48 ч после выполнения уретеролитотрипсии (n=21)

#### Functional activity of platelet receptors in patients 48 hrs after ureterolithotripsy

Тип рецепторов	Среднее значение $\bar{X} \pm SD$	Min – Max	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
$\alpha_2$ -адренорецептор	$59,8 \pm 0,9$	55,0-66,0	58,1	61,5
ФАТ-рецептор	$45,6 \pm 1,4$ $p_{\alpha_2\text{-адрен}} < 0,001$	38,0-59,0	42,7	48,4
P2X <sub>1</sub> -рецептор	$45,6 \pm 1,2$	40,0-57,0	42,9	48,0
P2Y-рецепторы	$41,0 \pm 1,3$ $p_{P2Y} < 0,05$	34,0-50,0	38,4	43,7
$\beta_2$ адренорецептор	$41,3 \pm 1,1$	34,0-50,0	38,9	43,7
АТ <sub>1</sub> -рецептор	$39,7 \pm 1,2$	33,0-48,0	37,1	42,3
GPVI-рецептор	$36,0 \pm 1,2$ $p_{AT_1} < 0,05$	30,0-49,0	33,4	38,6
А2А-рецептор	$32,3 \pm 0,6$ $p_{GPVI} < 0,05$	29,0-37,0	31,1	33,6

**Примечание.**  $p$  – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора.

**Note.**  $p$  – the probability of differences in receptor activity relative to that of the previous receptor.

рии, несмотря на ингибирование синтеза ТхА2 являются агонисты: адреналин, АТФ и ФАТ. Подтверждением данной концепции может быть наличие отрицательной корреляционной связи между выраженностью гематурии и активностью  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора и ФАТ-рецептора (соответственно,  $r_{ГТ-\alpha2AP} = -0,775$ ;  $r_{ГТ-АТФ} = -0,589$ ;  $r_{ГТ-ФАТ} = -0,500$ ;  $p < 0,05$ ), что отражает участие рецепторов Тц в поддержании гемостаза при ингибировании оси ЦОГ-ТхА2. Судя по силе корреляционной связи, вероятно, ведущую роль в адгезии и АТц после УЛТ играют адреналин и АТФ, тогда как паракринная стимуляция Тц посредством ФАТ выполняет аддитивную роль. Роль адреналина в гемостазе объясняется усилением активации Тц, образованием тромбоцито-фибриновых конгломератов и снижением скорости фибринолиза [6]. Катионные P2X<sub>1</sub>-рецепторы увеличивают агрегацию, вызванную рецептором Fc $\gamma$ RIIa тромбоцитов, за счет увеличения концентрации внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>, начального фосфорилирования тирозина и раннего высвобождения плотных гранул [7]. ФАТ является одним из ключевых агонистов стимуляции Тц, который модулирует провоспалительные и коагуляционные процессы [8]. Возника-

ет вопрос — почему в течение 2 сут после малоинвазивного оперативного вмешательства не снижается частота макрогематурии, а выраженность микрогематурии уменьшается, но не прекращается? Наиболее вероятной причиной может быть недостаточная активация Тц. Для проверки этой гипотезы использовали метод стимуляции  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора и ФАТ-рецептора субпороговыми дозами агонистов.

Исследовательский вопрос — *отличается ли функциональная активность Тц при стимуляции разных рецепторов у пациентов через 48ч после УЛТ на фоне назначения НПВП?*

При сравнении параметров кривых агрегации установлено, что адреналин воспроизводил максимальные значения амплитуды АТц, наклона (*Slope*) и площади под кривой (AUC) (табл. 2).

Так, значения амплитуды АТц при стимуляции  $\alpha_2$ -адренорецептора, превышали таковые при стимуляции P2X<sub>1</sub>-рецептора и ФАТ-рецептора, соответственно, на 43,2% ( $p < 0,001$ , 0,001) и 74,7% ( $p < 0,001$ ). При сравнении значений амплитуды АТц, индуцированной субпороговыми дозами агонистов у пациентов и здоровых лиц (10,7±0,6%; 95% 9,3-12,0%;  $p < 0,001$ ),

Таблица 2/ Table 2

**Характеристика показателей функциональной активности тромбоцитов через 48 ч после выполнения уретеролитотрипсии**  
**Characteristics of functional activity of platelets 48 hours after ureterolithotripsy**

Агонисты	Показатели агрегатограммы		
	Амплитуда агрегации (%)	Slope (% мин)	AUC (U)
Адреналин EC <sub>10</sub>	15,9±0,8 (95% ДИ 14,2-17,6)	19,7±1,0 (95% ДИ 17,5-21,9)	23,1±0,8 (95% ДИ 21,3-24,8)
АТФ EC <sub>10</sub>	11,1±0,5 <sup>##</sup> (95% ДИ 9,8-13,3)	13,3±0,5 <sup>##</sup> (95% ДИ 12,1-14,5)	16,9±0,8 <sup>##</sup> (95% ДИ 15,2-18,3)
ФАТ EC <sub>10</sub>	9,1±0,5 <sup>#</sup> (95% ДИ 14,0-17,4)	10,0±1,0 <sup>#</sup> (95% ДИ 17,7-22,3)	14,6±0,4 <sup>#</sup> (95% ДИ 21,6-25,2)
Адреналин EC <sub>10</sub> + АТФ EC <sub>10</sub>	16,5±0,5 (95% ДИ 15,5-17,5)	21,1±0,7 (95% ДИ 19,7-22,6)	31,60±0,9 (95% ДИ 29,6-33,5)
АТФ EC <sub>10</sub> + ФАТ EC <sub>10</sub>	12,1±0,6 <sup>***</sup> (95% ДИ 10,8-13,3)	15,3±1,0 <sup>***</sup> (95% ДИ 13,0-17,6)	21,0±1,3 <sup>***</sup> (95% ДИ 18,2-23,7)
Адреналин EC <sub>10</sub> + ФАТ EC <sub>10</sub>	14,1±0,6 <sup>*</sup> (95% ДИ 12,8-15,4)	17,3±0,8 (95% ДИ 15,7-19,0)	24,7±1,3 <sup>*</sup> (95% ДИ 22,0-27,4)

**Примечание.** <sup>#</sup> – статистически значимое различие значений показателя агрегатограммы при изолированном воздействии агониста на уровне  $p < 0,05$  по сравнению со значениями предыдущего агониста; <sup>##</sup> – на уровне  $p < 0,001$ . <sup>\*</sup> – различие значений показателя агрегатограммы при комбинации воздействия агонистов на уровне  $p < 0,05$  по сравнению со значениями предыдущей комбинации агонистов; <sup>\*\*\*</sup> – на уровне  $p < 0,001$ .

**Note.** <sup>#</sup>,  $p < 0,05$ , <sup>##</sup>,  $p < 0,001$ , significant difference in the aggregogram index during the isolated effect of the agonist compared with the previous agonist; <sup>\*</sup>,  $p < 0,05$ , <sup>\*\*\*</sup>,  $p < 0,001$ , the difference in the aggregogram index during a combination of agonist exposure compared with the previous combination of agonists.

можно прийти к заключению, что только адреналин воспроизводил значимое повышение амплитуды АТц (на 48,6%;  $p < 0,001$ ), тогда как различия воздействия АТФ и ФАТ на соответствующие рецепторы не отличались от таковых у здоровых лиц. При наличии гиперреактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора повышение скорости агрегации (*Slope*) и AUC (отражающее увеличение количества Тц, вовлеченных в процесс агрегации), лежат в основе включения компенсаторного механизма гемостаза воспроизводимого адреналином. Для сравнения, при стимуляции  $\alpha_2$ -адренорецептора Тц, значения AUC превышали таковые при стимуляции P2X<sub>1</sub>-рецептора и ФАТ-рецептора, соответственно на 35,7% ( $p < 0,001$ ) и 58,2% ( $p < 0,001$ ); тогда как, значения AUC агрегатограмм воспроизводимых АТФ и ФАТ – не отличались. Таким образом, при длительном назначении НПВП реактивность рецепторов экспрессированных на Тц может различаться. Наличие гипер- и нормореактивных рецепторов может быть основой для становления компенсаторных механизмов гемостаза.

*Гипотеза* – при наличии на Тц рецепторов с различной реактивностью существует вероятность их взаимодействия, позволяющего потенцировать стимулирующий эффект агонистов. Исследовательские вопросы – возможно ли достигнуть потенцирования эффекта агрегации Тц при синергизме агонистов после оперативного вмешательства (стресс-реакция), если пациентам в качестве анальгетиков назначаются НПВП? Какие процессы в этом случае определяют усиление функциональной активности Тц при взаимодействии нескольких рецепторов?

Установлено, что максимальный эффект агрегации Тц воспроизводился при взаимодействии  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, связывающих субпороговую дозу агонистов (табл. 2). В основе данного эффекта может лежать ко-активация внутриклеточных сигнальных систем и главным образом между G<sub>i</sub> и G<sub>q</sub> сигнальными путями [9]. Считается, что  $\alpha_2$ A-адренергические рецепторы имеют общие перекрестные механизмы с G<sub>q</sub>-сигнальным путем, опосредованные фосфоинозитол3-киназой/Akt. При реализации эффекта синергизма адреналин дополнительно вызывает секрецию плотных гранул, фосфорилирование белка плекстрина протеинкиназы С и усиливает сигнализацию от рецептора P2X<sub>1</sub>. Добавление адреналина к Тц также может стимулировать активацию Rap-1b [10]. Обращает на себя внимание, что амплитуда и скорость агрегации (*Slope*) при одновременной стимуляции двух рецепторов не отличались ( $p > 0,05$ ) от таковых при изолированной стимуляции  $\alpha_2$ -адренорецептора, тогда как значения AUC превышали таковую на 66,7% ( $p < 0,001$ ).

Амплитуда, скорость агрегации (*Slope*) и AUC при одновременной стимуляции  $\alpha_2$ -адренорецептора и ФАТ-рецептора были ниже, соответственно, на 26,7%, 27,5% и 33,5% ( $p < 0,001$ ), по сравнению с таковыми при взаимодействии  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора. Основные параметры агрегатограмм не отличались при одновременной стимуляции  $\alpha_2$ -адренорецептора и ФАТ-рецептора ( $p > 0,05$ ) от таковых при изолированной стимуляции  $\alpha_2$ -адренорецептора, но превышали таковые при изолированной стимуляции ФАТ-рецептора; в частности значения AUC превышали таковую на 69,2% ( $p < 0,001$ ). Таким образом, взаимодействие  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора оказывает более выраженный потенцирующий эффект, чем одновременная стимуляция  $\alpha_2$ -адренорецептора и ФАТ-рецептора. Минимальный эффект агрегации Тц воспроизводился при взаимодействии P2X<sub>1</sub>-рецептора и ФАТ-рецептора. Амплитуда, скорость агрегации (*Slope*) и AUC при одновременной стимуляции данных рецепторов были ниже, соответственно, на 14,5% ( $p < 0,05$ ), 11,6% и 15,0% ( $p < 0,05$ ), чем при взаимодействии  $\alpha_2$ -адренорецептора и ФАТ-рецептора, а также на 26,7%, 27,5% и 33,5% ( $p < 0,001$ ) меньше, по сравнению с комбинацией  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора. Необходимо подчеркнуть, что амплитуда, скорость агрегации (*Slope*) и AUC при одновременной стимуляции P2X<sub>1</sub>-рецептора и ФАТ-рецептора были сопоставимы с эффектом изолированной стимуляции  $\alpha_2$ -адренорецептора ( $p > 0,05$ ), но превышали эффект изолированной стимуляции ФАТ-рецептора; в частности значения AUC превышали таковую на 43,8% ( $p < 0,001$ ). Моделирование взаимодействия других рецепторов не сопровождалось значимой стимуляцией клеток крови, позволяющей запускать компенсаторные механизмы гемостаза, по сравнению с изолированным эффектом агонистов. Таким образом, повышение уровня внеклеточного АТФ и секреция ФАТ активированными лейкоцитами воспроизводят слабый потенцирующий эффект на Тц. Вероятно, эффективность компенсаторной реакции гемостаза, формирующейся при взаимодействии P2X<sub>1</sub>-рецептора и ФАТ-рецептора в Тц, ограничивается назначением НПВП, ингибирующих лейкоциты, вследствие чего снижается синтез и продукция ФАТ [11]. В контексте анализа причин различной эффективности синергизма  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора и ФАТ-рецептора представляет интерес исследование авторов [12], которые доказали: а) возможность синергизма в агрегации Тц при одновременном введении адреналина и ФАТ; б) нивелирование эффекта при использовании не только ингибиторов ЦОГ-1,2 и блокаторов Ca<sup>2+</sup>-каналов,

но также антагонистов адренорецептора и ФАТ-рецептора; ингибиторов фосфолипазы С и MAP-киназы. В этой связи можно предположить, что эффективность компенсаторной реакции гемостаза при ингибировании синтеза ТхА<sub>2</sub> в Тц зависит от сопряженности внутриклеточных сигнальных систем, которые являются ЦОГ-независимыми. В перспективе, исследование *in vitro* молекулярных механизмов поддерживающих агрегацию Тц при назначении пациентам различных групп фармакологических препаратов, позволит определять таргетные внутриклеточные мишени, позволяющие управлять гемостазом.

### Выводы:

1. Длительное введение НПВП пациентам при консервативном и хирургическом лечении нефролитиаза сопровождается макро- и микрогематурией, выраженность которой зависит от эффективности компенсаторных механизмов гемостаза. После УЛТ триггером компенсаторной реакции, направленной на ограничение гематурии, является активация симпато-адреналовой системы. При этом выявляется гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, нормореактивность ФАТ-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, а также гипореактивность P2Y-рецепторов,  $\beta_2$ -адренорецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора, GRV1-рецептора и А2А-рецептора. Наличие гипер- и нормореактивных рецепторов на тромбоцитах является основой для становления компенсаторных механизмов гемостаза у пациентов с нефролитиазом при назначении НПВП.

2. При ингибировании в тромбоцитах синтеза ТхА<sub>2</sub>, связанного с необходимостью введения высоких доз НПВП для анальгезии после малоинвазивного оперативного вмешательства на мочеточнике, эффективность компенсаторных реакций гемостаза усиливается в результате потенцирования проагрегантных эффектов  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора и ФАТ-рецептора. Максимальный эффект агрегации воспроизводится *in vitro* при взаимодействии  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, что связано с повышением скорости и количества взаимодействующих тромбоцитов, вероятно, вследствие сопряженности внутриклеточных сигнальных систем.

### Сведения об авторах:

**Баринов Эдуард Федорович**, доктор мед. наук, проф., зав. каф. гистологии, цитологии и эмбриологии, e-mail: bari-nov.ef@gmail.com;

**Малинин Юрий Юрьевич**, канд. мед. наук, зав. каф. урологии, e-mail: jora2@list.ru;

**Григорян Хачен Владимирович**, канд. мед. наук, асс. каф. урологии, e-mail: khachengrigroryan@gmail.com

### Литература/References

1. Minhaj F.S., Hoang-Nguyen M., Tenney A., et al. Evaluation of opioid requirements in the management of renal colic after guideline implementation in the emergency department. *Am J Emerg Med.* 2020; 38(12): 2564-9. <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2019.12.042>
2. Semen K.O., van der Doelen R.H.A., van der Lugt M., et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs increase urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin in recreational runners. *Scand J Med Sci Sports.* 2020; 30(10): 1888-95. <https://doi.org/10.1111/sms.13755>
3. Lahti M., Heino J., Käpylä J. Leukocyte integrins  $\alpha$ L $\beta$ 2,  $\alpha$ M $\beta$ 2 and  $\alpha$ X $\beta$ 2 as collagen receptors--receptor activation and recognition of FFOGER motif. *Int J Biochem Cell Biol.* 2013; 45(7): 1204-11. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.03.016>
4. Bodiga V.L., Bathula J., Kudle M.R., Vemuri P.K., Bodiga S. Andrographolide suppresses cisplatin-induced endothelial hyperpermeability through activation of PI3K/Akt and eNOS-derived nitric oxide. *Bioorg Med Chem.* 2020; 28(23): 115809. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115809>
5. Wang H., Sun X., Dong W., et al. Association of GPIa and COX-2 gene polymorphism with aspirin resistance. *Clin Lab Anal.* 2018; 32(4): e22331. <https://doi.org/10.1002/jcla.22331>
6. Golaszewska A., Misztal T., Marcinczyk N., Chabińska E., Rusak T. Adrenaline May Contribute to Prothrombotic Condition via Augmentation of Platelet Procoagulant Response, Enhancement of Fibrin Formation, and Attenuation of Fibrinolysis. *Front Physiol.* 2021; 12: 657881. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.657881>
7. Ilkan Z., Watson S., Watson S.P., Mahaut-Smith M.P. P2X1 Receptors Amplify Fc $\gamma$ RIIa-Induced Ca<sup>2+</sup> Increases and Functional Responses in Human Platelets. *Thromb Haemost.* 2018; 118(2): 369-80. <https://doi.org/10.1160/TH17-07-0530>
8. Lordan R., Tsoupras A., Zabetakis I. Platelet activation and prothrombotic mediators at the nexus of inflammation and atherosclerosis: Potential role of antiplatelet agents. *Blood Rev.* 2021; 45:100694. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2020.100694>
9. Haaland H.D., Holmsen H., Dorsam R.T. Potentiation by adrenaline of agonist-induced responses in normal human platelets *in vitro*. *Platelets.* 2011; 22(5): 328-37. <https://doi.org/10.3109/09537104.2011.551949>
10. Lova P., Guidetti G.F., Canobbio I., et al. Epinephrine-mediated protein kinase C and Rap1b activation requires the co-stimulation of G<sub>z</sub>-, G<sub>q</sub>-, and G<sub>i</sub>-coupled receptors. *Thromb Haemost.* 2011; 105(3): 479-86.
11. Hellman K.M., Yu P.Y., Oladosu F.A., et al. The effects of platelet-activating factor on uterine contractility, perfusion, hypoxia, and pain in mice. *Reprod Sci.* 2018; 25(3): 384-94. <https://doi.org/10.1177/1933719117715122>
12. Saeed S.A., Rasheed H. Calcium-dependent synergistic interaction of platelet activating factor and epinephrine in human platelet aggregation. *Acta Pharmacol Sin.* 2003; 24(1): 31-6.