

© Коллектив авторов, 2022

УДК 612.015.3:547.857–08:616.617–003.7

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

Патогенез дисфункции мочеточника и компенсаторные механизмы трафика мелких конкрементов: роль пуринергической сигнализации

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

Цель исследования – определение роли пуриновых P2X₁-, P2Y-рецепторов и аденозинового A2A-рецептора в патогенезе дисфункции мышечной оболочки и развитии компенсаторных механизмов, обеспечивающих трафик мелких конкрементов в средней трети мочеточника.

Методика. Исследование включало 58 пациентов, получавших стандартную литокинетическую терапию в связи с локализацией мелких конкрементов (≤ 6 мм) в средней трети мочеточника. По данным визуализационного контроля когорты больных распределили на две группы: с эффективной (1-я группа) и неэффективной (2-я группа) элиминацией конкрементов. Анализ функциональной активности рецепторов, модулирующих перистальтику мочеточника, выполнили *in vitro* на суспензии тромбоцитов. Использовали агонисты: АТФ, АДФ, аденозин (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Германия) в концентрациях EC₅₀, вызывающих агрегацию на уровне 50% у здоровых лиц. Оценку агрегации тромбоцитов проводили турбидиметрическим методом на анализаторе ChronoLog (США).

Результаты. На этапе госпитализации у пациентов обеих групп выявлена нормореактивность пуриновых P2 и P1 рецепторов. Через 4-6 сут ЛКТ в 1-й группе появлялась гиперреактивность P2X₁- и P2Y-рецепторов, реактивность A2A-рецептора сохранялась на уровне нормореактивности; через 7-9 сут в процессе элиминации конкрементов наблюдался прирост активности P2X₁-рецептора ($p < 0,001$). Данный кластер активности пуриновых рецепторов может обеспечить усиление сократительной активности гладкомышечных клеток при сохранении их базальной релаксации, что, вероятно, является оптимальным для трафика мелких конкрементов в средней трети мочеточника. Во 2-й группе в течение 4-6 сут на фоне нормореактивности P2X₁-рецептора возрастала активность P2Y-рецепторов и A2A-рецептора; кластер активности рецепторов не изменился через 7-9 сут. Следовательно, для эффективной элиминации мелких конкрементов характерна гиперреактивность P2X₁-рецептора и нормореактивность A2A-рецептора, при неэффективной – нормореактивность P2X₁-рецептора и гиперреактивность A2A-рецептора. Повышение активности A2A-рецептора может быть фактором риска нарушения трафика мелких конкрементов в средней трети мочеточника вследствие ограничения сократительной активности мышечной оболочки.

Заключение. При локализации мелких конкрементов в средней трети мочеточника выявленные особенности пуринергической сигнализации могут трактоваться как свидетельство модуляции внутриклеточного уровня Ca²⁺ в гладкомышечных клетках, позволяющей оптимизировать фазы сокращения и расслабления мышечной оболочки мочеточника.

Ключевые слова: нефролитиаз; патогенез дисфункции мочеточника; трафик мелких конкрементов; пуриновые рецепторы

Для цитирования: Баринов Э.Ф., Малинин Ю.Ю., Григорян Х.В. Патогенез дисфункции мочеточника и компенсаторные механизмы трафика мелких конкрементов: роль пуринергической сигнализации. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2022; 66(3): 129-136.

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.03.129-136

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

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 24.03.2022

Принята к печати 14.06.2022

Опубликована 12.09.2022

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

Pathogenesis of ureteral dysfunction and compensatory mechanisms of small stone passage: the role of purinergic signalingGorky Donetsk National Medical University,
Donetsk, Ukraine, Donetsk People's Republic

Aim: To establish the roles of purine P2X1 and P2Y receptors and the adenosine A2A-receptor in the pathogenesis of muscular dysfunction and the formation of compensatory mechanisms that propel small stones from the middle third of the ureter.

Methods. The study included 58 patients who underwent standard lithokinetic therapy (LKT) due to the localization of small calculi (≤ 6 mm) in the middle third of the ureter. According to the imaging data, the patients were divided into two groups: Group 1 with effective and Group 2 with ineffective elimination of calculi. The study of receptor activity that modulate the ureteral motility was performed *in vitro* on platelet suspensions. The following agonists were used: ATP, ADP, and adenosine (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany) at concentrations causing 50% platelet aggregation in healthy individuals (EC_{50}). Platelet aggregation was assessed by the turbidimetric method on a ChronoLog analyzer (USA). Statistical analysis was carried out using the MedCalc package.

Results. At hospitalization, normoreactivity of purine P2 and P1 receptors was observed in patients of both groups. After 4-6 days of LKT, hyperreactivity of P2X1 and P2Y receptors developed in Group 1, but the reactivity of the A2A receptor remained normal. After 7-9 days during the process of calculus elimination, the P2X1 receptor activity was increased ($p < 0.001$). This activity of purine receptors can provide an increase in the contractile activity of smooth muscle cells while maintaining their basal relaxation. This is probably optimal for the small stone passage in the middle third of the ureter. In Group 2, during 4-6 days, the P2X1 receptor reactivity remained normal, but the activity of the P2Y receptor and the A2A receptor increased. This receptor activity did not change after 7-9 days. Therefore, the effective elimination of small calculi is associated with the hyperreactivity of the P2X1 receptor and the normoreactivity of the A2A receptor, whereas ineffective elimination is characterized by the normoreactivity of the P2X1 receptor and hyperreactivity of the A2A receptor. An increased activity of the A2A receptor may be a risk factor for stopping the small stone passage in the middle third of the ureter due to the restricted contractile activity of the muscle layer.

Conclusion. When small calculi are localized in the middle third of the ureter, the changes in purinergic signaling can be interpreted as evidence of intracellular Ca^{2+} modulation in smooth muscle cells, which allows optimization of contraction and relaxation phases of the ureter muscle layer.

Keywords: nephrolithiasis; pathogenesis of ureteral dysfunction; small stones passage; purine receptors

For citation: Barinov E.F., Malinin Y.Yu., Grigoryan Kh.V. Pathogenesis of ureteral dysfunction and compensatory mechanisms of small stone passage: the role of purinergic signaling. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2022; 66(3) 129-136. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.03.129-136

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 Medical Sciences, Prof., head of the department the Histology, Cytology and Embryology, «State educational organization of higher professional education M. Gorky Donetsk National Medical University», 83003 Donetsk, e-mail: barinov.ef@gmail.com

Financing. The study had no sponsorship.

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

Information about the authors:Barinov E.F., <https://orcid.org/0000-0002-8070-2242>Malinin Y.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-7809-5260>Grigoryan Kh.V., <https://orcid.org/0000-0001-5183-7650>

Received 24.03.2022

Accepted 14.06.2022

Published 12.09.2022

Ограниченность теоретических знаний, касающихся механизмов элиминации конкрементов из мочеочечника, сдерживает совершенствование литокинетической терапии (ЛКТ). Логично предположить, что эффективность элиминации конкрементов зависит от особенностей регуляции перистальтики мочевыводящих путей (МВП) при траффике конкрементов разных размеров. Так, при наличии средних (10–20 мм) и крупных (>20 мм) конкрементов, когда воспроизводится полная обтурация просвета мочеочечника, необходимо достигать максимальной релаксации гладкомышечных клеток (ГМК) в стенке мочеочечника, тогда как траффик мелких конкрементов (≤ 6 мм) требует фазного усиления сократительной активности мышечной оболочки МВП. Последнее достигается как адренергическими, так и неадренергическими механизмами, модулирующими перистальтику мочеочечника [1]. Особый интерес вызывают пуриновые нуклеотиды, эндотелины и метаболиты арахидоновой кислоты, которые участвуют в миогенной регуляции перистальтики мочеочечника. Нуклеотидные рецепторы P2 и нуклеозидные рецепторы P1, а также эктонуклеотидазы являются важными компонентами пуринергической сигнализации в ГМК [2]. P2X₁-рецепторы экспрессируются на ГМК мочевыводящих путей [3], причем молекула АТФ участвует в модуляции фаз сокращения и расслабления ГМК [4]. Стимуляция P2Y-рецепторов вызывает повышение тонуса гладкомышечной ткани мочеочечного пузыря [5]. Идентифицировано несколько рецепторов аденозина, участвующих в релаксационной реакции ГМК мочеочечного пузыря [6]. Вызванная аденозином гиперполяризация мембраны и расслабление гладкой мускулатуры мочевыводящих путей опосредованы A2A-рецептором и активацией K⁺-каналов посредством аденилатциклазы-цАМФ [7]. Приведенные факты свидетельствуют, что пуринергическая сигнализация может способствовать элиминации мелких конкрементов, участвуя в компенсаторных реакциях, регулирующих сокращение-расслабление ГМК.

Цель исследования – определение роли пуриновых P2X₁-, P2Y-рецепторов и аденозинового A2A-рецептора в патогенезе дисфункции мышечной оболочки и становлении компенсаторных механизмов, обеспечивающих траффик мелких конкрементов из средней трети мочеочечника.

Методика

Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964, 2004) и письменного добровольного информированного согласия всех паци-

ентов. Работа одобрена этическим комитетом университета. В исследование включено 58 пациентов с визуализационными признаками мелких (≤ 6 мм) конкрементов в средней трети мочеочечника. Пациентам на этапе госпитализации проведено комплексное клиническое обследование по традиционной схеме принятой для диагностики нефролитиаза (жалобы, сбор анамнеза, физикальный осмотр, клинико-инструментальные исследования, ультразвуковое обследование и компьютерная томография почек, микробиологический посев мочи, лабораторные исследования крови и мочи). Стандартная литокинетическая терапия (ЛКТ) включала нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), спазмолитики, антибиотики. Когорта больных распределена на две группы: с эффективной элиминацией конкрементов – 48 пациентов (1-я группа), у которых по данным визуализационного контроля в течение 9 сут произошло перемещение конкремента из средней трети мочеочечника в его нижнюю треть, интрамуральный отдел или просвет мочеочечного пузыря; а также с неэффективной элиминацией конкремента – 10 пациентов (2-я группа), у которых локализация конкремента сохранялась в пределах средней трети мочеочечника на протяжении 10 сут. Средний размер конкремента составил в 1-й группе $4,65 \pm 1,0$ мм (min-max 2,0–6,0 мм), во 2-й группе – $4,20 \pm 1,2$ мм (min-max 1,0–6,0 мм); межгрупповых различий размера не выявлено ($p > 0,05$).

Протокол исследования агрегационной способности тромбоцитов (Тц) соответствует Европейским рекомендациям по стандартизации агрегатометрии [8]. Оценку агрегации Тц (АТц) проводили турбидиметрическим методом на анализаторе ChronoLog (США). Тромбоциты больных использовали в качестве модели для оценки функциональной активности пуриновых P2X₁-, P2Y-рецепторов (P2Y₁-, P2Y₁₂) и аденозинового A2A-рецептора. В исследовании использовали агонисты соответствующих рецепторов: АТФ и АДФ и аденозин (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Германия) в концентрациях EC₅₀, вызывающих амплитуду агрегации 50% у здоровых лиц. Статистический анализ осуществлялся с использованием пакета MedCalc 18.10.2. Во всех случаях отличие считалось статистически значимым при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Частота элиминации мелких конкрементов из средней трети мочеочечника через 1–3 сут, 4–6 сут и 7–9 сут ЛКТ составила соответственно 5 (8,6%), 13 (22,5%) и 30 (51,7%) случаев. Неэффективная элиминация имела место у 10 (17,2%) пациентов.

Исследовательский вопрос – отличается ли активность P2X₁-рецептора при эффективной и неэффективной элиминации мелких конкрементов из средней трети мочеточника? На этапе госпитализации (до начала ЛКТ) у пациентов 1-й группы выявлена нормореактивность P2X₁-рецептора, тогда как во 2-й группе – его гипореактивность (табл. 1). В процессе ЛКТ у пациентов 1-й группы отмечено постепенное повышение функциональной активности P2X₁-рецептора. Максимальный прирост активности рецептора (на 33,5%; $p < 0,001$ по сравнению с исходными данными на этапе госпитализации) отмечен во временном интервале 7-9 сут ЛКТ, когда элиминация конкрементов была подтверждена у 30 (62,5%) пациентов 1-й группы. Необходимо отметить, что у 13 (27,1%) пациентов с подтвержденной элиминацией конкрементов через 4-6 сут также имела место гиперреактивность P2X₁-рецептора (62,5±0,6%; 95%ДИ 61,1-63,8%). Данный факт позволяет рассматривать повышение активности P2X₁-рецептора как стереотипную реакцию, обеспечивающую усиление сократительной активности мышечной оболочки в средней трети мочеточника.

Во 2-й группе максимальное повышение активности P2X₁-рецептора (на 23,2%; $p < 0,001$ по сравнению с исходными данными) имело место в интервале 1-3 сут ЛКТ. Установившийся диапазон нормореактивности данного рецептора сохранялся на протяжении всего периода наблюдения. На 7-9 сут активность P2X₁-рецептора во 2-й группе была на 25,0% ($p < 0,001$) меньше, чем

в 1-й группе. На основании полученных фактов можно констатировать, что пуринергическая сигнализация, посредством стимуляции P2X₁-рецептора, участвует в компенсаторной реакции мышечной оболочки, обеспечивающей трафик мелких конкрементов в средней трети мочеточника. Значимость такой модуляции в усилении сократительной активности мочеточника подтверждается следующими фактами. Во-первых, гипоксия/ишемия тканей мочевыводящих путей (МВП) сопровождается высвобождением АТФ из клеток и повышением экспрессии P2X-рецепторов на ГМК [9]. Молекулы АТФ секретируются из эфферентных нервных окончаний вместе с норадреналином и могут усиливать сократительную активность мочеточника независимо от стимуляции α₁-адренорецептора [10]. Во-вторых, стимуляция P2X-рецептора сопровождается деполяризацией и сокращением ГМК; в тоже время АТФ имеет решающее значение для инициации потенциалов действия в афферентных нервах [11]. В третьих, АТФ-чувствительные каналы (KIR6.2) могут модулировать релаксацию ГМК [12], а, следовательно, имеется потенциальная возможность координации фаз сокращения и расслабления мышечной оболочки мочеточника.

Известно, что при повышении уровня внеклеточного АТФ усиливается процесс гидролиза пуриновых нуклеотидов посредством эктонуклеотидазы (CD39), в результате чего образуется АДФ [13]. Применительно к анализу пуринергической регуляции перистальтики

Таблица 1/ Table 1

Активность пуринового P2X₁-рецептора при эффективной (1-я группа) и неэффективной (2-я группа) элиминации мелких конкрементов из средней трети мочеточника на фоне стандартной ЛКТ

Purine P2X1 receptor activity in effective (Group 1) and ineffective (Group 2) elimination of small concretions from the middle third of the ureter with standard LCT

| Период исследования Research period | Функциональная активность P2X ₁ -рецептора Functional activity of the P2X1 receptor | | | |
|--|---|-----------|----------------------------------|-----------|
| | 1-я группа (n=48) Group 1 | | 2-я группа (n=10) Group 2 | |
| | X±m | Min–Max | X±m | Min–Max |
| До ЛКТ Before LCT | 48,3±0,3 | 45,0-52,0 | 42,3±1,3 $p_{1,2} < 0,001$ | 31,0-45,0 |
| 1-3 суток ЛКТ 1-3 days LCT | 54,5±0,5*** (n=48) | 46,0-60,0 | 52,1±0,7*** $p_{1,2} < 0,001$ | 57,0-68,0 |
| 4-6 суток ЛКТ 4-6 days LCT | 59,3±0,4*** (n=43) | 55,0-66,0 | 53,3±0,7 $p_{1,2} < 0,001$ | 51,0-56,0 |
| 7-9 суток ЛКТ 7-9 days LCT | 64,5±0,6*** (n=30) | 58,0-69,0 | 48,4±0,7*** $p < 0,001$ | 45,0-52,0 |

Примечание. *** – статистическая значимость различий относительно предыдущего срока наблюдения $p < 0,001$; $p_{1,2}$ – статистическая значимость различий между 1-й и 2-й группой.

Note. *** – statistical significance of differences relative to previous observation period $p < 0,001$; $p_{1,2}$ – statistical significance of differences between Group 1 and Group 2.

мочеточника при нефролитиазе, важным представляется сопоставление активности P2X₁-рецептора и P2Y-рецептора, с учетом возможности их взаимодействия при повышении сократительной активности ГМК [14].

Исследовательский вопрос – изменяется ли активность P2Y-рецепторов при траффике мелких конкрементов в средней трети мочеточника? На этапе госпитализации до начала ЛКТ у пациентов обеих групп выявлена нормореактивность P2Y-рецепторов (табл. 2). В 1-й группе нормореактивность P2Y-рецепторов сохранялась в раннем периоде (1-3 сут) ЛКТ и сменялась их гиперреактивностью, начиная с 4-х сут консервативного лечения. Прирост активности через 4-6 сут ЛКТ составил 10,0% и через 7-9 сут – 10,9% ($p<0,001$), что отражает достижение стационарного уровня пуринового метаболизма. Во 2-й группе через 1-3 сут ЛКТ обнаружена гиперреактивность P2Y-рецепторов, причем их активность превышала таковую в 1-й группе на 14,9% ($p<0,001$). Более высокий уровень активности P2Y-рецепторов у пациентов 2-й группы имел место через 4-6 сут и 7-9 сут, когда межгрупповая разница достигала, соответственно, 18,6% и 17,6% ($p<0,001$).

Следовательно, при неэффективной элиминации конкрементов стационарный уровень гидролиза АТФ, хотя и на более высоком уровне, также устанавливался на 4-е сут ЛКТ. Остается вопрос – имеется ли связь между повышением активности P2Y-рецепторов и траф-

фиком мелких конкрементов в мочеточнике, тем более, что гиперреактивность P2Y-рецепторов выявлена в обеих группах, начиная с 4-х суток? В определенной степени ответом на этот вопрос могут быть результаты анализа взаимосвязи между активностью пуриновых P2X₁- и P2Y-рецепторов. Установлено, что через 7-9 сут в 1-й и 2-й группах сила корреляционной связи отличалась, соответственно, $r_{P2X_1-P2Y}=0,375$ и $r_{P2X_1-P2Y}=0,611$ ($p<0,05$). Можно предположить, что при неэффективной элиминации конкрементов взаимодействие пуринергических рецепторов способствовало критическому повышению уровня внутриклеточного Ca²⁺ для которого характерно усиление базального тонуса (гипертонус) мышечной оболочки мочеточника. На возможность синергии пуриновых P2-рецепторов указывают [15], причем следствием такого взаимодействия было длительное повышение тонуса гладкомышечной ткани мочевого пузыря. При эффективной элиминации слабая сила связи между активностью P2X₁- и P2Y-рецепторов может отражать ограничение функции эктонуклеотидазы (CD39), позволяющее поддерживать высокий уровень внеклеточного АТФ.

Гипотеза – можно предположить, что трансформация пуриновых нуклеотидов в стенке МВП имеет конечной целью образование аденозина, который обладает антигипоксантным и противовоспалительным эффектом [16]. В этом случае повышение активности аденозино-

Таблица 2/ Table 2

Активность пуринового P2Y-рецепторов при эффективной (1-я группа) и неэффективной элиминации (2-я группа) мелких конкрементов из средней трети мочеточника на фоне стандартной ЛКТ

Purine P2Y receptor activity in effective (Group 1) and ineffective (Group 2) elimination of small concrements from the middle third of the ureter with standard LCT

| Период исследования Research period | Функциональная активность P2Y-рецепторов Functional activity of the P2Y receptor | | | |
|--|---|-----------|--------------------------------|-----------|
| | 1-я группа (n=48) Group 1 | | 2-я группа (n=10) Group 2 | |
| | X±m | Min–Max | X±m | Min–Max |
| До ЛКТ Before LCT | 53,2±0,4 | 50,0-58,0 | 48,5±0,3 $p_{1,2}<0,001$ | 47,0-50,0 |
| 1-3 суток ЛКТ 1-3 days LCT | 51,7±0,5* (n=48) | 45,0-59,0 | 59,1±0,7*** $p_{1,2}<0,001$ | 57,0-63,0 |
| 4-6 суток ЛКТ 4-6 days LCT | 58,5±0,7*** (n=43) | 50,0-66,0 | 69,4±0,5*** $p_{1,2}<0,001$ | 67,0-71,0 |
| 7-9 суток ЛКТ 7-9 days LCT | 59,0±0,8 (n=30) | 51,0-67,0 | 69,4±0,4 $p<0,001$ | 68,0-70,0 |

Примечание. * – статистическая значимость различий относительно предыдущего срока наблюдения $p<0,05$; *** – $p<0,001$; $p_{1,2}$ – статистическая значимость различий между 1-й и 2-й группой.

Note. * – statistical significance of differences relative to previous observation period $p<0,05$; *** – $p<0,001$; $p_{1,2}$ – statistical significance of differences between Group 1 and Group 2.

вых А2-рецепторов могло бы рассматриваться как компенсаторный механизм, направленный на снижение негативного влияния гипоксии/ишемии на мышечную оболочку мочеточника и ингибирование воспаления в МВП при нефролитиазе. Изменяется ли при этом перистальтика мочеточника и влияет ли стимуляция А2А-рецепторов на трафик мелких конкрементов не известно.

Исследовательский вопрос – отличается ли активность аденозинового А2А-рецептора при эффективной и неэффективной элиминации мелких конкрементов из средней трети мочеточника? До начала ЛКТ у пациентов 1-й группы с эффективной элиминацией конкрементов выявлена нормореактивность А2А-рецептора, которая сохранялась в этом диапазоне на протяжении 9 сут ЛКТ (табл. 3). Известно, что при стимуляции А2А-рецепторов развивается релаксация ГМК, связанная с активацией К⁺-каналов [17]. Считается, что внеклеточный аденозин противодействует эффектам активации пуриновых Р2-рецепторов; баланс между внеклеточным АТФ и аденозином регулируется главным образом активностью нуклеотидаз CD39 и CD73, которые формируют аденозинэргическую ось [18]. В этой связи сохранение нормореактивности Р2X₁-, Р2Y-рецепторов и А2А-рецепторов, отражает поддержание физиологического уровня пуринергической модуляции перистальтики при локализации мелких конкрементов в средней трети мочеточника.

Данный механизм, если судить по частоте элиминации мелких конкрементов, оказался малоэффективным для выведения конкрементов через 1-3 сут ЛКТ.

Через 4-6 сут ЛКТ обнаружено повышение активности Р2X₁-, Р2Y-рецепторов и сохранение нормореактивности А2А-рецептора. Представленный кластер активности рецепторов отражает: (а) повышение уровня внеклеточного АТФ; (б) включение адаптационной метаболической реакции с участием эктонуклеотидазы (CD39), направленной на гидролиз избытка АТФ; (в) сохранение стабильного физиологического уровня аденозина посредством взаимодействия нуклеотидазы (CD73) и аденозиндезаминазы. На этапе выведения конкрементов через 7-9 сут синхронно повышалась активность А2А-рецептора и Р2X₁-рецептора, соответственно, на 9,0% и 8,8% (*p* < 0,001) по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. При этом стимуляция А2А-рецептора оставалась в диапазоне нормореактивности; тогда как стимуляция Р2X₁-рецептора достигала максимального значения гиперреактивности. Применительно к случаям с доказанной элиминацией конкрементов, выявленные особенности пуринергической сигнализации могут трактоваться как свидетельство оптимальной модуляции внутриклеточного уровня Са²⁺ в ГМК, позволяющей координировать процесс сокращения и расслабления мышечной оболочки мочеточника. В литературе приводятся до-

Таблица 3/ Table 3

Активность аденозинового А2А-рецепторов при эффективной (1-я группа) и неэффективной элиминации (2-я группа) мелких конкрементов из средней трети мочеточника на фоне стандартной ЛКТ

Adenosine A2A receptor activity in effective (Group 1) and ineffective (Group 2) elimination of small concrements from the middle third of the ureter with standard LCT

| Период исследования Research period | Функциональная активность А2А-рецептора Functional activity of the A2A receptor | | | |
|--|--|-----------|---|-----------|
| | 1-я группа (n=48) Group 1 | | 2-я группа (n=10) Group 2 | |
| | X±m | Min–Max | X±m | Min–Max |
| До ЛКТ Before LCT | 51,7±0,5 (n=48) | 48,0–58,0 | 46,6±0,3 <i>p</i> ₁₋₂ <0,001 | 45,0–48,0 |
| 1-3 суток ЛКТ 1-3 days LCT | 49,0±0,2*** (n=48) | 45,0–52,0 | 58,8±1,1*** <i>p</i> ₁₋₂ <0,001 | 55,0–64,0 |
| 4-6 суток ЛКТ 4-6 days LCT | 45,4±0,7*** (n=43) | 35,0–55,0 | 68,2±0,6*** <i>p</i> ₁₋₂ <0,001 | 65,0–70,0 |
| 7-9 суток ЛКТ 7-9 days LCT | 49,5±0,7*** (n=30) | 41,0–56,0 | 69,3±0,8 <i>p</i> ₁₋₂ <0,001 | 66,0–73,0 |

Примечание. *** – статистическая значимость различий относительно предыдущего срока наблюдения *p* < 0,001; *p*₁₋₂ – статистическая значимость различий между 1-й и 2-й группой.

Note. *** – statistical significance of differences relative to previous observation period *p* < 0.001; *p*₁₋₂ – statistical significance of differences between Group 1 and Group 2.

казательства такой модуляции путем взаимодействия P2Y₁₂-рецептора и аденозинового A2B-рецептора; при этом ограничение сократимости стенки мочевого пузыря вызванное АТФ и АДФ обеспечивалось аденозином посредством аденилатциклазы-цАМФ [19].

У пациентов 2-й группы на этапе госпитализации выявлена нормореактивность A2A-рецептора, которая через 1-3 сут ЛКТ сменялась гиперреактивностью; за указанный период прирост активности данного рецептора составил 26,2% ($p < 0,001$) относительно исходных значений. В дальнейшем сохранилась тенденция к увеличению активности A2A-рецептора: через 4-6 сут прирост составил 46,3% и через 7-9 сут – 48,7% ($p < 0,001$) по сравнению с исходными значениями. Следовательно, при неэффективной элиминации мелких конкрементов активность аденозинового рецептора повышалась с момента начала ЛКТ, достигала «плато» на 4-е сут и оставалась на стабильном уровне гиперреактивности в течение 9 сут. Необходимо отметить, что у пациентов 2-й группы активность A2A-рецептора была выше, чем в 1-й группе: через 1-3 сут – на 20,0%, 4-6 сут – на 50,2% и 7-9 сут – на 40,0% ($p < 0,001$). Интегрируя полученные данные можно сформулировать основные закономерности пуринергической модуляции перистальтики при траффике мелких конкрементов в средней трети мочеточника. При эффективной элиминации – в первые трое суток ЛКТ поддерживалась нормореактивность пуриновых P1 и P2 рецепторов, которая с 4-х сут сменялась гиперреактивностью P2X₁-рецептора и P2Y-рецепторов при сохранении нормореактивности A2A-рецептора. При неэффективной элиминации в первые трое суток ЛКТ возникала гиперреактивность P2Y-рецепторов и A2A-рецептора и поддерживалась нормальность P2X₁-рецептора; в дальнейшем активность P2Y-рецепторов и A2A-рецептора возрастала, а нормореактивность P2X₁-рецептора сохранялась. Таким образом, при неэффективной элиминации: (а) основной причиной нарушения транспорта мелких конкрементов в интервале 4-9 сут является усиление пуринергической релаксации ГМК, вызванной стимуляцией A2A-рецепторов; (б) нормореактивность P2X₁-рецептора являлась фактором лимитирующим повышение сократительной активности мышечной оболочки мочеточника; (в) гиперреактивность P2Y-рецепторов не обеспечивала аддитивный эффект, который позволил бы увеличить силу сокращения ГМК.

Полученные результаты позволяют сформулировать концепцию патогенеза дисфункции мочеточника при наличии в его просвете мелких конкрементов. Вероятно, у части пациентов с нефролитиазом, вследствие низкой эффективности консервативной терапии, траффик

конкрементов происходит на фоне выраженной гипоксии/ишемии тканей мочеточника и наличии инфекции в МВП. При этом запускается защитная реакция организма связанная с интенсификацией метаболизма пуринов, конечной целью которой может быть повышение продукции аденозина и стимуляция A2-рецепторов. Одним из биологических эффектов данного типа рецепторов является уменьшение уровня Ca²⁺ в ГМК и снижение тонуса мышечной оболочки МВП. При длительном поддержании гиперреактивности A2A-рецептора включается петля отрицательной обратной связи, направленная на снижение метаболизма пуринов и ограничение активности P2X₁-рецептора. Подтверждением этого положения может быть наличие отрицательной корреляционной связи между активностью A2A-рецептора и P2X₁-рецептора ($r_{A2-P2X} = -0,601$; $p < 0,05$) во 2-й группе и отсутствие таковой в 1-й группе пациентов. Возможность влияния аденозинового A2A-рецептора на чувствительность пуриновых P2 рецепторов обсуждалась в литературе [20]. В результате возникающего дисбаланса содержания пуриновых нуклеотидов и нуклеозидов, возрастает уровень внеклеточного аденозина и воспроизводится выраженная релаксация ГМК. При этом нормореактивность P2X рецептора и гиперреактивность P2Y-рецептора не обеспечивают должного усиления сократительной активности мышечной оболочки, позволяющей удалять мелкие конкременты из просвета МВП. Иная ситуация складывается при эффективной элиминации мелких конкрементов. Наличие избытка АТФ, одновременная стимуляция P2X₁-и P2Y-рецепторов вызывают повышение уровня Ca²⁺ в ГМК и усиление сократительной активности мышечной оболочки, при этом сохраняющаяся физиологическая концентрация аденозина и нормореактивность A2A-рецептора поддерживают базальный уровень релаксации ГМК. Превалирование пуринергических механизмов, усиливающих сокращение мышечной оболочки, над аденозин-индуцированной релаксацией обеспечивает оптимальную модуляцию перистальтики для выведения мелких конкрементов из просвета мочеточника.

Дальнейшее исследование влияния пуриновых P1 и P2 рецепторов на цикл сокращение-расслабление гладкой мышечной ткани мочевыводящих путей позволит оценить перспективу использования соответствующих агонистов для совершенствования тактики консервативного лечения при расположении конкрементов в средней трети мочеточника.

Выводы:

1. При траффике мелких (≤ 6 мм) конкрементов в средней трети мочеточника изменяется активность

пуриновых P1 и P2 рецепторов, способных изменять содержание ионов Ca^{2+} в гладкомышечных клетках, что подтверждает участие пуринергической сигнализации в модуляции перистальтики мочевыводящих путей при нефролитиазе.

2. Эффективная элиминация мелких конкрементов воспроизводится на фоне гиперреактивности P2X₁-рецептора, P2Y-рецептора и нормореактивности аденозинового A2A-рецептора. Данный кластер активности пуриновых рецепторов может обеспечить усиление сократительной активности гладкомышечных клеток при сохранении их базальной релаксации, что, вероятно, является оптимальным для траффика мелких конкрементов в средней трети мочеточника.

3. Нарушение элиминации мелких конкрементов возникало у пациентов с нормореактивностью P2X₁-рецептора, гиперреактивностью P2Y-рецептора и A2A-рецептора.

Ключевым фактором патогенеза дисфункции мочеточника может быть повышение содержания аденозина, снижающего уровень внутриклеточного Ca^{2+} в гладкомышечных клетках; при этом возникающее нарушение взаимодействия актиновых и миозиновых филаментов ограничивает сократительную активность мышечной оболочки мочеточника, обеспечивающей траффик мелких конкрементов.

Литература/References

- Guan N.N., Gustafsson L.E., Svennersten K. Inhibitory Effects of Urothelium-related Factors. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2017; 121(4): 220-4. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12785>
- Kishore BK, Robson SC, Dwyer KM. CD39-adenosinergic axis in renal pathophysiology and therapeutics. *Purinergic Signal.* 2018; 14(2): 109-20. <https://doi.org/10.1007/s11302-017-9596-x>
- Marucci G., Dal Ben D., Buccioni M., Marti Navia A., Spinaci A., Volpini R., et al. Update on novel purinergic P2X3 and P2X2/3 receptor antagonists and their potential therapeutic applications. *Expert Opin Ther Pat.* 2019; 29(12): 943-63. <https://doi.org/10.1080/13543776.2019.1693542>
- Aronsson P., Andersson M., Ericsson T., Giglio D. Assessment and characterization of purinergic contractions and relaxations in the rat urinary bladder. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2010; 107(1): 603-13. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2010.00554.x>
- Yu W., Hill W.G., Robson S.C., Zeidel M.L. Role of P2X4 Receptor in Mouse Voiding Function. *Sci Rep.* 2018; 8(1): 1838. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20216-4>
- Silva I., Magalhães-Cardoso M.T., Ferreirinha F., Moreira S., Costa A.F., Silva D., et al. β_3 Adrenoceptor-induced cholinergic inhibition in human and rat urinary bladders involves the exchange protein directly activated by cyclic AMP 1 favoring adenosine release. *Br J Pharmacol.* 2020; 177(7): 1589-608. <https://doi.org/10.1111/bph.14921>
- Gopalakrishnan S.M., Buckner S.A., Milicic I., Groebe D.R., Whiteaker K.L., Burns D.J., et al. Functional characterization of adenosine receptors and coupling to ATP-sensitive K⁺ channels in Guinea pig urinary bladder smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002; 300(3): 910-7. <https://doi.org/10.1124/jpet.300.3.910>
- Harrison P., Mackie I., Mumford A. British. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. *Brit Journal of Haematology.* 2011; 155 (1): 30-44. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2011.08793.x>
- Qian Y., Qian C., Xie K., Fan Q., Yan Y., Lu R., et al. P2X7 receptor signaling promotes inflammation in renal parenchymal cells suffering from ischemia-reperfusion injury. *Cell Death Dis.* 2021; 12(1): 132. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-03384-y>
- Gonzalez-Montelongo M.D.C., Fountain S.J. Neuropeptide Y facilitates P2X1 receptor-dependent vasoconstriction via Y1 receptor activation in small mesenteric arteries during sympathetic neurogenic responses. *Vascul Pharmacol.* 2021; 136: 106810. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2020.106810>
- North R.A. P2X receptors. *Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2016; 371(1700): 20150427. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.042710>
- Smith P.A. K⁺ Channels in Primary Afferents and Their Role in Nerve Injury-Induced Pain. *Front Cell Neurosci.* 2020; 14: 566418. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.566418>
- Faas M.M., Sáez T., de Vos P. Extracellular ATP and adenosine: The Yin and Yang in immune responses? *Mol Aspects Med.* 2017; 55: 9-19. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.01.002>
- Ralevic V., Dunn W.R. Purinergic transmission in blood vessels. *Auton Neurosci.* 2015; 191: 48-66. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2015.04.007>
- Yu W., Sun X., Robson S.C., Hill W.G. Extracellular UDP enhances P2X-mediated bladder smooth muscle contractility via P2Y(6) activation of the phospholipase C/inositol trisphosphate pathway. *FASEB J.* 2013; 27(5): 1895-903. <https://doi.org/10.1096/fj.12-219006>
- Alexopoulos D., Moulia A., Koutsogiannis N., Xanthopoulou I., Kakkavas A., Mavronasiou E., et al. Differential effect of ticagrelor versus prasugrel on coronary blood flow velocity in patients with non-ST-elevation acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention: an exploratory study. *Circ Cardiovasc Interv.* 2013; 6(3): 277-83. <https://doi.org/10.1161/CIRCINTERVENTIONS.113.000293>
- Kleppisch T., Nelson M.T. Adenosine activates ATP-sensitive potassium channels in arterial myocytes via A2 receptors and cAMP-dependent protein kinase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995; 92(26): 12441-5. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.26.12441>
- Kishore B.K., Robson S.C., Dwyer K.M. CD39-adenosinergic axis in renal pathophysiology and therapeutics. *Purinergic Signal.* 2018; 14(2): 109-20. <https://doi.org/10.1007/s11302-017-9596-x>
- Hao Y., Wang L., Chen H., Hill W.G., Robson S.C., Zeidel M.L., et al. Targetable purinergic receptors P2Y12 and A2b antagonistically regulate bladder function. *JCI Insight.* 2019; 4(16): e122112. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.122111>
- Fong Z., Griffin C.S., Large R.J., Hollywood M.A., Thornbury K.D., Sergeant G.P. Regulation of P2X1 receptors by modulators of the cAMP effectors PKA and EPAC. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2021; 118(37): e2108094118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2108094118>

Сведения об авторах:

Баринов Эдуард Федорович, доктор мед. наук, проф., зав. каф. гистологии, цитологии и эмбриологии ГОО ВПО

«Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького», Донецк, ДНР, e-mail: barinov.ef@gmail.com;

Малинин Юрий Юрьевич, канд. мед. наук, зав. каф. урологии ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького»; Донецк, ДНР;

Григорян Хачен Владимирович, канд. мед. наук, ассистент каф. урологии ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького», Донецк, ДНР, e-mail: khachengrigoryan@gmail.com