

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ДОНЕЦКОЙ НАРОДНОЙ  
РЕСПУБЛИКИ  
ГОСУДАРСТВЕННАЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ВЫСШЕГО  
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «ДОНЕЦКИЙ  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ им. М. ГОРЬКОГО»

*На правах рукописи*

**ГРИГОРЯН ХАЧЕН ВОЛОДЯЕВИЧ**

УДК 616.613 – 003.7 + 615.254.7 : 616.617

**МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ МОТОРИКИ МОЧЕТОЧНИКА ПРИ  
ЛИТОКИНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ  
С НЕФРОЛИТИАЗОМ**

3.3.3. Патологическая физиология

**ДИССЕРТАЦИЯ**  
на соискание учёной степени  
доктора медицинских наук

Научный консультант:  
**Баринов Эдуард Федорович**  
доктор медицинских наук, профессор

*Экземпляр идентичный всем  
существующим у Учёного секретаря  
Диссертационного совета Д 01.022.05*

Донецк – 2023

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....</b>	<b>6</b>
<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>7</b>
<b>ГЛАВА 1 ПАТОГЕНЕЗ ДИСФУНКЦИИ МОЧЕТОЧНИКА ПРИ ОБСТРУКТИВНОЙ НЕФРОПАТИИ И ЛКТ.....</b>	<b>17</b>
1.1 Факторы риска и патогенез НЛТ.....	17
1.2 Предикторы спонтанной элиминации конкрементов из мочеточника и терапевтическая эффективность агонистов и блокаторов $\alpha_1$ -адренорецепторов.....	20
1.3 Рецепторный аппарат и ассоциированные сигнальные пути, принимающие участие в регуляции функции гладкой мышечной ткани МВП.....	29
1.4 Пути сигнализации транспорта внутриклеточного $Ca^{2+}$ : возможности исследования рецепторов, связанных с G-белком (GPCR), на модели изолированных Тц.....	41
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....</b>	<b>45</b>
2.1 Дизайн исследования и клиническая характеристика пациентов.....	45
2.2 Клинико-инструментальное обследование больных с нефролитиазом.....	47
2.3 Методы консервативного лечения пациентов с наличием конкрементов в мочеточнике.....	49
2.4 Лабораторные исследования.....	51
2.5 Исследование агрегации тромбоцитов.....	53
2.6 Статистическая обработка результатов исследования.....	60
<b>ГЛАВА 3. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДИСФУНКЦИИ МОЧЕТОЧНИКА ПРИ НЕФРОЛИТИАЗЕ.....</b>	<b>62</b>
3.1 Результаты клинико-инструментального обследования пациентов с нефролитиазом .....	62

3.2	Предикторы и механизмы развития гематурии при нефролитиазе.....	67
3.3	Факторы риска и механизмы развития пиелонефрита при нефролитиазе.....	75
3.4	Анализ факторов риска развития осложнений нефролитиаза .....	81
<b>ГЛАВА 4. ГЕНДЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ НЕФРОЛИТИАЗА, МОДУЛИРУЮЩИХ ДИСФУНКЦИЮ МОЧЕТОЧНИКА.....</b>		<b>97</b>
4.1	Особенности развития осложнений нефролитиаза у мужчин .....	97
4.2	Нефролитиаз как фактор риска инфекции мочевыводящих путей у женщин.....	106
4.3	Ассоциация нефролитиаза с артериальной гипертензией: гендерные особенности патогенеза коморбидности.....	115
4.4	Молекулярные механизмы развития осложнений нефролитиаза, ассоциированного с СД 2-го типа.....	121
<b>ГЛАВА 5. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ МОТОРИКИ МВП ПРИ ЛИТОКИНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ КОНКРЕМЕНТОВ СРЕДНИХ РАЗМЕРОВ В ВЕРХНЕЙ ТРЕТИ МОЧЕТОЧНИКА.....</b>		<b>129</b>
5.1	Анализ <i>in vitro</i> активности рецепторов, регулирующих моторику МВП при нефролитиазе. ....	130
5.2	Анализ <i>in vitro</i> активности рецепторов, регулирующих моторику МВП через 24-72ч ЛКТ. ....	135
5.3	Анализ <i>in vitro</i> активности рецепторов, регулирующих моторику МВП через 5-10 суток ЛКТ. ....	141
5.4	Трансформация и взаимодействие путей сигнализации $\alpha 2$ -адренорецептора, P2X <sub>1</sub> -рецептора и TR-рецептора, регулирующих сократимость мышечной оболочки мочеточника при эффективной и неэффективной ЛКТ.....	150

5.5	Трансформация и взаимодействие путей сигнализации аденозинового A2A-рецептора, регулирующего релаксацию мышечной оболочки мочеточника при эффективной и неэффективной ЛКТ.....	163
<b>ГЛАВА 6. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ БЫСТРОЙ И МЕДЛЕННОЙ ЭЛИМИНАЦИИ КОНКРЕМЕНТОВ СРЕДНИХ РАЗМЕРОВ ИЗ ВЕРХНЕЙ ТРЕТИ МОЧЕТОЧНИКА ПРИ ЛКТ.....</b>		<b>168</b>
6.1	Анализ <i>in vitro</i> внутриклеточной сигнализации, связанной с $\alpha_2$ -адренорецептором, при быстрой и медленной элиминации конкрементов на фоне ЛКТ.....	168
6.2	Анализ <i>in vitro</i> внутриклеточной сигнализации, связанной с пуриновым P2X <sub>1</sub> -рецептором, при быстрой и медленной элиминации конкрементов на фоне ЛКТ.....	174
6.3	Анализ <i>in vitro</i> внутриклеточной сигнализации, связанной с TR-рецептором, при быстрой и медленной элиминации конкрементов на фоне ЛКТ.....	180
6.4	Анализ <i>in vitro</i> внутриклеточной сигнализации, связанной с аденозиновым A2A-рецептором, при быстрой и медленной элиминации конкрементов на фоне ЛКТ.....	187
<b>ГЛАВА 7. СИГНАЛЬНАЯ ТРАНСДУКЦИЯ ЭЛИМИНАЦИИ МЕЛКИХ КОНКРЕМЕНТОВ ИЗ СРЕДНЕЙ ТРЕТИ МОЧЕТОЧНИКА ПРИ ЛКТ....</b>		<b>193</b>
7.1	Сигральная трансдукция при неэффективной элиминации мелких конкрементов из средней трети мочеточника.....	193
7.2	Сигральная трансдукция при эффективной элиминации мелких конкрементов из средней трети мочеточника .....	203
7.3	Анализ <i>in vitro</i> активности рецепторов, модулирующих моторику МВП при различной скорости траффика мелких конкрементов, через 3 суток ЛКТ.....	211

7.4	Анализ <i>in vitro</i> активности рецепторов, модулирующих моторику МВП при различной скорости траффика мелких конкрементов, через 6 суток ЛКТ.....	219
7.5	Анализ <i>in vitro</i> активности рецепторов, модулирующих моторику МВП, через 7-9 суток ЛКТ.....	225
<b>ГЛАВА 8. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭЛИМИНАЦИИ КОНКРЕМЕНТОВ ИЗ СРЕДНЕЙ И НИЖНЕЙ ТРЕТИ МОЧЕТОЧНИКА ПРИ МОДУЛЯЦИИ ФУНКЦИИ <math>\alpha_{1A}</math>-АДРЕНОРЕЦЕПТОРА В НЕЙРО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ .....</b>		<b>232</b>
8.1	Влияние блокады $\alpha_{1A}$ -адренорецептора на механизмы эффективной элиминации мелких конкрементов из средней и нижней трети мочеточника .....	232
8.2	Компенсаторные механизмы траффика мелких конкрементов в мочеточнике при сохранении функции $\alpha_{1A}$ -адренорецептора.....	237
8.3	Влияние блокады $\alpha_{1A}$ -адренорецептора на механизмы эффективной элиминации средних конкрементов из мочеточника.....	244
8.4	Влияние блокады $\alpha_{1A}$ -адренорецептора на механизмы неэффективной элиминации средних конкрементов из мочеточника.....	252
8.5	Компенсаторные механизмы траффика средних конкрементов в мочеточнике при сохранении функции $\alpha_{1A}$ -адренорецептора .....	261
<b>АНАЛИЗ И ОБОБЩЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....</b>		<b>272</b>
<b>ВЫВОДЫ.....</b>		<b>303</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....</b>		<b>306</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>		<b>309</b>

## ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АТц	–агрегация тромбоцитов
АТФ	–(Adenosine 5'-triphosphate disodium salt hydrate) нуклеотид
АДФ	–(Adenosine 5'-diphosphate sodium salt) – нуклеотид
Ан-2	–ангиотензин-2, олигопептидный гормон
ГМК	–гладкие мышечные клетки
ДИ	–доверительный интервал
ИМП	–инфекция мочевыводящих путей
ЕС	–эффективная концентрация агониста
ЛКТ	–литокINETическая терапия
МВП	–мочевыводящие пути
МОМ	–мышечная оболочка мочеточника
НЭК	–неэффективная элиминация конкрементов
РАС	–ренин-ангиотензиновая система
САС	–симпато-адреналовая система
ТхА2	–тромбоксан А2
Тц	–тромбоциты
ЦОГ	–циклооксигеназа
ЭЭК	– эффективная элиминация конкрементов
$\alpha_{1A}$ -АБ	–блокатор $\alpha_{1A}$ -адренорецептора
A2A-2R	–аденозиновый A2A-рецептор к аденозину
$\alpha_2$ -AR	– $\alpha_2$ - адренорецептор к адреналину
AT <sub>1</sub> -R	–ангиотензиновый AT <sub>1</sub> -рецептор к Ангиотензину II
P2X <sub>1</sub> -R	–пуриновый P2X <sub>1</sub> -рецептор к АТФ.
P2Y-R	–пуриновый P2Y-рецептор к АДФ
TP-R	–тромбоксановый рецептор к ТхА2
GPCRs	G-protein-coupled receptors

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** Регуляция функции мышечной оболочки мочеточника (МОМ) при траффике конкрементов остается малоизученной проблемой патофизиологии. В физиологических условиях перистальтика мочеточника обусловлена индивидуальной реактивностью организма, которая определяется полом, возрастом, экспрессией разных типов  $\alpha$ -,  $\beta$ -адренорецепторов и М-холинорецепторов [187; 274]. При обструкции просвета мочевыводящих путей (МВП) траффик конкрементов зависит от эффективности компенсаторных механизмов, направленных на усиление сократительной активности и/или релаксации гладкомышечных клеток (ГМК) мочеточника [253]. Становление и функционирование компенсаторных механизмов мочеточника обеспечивается как локальной (ауто-, паракринная), так и системной гуморальной регуляцией [117]. К наиболее значимым регуляторам перистальтики мочеточника при обструктивной нефропатии следует отнести биологически активные вещества (пуриновые нуклеотиды, NO и метаболиты арахидоновой кислоты), секретируемые уротелием, ГМК, тромбоцитами и лейкоцитами [144; 382], а также катехоламины и ангиотензин-2, выделяемые при активации симпато-адреналовой системы (САС) и ренин-ангиотензиновой системы (РАС) почек [166; 39].

В современных схемах литокинетической терапии (ЛКТ), направленных на регуляцию моторики МВП при нефролитиазе (НЛТ), рекомендуется использование селективных  $\alpha_{1A}$ -адреноблокаторов ( $\alpha_1$ АБ), НПВП, спазмолитиков, блокаторов  $Ca^{2+}$ -каналов, а также средств для профилактики и лечения инфекций МВП [374; 23]. Причем ключевую роль в протоколах лечения МКБ отводят  $\alpha_1$ АБ, которые призваны обеспечить релаксацию ГМК, дилатацию просвета мочеточника и элиминацию конкрементов [153]. Однако, целесообразность назначения  $\alpha_1$ АБ считается доказанной только в случаях, когда размер конкремента в МВП превышал 5 мм [67; 142], что предопределяет рост количества экстренных малоинвазивных оперативных

вмешательств на МВП при нефролитолизе [398]. Нарушение траффика конкрементов при стандартной ЛКТ может быть связано с низкой чувствительностью  $\alpha_1$ -адренорецептора или уменьшением секреции норадреналина из пресинаптической части нейро-мышечного синапса [140]; повышением активности  $\alpha_2$ -адренорецептора, провоцирующего контрактуру гладкой мышечной ткани, что нарушает траффик конкрементов средних размеров [273]; пластичностью пуринергической сигнализации, координирующей процессы сокращения-расслабления ГМК [141]; резистентностью организма к фармакологическим препаратам. Следует признать, что отсутствие знаний, касающихся регуляции моторики мочеточника при НЛТ, сдерживает разработку стратегии ЛКТ. [392]. Требуют изучения механизмы регуляции разных отделов мочеточника при эффективной и неэффективной элиминации конкрементов [378]. Необходимо выяснить – изменяется ли внутриклеточная сигнализация, реализующая актомиозиновое взаимодействие в ГМК, при различной скорости траффика конкрементов [66]; а также – в чем суть сигнальной трансдукции, модулирующей моторику мочеточника при блокаде и функционировании нейро-мышечного синапса [269].

Расшифровка механизмов регуляции МОМ позволит оптимизировать схему ЛКТ за счет включения фармакологических препаратов, обеспечивающих селективное усиление сократительной активности или аддитивную релаксацию гладкой мышечной ткани в зависимости от размера и локализации конкрементов.

#### **Степень разработанности темы исследования.**

Патогенез дисфункции мочеточника при нефролитолизе и механизмы регуляции моторики МВП при ЛКТ; информативность методов диагностики и прогнозирования скорости траффика конкрементов в разных отделах мочеточника при назначении  $\alpha_{1A}$ -АБ являются актуальной областью фундаментальных исследований. Причины низкой эффективности ЛКТ остаются не известными [47; 153].

В то же время верификация патогенетических факторов риска нарушения моторики мочеточника при нефролитиазе; анализ внутриклеточной сигнализации, связанной с транспортом  $\text{Ca}^{2+}$  в ГМК при обструктивной нефропатии и в процессе ЛКТ; установление информативных индикаторов функциональной активности ГМК; регуляция гладкой мышечной ткани мочеточника при эффективной и неэффективной элиминации конкрементов из разных отделов МВП, а также расшифровка компенсаторных механизмов МОМ при блокаде и функционировании нейро-мышечного синапса не получили должного отражения в литературе. Можно ожидать, что исследование факторов риска и патогенеза дисфункции мочеточника, механизмов регуляции сокращения-релаксации ГМК мочеточника при нефролитиазе позволит контролировать траффик конкрементов и корректировать схему ЛКТ. В этом контексте анализ внутриклеточной сигнализации рецепторов, сопряженных с G-белками (G-protein-coupled receptors, GPCRs), которые модулируют внутриклеточное содержание ионов  $\text{Ca}^{2+}$  является перспективным направлением современной патофизиологии.

#### **Связь с научными программами, планами, темами.**

Диссертационная работа выполнена на кафедре урологии, а также кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького», является фрагментом научно-исследовательской работы «Тромбоцитарные маркеры прогрессирования хронического нарушения органного кровообращения» (УН 19.01.01). Диссертант выполнил фрагмент научно-исследовательской работы, посвященный изучению эффективности элиминации конкрементов разных размеров из мочеточника при обструктивной нефропатии. Тема диссертации и научный консультант утверждены на заседании Ученого совета ГОО ВПО «Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького», протокол №6 от 09.12.2020 г.

**Цель исследования** – выявить факторы риска, изучить патогенез дисфункции мочеточника при нефролитиазе; установить молекулярные механизмы регуляции моторики мочеточника при литокинетической терапии; повысить эффективность диагностики и прогнозирования элиминации мелких, средних конкрементов из мочеточника при назначении блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора; обосновать подходы к совершенствованию медикаментозной терапии у пациентов с локализацией конкрементов в разных отделах мочевыводящих путей.

**Задачи исследования:**

1. Выявить факторы риска нефролитиаза, механизмы их воздействия на моторику мочеточника и обосновать целесообразность выбора рецепторов для анализа эффективности элиминации мелких и средних конкрементов из разных отделов МВП.
2. Оценить активность рецепторов, регулирующих сокращение и релаксацию гладкой мышечной ткани, при стандартной ЛКТ у пациентов с локализацией конкрементов в верхней трети мочеточника.
3. Сопоставить механизмы регуляции компенсаторных реакций ГМК при эффективной и неэффективной элиминации конкрементов средних размеров (10,0-20,0мм) из верхней трети мочеточника при ЛКТ.
4. Верифицировать механизмы внутриклеточной сигнализации, обеспечивающие транспорт ионов  $Ca^{2+}$ , для прогнозирования риска нарушения элиминации конкрементов средних размеров из верхней трети мочеточника.
5. Изучить активность  $\alpha_2$ -адренорецептора, пуринового P2X<sub>1</sub>-рецептора, аденозинового A2A-рецептора, TR-рецептора при быстрой и медленной элиминации конкрементов средних размеров из верхней трети мочеточника на фоне блокады  $\alpha_1$ -адренорецептора нейро-мышечного синапса.
6. Установить молекулярные механизмы регуляции траффика мелких ( $\leq 6$ мм) конкрементов в средней трети мочеточника при неэффективной и эффективной ЛКТ.

7. Выявить особенности внутриклеточной сигнализации при разной скорости траффика мелких конкрементов в средней трети мочеточника на фоне стандартной ЛКТ.

8. Изучить механизмы регуляции траффика мелких ( $\leq 6$ мм) конкрементов в среднем–нижнем отделах мочеточника при блокаде и сохранении сигнализации  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора в нейро-мышечном синапсе ГМК.

9. Проанализировать зависимость эффективности назначения блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора от внутриклеточной сигнализации рецепторов, сопряженных с G-белками (GPCRs) при элиминации конкрементов (10,0-20,0мм) из среднего–нижнего отделов мочеточника.

10. Исследовать молекулярные механизмы регуляции компенсаторных реакций гладкой мышечной ткани при сохранении сигнализации  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора у пациентов с траффиком конкрементов (10,0-20,0мм) в среднем–нижнем отделах мочеточника.

*Объект исследования:* мочекаменная болезнь (МКБ 10 – Камни мочеточника N20.1).

*Предмет исследования:* результаты клинико-инструментальных методов исследования (ультразвуковое обследование, компьютерная томография почек); лабораторные показатели (микробиологический посев мочи, гематурия, лейкоцитурия, циркулирующие ТЛА); внутриклеточная сигнализация *in vitro* при стимуляции  $\alpha_2$ -адренорецептора, ангиотензинового  $AT_1$ -рецептора, пуриновых  $P2X_1$ - и  $P2Y$ -рецепторов, аденозинового  $A_2A$ -рецептора, ангиотензинового  $AT_1$ -рецептора,  $TP$ -рецептора к  $TxA_2$  тромбоцитов у пациентов с наличием конкрементов мелких и средних размеров в разных отделах мочеточника при ЛКТ.

#### **Научная новизна полученных результатов.**

В работе впервые выявлены факторы риска дисфункции мочеточника при нефролитиазе; обоснованы подходы к совершенствованию ЛКТ у пациентов с наличием конкрементов в МВП. Впервые установлено, что при

назначении блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора эффективность и скорость элиминации конкрементов средних размеров из пиело-уретерального сегмента зависят от активности  $\alpha_2$ -адренорецепторов, P2X<sub>1</sub>-рецептора, TR-рецептора и аденозинового A2A-рецептора, что обосновывает целесообразность исследования чувствительности разных типов рецепторов при проведении ЛКТ. Впервые показано, что нарушение траффика мелких ( $\leq 6,0$ мм) конкрементов из средней трети мочеточника при назначении  $\alpha_{1A}$ -АБ связано с десенситизацией  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, а также гиперреактивностью AT<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов, TR-рецептора, A2A-рецептора; следствием сигнальной трансдукции является снижение порогового уровня внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>, что обеспечивает релаксацию гладкой мышечной ткани. В работе впервые описана активность рецепторного аппарата, предопределяющая быструю и медленную скорость элиминации мелких конкрементов из мочеточника при ЛКТ. Идентифицированы механизмы регуляции компенсаторных реакций МОМ, обеспечивающих траффик мелких конкрементов при блокаде и функционировании нейромышечного синапса гладкой мышечной ткани. Впервые установлено, что эффективная элиминация конкрементов средних размеров из мочеточника воспроизводится в случае гиперреактивности A2A-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора и гипореактивности рецепторов, связанных с Gq-сигнализацией (P2Y-рецепторы, AT<sub>1</sub>-рецептор, TR-рецептор), поскольку сигнальная трансдукция обеспечивает оптимальную моторику мочеточника при стандартной ЛКТ.

Доказано, что при введении  $\alpha_{1A}$ -адреноблокатора нарушение траффика средних конкрементов в мочеточнике может быть связано с феноменом «*crosstalk*», обусловленным одновременной стимуляцией нескольких рецепторов, связанных с G-белками, следствием чего является сохранение избыточного уровня внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>. Впервые расшифрованы молекулярные механизмы регуляции компенсаторной реакции МОМ, обеспечивающие элиминацию конкрементов средних размеров из среднего-

нижнего отделов мочеточника при сохранении сигнализации  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора нейро-мышечного синапса ГМК.

### **Теоретическая и практическая значимость работы.**

Проведенное исследование способствовало созданию концепции патогенеза дисфункции мочеточника при нефролитиазе; позволило верифицировать механизмы регуляции моторики гладкой мышечной ткани при ЛКТ конкрементов, расположенных в разных отделах МВП; обеспечило понимание роли внутриклеточной сигнализации системы рецепторов, связанных с G-белками (GPCRs), в механизмах спонтанной элиминации конкрементов при наличии и отсутствии блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора в схеме ЛКТ. На основании проведенного исследования активности рецепторов и сопряженных сигнальных путей Тц предложена система критериев для определения эффективности компенсаторных механизмов моторики МВП при нефролитиазе; диагностики и прогнозирования эффективности элиминации конкрементов разных размеров из верхней, средней и нижней трети мочеточника; прогнозирования скорости траффика конкрементов в мочеточнике при ЛКТ; идентификации мишеней фармакологической коррекции с целью совершенствования медикаментозной терапии при НЛТ.

Результаты диссертационной работы, отражающие молекулярные механизмы регуляции перистальтики МВП при обструктивной нефропатии, могут быть внедрены в учебный процесс кафедр медико-биологического профиля.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Реактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора и  $AT_1$ -рецептора; пуриновых  $P2Y$ -,  $P2X$ - и  $A2A$ -рецепторов;  $TR$ -рецептора является информативным интегративным показателем выраженности гематурии, развития пиелонефрита и дисфункции мочеточника.

2. Гендерные особенности реактивности организма определяют эффективность медикаментозной терапии при коморбидности НЛТ с артериальной гипертензией и СД 2 типа.

3. Эффективность ЛКТ при наличии средних конкрементов (10,0-20,0мм) в верхней трети мочеточника зависит от степени релаксации гладкой мышечной ткани, модулируемой аденозиновым A<sub>2A</sub>-рецептором.

4. Неэффективная элиминация конкрементов средних размеров в верхней трети мочеточника при ЛКТ, связанной с назначением блокаторов  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов, обусловлена чрезмерной стимуляцией  $\alpha_2$ -адренорецептора, P<sub>2X<sub>1</sub></sub>-рецептора и TP-рецептора, которые модулируют сокращение ГМК.

5. Кинетика активности A<sub>2A</sub>-рецептора и временные промежутки восстановления аденозиновой внутриклеточной сигнализации определяют скорость элиминации конкрементов средних размеров из верхней трети мочеточника при ЛКТ.

6. Анализ внутриклеточной сигнализации на изолированных тромбоцитах позволяет персонифицировать схему ЛКТ при локализации конкрементов в разных отделах мочеточника.

7. Эффективность элиминации мелких конкрементов ( $\leq 6$ мм) из средней трети мочеточника в различные промежутки времени ЛКТ не зависит от назначения  $\alpha_{1A}$ -АБ.

8. Вариабельность скорости траффика мелких конкрементов при ЛКТ определяется индивидуальными особенностями формирования и регуляции компенсаторных механизмов при нефролитиазе, целью которых является оптимизация процессов сокращения и расслабления гладкой мышечной ткани МВП.

9. При стандартной ЛКТ, включающей блокатор  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора, элиминация из мочеточника конкрементов средних размеров (10,0-20,0мм) зависит от внутриклеточной сигнализации рецепторов, сопряженных с G-белками (GPCRs). Аденозинергическая сигнализация регулирует релаксацию гладкой мышечной ткани и может усиливать эффект блокады  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора.

10. В спонтанной элиминации конкрементов средних размеров принимают участие компенсаторные механизмы МВП, фармакологическое управление которыми может оптимизировать моторику мышечной оболочки мочеточника.

#### **Степень достоверности полученных данных.**

Достоверность результатов, изложенных в диссертационной работе, базируется на использовании современных методов исследований, достаточном объеме материала, использовании методик, соответствующих поставленным задачам, и применении корректных методов статистического анализа. Положения, изложенные в диссертации, построены на изученных и проверяемых фактах, которые согласуются с опубликованными данными.

#### **Апробация результатов исследований.**

Основные положения диссертационной работы представлены, обсуждены и получили положительную оценку на научных форумах: IV Международном медицинском форуме Донбасса «Наука побеждать... болезнь» (Донецк, 2020); Всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції «Фізіологія, валеологія, медицина: сучасний стан та перспективи розвитку» (Харків, 2021); Международном медицинском форуме Донбасса «Наука побеждать...болезнь» (Донецк, 2021); Международном медицинском форуме Донбасса «Наука побеждать...болезнь» (Донецк, 2022); II Республиканской научно-практической конференции «Репродуктивное здоровье семьи как фактор демографической безопасности Донбасса» (Донецк, 2022); V науково-практичній inernet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (Харків, 2022).

#### **Личный вклад соискателя.**

Вклад соискателя в результаты диссертационной работы является основным и заключается в самостоятельном обосновании научного направления, определении цели и задач исследования, разработке методических подходов и выборе методов исследования. Автором

самостоятельно проведен сбор материала, обобщены данные клинико-инструментального обследования пациентов с нефролитиазом. Трактовка данных агрегатометрии и лабораторных показателей проведена совместно с заведующим кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ГОО ВПО ДонНМУ им. М.Горького, д.мед.н., профессором Бариновым Э. Ф. Написание всех разделов, анализ и теоретическое обобщение результатов, формулировка выводов принадлежат лично автору. Диссертантом не были заимствованы результаты и идеи соавторов публикаций. Материалы, положения и выводы кандидатской диссертации соискателя в данной работе не использовались.

#### **Публикации.**

По материалам диссертации опубликовано 30 научных работ, в том числе: 24 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ и ДНР; 6 тезисов – в материалах конгрессов, форумов и конференций.

#### **Структура и объем диссертации.**

Диссертация изложена на 358 страницах печатного текста, состоит из «Введения», «Обзора литературы», «Материалов и методов исследования», шести глав собственных исследований, раздела «Анализ и обобщение результатов исследования», «Выводов», «Практических рекомендаций», списка использованной литературы, насчитывающего 458 наименований (из них 18 отечественных и 440 – зарубежных источников). Диссертация содержит 57 таблиц и иллюстрирована 27 рисунками.

## ГЛАВА 1

### ПАТОГЕНЕЗ ДИСФУНКЦИИ МОЧЕТОЧНИКА ПРИ ОБСТРУКТИВНОЙ НЕФРОПАТИИ И ЛЛТ

#### 1.1. Факторы риска и патогенез НЛТ.

Нефролитиаз (НЛТ) является одним из самых распространенных урологических заболеваний и встречается не менее чем у 3% населения [158; 429]. Несмотря на разработку комплексных методов диагностики нарушений водно-электролитного баланса и широкого спектра противорецидивных мер, частота повторного возникновения конкрементов остается высокой [80]. Обструкция конкрементом мочевыводящих путей способствует возникновению гидронефроза, развитию и прогрессированию хронического пиелонефрита, осложняющего НЛТ [103]. В свою очередь пиелонефрит играет значительную роль в патогенезе образования и роста конкрементов. Развитие тубуло-интерстициального фиброза является закономерным результатом хронического воспалительного процесса в МВП, возникающем на фоне нарушения уродинамики, присоединения ишемического и инфекционного факторов [125]. Очевидно, что корректный анализ дисфункции мочеточника при НЛТ возможен только при учете предсуществующих механизмов, сопровождающих развитие НЛТ [277]. К таким относится не только гематурия, обструкция и инфекция мочевыводящих путей, влияющие не только на морфо-функциональное состояние МВП, но и на реактивность организма пациентов.

Хронический обструктивный пиелонефрит (ХОПН) сопровождается полным прекращением или частичным снижением оттока мочи, что может провоцировать нарушение функции почек. Насколько при этом ренальные дисфункции могут повлиять на развитие и тяжесть дисфункции мочеточника? Несомненно, что тяжесть повреждения почки зависит от длительности обструкции мочеточника, однако это не должно маскировать роль индивидуальной реактивности организма в развитии патогенетических и

компенсаторных механизмов в почке. Ключевыми механизмами в патогенезе ренальных дисфункций при острой обструкции мочеточника являются активация симпато-адреналовой системы (САС) и внутрипочечной ренин-ангиотензиновой системы (РАС). Поэтому генетически детерминированная экспрессия мессенджеров данных внутриклеточных сигнальных систем у каждого конкретного индивидуума при прочих равных условиях будет определять сроки и полноту восстановления функциональной полноценности МВП. Установлено, что нарушение уродинамики и повышение давления в чашечно-лоханочной системе почки ведут к сдавлению пирамид мозгового вещества органа и увеличению внутритубулярного давления, что определяет активацию тубуло-гломерулярной обратной связи. Последнее обеспечивает увеличение продукции ренина и образование ангиотензина I, конвертируемого ферментом эндотелия (АКФ) в активную форму – ангиотензина II. Повышение уровня Анг II может иметь негативные последствия, учитывая, что основной мишенью Анг II являются артериолы и прекапилляры микроциркуляторного русла. Следствием констрикции сосудов МЦР является ишемия тканей и нарушение моторики МОМ. Ишемия не только определяет степень оксидативного повреждения структурных элементов стенки мочеточника при реперфузии органа, но и – провоспалительную активацию уротелия, эндотелия, Тц и лейкоцитов [292]. Механизм этого явления состоит в активации НАДФ-Н-оксидазы и продукции свободных радикалов кислорода, действующих как внутриклеточные мессенджеры, активируя р38-митоген активированную протеинкиназу и экспрессию ядерного фактора NF-kB. Последний, в свою очередь, запускает продукцию провоспалительных хемокинов – MCP-1, RANTES, экспрессию на эндотелиоцитах ICAM-1 и других молекул клеточной адгезии. Это способствует рекрутированию лейкоцитов периферической крови и развитию инфильтрации слизистой оболочки моноцитами-макрофагами, продуцирующими широкий спектр провоспалительных цитокинов. Развивающееся воспаление усиливает нарушение перистальтики мочеточника. Учитывая специфику репаративных

процессов в МВП и склонность к хронизации воспалительного процесса, возможно развитие хронического пиелонефрита. Причем восстановление функций мочеточника в ранние сроки после удаления конкремента не исключает возможность прогрессирования пиелонефрита в отдаленный период после ЛКТ. Вслед за первичной альтерацией клеток МВП происходит выброс гуморальных и клеточных медиаторов воспаления, в том числе катехоламинов, пуринов, цитокинов, молекул межклеточной адгезии, факторов роста, что приводит к рецидиву хронического пиелонефрита [46].

Немаловажную роль в регуляции ГМК при пиелонефрите играет уротелий. Многослойный переходный эпителий выстилает почечную лоханку, мочеточники, мочевой пузырь и проксимальный отдел уретры, который (а) образует высокоустойчивый, но адаптируемый барьер, контролирующий механохимическую среду в стенке МВП; (б) является хемосенсором передающим информацию в афферентные нервные волокна и гладкие мышцы [92]. Барьерная функция уротелия, связана с химическим составом гликокаликса, транспортом ионов и воды, состоянием плотных контактов, гомеостазом и адаптационными реакциями тканей стенки мочеточника; изменения проницаемости барьера сопровождаются расширением и сокращением просвета МВП. Уротелий человека экспрессирует широкий спектр рецепторов, в том числе связанных с G-белком (GPCR), что позволяет воспринимать и интегрировать различные внеклеточные сигналы [295]. Уротелий играет решающую роль в интеграции сенсорных выходов МВП, отвечая на механический стресс и химическую стимуляцию [296]. Клетки уротелия высвобождают различные медиаторы, включая АТФ, ацетилхолин, простагландины, оксид азота и фактор роста нервов, которые могут влиять на функцию и рост гладкомышечных клеток и афферентных нервов и [352].

Приходится констатировать, что сегодня мало известно о сроках клеточной репарации и тканевого ремоделирования в постобструктивном мочеточнике. Имеющаяся в литературе информация слишком скудная [428; 449]. Доказано, что блокада мочеточника сопровождается нарушением

перистальтики, что связано с воспалением и сопровождается выраженным фиброзом в собственной пластинке, мышечной оболочке и адвентиции [262; 324]. Менее изученными остаются механизмы, контролирующие миграцию моноцитов из сосудистого русла в строму почки. Однако не вызывает сомнений участие в этом процессе Тц и эндотелия.

## **1.2. Предикторы спонтанной элиминации конкрементов из мочеточника и терапевтическая эффективность агонистов и блокаторов $\alpha_1$ -адренорецепторов.**

Анализ частоты спонтанной элиминации конкрементов (SSP, spontaneous ureteral stone passage) представляет интерес, поскольку отражает востребованность в консервативной терапии, целью которой является выведение конкрементов разных размеров из просвета МВП. В этой связи представляет интерес исследование [355].

В 74% случаев локализации конкрементов в мочеточнике имеет место самостоятельное «отхождение» конкрементов на высоте «почечной колики», что наводит на мысль о включении системных и локальных механизмов регуляции моторики мочеточника. Наибольший интерес представляет градация частоты элиминации в зависимости от размера и локализации конкрементов. Установлено, что SSP для камней размерами  $<5$  мм достигает 89% (95% ДИ 87-90), тогда как при конкрементах  $\geq 5-7$  мм эта величина составляет 49% (95% ДИ 44-53) и для конкрементов  $>7$  мм – 29% (95% ДИ 23-36). При локализации конкрементов в верхнем отделе мочеточника SSP составила 52% (95% ДИ 48–56), в среднем отделе — 70% (95% ДИ 64–76) и нижнем отделе мочеточника — 83% (95% ДИ 81–85). Авторы приходят к двум интересным выводам: (а) количество лейкоцитов, нейтрофилов и СРБ не являются информативными предикторами спонтанной элиминации конкрементов; (б) общей пользы, читай эффективности от использования ЛКТ–нет.

Частоту SSP подтверждают [124], которые наблюдали спонтанное выведение конкрементов у 74,5% пациентов с локализацией конкрементов в мочеточнике. В этом контексте представляет интерес разработка номограмм, которые позволили бы прогнозировать спонтанное отхождение конкрементов при острой «мочеточниковой колике» и принять обоснованное решение о целесообразности проведения консервативного лечения. В предлагаемой номограмме учтены следующие показатели с указанием значимости отношения шансов (odds ratio, OR) пол мужской (ОШ 0,8, 95% ДИ 0,64-1,01), количество нейтрофилов (ОШ 1,03, 95% ДИ 1,00-1,06), гидронефроз (ОШ 0,79, 95%ДИ), гидроуретер (ОШ 1,3, 95%ДИ 0,97-1,75), размер камня >5-7 мм (ОШ 0,2, 95%ДИ 0,16-0,25), размер камня >7 мм (ОШ 0,11, 95% ДИ 0,08-0,15), расположение конкремента в среднем отделе мочеточнике (ОШ 0,59, 95% ДИ 0,43-0,81), в верхнем мочеточнике (ОШ 0,31, 95 %ДИ 0,25-0,39), применение консервативной экспульсивной терапии (ОШ 1,36, 95%ДИ 1,1-1,67), пероральное применение НПВП (ОШ 1,3, 95%ДИ 0,99-1,71).

Исследования [136] направлены на установление факторов риска, которые остались вне поля зрения, но могут оказать влияние на SSP. К таковым можно отнести пожилой возраст пациентов и гендерные особенности реактивности организма. Самопроизвольное отхождение камней было отмечено у 70,2% в группе 18-35 лет, 62,4% в группе 36-50 лет, 51,8% в группе 51-70 лет и 37% в группе старше 70 лет. У пациентов старше 70 лет достоверно выше уровень креатинина в сыворотке крови, С-реактивного белка (СРБ) и лейкоцитоз, имеются более крупные конкременты ( $6,2 \pm 4,8$  мм) и чаще выполняется чрескожная нефролитотрипсия. Обращает на себя внимание, что менее половины пациентов старше 50 лет получали медикаментозную экспульсивную терапию  $\alpha$ -адреноблокаторами. Доказано, что пол действительно влияет на клиническую картину и исход почечной колики. Было обнаружено, что у женщин имела место более высокая температура тела, частота пульса, тошнота и рвота, повышенный уровень СРБ и креатинина в сыворотке по сравнению с мужчинами. Назначение  $\alpha$ -адреноблокаторов было

рекомендовано при выписке 54,8% мужчин и 29,6% женщин. Самопроизвольное отхождение камней было значительно выше у мужчин по сравнению с женщинами ( $p = 0,01$ ). Знание способности стенки мочеточника противостоять уродинамическим или внешним нагрузкам важно для понимания перистальтики мочеточника. Ранее [377] установили региональную механическую гетерогенность мочеточника, которая в значительной степени связана с возрастом. Оказалось, что (а) у молодых субъектов в верхней части мочеточника резистентность тканей к осевому напряжению наименее выражена; (б) толщина стенки увеличивалась с возрастом, отражая утолщение внешнего (мышечного) и внутреннего (слизистой) слоев мочеточника. Угол раскрытия просвета уменьшался в проксимальном отделе мочеточника, увеличивался и достигал максимума около середины мочеточника, а затем постепенно снижался в направлении пузырно-мочеточникового соединения [311]. Региональное распределение остаточной деформации на границе между эпителием, собственной пластинкой и мышечной оболочкой при внутренней деформации было сходным; мышечная оболочка утолщалась с возрастом, толщина собственной пластинки слизистой оболочки – истончалась. Напряжение разрушения адвентициальной оболочке в меньшей степени коррелировали с возрастом по сравнению с напряжением разрушения при разрыве слизистой мочеточника, что связано с уменьшением толщины слизистой оболочки у пациентов старше 50 лет [378]. Направленные различия в растяжениях обусловлены преимущественно осевым расположением коллагена.

[355] предполагают, что вариабельность частоты SSP (от 47 до 75%) при острой мочеточниковой обструкции связана с наличием воспаления, причем лейкоцитоз снижает вероятность спонтанного отхождения камней. В этом контексте интересным индикатором влияния воспалительной реакции на перистальтику мочеточника может быть толщина стенки мочеточника (UWT, ureteral wall thickness) при уретеролитиазе [445]. Проведенные исследования показали, что расположение, размер конкремента и UWT были независимыми

предикторами 4-х недельной спонтанной элиминации. ROC-анализ позволил установить, что оптимальным пороговым значением для прогноза SSP является значение UWT 2,71 мм. Низкие значения UWT характеризуются более высокой 4-х недельной частотой SSP, чем высокие UWT (76,4% против 14,7% соответственно;  $P < 0,001$ ). Кроме того, увеличение UWT связано с более высоким риском возникающих осложнений, по сравнению с низким UWT (16,4% против 7,2% соответственно;  $P = 0,044$ ). Таким образом, UWT может служить потенциальным прогностическим фактором для 4-х недельного SSP конкрементов размерами  $\leq 10$  мм. Стратегия ведения пациентов с конкрементами в мочеточнике варьирует от выжидательной терапии до экстренного хирургического вмешательства. Предикторы спонтанного отхождения камней из мочеточников до сих пор недостаточно изучены, в связи с чем важным представляется исследование [155]. Авторы публикации изучили информативность показателя соотношения количества нейтрофилов и лимфоцитов (NLR), а также соотношения количества тромбоцитов и лимфоцитов (PLR) для прогнозирования спонтанного выведения конкрементов размерами  $\leq 10$  мм. Установлено, что значения NLR между 2,87 и 4,87 имеют отношение шанса сохранения камня в мочеточнике на уровне 2,96 (95% ДИ 1,80-5,49), а  $NLR > 4,87$  – на уровне 3,63 (2,04-6,69). PLR между 10,42 и 15,25 и  $PLR > 15,25$  имели шанс неэффективной SSP, соответственно 3,28 (ДИ 1,79-6,19) и 3,84 (ДИ 2,28-7,12). Другими значимыми переменными в моделях была гипергликемия, лейкоцитарная эстераза мочи  $> 10$ , гидронефроз средней и тяжелой степени и размер камня. В последующем [155] скорректировали номограмму для использования NLR в качестве потенциального предиктора спонтанной элиминации конкрементов. Размер камня  $\geq 7$  мм и  $NLR \geq 3,14$  признавались сильными предикторами неудачи SSP, соответственно, ОШ=9,47 (95% ДИ 6,03–14,88). и ОШ 2,17 (ДИ 1,58-2,98). Несостоятельность SSP также коррелировала с расположением конкремента в проксимальном отделе мочеточника, выраженным гидронефрозом и уровнем лейкоцитарной эстеразы  $\geq 75$ . Модель имела AUC 0,804 (95% ДИ 0,776–0,832).

Показано, что при увеличении объема конкремента на каждый  $1\text{мм}^3$  риск неэффективной SSP увеличивался на 2,5% [155]. Представленный анализ эффективности спонтанной элиминации конкрементов приводит к нескольким интересным выводам. Во-первых, частота элиминации даже мелких конкрементов ( $<5\text{мм}$ ) сильно варьирует, что зависит от пола и возраста пациента, отдела мочеточника и выраженности воспалительной реакции в его стенке. Поскольку механизмы регуляции гладкой мышечной ткани остаются не известными, то и управление траффиком мелких конкрементов остается невыполнимой задачей [9]. Во-вторых, не вызывает сомнений, что для эффективной элиминации конкрементов средних размеров (10,0-20,0мм) необходимо достигнуть снижения мышечного тонуса мочеточника. Данный подход был реализован в виде различных схем ЛКТ, принципиальным отличием которых является механизм обеспечивающий релаксацию гладкой мышечной ткани.

В настоящее время обсуждается какая группа фармакологических препаратов является более эффективной – селективный агонист  $\beta_3$ -адренорецептора (мирабегрон), селективный блокатор постсинаптического  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора (тамсулозин) или высокоселективный антагонист  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора (силодизин). В этом контексте, при наличии в просвете мочеточника конкрементов размерами  $>5\text{мм}$  парадигмой ЛКТ считается (а) необходимость достижения функциональной «денервации» нейромышечного синапса в МОМ [67]; (б) локализация конкремента в дистальном отделе мочеточника, поскольку повышается шанс на успешный траффик конкремента размерами менее 10мм [237]. Однако, полученные в последние годы результаты дают повод усомниться в устоявшихся постулатах ЛКТ. Оказалось, что ЛКТ включающая мирабегрон играет важную роль в элиминации конкрементов  $\leq 5\text{мм}$  из дистального отдела мочеточника и не оказывает влияния при размерах  $> 5\text{мм}$  [392]. У пациентов с камнями  $\leq 5\text{мм}$  показатель полного отсутствия конкрементов (SFRs) на 1-й неделе достигал 63,6% против 33,3%; на 2-й неделе 86,4% против 54,2% и 4-й неделе 90,9%

против 66,7%, соответственно, в основной и контрольной группе пациентов (при отсутствии мирабегрона в схеме ЛКТ).

Проведенный [66] мета-анализ подтвердил, что частота элиминации конкрементов была выше в группе пациентов с назначением мирабегрона, чем в контрольной группе (OR 2,12; 95%ДИ 1,33–3,40). Анализ в подгруппах показал, что частота удаления конкрементов <5мм была значительно выше, чем у пациентов с конкрементами ≥5мм (OR 0,31; 95%ДИ 0,13-0,72). Не было выявлено существенных различий между группой с назначением мирабегрона и контрольной группой в отношении длительности траффика конкрементов (OR -1,16, 95%ДИ 3,56-1,24). Таким образом, медикаментозная консервативная терапия, включающая мирабегрон оказывала значительное влияние на улучшение скорости изгнания камней у пациентов с камнями мочеточников, особенно у пациентов с размерами камней <5 мм. Мирабегрон не влиял на длительность отхождения конкрементов, но уменьшал количество эпизодов боли.

Достоверных различий эффективности мирабегрона в отношении возраста, пола, индекса массы тела, степени гидронефроза и размера камней не выявлено [20]. Исследование представляет интерес с точки зрения значимости влияния одновременного введения НПВП и мирабегрона на перистальтику мочеточника. Установлено, что через 4 недели частота выведения конкрементов размером 5,0-10мм из дистального отдела мочеточника при назначении НПВП составила 52,1%, тогда как при назначении НПВП+Мирабегрона – 89,6%. Интервал времени изгнания камней составил, соответственно 14,0 (13–23) дней и 7,0 (3–16) дней (P =0,004). Размер камня был независимым предиктором частоты элиминации конкрементов. Исследования проведенные в эксперименте на полосках мочеточника позволили заключить, что мирабегрон вызывает снижение сократительной активности гладкой мышечной ткани и эффект обусловлен антагонизмом с  $\alpha_1$ -адренорецептором [223].

В литературе представлено широкое обсуждение предпочтительного начального метода лечения НЛТ [18]. Имеются доказательства, что селективная блокада постсинаптических  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов с использованием тамсулозина увеличивает скорость элиминации конкрементов  $>5$ мм из дистального отдела мочеточника [440]. В дальнейшем [24] также исследовали эффективность элиминации конкрементов  $<10$ мм из мочеточника при назначении тамсулозина (0,4 мг в течение 4 недель). У пациентов со средним возрастом  $40,1 \pm 12,4$  года частота элиминации составила 55,9%, причем высокое отношение количества нейтрофилов/лимфоцитов (NLR) и увеличение толщины стенки мочеточника (UWT) являлись факторами риска неэффективного выведения конкрементов при ЛКТ.

В литературе оценка эффективности и безопасности силодозина по сравнению с тамсулозином при ЛКТ – противоречивая. Достаточно часто в составе ЛКТ используется силодизин, являющийся высокоселективным конкурентным антагонистом  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов. Установлено [171], что силодозин обладает более высокой специфичностью в отношении  $\alpha_{1A}$  адренорецептора и, как следствие, демонстрирует значительно более высокие показатели элиминации конкрементов размерами 5-10мм, чем тамсулозин. К недостаткам препарата можно отнести более высокую частоту ретроградной эякуляции. Многофакторная регрессия показала, что элиминация отрицательно связана с возрастом и пол пациента.

В исследовании [337] показано, что 40,6% пациентов, с наличием конкрементов размером 5-10 мм в дистальном отделе мочеточника, являются резистентными к назначению силодозина (8,0мг 1 раз в сутки) в составе ЛКТ. Значимыми факторами для выведения конкрементов являлись пол, плотность и размер конкремента, диаметр мочеточника выше камня, толщина его стенки и степень гидронефроза. При использовании многофакторного анализа значимыми индикаторами элиминации оказались UWT и степень гидронефроза; ROC-анализ показал, что UWT 3,75 мм является пороговым значением для прогнозирования элиминации с чувствительностью и

специфичностью, соответственно, 86% и 87,3%. Систематический обзор и метаанализ, подготовленные [227], свидетельствуют, что по сравнению с контролем силодозин значительно увеличивал скорость элиминации конкрементов из дистальных отделов мочеточника (RR 1,42; 95%ДИ, 1,21-1,67); однако, разница между группой при назначении силодозина и контролем в отношении скорости изгнания конкрементов из проксимального (RR 0,99; 95%ДИ 0,69-1,43) и среднего отдела мочеточника (RR 1,13; 95%ДИ 0,60-2,16) – не выявлена. Не установлена существенная разница продолжительности выведения конкрементов при использовании силодозина и тамсулозина. Силодозин обеспечивал значительно более высокую скорость изгнания конкрементов из дистальных отделов, по сравнению с тамсулозином. Метаанализ рандомизированных контролируемых исследований был проведен для сравнения терапевтических эффектов и степени безопасности силодозина и тамсулозина, используемых для ЛКТ [186]. Доказано, что введение силодозина сопровождалось более высокой скоростью изгнания конкрементов размерами 10,0 мм из мочеточника. В исследовании [359] проведена оценка эффективности трех широко используемых  $\alpha$ -блокаторов в составе ЛКТ при локализации конкрементов в дистальном отделе мочеточника. Силодозин признан наиболее эффективным препаратом в качестве ЛКТ при конкрементах нижнего отдела мочеточника, за ним следуют альфузозин и тамсулозин.

На сегодняшний день причины низкой эффективности назначения  $\alpha_{1A}$ -АБ в составе ЛКТ остаются не выясненными. Считается, что блокада  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора обеспечивает релаксацию гладко-мышечных клеток (ГМК), дилатацию просвета мочеточника и элиминацию конкрементов. Тем не менее, рандомизированные многоцентровые исследования не доказали преимущества такой терапии в отношении мелких конкрементов ( $\leq 6$  мм) [67]. С нашей точки зрения, такая ситуация объясняется рядом факторов. Во-первых, низкая эффективность элиминации конкрементов при назначении  $\alpha_{1A}$ -АБ может быть связана с особенностями регуляции перистальтики МВП при

траффике конкрементов разных размеров; включением компенсаторных механизмов, зависящих от локализации конкрементов в МВП; степенью обтурации мочеточника. Логично предположить, что при наличии средних (10-20мм) и крупных (>20мм) конкрементов, когда воспроизводится полная обтурация просвета мочеточника, необходимо достигать максимальной релаксации ГМК в стенке мочеточника, тогда как траффик мелких конкрементов (<6мм) требует волнового усиления сократительной активности мышечной оболочки МВП. Последнее достигается как адренергическими, так и неадренергическими механизмами, регулирующими перистальтику мочеточника [144]. В этой связи, попытка селективного выключения  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора, контролирующего сокращение мышечной оболочки мочеточника, не гарантирует элиминации крупных конкрементов, если остальные действующие механизмы поддерживают спастическое состояние МВП. Во-вторых, введение  $\alpha_{1A}$ -АБ пациентам может оказаться малоэффективным при низкой чувствительности  $\alpha_1$ -адренорецептора или уменьшении секреции норадреналина из пресинаптической части нейромышечного синапса в МВП. В этом контексте представляет интерес активация САС при нефролитиазе, поскольку на фоне введения  $\alpha_{1A}$ -АБ снижается стимуляция  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора на ГМК, но при этом сохраняется возможность сокращения мышечной оболочки МВП вследствие стимуляции адреналином  $\alpha_2$ -адренорецептора. Более того, при стимуляции  $\alpha_2$ -адренорецептора на пресинаптической части нервного окончания может снижаться секреция норадреналина в синаптическую щель [55]; как следствие, уменьшается стимуляция  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора, что ставит под сомнение целесообразность назначения  $\alpha_{1A}$ -АБ. Таким образом, эффективность элиминации конкрементов при назначении  $\alpha$ -АБ может зависеть от стимуляции  $\alpha_1$ - и  $\alpha_2$ -адренорецепторов ГМК, что обосновывает необходимость исследования чувствительности разных типов адренорецепторов при ЛКТ. В-третьих, элиминация конкрементов зависит от компенсаторных механизмов, направленных на усиление сократительной активности или релаксации

гладкой мышечной ткани мочеточника. Становление и модуляция компенсаторных механизмов при нефролитиазе обеспечивается как системной, так и локальной (ауто-, паракринная) регуляцией. Системная регуляция моторики мочеточника связана с активацией САС, возникающей при обструкции просвета МВП [39]. К наиболее значимым местным регуляторам перистальтики мочеточника следует отнести биологически активные вещества (в т.ч. АТФ, АДФ, аденозин, оксид азота), секретлируемые уротелием, ГМК, тромбоцитами, лейкоцитами [144]. В-четвертых, при оценке эффективности назначения  $\alpha_{1A}$ -АБ необходимо анализировать интегративное влияние на ГМК всех препаратов, входящих в состав ЛКТ, в том числе НПВП, спазмолитиков, блокаторов  $Ca^{2+}$ -каналов, водно-электролитных растворов, а также средств для профилактики и лечения инфекций МВП [374]. Такой методический подход позволит анализировать так называемые неспецифические механизмы модуляции мышечной оболочки мочеточника, возникающие в результате прямого или опосредованного воздействия на гомеостаз ГМК различных фармакологических препаратов ЛКТ. *Гипотеза* – если ЛКТ модулирует релаксацию гладкой мышечной ткани МВП, то неэффективная элиминация конкрементов может быть связана с нарушением сократительной активности ГМК вследствие изменившейся сигнальной трансдукции. В этом контексте исследование внутриклеточной сигнализации, участвующей в процессах сокращения и расслабления ГМК, при консервативной терапии позволит приблизиться к пониманию механизмов регуляции функциональной активности Тц и лейкоцитов.

### **1.3. Рецепторный аппарат и ассоциированные сигнальные пути, принимающие участие в регуляции функции гладкой мышечной ткани МВП.**

Основной процесс, регулирующий перистальтику мочеточника, является миогенным и инициируется активными пейсмекерными клетками, расположенными в почечной лоханке. Большое внимание уделяется

гидродинамическим факторам, таким как скорость потока мочи, размера и характера болюсов мочи, которые, в свою очередь, влияют на механические аспекты перистальтического ритма, скорости, амплитуды и исходного давления [300]. Считается, что нейрогенный вклад ограничен модуляционной ролью перистальтики мочеточника. Миогенная теория перистальтики мочеточника восходит к Энгельманну, который смог локализовать источник волны перистальтического давления в почечной лоханке и предположил, что импульс сокращения мочеточника передается от одной клетки мочеточника к другой, причем весь мочеточник работает как функциональный синцитий. Недавние исследования биомеханики мочеточника, электрофизиологии ГМК, мембранных ионных токов, компонентов цитоскелета и фармакофизиологии значительно улучшили понимание механизма движения болюса мочи при патологических состояниях и возможных путей фармакологической коррекции моторики МВП. Известно, что перистальтика мочеточника, реализуемая посредством попеременного сокращения и расслабления ГМК, обеспечивает однонаправленный поток мочи от почки к мочевому пузырю. Однако понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе сопряжения процессов возбуждения-сокращения мочеточника, остается фрагментарным.

[59] пришли к выводу, что базальный тонус, но не фазовый компонент сокращения гладких мышц мочеточника, зависит от катализируемого RhoA/Rho-ассоциированной киназы (ROK) фосфорилирования MYPT1(myosin targeting subunit of myosin light chain phosphatase), что приводит к ингибированию фосфатазы легких цепей миозина (MLCP). Мышечная оболочка мочеточника представляет собой функциональный синцитий, который возбуждается распространяющимся потенциалом действия; как следствие, возникает волна сокращения (перистальтика мочеточника) посредством процесса, называемого сцеплением возбуждения-сокращения [63]. Вторичный мессенджер  $Ca^{2+}$  активирует  $Ca^{2+}$  /кальмодулин-зависимую киназу легкой цепи миозина, фосфорилирование регуляторных легких цепей миозина, что приводит к сокращению ГМК мочеточника. Вход

$\text{Ca}^{2+}$  из внеклеточного пространства происходит через потенциал-управляемые  $\text{Ca}^{2+}$  каналы (voltage-gated L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels, VGCC) L-типа; эффект полностью блокируется нифедипином. Поступление  $\text{Ca}^{2+}$  через VGCC, связанное с активацией  $\text{Ca}^{2+}$ -чувствительных  $\text{K}^+$ -каналов или  $\text{Cl}^-$ -каналов ( $\text{Cl}^-$ -Ca каналов), действует как механизм отрицательной или положительной обратной связи для контроля возбудимости; мочеточник, изолированный от лоханки, самопроизвольно не активируется. Однако, спонтанная активность может инициироваться в проксимальном и дистальном отделах мочеточника множеством биологических эффекторов, таких как нейротрансмиттеры, паракринные, эндокринные и воспалительные факторы. Применяемые агонисты деполяризуют клетки гладкой мускулатуры мочеточника до порога активации ПД, инициируя распространение межклеточных потенциал-опосредованных волн  $\text{Ca}^{2+}$ , вызывающих антеградную и / или ретроградную перистальтику мочеточника. Было предложено несколько механизмов для описания вызываемой агонистами деполяризации гладкой мускулатуры мочеточника, которые включают подавление  $\text{K}^+$ -каналов, стимуляцию тока  $\text{Cl}^- - \text{Ca}^{2+}$  и активацию неселективных каналов, управляемых P2X-рецептором. Активация мускариновых рецепторов и адренорецепторов увеличивает амплитуду сокращений мочеточника [69].

В гладкой мышечной ткани существует три подтипа  $\alpha_1$ -адренорецепторов:  $\alpha_1\text{A}$ -  $\alpha_1\text{B}$ - и  $\alpha_1\text{D}$ -адренорецептор [102].  $\alpha_1\text{A}$ -адренорецептор может действовать в основном через вход  $\text{Ca}^{2+}$  через каналы L-типа, тогда как  $\alpha_1\text{D}$ -адренорецептор – через каналы T-типа;  $\alpha_1$ -адренорецепторы также могут действовать через системы вторичных мессенджеров, не связанных с G-белком. Доказано наличие  $\alpha_1$  – адренорецепторов в мочеточнике, периферических ганглиях, нервных окончаниях, сосудах и центральной нервной системе (ЦНС); подтип  $\alpha_1\text{A}$  адренорецептора потенциально может влиять на функцию мочевыводящих путей [432]. Стимуляция  $\alpha_1$ -адренорецепторов приводит к увеличению

максимального гидростатического давления и частоты перистальтики мочеточника. Противоположный эффект воспроизводит  $\beta$ -адренергическая стимуляция [330].

[161] исследовали влияние агонистов и антагонистов  $\alpha$  и  $\beta$ -адренорецепторов как на перистальтическую активность изолированного мочеточника. Адреналин, норадреналин индуцировали зависимое от концентрации повышение как фазовой активности, так и базального тонуса мочеточника, причем все три агониста были более эффективны в изменении фазовой активности мочеточника. Норадреналин может модулировать как фазовую перистальтическую активность, так и базальный тонус мочеточника через  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренорецепторы. Предварительная обработка полосок мочеточника антагонистом  $\beta$ -адренорецепторов значительно увеличивала максимальное сокращение, вызываемое норадреналином. Высвобождение НА из симпатических нервных окончаний почки регулируется пре-синаптическим  $\alpha_2A$ -адренорецептором [159].

[273] изучили влияние подтипов  $\alpha$ -адренорецепторов на величину и частоту фазных сократительных реакций, стимулированных ацетилхолином, норадреналином и фенилэфрином. Было продемонстрировано, что  $\alpha_1$ - и  $\alpha_2$ -адренорецепторы модулируют сократительную функцию гладких мышц мочеточника, увеличивая частоту, но не величину фазовых сократительных ответов. Усиление сократительной функции с помощью норадреналина опосредуется механизмами, зависящими как от  $\alpha_1$ -, так и от  $\alpha_2$ -адренорецепторов. Ограниченная эффективность антагонистов  $\alpha_1$ -адренорецепторов объясняется значимостью неадренергического механизма сокращения гладких мышц, в частности, пуринергической сигнализацией [382].

При обструктивной нефропатии интерес к ангиотензину-2 связан с модулирующим влиянием на синаптическую передачу при активации САС [39]. Поскольку доказано усиление синтеза и экзоцитоза норадреналина, а также— ингибирование его обратного захвата, то от состояния системы

ангиотензин-2–AT<sub>1</sub>-рецептор будет зависеть реактивность нейро-моторного синапса гладкой мышечной ткани, а, следовательно, целесообразность назначения блокаторов  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора и эффективность спонтанной элиминации конкрементов. Влияние ингибиторов АПФ и блокаторов AT<sub>1</sub>-рецептор на спонтанные сокращения изолированного мочеточника человека исследовали [182]. Доказано участие AT<sub>1</sub>-рецепторов в развитии интерстициального фиброза при обструктивной нефропатии [319]. Провоспалительные пути, задействующие ЦОГ и их простагландинные продукты, особенно простагландин E<sub>2</sub> (ПГЕ<sub>2</sub>), могут играть роль важную роль в прогрессировании гиперактивности ГМК. Новое понимание механизмов передачи сигналов четырьмя рецепторами простагландинов (EP1- EP4), связанными с G-белками (GPCR) в гиперактивной гладкой мышце представили [169]. Простагландины оказывают физиологическое влияние на сократимость мочеточника, что может привести к изменениям давления и боли при обструкции. [291] установили, что экспрессия мРНК и белка ЦОГ-2 возрастала в проксимальном расширенном отделе мочеточника по сравнению с дистальным не дилатированным отделом. Иммуногистохимическое исследование выявило повышенную экспрессию ЦОГ-2 в эпителии слизистой оболочки и слоях гладких мышц у человека при обструкции мочеточника. Кроме того, рецепторы PGE<sub>2</sub>-EP1 и тромбоксана-TR, вызывающие сокращение стенки мочеточника, экспрессируются в ГМК мочеточника. Введение селективного ингибитора ЦОГ-2 ограничивало повышение давления в лоханке при обструкции мочеточника. Таким образом, экспрессия ЦОГ-2 значительно увеличивается в стенке мочеточника человека в ответ на его обструкцию; активность ЦОГ-2 способствует повышению давления в лоханке после обструкции. Позднее [219] подтвердили, что обструкция мочеточника связана с повышенной экспрессией ЦОГ-2, при этом селективные ингибиторы ЦОГ-2 обеспечивают сильную анальгезию у пациентов с камнями мочеточника. Более того, было показано, что селективные ингибиторы ЦОГ-2 снижают сократимость мочеточника человека *in vitro*. Так, селективный

ингибитор ЦОГ-2 (NS-398) снижает тоническое или фазовое сокращение ГМК, подавляя действие потенциал-зависимых  $Ca^{2+}$ -каналов. Эндогенно высвобождаемые простагландины поддерживают миогенную сократительную способность верхних отделов мочевых путей, причем ЦОГ-2 является основным ферментом, участвующим в синтезе простагландинов в верхних мочевых путях [94]. Простагландин ПГЕ2 вызывает сокращение ГМК при острой обструкции мочеточника, но вызывает релаксацию в физиологических условиях; рецептор EP3 участвует в усилении сокращения ГМК при обструкции мочеточника [36]. При острой обструкции низкие концентрации ПГЕ2 подавляли, а высокие повышали сократимость мочеточника человека; эффект усиливается при увеличении длительности обструкции [236].

Противовоспалительные препараты назначаются при лечении острой почечной колики. [75] изучили влияние селективного ингибитора ЦОГ-2 (Вальдекоксиб) и неселективного ингибитора ЦОГ (Диклофенака) на сократительную способность мочеточников человека *in vitro* и *in vivo*. Белки ЦОГ-1 и ЦОГ-2 были идентифицированы в мочеточнике человека с помощью иммуногистохимии. Оба НПВП значительно снижали амплитуду электрически стимулированных сокращений мочеточников человека *in vitro*, причем Вальдекоксиб был более эффективен в проксимальных отделах, чем в дистальных отделах мочеточника; эффект воспроизводился в большей степени при отсутствии обструкции. [284] исследовали влияние селективного ингибитора ЦОГ-2 (NS-398) на подавление сократимости мочеточника человека *in vitro*; среднее время полного прекращения спонтанного сокращения составляло 29 минут для индометацина и 21 минута для NS-398. В клинических испытаниях диклофенак не оказывал существенного влияния на выведение конкрементов из мочеточника, тогда как нифедипин и тамсулозин способствовали отхождению камней [93]. При введении указанных препаратов перистальтика мочеточника сохранялась у всех пациентов. Диклофенак и нифедипин вызывали непостоянное изменение давления в мочеточнике и не влияли на частоту сокращений. Тамсулозин

значительно снижал давление в просвете мочеточника, но не влиял на частоту сокращений. Авторы пришли к заключению, что снижение давления может быть существенным фактором в содействии прохождения камней. Эти препараты могут предотвращать повышенную, нескоординированную мышечную активность, наблюдаемую при почечной колике, одновременно поддерживая перистальтику, тем самым способствуя прохождению конкрементов.

Фундаментальные физиологические и патофизиологические процессы, такие как гомеостаз тканей, заживление ран, нейродегенерация, иммунитет, воспаление модулируются пуринергической сигнализацией [348]. Эндогенные лиганды пуриновых рецепторов (АТФ, АДФ, УТФ, УДФ и аденозин) могут высвобождаться из различных типов клеток в микроциркуляторном русле, а также из циркулирующих клеток крови, включая эритроциты и тромбоциты [320]. Нуклеотиды могут высвобождаться из клеток посредством неспецифических или специфических механизмов. Нерегулируемое высвобождение нуклеотидов может происходить из поврежденных клеток, тогда как экзоцитозные гранулы, микровезикулы, происходящие из плазматической мембраны, мембранные каналы (коннексины, паннексины, каналы модулятора кальциевого гомеостаза-CALHM, рецептор P2X) участвуют в контролируемом транспорте пуриновых нуклеотидов [133]. Четыре семейства специфических рецепторов, т.е. нуклеотидные рецепторы P2X и P2Y, аденозиновые рецепторы P1 и аденин-селективный рецептор P0, а также несколько эктонуклеотидаз являются важными компонентами «системы пуринергической передачи сигналов». Благодаря активности экто-нуклеотидаз, АТФ (возможно и другие пуриновые нуклеотиды) расщепляются на дополнительные молекулы-мессенджеры со специфическим действием. Конечные биологические эффекты зависят от типа и количества высвобождаемых нуклеотидов, их модификации экто-нуклеотидазами и возможного повторного захвата клетками. В целом, эти процессы придают высокий уровень селективности и пластичности

пуринергической передаче сигналов, что делает эту сеть одной из наиболее важных внеклеточных систем мессенджеров.

Внеклеточный аденозин-5'-трифосфат (АТФ) может быть гидролизован до аденозина в двухэтапном ферментативном процессе с участием экто-нуклеотидаз CD39 (эктоапираза) и CD73. Эти ферменты экспрессируются многими типами клеток, включая эндотелиальные клетки и ГМК [111]. АТФ активирует P2-рецепторы, которые включают ионотропные рецепторы P2X и рецепторы P2Y, связанные с G-белком. Рецепторы P2X1 представляют собой управляемые АТФ катионные каналы, которые функционально важны для сокращения гладкой мышечной ткани мочевого пузыря [121]. Активность рецепторов P2X1 модулируется внутриклеточными мессенджерами, такими как цАМФ, которые могут стимулировать протеинкиназу А. Рецепторы P2X участвуют в ряде функций, включая синаптическую передачу, сокращение мышц, агрегацию Тц, воспаление, активацию макрофагов, дифференцировку и пролиферацию клеток [391; 446]. Установлено, что активация периферических альфа-1А-адренорецепторов индуцирует висцеральную боль, вероятно, посредством высвобождением АТФ [252]. Блокада P2X-рецептора может значительно снизить сокращение мышц мочевого пузыря и нервную передачу в нейромышечном синапсе [261]. АТФ является котрансмиттером возбуждения в вегетативных нервах [192]. Доказательства ко-трансмиссии включают следующие факты: (а) АТФ запасается вместе с норадреналином в синаптических везикулах постганглионарных симпатических нервов, иннервирующих гладкомышечные ткани; (б) при совместном высвобождении с норадреналином АТФ действует на постсинаптические рецепторы P2X1, вызывая деполяризацию, приток  $Ca^{2+}$  и сокращение ГМК; (в) АТФ высвобождается вместе с ацетилхолином из постганглионарных парасимпатических нервов, иннервирующих мочевой пузырь, где он стимулирует постсинаптический P2X1-рецептор. Мембраносвязанные эктоферменты и растворимые нуклеотидазы, высвобождаемые из постганглионарных нервов, дефосфорилируют АТФ и таким образом

прекращают его нейротрансмиттерные действия. Пуринергическая передача сигналов через нуклеотиды, такие как АТФ (аденозин-5'-трифосфат) и норадренергическая передача сигналов через такие молекулы, как норадреналин, регулируют функцию ГМК. Паннексин-1 (Panx1), который образует крупнопористые каналы, высвобождающие АТФ, присутствует в ГМК и участвует в норадренергических ответах [52]. Таким образом, нейрогенные ответы симпатической стимуляции гладкой мышечной ткани зависят от двойной активации рецепторов  $\alpha_1$ -адренорецепторов и P2X1-рецептора [140]. На гладких мышцах P2X-рецепторы реагируют на АТФ, высвобождаемый симпатическими двигательными нервами [292]. В сенсорных нервах P2X рецепторы участвуют в иницировании афферентных сигналов нескольких внутренних органов (мочевом пузыре, кишечнике) и играют ключевую роль в восприятии альтерации ткани и воспалительных стимулов. Установлено, что P2X посредством  $\alpha_1$ -адренорецептора усиливает активацию сенсорных нервов (боль) [259]. Относительный вклад АТФ и НА в качестве функциональных ко-трансммиттеров сокращения гладкой мышечной ткани зависит от активности P2Y и A2-рецепторов [197]. АТФ и аденозин могут действовать как нейромодуляторы, причем наиболее убедительными доказательствами являются пресинапатическое ингибирование нейротрансмиссии через аденозиновые рецепторы A1, а также пресинапатическое возбуждение и ингибирование нейротрансмиссии через рецепторы P2X и P2Y соответственно [320].

Пуринергические функциональные сократительные ответы также поддерживаются холинергической системой *in vitro* через ненейрональные механизмы в уротелии. Вовлеченные пуриноцепторы относятся к подтипу P2X, скорее всего, P2X1 и / или P2X3 [383]. АТФ способствует высвобождению ацетилхолина через активацию пресинапатических возбуждающих рецепторов P2X2/3 [368]. Опосредованные парасимпатической регуляцией сокращения мочевого пузыря, вызванные высвобождением АТФ и ацетилхолина, значительно снижаются при цистите

[408]. Доказательства влияния воспаления на сократительную функцию и релаксацию гладкой мышечной ткани приводят [177]. Установлено, что воспалительный процесс связан с внеклеточным высвобождением нуклеотидов, особенно АТФ. Во внеклеточном компартменте АТФ преимущественно действует как сигнальная молекула за счет активации пуринергических рецепторов P2, которые изменяют исход воспалительных или инфекционных заболеваний. Внеклеточный АТФ в качестве внеклеточного мессенджера участвует в иммунном ответе, воспалительном процессе и считается важной сигнальной молекулой. С одной стороны, внеклеточный АТФ способствует воспалению посредством активации рецептора АТФ, представленного P2X7 (пуринергический рецептор P2), и сборки инфламмосомы нижестоящего NLRP3. С другой стороны, он играет противовоспалительную роль, превращаясь в аденозин с помощью CD39 и CD73 на поверхности клетки и действуя через аденозиновый рецептор (пуринергический рецептор P1) [414]. Пуринергические рецепторы P1 и P2 распределены в большинстве клеток и различаются по своему средству к АТФ и аденозину. Изменение концентрации АТФ и аденозина в тканевом микроокружении может влиять на возникновение и разрешение воспаления, что имеет решающее значение для изучения стратегий профилактики и лечения воспалительных заболеваний. Считается, что CD39/CD73 синергетически регулируют баланс внеклеточного АТФ и аденозина, тем самым, влияют на функции иммунных клеток через сигнальный путь рецепторов P2 и P1.

В первичных афферентных нервах рецепторы P2X имеют решающее значение для инициации потенциалов действия, когда они отвечают на АТФ, высвобождаемый уротелием [293]. Растяжение мочевого пузыря вызывает высвобождение АТФ из уротелия АТФ может активировать рецепторы P2X3 на субуротелиальных афферентных нервных окончаниях, вызывая нервные разряды [35]. Иммуногистохимическое окрашивание показало высокую экспрессию P2X3R в слоях уротелия [115]. Удаление уротелия нарушало

функцию мочевого пузыря, устраняло влияние антагониста P2X3-рецептора на амплитуду сокращений гладкой мышечной ткани. Продемонстрировано, что P2X3-рецептор, управляет паракринной амплификацией АТФ, который высвобождается пейсмекерными клетками гладкой мышечной ткани.

Регуляция сократительной активности гладкой мышечной ткани также обеспечивается системой АДФ-P2Y-рецепторы; последние связаны с G $\alpha$ i- и Gq-белками. Впоследствии повышенный уровень внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> и активация фосфолипазы C запускают стимуляцию киназы MLC и ингибирование фосфатазы MLC, что сопровождается увеличением сокращения ГМК [210]. Доказано, что активация P2Y6-рецептора вызывает стойкое повышение тонуса гладкой мышечной ткани мочевого пузыря в зависимости от концентрации агониста [448]. Стимуляция P2Y6-рецептора увеличивает АДФ-опосредованную сократительную силу ГМК до 45%, что указывает на синергетические взаимодействия между передачей сигналов P2X- и P2Y-рецепторов. АДФ-индуцированные ответы подавлялись (а) антагонистами фосфолипазы C и инозитолтрифосфата (ИЗФ), что свидетельствует об участии сигнального пути фосфолипаза C/ИЗФ; (б) антагонистом рецептора P2Y12 (PSB 0739). После сокращения мышечной ткани длительное воздействие АДФ сопровождается резистентностью ГМК, что свидетельствует о десенситизации P2Y12-рецептора [447]. Передача сигналов АДФ-P2Y12 жестко регулируется активностью Entpd1/Nt5e и рецепторами аденозина. Так, [150] предоставили доказательства взаимодействия рецепторов, отвечающих на АТФ, АДФ и аденозин, которые регулируют функцию гладкой мышечной ткани мочевого пузыря. При взаимодействии аденозинового A2-рецептора и P2Y12-рецепторов участок сигнализации аденилатциклаза-цАМФ регулирует сократимость ГМК, модулируя уровни внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>. Известно, что аденозин высвобождается в основном эндотелиальными клетками и миоцитами во время ишемии или гипоксии, и в значительной степени модулирует сокращение ГМК [126]. Внеклеточный АТФ последовательно гидролизуются

до АДФ и АМФ под действием определенных нуклеотидаз, таких как CD39, а АМФ превращается в аденозин, в основном с помощью CD73, экто-5'-нуклеотидазы [199]. Внеклеточный аденозин взаимодействует с рецепторами P1 и часто противодействует эффектам активации рецепторов P2. Баланс между внеклеточным АДФ и аденозином в крови и внеклеточной жидкости регулируется главным образом активностью CD39 и CD73, которые составляют CD39-аденозинэргическую ось. Аденозин может активировать токи АДФ-чувствительных калиевых (КАТР) каналов в гладких мышцах по следующему пути: стимуляция рецепторов A2 → активация аденилатциклазы → увеличение внутриклеточного цАМФ → стимуляция протеинкиназы A, которая, вероятно, через стадию фосфорилирования открывает К-АДФ-каналы [210]. Сенситизация афферентов мочевого пузыря широко рассматривается как одно из патофизиологических изменений в развитии синдрома интерстициального цистита/боли в мочевом пузыре (Interstitial cystitis/bladder pain syndrome (IC/BPS)). Имеются данные об участии аденозиновых рецепторов A2A в регуляции сенситизации сенсорных афферентов. Блокада аденозиновых рецепторов в афферентных рецепторах мочевого пузыря снижает его гиперактивность и гипералгезию [439]. Активация аденозиновых рецепторов A1 снижает высвобождение ацетилхолина из холинергических нервов мочевого пузыря. [367] показали, что  $\beta$ 3-адренорецептор-индуцированное ингибирование холинергической нейротрансмиссии в мочевом пузыре человека включает активацию пути EPAC1/РКС, что приводит к оттоку аденозина через переносчик ENT1 (equilibrative nucleoside transporter 1). Следовательно, механизм, с помощью которого агонисты рецепторов  $\beta$ 3 (например, мирабегрон) контролируют гиперактивность мочевого пузыря, может включать высвобождение аденозина из гладких мышц детрузора человека.

#### **1.4. Пути сигнализации транспорта внутриклеточного $\text{Ca}^{2+}$ : возможности исследования рецепторов, связанных с G-белком (GPCR), на модели изолированных Тц.**

Известно, что при активации Тц происходит последовательный каскад функциональных реакций, включающий адгезию, активацию, дегрануляцию, агрегацию, образование прокоагулянтной поверхности, формирование микротромба [450]. Тц экспрессируют целый ряд гетеротримерных ГТФ-связывающих белков и G-белок ассоциированных рецепторов (GPCR), активация которых генерирует как стимулирующие, так и ингибирующие сигналы [455; 453]. Наиболее значимыми являются белки  $G_s$ ,  $G_i$ ,  $G_q$ ,  $G_z$  и  $G_{12/13}$ , которые реализуют свою конформацию посредством внутриклеточных сигнальных путей с участием вторичных посредников [443]. Эффекторной молекулой при активации  $G_{\alpha_q}$ -пути является фосфолипаза C (ФЛС), которая катализирует расщепление мембранного фосфатидилинозитол 4,5 дифосфата (ФИФ2) с образованием вторичных посредников – инозитол-3-фосфата (И-3Ф) и диацилглицерола (ДАГ). И-3Ф взаимодействует с рецепторами на мембране эндоплазматической сети (плотных трубочек) Тц и вызывает выход ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазму, ДАГ опосредует приток кальция из внеклеточного пространства. Выход  $\text{Ca}^{2+}$  может индуцировать связывание АТФ с рецептором – ионным каналом  $P2X_1$  [72]. Активация  $G_{\alpha_i}$  вызывает ингибирование аденилатциклазы и снижение образования циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) с повышением концентрации внутриклеточного  $\text{Ca}^{+2}$ . Ключевым изменением при активации Тц является повышение внутриклеточной концентрации  $\text{Ca}^{+2}$ . Поскольку триггером актомиозинового взаимодействия в ГМК является содержание ионов  $\text{Ca}^{2+}$  [98; 301], а транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  модулируется сигнализацией  $\alpha$ -, $\beta$ -адренорецепторов [175], ангиотензиновым  $AT_1$ -рецептором [147; 371], пуриновыми P1 и P2-рецепторами [150; 122], TP-рецептором к ТхА2 [386], то изолированные Тц являются корректной моделью для изучения механизмов регуляции сокращения и расслабления гладкой мышечной ткани

Рецепторы, связанные с G-белком – GPCR (G-protein [guanine nucleotide-binding protein]-coupled receptors) представляют собой надсемейство интегральных мембранных рецепторов, ассоциированных с гетеротримерными G-белками [306]. Последние представляют собой основные элементы, которые передают и усиливают клеточные сигналы от рецепторов, связанных с G-белками (GPCR), к внутриклеточным эффекторам [205]. Большинство GPCR вовлечено в мобилизацию ионов  $Ca^{2+}$  и функционирование  $Ca^{2+}$ -каналов [424]. Качественное и количественное изменение передачи сигналов при трансактивации GPCR важно с терапевтической точки зрения, поскольку установление общих путей сигнализации при активации  $G_i$ -,  $G_s$ -,  $G_q$ -,  $G_{12/13}$ -белков позволяет приблизиться к пониманию зависимости эффективности лекарственных препаратов от предсуществующей активности соответствующих рецепторов. В настоящее время GPCR рассматриваются как важные терапевтические мишени, поскольку проявляют функциональную селективность, вследствие чего разные лиганды или кластеры рецепторов вызывают нетипичную нижестоящую передачу сигналов [285]. Более того, для снижения тонуса гладкой мышечной ткани рекомендуют использовать препараты, нацеленные на рецепторы, связанные с одним G-белком (гетеротримерным гуанин-нуклеотид-связывающим белком). [360] продемонстрировали, что стимуляция семейства рецепторов, связанных с  $G_q$ -белком, вызывает чрезмерное сокращение гладких мышц. Данный феномен опосредован фосфолипазой C, которая воспроизводит генерацию инозитолтрифосфата (И-3Ф) и диацилглицерина (ДАГ). В физиологических условиях передача сигналов ДАГ прерывается действием киназы ДАГ (DGK), которая превращает ДАГ в фосфатидную кислоту. Ингибирование DGK приводило к снижению активации участка  $G_q$ -фосфолипаза C по принципу отрицательной обратной связи, что ограничивает сокращение ГМК [431].

Ранее [254] предположили, что фармакологическое ингибирование Gq-белка может служить центральным механизмом для достижения эффективной терапевтической релаксации гладкой мышечной ткани. Ингибиторы GPCR рассматриваются в качестве мишеней лекарственных средств, и они доказали свою эффективность при сосудистых заболеваниях. Разумно рассматривать GPCR как потенциальную платформу для контроля клеточного старения и, следовательно, возрастных нарушений [341], поскольку повышенная интернализация GPCR и снижение их чувствительности выявлено при старении [270].

Открытие и расширение зависимой от трансактивации передачи сигналов, связанных с G-белком рецепторов, расширило парадигму передачи сигналов системы GPCR [269]. GPCR могут трансактивировать рецепторы протеинтирозинкиназы (PTKR) и рецепторы серин/треонинкиназы (S/TKR). [118] обнаружили, что  $AT_1$ -рецептор и TP-рецептор являются важными для контроля сократительной способности гладких мышц, поскольку образуют функциональный гетеродимерный комплекс. При этом Ан-2 индуцирует быстрое, надежное и устойчивое рекрутирование  $\beta$ -аррестина 1/2 на  $AT_1$ -рецептор и, в меньшей степени, на гетеродимерный комплекс. Гетерологичные стимулы GPCR оказывают минимальное или незначительное влияние на изопротеренол-индуцированную активацию  $\beta_2$ -адренорецептора и связывание G-белка для образования цАМФ [363]. Активация Gs-связанного аденозинового рецептора, рецептора релаксина и простагландина E<sub>2</sub>, а также Gq-связанного  $\alpha_1$ -адренергического рецептора и  $AT_1$ -рецептора способствует фосфорилированию  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -адренорецептора в сайтах фосфорилирования протеинкиназы A. Таким образом, в общем механизме гетерологичной десенситизации  $\beta$ -адренорецептора при гормональной стимуляции и развитии патофизиологических состояний ключевую роль играет  $\beta$ -аррестин 2 и фосфодиэстераза-4D.

Хроническая стимуляция GPCR и последующее усиленное взаимодействие между  $\beta\gamma$ -субъединицей G-белка ( $G\beta\gamma$ ), GPCR-киназой2 и  $\beta$ -аррестином играют центральную роль в различных сердечно-сосудистых заболеваниях [189]. Установлено, что фармакологическое ингибирование  $G\beta\gamma$  уменьшало почечную дисфункцию, альтерацию и фиброзирование тканей. Следовательно, рецептор, связанный с G-белком (GPCR), не является простым переключателем, а может напрямую инициировать несколько сигналов, при этом допускается селективность сигнала на основе структуры агониста [401]. Показано [258], что передача сигналов минералокортикоидных рецепторов сопровождается взаимодействием с мембранными рецепторами и другими модуляторами. Среди различных белков, с которыми взаимодействуют минералокортикоидные рецепторы есть молекулы, участвующие в передаче сигналов с G-белок связанного рецептора [304]. Это приводит к значительным перекрестным помехам (*crosstalk*) между GPCR и минералокортикоидным рецептором, что может влиять на активность последнего в клетках-мишенях. Таким образом, возможность исследования сигнальных путей при стимуляции GPCR различными лигандами на модели изолированных Тц позволяет анализировать механизмы регуляции транспорта  $Ca^{2+}$  в ГМК.

## ГЛАВА 2

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 2.1. Дизайн исследования и клиническая характеристика пациентов

В основу методологии диссертационной работы положен системный подход, направленный на анализ результатов исследования пациентов с НЛТ. Этапы исследования включали изучение данных литературы, формирование когорты больных с учетом критериев включения и исключения, обследование пациентов, оценку и интерпретацию полученных данных.

Исследование носило проспективный характер, являлось одномоментным, типа «случай-контроль»; уровень доказательности С (IIb). В исследование включены 196 пациентов с визуализационными признаками наличия конкрементов в верхней, средней и нижней трети мочеточника. Пациенты находились на обследовании в отделении рентген-ударно-волнового дистанционного дробления камней и эндоурологии ДОКТМО с 2020 по 2022 год.

Дизайн исследования: 1-я группа включала 21 пациента с эффективной элиминацией (ЭЭ) конкрементов средних размеров ( $15,1 \pm 0,9$  мм) из верхней трети мочеточника в течение 7-и суток стандартной ЛКТ; 2-я группа представлена 20 пациентами с неэффективной элиминацией (НЭ) конкрементов средних размеров ( $16,9 \pm 1,8$  мм) из верхней трети мочеточника в течение 10-ти суток стандартной ЛКТ. У 17 пациентов 3-й группы имела место НЭ конкрементов мелких размеров ( $4,20 \pm 1,2$  мм) из средней трети мочеточника в течение 9-ти суток стандартной ЛКТ. У 48 пациентов 4-й группы подтверждена ЭЭ конкрементов мелких размеров ( $4,65 \pm 1,0$  мм) из средней трети мочеточника при стандартной ЛКТ; при этом в подгруппе А (n=10) имела место быстрая элиминация (трафик занимал от 1 до 3 суток ЛКТ), в подгруппе Б (n=18) – промежуточная скорость элиминации (в течение 4-6 суток), в подгруппе С (n=20) – медленная элиминация конкрементов (7-9 суток ЛКТ).

5-я группа представлена 15 пациентами с доказанной ЭЭ мелких конкрементов ( $4,5 \pm 0,3$  мм) из средней и нижней трети мочеточника при стандартной ЛКТ; 6-я группа включала 25 пациентов с ЭЭ мелких конкрементов ( $4,4 \pm 0,9$  мм) из средней и нижней трети мочеточника при ЛКТ, в схеме которой отсутствовал  $\alpha_{1A}$ АБ. 7-я группа включала 15 пациентов с ЭЭ конкрементов средних размеров ( $12,1 \pm 0,2$  мм) из средней и нижней трети мочеточника при стандартной ЛКТ; 8-я группа представлена 15 пациентами с НЭ конкрементов средних размеров ( $11,7 \pm 0,2$  мм) из средней и нижней трети мочеточника в течение 9-и суток стандартной ЛКТ. У 20 пациентов 9-й группы подтверждена ЭЭ средних конкрементов ( $12,3 \pm 0,8$  мм) из средней и нижней трети мочеточника на протяжении 9-ти суток ЛКТ, в схеме которой отсутствовал  $\alpha_{1A}$ АБ.

Критерии включения в исследование:

- наличие информированного согласия пациента о включении его данных в исследование;
- мужчины и женщины в возрасте  $\geq 18$  лет;
- наличие одного конкремента, размерами 1,0-25,0 мм в мочеточнике.

Критерии исключения из исследования:

- прием антиагрегантов и статинов в течение последних 6 месяцев;
- коагулопатия, тромбоцитопения, менструация;
- нефроптоз, стриктура мочеточника;
- онкологическая патология;
- острые и хронические воспалительные заболевания другой локализации.
- беременность;
- наличие искусственного водителя ритма или клапана сердца, стентов коронарных сосудов;
- острый инфаркт миокарда, кардиогенный шок, варикозная болезнь;
- черепно-мозговая травма; острое нарушение мозгового кровообращения в течение последних 6 месяцев;
- цирроз, печеночная недостаточность.

Группа контроля включала 20 здоровых лиц, у которых при диагностическом обследовании не выявлены клинико-лабораторные признаки сердечно-сосудистой и урологической патологии. Контрольная группа была сопоставима по возрасту с таковой при наличии нефролитиаза.

## **2.2. Клинико-инструментальное обследование больных с нефролитиазом.**

Исследование пациентов проводили на этапе поступления, через 24ч, 48ч, 72ч, а также через 4-9 суток после начала ЛКТ. Все больные были информированы об исследованиях и плане лечения; получено письменное согласие на участие в исследовании. Учитывались демографические факторы: пол, возраст; оценивали анамнез заболевания и предыдущие эпизоды нарушения уродинамики. Анализировали семейный анамнез МКБ; наличие воспалительных заболеваний мочевой системы и прием лекарственных препаратов; уточняли коморбидный фон пациентов, а именно наличие ИБС, гипертонической болезни и СД.

Расположение и размер конкрементов определяли посредством ультразвукового исследования, компьютерной томографии; при необходимости выполняли обзорную урографию, рентген-контрастное исследование МВП, экскреторную урографию. Ультразвуковое исследование (УЗИ) почек, мочевого пузыря и мочеточников проводилось ультразвуковым сканнером Philips HD7 с частотой сканирования 3,5-7,5 МГц. Выполнение УЗИ мочевыводящих путей и/или обзорной урографии (рентгенографию мочевыделительной системы) использовалось в качестве метода диагностического контроля траффика конкремента. Для детального анализа МВП при наличии конкрементов применяли спиральную компьютерную томографию (64 срезовый аппарат КТ Philips, Brilliance 16). Данный метод визуализации позволял уточнить информацию об особенностях топографической анатомии МВП; конкретизировать локализацию, размеры, плотность и количество конкрементов. Степень тяжести АГ (I-III степень) оценивалась на основе классификации Европейского общества по гипертонии.

Диагноз СД 2 типа устанавливался согласно критериям ВОЗ (ВОЗ, 2018). Для объективизации оценки фаз хронического обструктивного пиелонефрита (ХОПН) использовались общепризнанные показатели пиелонефрита (Таблица 2.1).

Таблица 2.1

**Индикаторы дифференциальной диагностики фаз ремиссии и рецидива хронического обструктивного пиелонефрита**

№ п/п	Исследования	Признаки	Ремиссия	Рецидив
1.	Обще-клинические симптомы:	-повышение температуры тела; -артралгии, миалгии; -лихорадка в ночное время; -повышение АД	+ - + +	+ + - -
2.	Местные симптомы:	-боль и напряжение мышц поясничной области; -дизурия; -никтурия	+ + +	+ + +
3.	Общий анализ крови:	- лейкоцитоз; - смещение лейкоцитарной формулы влево; -увеличение СОЭ	+ + +	+ ± ±
4.	Общий анализ мочи:	-лейкоцитурия; -протеинурия; -эритроцитурия; -цилиндрурия;	+ - - +	+ + + +
5.	Биохимический анализ крови	-повышение уровня С-реактивного белка.	-	+
6.	Ультразвуковое исследование почек	- увеличение размеров почки с наличием конкремента; -увеличение толщины паренхимы; -расширение чашечно-лоханочной системы	- - +	+ + +

Диагноз фазы обострения ХОПН был основан на присутствии, по меньшей мере, одного из трех основных симптомов (лихорадка, боль в реберно-позвоночном углу, ИМП). Критериями воспаления являлись лейкоцитоз, сдвиг лейкоцитарной формулы влево и уровень СРБ. Лейкоцитурия или бактериурия являлись вспомогательными критериями, подтверждающими наличие ИМП. В фазе ремиссии (латентного течения) у

пациентов отсутствовали клинические синдромы хронического пиелонефрита, однако, могла сохраняться лейкоцитурия и диагностически незначимая бактериурия; в общем анализе крови отсутствовали изменения, характеризующие острое воспаление.

Обследование и лечение больных проводили в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (Сеул, 2008). Комиссией по этическим вопросам и биоэтике (протокол №1 от 22.09.2023 г.) определено, что все научные исследования с участием людей осуществлялись согласно регламентированных биоэтических норм.

### **2.3. Методы консервативного лечения пациентов с наличием конкрементов в мочеточнике.**

Эффективность элиминации конкрементов разных размеров зависит от особенностей регуляции перистальтики МВП [350]. Логично предположить, что траффик конкрементов, сопровождающийся обтурацией просвета мочеточника, требует максимальной релаксации ГМК. В этой связи, попытка селективного выключения  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора, контролирующего сокращение гладкой мышечной ткани мочеточника, представляется логичной, однако не всегда гарантирует элиминации конкрементов [142]. Причин этого явления может быть несколько. Во-первых, для траффика конкрементов требуется не только разница гидростатического давления выше и ниже локализации конкремента, но и усиление перистальтики мышечной оболочки МВП. Состояние сократительной активности ГМК при траффике конкрементов остается малоизученной проблемой биомеханики. В физиологических условиях перистальтика мочеточника обеспечивается как адренергическими, так и неадренергическими механизмами [362], поэтому при селективном выключении  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора могут сохраняться механизмы поддерживающие гипертонус гладкой мышечной ткани мочеточника. Во-вторых, введение  $\alpha_{1A}$ -адреноблокатора в процессе литокинетической терапии (ЛКТ) может оказаться малоэффективным при

низкой чувствительности  $\alpha_1$ -адренорецепторов. В-третьих, при нефролитиазе в случае стимуляции системы рецепторов, связанных с G-белком ( $\alpha_2$ -адренорецептора и ангиотензинового  $AT_1$ -рецептора, пуриновых  $P2X_1$ - и  $P2Y$ -рецепторов), возможна трансдукция внутриклеточной сигнализации в ГМК. Возникновение crosstalk (появление «перекрестных помех» в сигнализации) между сигнальными путями  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора и системой рецепторов, связанных с Gq-белком может быть причиной низкой эффективности назначения блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора [304]. В-четвертых, на эффективность назначения  $\alpha_{1A}$ -АБ может влиять спектр и выраженность компенсаторных механизмов, сформировавшихся в процессе нефролитиаза, целью которых является элиминация конкрементов из просвета МВП. В основе формирования этих механизмов лежат как системные, так и органные патогенетические факторы, появление которых связано с наличием конкремента в просвете мочеточника, нарушением пассажа мочи и повышением внутрилюминального давления. При этом возможно повышение активности САС, инициирующей стресс-реакцию, которая сопровождается стимуляцией  $\alpha$ -адренорецепторов.

Считается, что эффективность назначения  $\alpha_{1A}$ -АБ выше при наличии у пациентов крупных конкрементов ( $> 5$  мм) в МВП; при этом не обнаружена зависимость эффективности ЛКТ от расположения камня и типа  $\alpha_{1A}$ -АБ [67]. Поскольку причины низкой эффективности назначения  $\alpha_{1A}$ -АБ в составе ЛКТ остаются не выясненными, то представляется целесообразным проанализировать активность основных рецепторов контролирующих сокращение ( $\alpha_2$ -адренорецептора, пуриновых  $P2X_1$ - и  $P2Y$ -рецепторов, ангиотензинового  $AT_1$ -рецептора,  $TxA_2$ -рецептора) и релаксацию ГМК (аденозинового  $A_2$ -рецептора) при локализации конкрементов в разных отделах МВП. В наших исследованиях стандартная ЛКТ использовалась при локализации мелких ( $\leq 6$  мм), средних (10,0-20,0 мм) конкрементов в верхней и средней трети мочеточника. Стандартная ЛКТ включала НПВП (диклофенак натрия, 100-150 мг/сут),  $\alpha_{1A}$ -адреноблокатор (тамсулозин, 0,4 мг/сут),

антибиотики (согласно антибиотикограмме) и спазмолитики (платифиллин, 12мг/сут; папаверин 120 мг/сут; дротаверин, 150 мг/сут; питофенона гидрохлорид, 15мг/сут + фенпивериния бромид, 0,3мг/сут). При оценке эффективности назначения  $\alpha_{1A}$ -АБ необходимо анализировать интегративное влияние на ГМК всех препаратов входящих в схему ЛКТ. Такой методический подход позволяет анализировать так называемые неспецифические механизмы модуляции МОМ, возникающие в результате прямого или опосредованного воздействия различных фармакологических препаратов ЛКТ на гомеостаз ГМК.

В исследовании учитывали частоту элиминации конкрементов за 1-3сутки, 4-6-сутки и 7-9 суток, а также скорость траффика конкрементов относительно интервала времени в течении которого завершалось выведение конкремента из исследуемого отдела мочеточника. Эффективную элиминацию конкремента признавали состоявшейся, если по данным визуализационного контроля в течение 9 суток произошло перемещение конкремента из исследуемого отдела мочеточника; при неэффективной элиминации – локализация конкремента сохранялась в пределах исследуемого отдела мочеточника на протяжении 10 суток.

#### **2.4. Лабораторные исследования.**

На момент госпитализации, а также через 1-3ч, 24ч, 48ч, 72ч и 7 суток после КЛТ у больных проводили анализ параметров биохимии крови и водно-электролитного баланса. Гемокоагулометрическое исследование (коагулометр К-3002 ОРТИС, Польша) позволяло определить протромбин по Квику (в %); протромбиновый индекс (ПТИ), международное нормализованное отношение (МНО), тромбопластиновое время (ТВ, в сек), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ, в сек), фибриноген (ФГ, г/л). При анализе гемограмм определяли количество форменных элементов, лейкоцитарную формулу и абсолютное количество различных видов лейкоцитов. Для оценки

процесса рекрутирования лейкоцитов из сосудистого русла в ткани рассчитывали количество циркулирующих в крови ТЛА.

С этой целью проводили микроскопию мазков крови, окрашенных по методу Паппенгейма; число ТЛА рассчитывали в процентном отношении на 100 клеток (в %). При анализе реакции организма на развитие воспаления оценивали СОЭ и уровень С-реактивного белка. Для оценки глубины метаболических нарушений липидного обмена проводили исследования концентрации общего холестерина, триглицеридов, липопротеинов высокой и низкой плотности (ЛПВП и ЛПНП) (колориметрический фотометрический метод). Концентрацию глюкозы оценивали глюкозооксидантным методом; интенсивность окраски продукта реакции измерялась фотометрическим методом при длине волны 500 нм на спектрофотометре SPECORD-200 (Германия). У больных с сахарным диабетом (СД) уровень гликозилированного гемоглобина (HbA1c) в крови определяли на аппарате BECKMAN COULTER AU 480. Для микробиологического исследования мочи использовали автоматический бактериологический анализатор VITEK 2XL. Использовали 1 µl мочи; оценка результатов проводилась через 48 ч инкубации. Количество бактерий  $\geq 10^5$  PMU/mL в утренней средней порции мочи рассматривалось как наличие инфекций в мочевыводящих путях.

Верификация степени гематурии основывалась на общем анализе мочи, согласно которому микрогематурия характеризуется наличием 3-х и более эритроцитов в поле зрения; при этом выделяли легкую степень – 3-10 э/пз, среднюю – 11-49 э/пз и тяжелую степень микрогематурии – 50-100 э/пз. Видимая гематурия констатируется, если количество эритроцитов (не лизированных) занимает 1/2 поля зрения и больше. Для градации макрогематурии подсчитывать по Нечипоренко количество тысяч эритроцитов в 1 мл мочи. Лейкоцитурию определяли при наличии 11 и более лейкоцитов в поле зрения при микроскопии осадка мочи; при этом выделяли легкую степень – 11-15 л/пз, среднюю – 16-25 л/пз и тяжелую степень лейкоцитурии более 25 л/пз.

## 2.5. Исследование агрегации тромбоцитов.

Протокол исследования агрегационной способности Тц соответствует Европейским рекомендациям по стандартизации агрегометрии [152]. Исследование Тц проведено на периферической венозной крови; в качестве антикоагулянта использовался раствор цитрата натрия в объемном отношении 9:1. Богатую тромбоцитами плазму (БТП) получали центрифугированием образцов крови при 200-250×g в течение 10 минут при температуре +21 – +24°C. Количество Тц в исследуемом образце соответствовало 200.000 ± 50.000 клеток в 1,0 мкл. Исследование агрегации Тц (АТц) проводили турбидиметрическим методом на анализаторе ChronoLog (USA). Регистрацию индуцированной агрегации проводили в течение 7 минут при температуре 37°C и движении мешалки со скоростью 1000 об/ мин.

Суспензию Тц использовали в качестве модели для оценки функциональной активности  $\alpha_2$ -адренорецептора, пуриновых P2X<sub>1</sub>-рецептора и P2Y-рецепторов, аденозинового A2A-рецептора, ангиотензинового AT<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора, ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора к коллагену IV типа.

Представленный выбор рецепторов обусловлен следующими соображениями:

1. В связи с активацией САС при НЛТ целесообразно исследовать роль адреналина как фактора, модулирующего активность  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора и сократительную активность ГМК. Обоснование данной задачи связано: во-первых, с тем, что при введении  $\alpha_{1A}$ АБ снижается стимуляция  $\alpha_1$ -адренорецептора на ГМК, но сохраняется возможность сокращения мышечной оболочки МВП вследствие стимуляции адреналином  $\alpha_2$ -адренорецептора [273]. Сигнализация  $\alpha_2$ -адренорецептора связана с Gi-белком и обеспечивает увеличение концентрации Ca<sup>2+</sup> в клетках-мишенях, в т.ч. ГМК [45]. Как следствие, уменьшается просвет МВП, что ограничивает возможности траффика конкрементов. Во-вторых, при стимуляции  $\alpha_2$ -адренорецептора на пресинаптической части снижается секреция

норадреналина в синаптическую щель и уменьшается стимуляция  $\beta_1$ -адренорецептора [159], что ограничивает нейрогенный механизм дилатации мочеточника. В-третьих, доказана возможность сопряженности внутриклеточных сигнальных путей, связанных с  $\alpha_2$ -адренорецептором и другими G-ассоциированными рецепторами [235]. Таким образом, эффективность элиминации конкрементов при назначении  $\alpha_{1A}$ -АБ может зависеть от стимуляции  $\alpha_1$ - и  $\alpha_2$ -адренорецепторов ГМК, что обосновывает целесообразность исследования чувствительности разных типов адренорецепторов при проведении ЛКТ. Исследование активности  $\alpha_2$ -адренорецептора при блокаде  $\alpha_1$ -адренорецептора может внести ясность в вопрос о причинах низкой эффективности ЛКТ у ряда пациентов с НЛТ.

2. Пуриновый P2X-рецептор представляет собой управляемый АТФ катионный канал, который обеспечивает повышение внутриклеточной концентрации  $Ca^{2+}$  в клетках мишенях. Целесообразность анализа P2X-рецептора обусловлена тем, что: (а) P2X<sub>1</sub>-рецепторы экспрессируются на ГМК мочевыводящих путей, причем молекула АТФ участвует в модуляции фаз сокращения и расслабления мочеточника [446]; (б) молекула АТФ имеет критическое значение для инициации потенциалов действия в афферентных нервах [292]; (в) пуриновые нуклеотиды секретируются из эфферентных нервных окончаний вместе с норадреналином и могут модулировать сократительную активность мочеточника независимо от стимуляции  $\alpha_1$ -адренорецептора [140]; (г) гипоксия/ишемия тканей органов сопровождается высвобождением АТФ и повышением экспрессии P2X-рецепторов, активацией инфламмосомы NLRP3 [316]; (д) АТФ-чувствительные каналы (KIR6.2) модулируют боль [375]. Нейрогенная регуляция мышечного тонуса МВП связана с двойной активацией  $\alpha_1$ -адренорецепторов и P2X<sub>1</sub>-рецептора [140]. Таким образом, оценка активности P2X<sub>1</sub>-рецептора открывает возможность анализировать механизмы кооперации клеток крови и патогенеза геморрагии, гематурии и пиелонефрита при ЛКТ.

3. Пуриновые P2Y-рецепторы (P2Y<sub>1</sub>-рецептор и P2Y<sub>12</sub>-рецептор) связаны с Gi- и Gq-белком, сигнализация с которых обеспечивает повышение концентрации Ca<sup>2+</sup> в клетках-мишенях, следствием чего является сокращение ГМК. Целесообразность исследования активности пуриновых P2Y рецепторов при нефролитиазе и ЛКТ продиктована возможностью: анализа тяжести гипоксии/ишемии тканей, механизмов регуляции гемостаза, оценки альтерации эндотелия активными формами кислорода в процессе ишемии/реперфузии почки [435]. Установлено, что стимуляция данного типа рецепторов вызывает стойкое повышение тонуса гладкомышечной ткани мочевого пузыря, в том числе вследствие синергичного взаимодействия с P2X-рецептором [447]. Потенцирование эффектов P2X- и P2Y-рецепторов обеспечивается за счет активации сигнального пути фосфолипаза Cβ<sub>1,3</sub> - инозитолтрифосфат (ИЗ-Ф).

4. Аденозиновый A2A-рецептор, связан с G-белком, передает сигнализацию через стимулирующий G-белок (Gs-), что приводит к активации аденилатциклазы и повышению уровня циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). Идентифицировано несколько рецепторов аденозина, участвующих в реакции расслабления ГМК [367]. Вызванная аденозином гиперполяризация мембраны ГМК опосредованы A2A-рецептором и активацией K<sup>+</sup>-каналов посредством аденилатциклазы-цАМФ [141]. Проявлением системного влияния стимуляции A2A-рецептора может быть снижение сократимости гладкой мышечной ткани. Показано, что стимуляция A2A-рецептора уменьшала АДФ-индуцированное сокращение гладких мышц мочевого пузыря [150]. Установлено, что эндогенный аденозин модулирует нейротрансмиссию ГМК мочевого пузыря посредством пресинаптического A1-рецептора, тогда как мембрана ГМК содержат подтип A2-рецепторов. Приведены доказательства [439], что аденозиновый тип A2A-рецептора участвует в регуляции чувствительности афферентных нервных окончаний МВП. Известно, что аденозин вызывает релаксацию стенки мочеточника путем активации A2B-рецепторов независимо от синтеза простаноидов или NO [161]. Активность A2-рецепторов

рассматривается как чувствительный индикатор гипоксии/ишемии и воспаления в тканях; аденозин-опосредованная стимуляция А<sub>2</sub>-рецептора является основным механизмом ишемического preconditionирования. Подтверждено, что стимуляция А<sub>2</sub>-рецепторов на клетках крови сопровождается снижением активности нейтрофилов, секретирующих ФАТ и накоплением макрофагов в рыхлой волокнистой соединительной ткани. Таким образом, исследование аденозиновых А<sub>2А</sub>-рецепторов Тц позволяет оценить влияние ишемии МВП и влияние лейкоцитурии на развитие дисфункции мочеточника.

5. Ангиотензиновый АТ<sub>1</sub>-рецептор связан с G<sub>q</sub>-белком, сигнализация которого обеспечивает повышение концентрации Ca<sup>2+</sup> в клетках-мишенях. Целесообразность исследования активности этих рецепторов при ЛКТ обосновывается следующими фактами. Во-первых, ангиотензиновый АТ<sub>1</sub>-рецептор представлен на мембране ГМК, при интравезикальной обструкции их экспрессия повышается [82]. Во-вторых, подтверждено участие ангиотензина II в регуляции пиелоуретеральной перистальтики посредством модуляции содержания Ca<sup>2+</sup> в атипичных ГМК через потенциал-зависимые кальциевые каналы L-типа [287]. В-третьих, АТ<sub>1</sub>-рецептор участвует в потенцировании эффектов Р2X-рецептора на ГМК [208]. Доказано существование функциональной перекрестной связи между сигнализацией АТ<sub>1</sub>-рецептора и другими сигнальными путями. В-четвертых, подтверждено модулирующее влияние АТ<sub>1</sub>-рецептора на ремоделирование мышечной ткани мочевого пузыря при его обструкции [27], а также воспалительную реакцию, поскольку возрастает адгезия лейкоцитов к эндотелию и проницаемость стенки сосудов микроциркуляторного русла [442].

6. Сигнализация ТхА<sub>2</sub>-рецептора связана с G<sub>q</sub>- и G<sub>13</sub>-белками, что сопровождается повышением внутриклеточной концентрации Ca<sup>2+</sup> в Тц и лейкоцитах. Активность ТхА<sub>2</sub>-рецептора является индикатором степени ингибирования активности ЦОГ [184]. Для определения способности аспирина ингибировать циклооксигеназу, предварительно Тц инкубировали с аспирином

после чего добавляли арахидоновую кислоту [30]. В данном тесте критерием активности ЦОГ является чувствительность TP-рецептора к TxA<sub>2</sub>, синтез которого при метаболизме арахидоновой кислоты зависит от ингибирующего влияния аспирина. Необходимость исследования активности TP-рецептора базируется на следующих фактах: (а) ферменты ЦОГ-1 и ЦОГ-2 представлены в проксимальном и дистальном отделах мочеточника человека, причем ингибиторы ЦОГ-2 снижают его сократительную способность в большей степени при полной обструкции мочеточника [75]; (б) активность ЦОГ-2 увеличивается в проксимальном отделе мочеточника при его дилатации, по сравнению с дистальным неизмененным отделом. EP1-рецептор к ПГЕ<sub>2</sub> и TP-рецептор к TxA<sub>2</sub> экспрессируются в ГМК мочеточника, что подтверждает участие простаноидов в сокращении мочеточника. Введение селективных ингибиторов ЦОГ-2 сопровождается снижением давления в лоханке при обструкции мочеточника [291]; (в) ингибитор ЦОГ снижает сократимость мочеточника человека, эффект может быть связан с уменьшением тонического и фазового сокращения вследствие ингибирования потенциал-зависимых Ca<sup>2+</sup>-каналов [219]. На связь воспаления и усиления продукции простаноидов в мочеточнике впервые обратили внимание [236]. Целесообразность исследования активности TP-рецептор продиктована не только возможностью оценки степени ингибирования, но и – верификации механизмов, регулирующих сократительную активность МОМ при развитии воспалительной реакции и назначении НПВП.

Для анализа *in vitro* состояния рецепторного аппарата Тц использовались следующие агонисты.

Адреналин (Epinephrine bitartrate) - агонист адренорецепторов ( $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -адренорецепторов). Фирма производитель Sigma-Aldrich Chemie GmbH Merck KGaA (Германия). Продукт в каталоге - PHR1509; CAS Number: 51-42-3. Эмпирическая формула (Hill Notation): C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub> C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>; молекулярный вес: 333,33 г/моль. Обоснование возможных доз агониста для изучения

функциональной активности  $\alpha_2$ -адренорецептора Тц представлен в публикации [31].

АТФ (Adenosine 5'-triphosphate disodium salt hydrate) –пуринергический агонист P2X-рецептора; повышает активность  $\text{Ca}^{2+}$ -активируемых  $\text{K}^+$ -каналов; субстрат для АТФ-зависимых ферментных систем. Фирма производитель Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Германия). Продукт в каталоге – A1852. CAS Number: 34369-07-8. Эмпирическая формула:  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_{13}\text{P}_3\text{Na}_2 \cdot x \text{H}_2\text{O}$ ; молекулярный вес: 551,14 г/моль. Милимолярный коэффициент экстинкции раствора АТФ при рН 7,0 составляет 14,9- 15,6 при максимальной длине волны поглощения 259 -260нм. Обоснование доз агониста для изучения активности P2X- рецепторов Тц представлен в публикации [328].

АДФ (Adenosine 5'-diphosphate sodium salt) - адениннуклеотид, который связывается с пуриновыми рецепторами Тц ( $\text{P2Y}_1$ ,  $\text{P2Y}_{12}$ ). Фирма производитель Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Германия). Продукт в каталоге - A2754. CAS Number: 20398-34-9. Эмпирическая формула (Hill Notation):  $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_{10}\text{P}_2$ ; молекулярный вес: 427.20. Милимолярный коэффициент экстинкции раствора натриевой соли АДФ при рН 7,0 составляет 15,4 при максимальной длине волны поглощения 259 нм. Маточный раствор АДФ (1 мг/мл) получают введением во флакон 2,0 мл 0,9% NaCl ( $t = + 20^\circ\text{C}$ ). Обоснование возможных доз агониста для изучения активности  $\text{P2Y}_1$  и  $\text{P2Y}_{12}$ -рецепторов Тц представлен в публикации [31].

Аденозин (9- $\beta$ -D-Ribofuranosyladenine, Adenine riboside, Adenine-9- $\beta$ -D-ribofuranoside) агонист аденозиновых  $\text{A}_2$ -рецепторов. Фирма производитель Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Германия). Продукт в каталоге – A9251. CAS Number: 58-61-7. Молекулярная формула:  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$ ; молекулярная масса: 267,24. Милимолярный коэффициент экстинкции раствора аденозина при рН 7,0 составляет 14,6- 15,2 при максимальной длине волны поглощения 259 - 260нм. Обоснование возможных доз агониста для изучения активности  $\text{P2Y}_1$  и  $\text{P2Y}_{12}$ - рецепторов Тц представлен в публикации [123].

Ангиотензин-2 (Angiotensin II human; Synonyms: Ang II, Hypertensin II) - октапептидный гормон, является агонистом AT<sub>1</sub>- и AT<sub>2</sub>-рецепторов. Последовательность аминокислот: Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe. Молекулярная формула: C<sub>50</sub>H<sub>71</sub>N<sub>13</sub>O<sub>12</sub>; молекулярная масса: 1046.18 Da. Catalog Number A9525 Product Number: C8374 Company: Sigma-Aldrich Chemie GmbH. CAS-No.: 9007-34-5. Ангиотензин-2 растворяют в воде (25 мг/мл) при pH 5,0-8,0. Стационарные растворы при нейтральном pH и t = -20°C, остаются активными в течение двух месяцев. Обоснование возможных доз агониста для изучения функции Tц представлено в публикации [149].

ФАТ (β-Acetyl-γ-O-hexadecyl-L-α-phosphatidylcholine hydrate) – внеклеточный сигнальный липид, который является лигандом для ФАТ-рецепторов. Молекулярная формула: C<sub>26</sub>H<sub>54</sub>NO<sub>7</sub>PxH<sub>2</sub>O; молекулярная масса: 523,68 г / моль. Состав алкильной группы: 56% пальмитил (гексадецил, C<sub>16</sub>), 10% стеарил (октадецил, C<sub>18</sub>), 11% пентадецил (C<sub>15</sub>), 13% является не идентифицированным. Product Number: P4904. Company: Sigma-Aldrich Chemie GmbH. CAS-No.: 74389-68-7 P4904. Лиофилизированный порошок ФАТ является фосфолипидным медиатором, который активировывает различные типы клеток (Tц, нейтрофилы, моноциты, T-лимфоциты,). Активация Tц обусловлена связыванием ФАТ с его рецептором на поверхности клеток, активацией Gq и образованием инозитол-3-фосфата, что сопровождается повышением уровня Ca<sup>2+</sup>. Водную дисперсию ФАТ готовят в 0,15 М NaCl, содержащем 2,5 мг/мл бычьего сывороточного альбумина (BSA). Обоснование возможных доз агониста для изучения функциональной активности ФАТ-рецептора Tц представлено в публикации [92].

Арахидоновая кислота (*cis,cis,cis,cis*-5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid) представляет собой ненасыщенную жирную кислоту ω<sub>6</sub>, входящую в состав фосфолипидов клеточных мембран. Субстрат метаболизируется в простагландины и тромбоксаны по крайней мере двумя изоформами циклооксигеназы (ЦОГ). Производитель: Sigma-Aldrich Chemie GmbH.

Продукт в каталоге – A3611. CAS Number: 506-32-1. Молекулярная формула:  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ; молекулярная масса: 304.47.

Коллаген (Collagen from human placenta; Synonyms: Collagen Type IV) - связывается с GPVI-рецептором Тц, гепатоцитов, кератиноцитов, эндотелиальных клеток. Product Number: C8374 Company: Sigma-Aldrich Chemie GmbH. CAS-No.: 9007-34-5. Молекулы коллагена состоят из трех полипептидных цепей, расположенных в тройной спиральной конформации; в первичной структуре, в основном, глицин повторяется в каждой 3-й позиции, а пролин или 4-гидроксипролин часто предшествуют глицину. Тип IV коллагена представлен в базальных мембранах и содержит до шести генетически отличных  $\alpha$ -цепей. IV тип коллагена используется для оценки функции Тц. Обоснование возможных доз агониста представлено в публикации [31].

В контрольной серии исследований в суспензию Тц добавляли физиологический раствор для оценки спонтанной агрегации. Инкубацию проводили в течение 4-6 минут при температуре 37 °С и при перемешивании мешалкой со скоростью 1000 об/мин до выхода кривой на плато.

## **2.6. Статистическая обработка результатов исследования.**

Анализ полученных результатов осуществлялся с помощью методов биостатистики. При проведении анализа использовались статистические пакеты MedStat и MedCalc. Оценка величин, подлежащих анализу, проводилась путем расчета среднего арифметического признака ( $\bar{X}$ ) или его медианы (Me) и соответствующей стандартной ошибки (m). Для качественных характеристик использовали показатель частоты признака (%) и стандартную ошибку (m%). При анализе межгрупповых различий в случае двух групп применяли критерий Стьюдента (в случае нормального закона распределения и количественных характеристик) и критерии Вилкоксона и Манна-Уитни (в случае отличия закона распределения от нормального и количественных характеристик), метод углового преобразования Фишера (в случае сравнения

частоты качественных признаков). В случае сравнения трех и более групп использовали методы множественных сравнений: дисперсионный анализ и метод множественного сравнения Шеффе – в случае нормального закона распределения; ранговый критерий Краскела – Уоллиса и критерий Данна – в случае отличия закона распределения от нормального. При сравнении качественных признаков в этом случае использовали критерий  $\chi^2$ . Для выявления связи между признаками применяли методы корреляционного анализа: рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона  $r$  (в случае нормального закона распределения) или показатель ранговой корреляции Спирмена (в случае отличия закона распределения от нормального). Для оценки диагностической значимости показателей использовали ROC-анализ с определением площади ROC-кривой и диагностической чувствительности и специфичности в пакете MedCalc. Во всех случаях отличие считалось статистически значимым при уровне значимости  $p < 0,05$ .

### ГЛАВА 3.

## ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДИСФУНКЦИИ МОЧЕТОЧНИКА ПРИ НЕФРОЛИТИАЗЕ

### 3.1. Результаты клинико-инструментального обследования пациентов с нефролитиазом

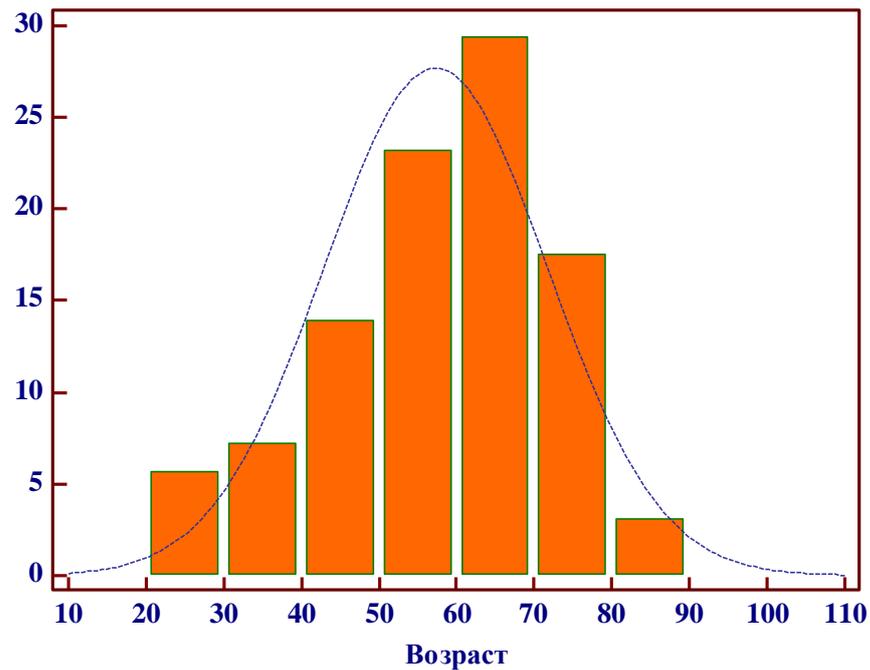
Анализ возможных предикторов дисфункции мочеточника при НЛТ представлены в таблице 3.1.

По результатам клинико-инструментального обследования НЛТ выявлен у 196 пациентов, средний возраст –  $57,3 \pm 1,0$  года. Наибольшее количество больных - 118 (60,2%) находились в возрастном диапазоне 50-80 лет (Рисунок 3.1). Когорта пациентов пожилого возраста (старше 65 лет), который рассматривается как фактор риска осложнений НЛТ, представлена 71 (36,2%) человеком, из которых гематурия обнаружена у 65 (91,5%). В данной подгруппе микрогематурия имела у 47 (72,3%) и макрогематурия у 18 (27,7%) пациентов. В когорте было 92 (46,9%) мужчины, средний возраст –  $57,5 \pm 1,5$  года; возрастной диапазон 50-80 лет представлен – 64 (69,6%) пациентами (Рисунок 3.2). Также обследованы 104 (53,1%) женщины, средний возраст  $57,2 \pm 1,4$  года; в возрастном диапазоне 50-80 лет – находилась 71 (68,3%) пациентки. В когорте мужчин гематурия выявлена у 89 (96,7%) человек, из которых макрогематурия имела место у 29 (32,6%) человек, тогда как у 90 (86,5%) женщин обнаружена гематурия и у 35 (38,9%) – макрогематурия. Таким образом, без учета влияния других факторов риска НЛТ, гендерных различий частоты гематурии не обнаружено. Из 101 человека с наличием конкрементов в верхней трети гематурия выявлена у 91 ( $90,1 \pm 3,0\%$ ) пациента, тогда как у 95 пациентов с локализацией конкрементов в средней и нижней трети мочеточнике гематурия имела место в 86 ( $90,5 \pm 3,0\%$ ) случаях.

Таблица 3.1

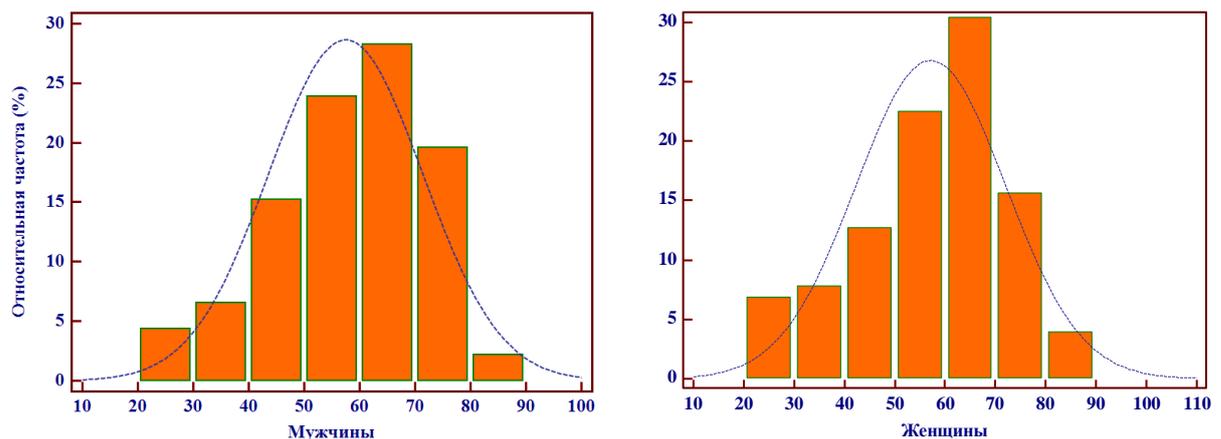
**Частота выявления анализируемых показателей у пациентов с  
нефролитиазом при наличии и отсутствии гематурии**

Показатели	Группы сравнения		
	Всего случаев	Отсутствие гематурии	Наличие гематурии
Пол:	196	17 (8,7±2,0%)	179 (91,3±2,0)
Мужчины		11 (64,7±11,6%)	81 (45,3±3,7%)
Женщины		6 (47,1±11,6%)	98 (54,7±3,7%)
Возраст:			
<65 лет	125	11 (8,8±2,5%)	114 (91,2 ±2,5%)
>65 лет	71	6 (8,5±3,3%)	65 (91,5±3,3%)
Конкремент в лоханке+мочеточнике:	196	19 (9,7±2,1%)	177 (90,3±2,1%)
верхняя треть	101	10 (9,9±3,0%)	91 (90,1±3,0%)
средняя+нижняя треть	95	9 (9,5±3,0%)	86 (90,5±3,0%)
Гидронефроз	46	2 (4,3±3,0%)	44 (95,7±3,0%)
-конкремент в лоханке;	7	0	7 (15,9±5,5%)
-конкремент в мочеточнике:			
-верхняя треть;	13	1 (50,0±35,4%)	12 (27,3±6,6%)
-средняя+нижняя треть	26	1 (50,0±35,4%)	25 (56,8±5,5%)
Артериальная гипертензия:	196	17 (8,7±2,0%)	179 (91,3±2,0%)
-имеет место	25	4 (23,5±10,3%)	21 (11,7±2,4%)
-отсутствует	171	13 (76,5±10,3%)	158 (88,3±2,4%)
Гипергликемия:	196	17 (8,7±2,0%)	179
-имеет место	52	4 (23,5±10,3%)	48 (26,8±3,3%)
-отсутствует	144	13 (76,5±10,3%)	131 (73,2±3,3%)
Инфекция МВП:	196	17 (8,7±2,0%)	179 (91,3±2,0%)
-выявлена	81	8 (47,1±12,1%)	73 (40,8±3,7%)
-отсутствует	115	9 (52,9±12,1%)	106(59,2 ±3,7%)
Использование НПВП:	196	17 (8,7±2,0%)	179
-имело место	78	8 (47,1±12,1%)	70 (39,1±3,6%)
-не применялись	118	9 (52,9±12,1%)	109 (60,9±3,6%)



**Рис. 3.1. Частотное распределение по возрасту пациентов с НЛТ.**

Примечание. По оси абсцисс - возраст в годах, по оси ординат - количество пациентов соответствующего возраста.



**Рис. 3.2. Гистограммы, демонстрирующие распределение возраста мужчин и женщин с НЛТ.**

Примечание. По оси абсцисс - возраст в годах, по оси ординат - относительная частота регистрации пациентов с соответствующим возрастом.

При анализе не выявлено различий в частоте распределения размеров конкрементов у пациентов с микро- и макрогематурией ( $P=0,268$ ). Таким образом, без учета других факторов риска НЛТ, локализация и размер конкрементов не оказывали влияния на частоту гематурии. У 21 (22,8%) мужчины обнаружен гидронефроз, причиной которого была обструкция МВП, причем в 4 (19,0%) случаях конкремент располагался в лоханке, в 7 (33,3%) случаях в верхней трети и в 10 (47,7%) случаях в средней и нижней трети мочеточника. Гидронефроз выявлен у 23 (22,1%) женщин, причиной которого была обструкция МВП; в 6 (26,1%) случаях конкремент располагался в лоханке, в 6 (26,1%) – в верхней трети и в 11 (47,8%) случаях в средней и нижней трети мочеточника. Гидронефроз связанный с микрогематурией проявлялся у 28 (86,4%) пациентов с локализацией конкрементов в мочеточнике и только у 5 (13,6%) с локализацией конкрементов в лоханке.

Из 196 обследованных пациентов у 179 (91,3%) выявлена гематурия, из которых 64 (35,8%) человек находились в возрасте старше 65 лет. Количество эритроцитов в моче составило  $46,0 \pm 4,4$  э/пз (95% ДИ 37,2-54,8 э/пз). Различий выраженности гематурии у пациентов в возрасте <65 лет и >65 лет не выявлено, соответственно  $46,0 \pm 3,8$  э/пз (95% ДИ 38,7-53,3 э/пз) и  $41,8 \pm 5,2$  э/пз (95% ДИ 31,5-52,2 э/пз). Микрогематурия имела место у 115 (64,2%) пациентов и макрогематурия – у 64 (35,8%). У 47 (41,2%) пациентов имела место легкая степень микрогематурии в среднем  $-7,1 \pm 0,3$  э/пз (95% ДИ 6,5 - 7,7 э/пз); у 45 (39,5%) пациентов – средней степени тяжести  $26,2 \pm 1,5$  э/пз (95% ДИ 23,2-29,3 э/пз); у 22 (19,3%) пациентов уровень микрогематурии соответствовал тяжелой степени тяжести  $-85,3 \pm 2,6$  э/пз (95% ДИ 70,9-90,6 э/пз). В связи с появлением гематурии при НЛТ целесообразно было сопоставить частоту применения НПВП для ингибирования острой воспалительной реакции в слизистой оболочке лоханки и мочеточника. Интерес к данной группе препаратов связан с их выраженным антиагрегантным эффектом. Из 179 (91,3% $\pm$ 2,0) случаев гематурии, только 70 (39,1%) пациентов использовали НПВП. При анализе не выявлено различий

в частоте назначения НПВП у пациентов с микро- и макрогематурией ( $P=0,268$ ).

Инфекция МВП выявлена у 81 (41,3%) пациентов, из которых у 73 (93,1%) человек обнаружена гематурия. Основными патогенами, обнаруженными в моче были *Enterococcus faecalis* (36,4%), *Klebsiella pneumonia* (27,3%) и *Escherichia coli* (18,2%). Средний возраст пациентов  $55,9 \pm 1,7$  года (95% ДИ 53,1-58,7 года). У 115 (58,7%) пациентов при бактериологическом исследовании моча была стерильной. При наличии и отсутствии ИМП различий частоты микро- и макрогематурии не обнаружено. Лейкоцитурия выявлена у 111 (56,6%) пациентов. У 41 (36,9%) пациента имела место легкая (11-15 на 100 клеток) степень лейкоцитурии в среднем –  $13,8 \pm 0,2$  л/пз (95% ДИ 13,4 -14,1 л/пз); у 45 (40,6%) пациентов – средней степени тяжести (от 15 до 24 лейкоцитов в пз)  $18,0 \pm 0,4$  л/пз (95% ДИ 17,1 - 18,9 л/пз ); у 25 (22,5%) пациентов уровень лейкоцитурии соответствовал выраженной степени тяжести ( $\geq 25$  лейкоцитов) –  $42,8 \pm 4,6$  л/пз (95% ДИ 33,3- 52,2 л/пз). Конкременты располагались у 101 (51,5%) пациентов в лоханке и верхней трети мочеточника, у 95 (48,5%) пациентов – в средней и нижней трети мочеточника. У 118 (60,2%) пациентов диагностирована фаза рецидива ХОПН, для которой характерна острая воспалительная реакция в слизистой оболочке МВП; у 78 (39,8%) – имела место фаза ремиссии ХОПН, при которой в МВП имеет место хроническое воспаление.

Завершая традиционный анализ причин развития осложнений при НЛТ в общей когорте обследованных больных необходимо отметить неудовлетворенность полученными результатами, в том плане, что влияние факторов риска на реактивность организма остается не известным, а следовательно, «маскируется» их влияние на перистальтику МОМ.

### 3.2. Предикторы и механизмы развития гематурии при нефролитиазе.

Проведение консервативной терапии, включающей НПВП и антибиотики, для устранения или профилактики воспаления при ХОПН, направлено, прежде всего, на подавление функциональной активности лейкоцитов (нейтрофилов и лимфоцитов) и ограничение контаминации мочевыводящих путей [441]. Логично предположить, что при ингибировании циклооксигеназы (ЦОГ) и снижении синтеза тромбоксана (ТхА<sub>2</sub>) в Тц будут возникать нарушения гемостаза. Однако, выраженность гематурии при мочекаменной болезни и необходимость трансфузии остаются предметом дискуссии [257].

*Цель исследования* – оценить гематурию и реактивность Тц у пациентов с ХОПН. Достижение поставленной цели возможно путем решения следующих исследовательских вопросов.

Во-первых, *имеет ли место гематурия при использовании НПВП и отличается ли степень кровопотери у пациентов в фазе ремиссии и рецидива заболевания?* Исследование гематурии у 13 больных, находящихся в фазе ремиссии ХОПН, позволило верифицировать содержание эритроцитов в моче на уровне  $2,25 \pm 1,12 \times 10^3$  Эр/л (95% ДИ  $0,883 \times 10^3 - 32,8 \times 10^3$  э/пз). При этом у большинства больных (9 человек, 69,2%) гематурия была минимальной и находилась в диапазоне от 0 до  $10 \times 10^3$  э/пз. У 29 больных в фазе рецидива ХОПН отмечена гематурия на уровне  $25,0 \pm 5,1 \times 10^3$  э/пз (95% ДИ  $10,5 \times 10^3 - 60,6 \times 10^3$  э/пз), то есть примерно в 11 раз выше, чем в фазу ремиссии ( $p = 0,035$ ). Анализ частоты распределения выраженности гематурии продемонстрировал, что у 16 больных (55,2%) гематурия была минимальной и находилась в диапазоне от 0 до  $20 \times 10^3$  э/пз, у 7 пациентов (24,1%) – в диапазоне от 20 до  $100 \times 10^3$  э/пз и у 6 больных (20,7%) гематурия была выраженной и находилась в диапазоне от  $60 \times 10^3$  э/пз до  $180 \times 10^3$  э/пз. Таким образом, использование НПВП в фазе рецидива ХОПН провоцирует большую кровопотерю, чем их назначение в фазу ремиссии.

*Во-вторых, отличаются ли основные индикаторы воспаления в фазе ремиссии и рецидива ХОПН?* Смысл вопроса – сравнить значимость острого (рецидив ХОПН) и хронического (ремиссия ХОПН) воспаления в МВП на гематурию. При ремиссии – количество лейкоцитов в периферической крови (95% ДИ  $6,2 \times 10^9$  -  $8,3 \times 10^9$  /л) и сегменто- ядерных НФ (95% ДИ 51% - 67%), а также СОЭ (95% ДИ 6,0 - 15,0 мм /ч) находились в пределах референтных значений «нормы». В фазу рецидива ХОПН количество лейкоцитов крови превышало таковое в группе с ремиссией на 28,0% ( $p < 0,01$ ), сегменто- ядерных НФ на 10,9% ( $p < 0,01$ ), СОЭ на 41,7% ( $p = 0,213$ ). Повышенный уровень СРБ (более 6,0 мг/л) выявлен у 28 (70%) пациентов, СОЭ (выше 20 мм /ч) – у 18 (45%) больных и повышение температуры тела – у 35 (75%) пациентов. Содержание лейкоцитов в моче (95% ДИ 10 - 30 п/зр) превышало такое у пациентов, находящихся в фазе ремиссии ХОПН, на 87,5% ( $p = 0,014$ ), а количество эритроцитов в моче (95% ДИ 15,1 - 51 7 э/пз) было в 3,9 раза больше ( $p = 0,011$ ). На фоне скудости показателей, позволяющих дифференцировать фазы ремиссии и рецидива, может оказаться весьма информативным соотношение нейтрофилов / лимфоцитов в периферической крови: соответственно в 1-й группе - 2,37 и 2-й группе - 3,5. Таким образом, острое воспаление в МВП на фоне применения НПВП может провоцировать у пациентов большую кровопотерю, чем хроническое воспаление.

*В-третьих, отличаются ли предикторы гематурии в группе пациентов при ремиссии и рецидиве ХОПН?* Пациенты в фазе ремиссии ХОПН представлены возрастным диапазоном от 24 лет до 81 года (95% ДИ 55 - 67 лет). В 14 случаях (15,9%) конкремент располагался в лоханке и у 34 (38,6%) - в мочеточнике. Размер конкрементов в лоханке на 60% больше, чем в мочеточнике ( $p > 0,05$ ). Уровень СРБ (более 6,0 мг/л) выявлен у 12 (25%) пациентов, СОЭ (выше 20 мм / ч) - у 14 (29,2%) больных и повышение температуры тела - у 18 пациентов (37, 5%). В моче содержание лейкоцитов находилось на уровне  $8,0 \pm 2,4$  в п/зр (95% ДИ 4,0 – 12,0 п/зр), количество измененных эритроцитов в моче составило  $8,6 \pm 3,2$  п/зр (95% ДИ 0,64 - 16,5

п/зр). В группе пациентов с рецидивом ХОПН - средний возраст пациентов составил  $60,0 \pm 3,4$  лет, минимальный возраст - 35 лет, максимальный - достигал 85 лет (95% ДИ 51,2 - 67,7 лет). Статистически значимой возрастной разницы между группами пациентов с лейкоцитозом и без такого не выявлено ( $p= 0,845$ ). Конкремент располагался преимущественно в мочеточнике (30 случаев; 75%). Не выявлено межгрупповых различий размера конкрементов в лоханке и мочеточнике ( $p > 0,05$ ). Таким образом, возраст пациентов, размер и локализация конкрементов не являются значимыми факторами, предопределяющими выраженность гематурии в разных фазах ХОПН.

Прогнозирование течения и осложнений НЛТ остается одним из наиболее актуальных вопросов нефрологии и урологии [3; 228]. В последние годы акцент в исследованиях переносится на выявление информативных прогностических факторов [225]. Разработка математических моделей риска развития осложнений НЛТ основана на анализе демографических и экологических предикторов, клинико-инструментальных и лабораторных методов исследования, коморбидности заболевания и генетических маркеров [421]. Обращает на себя внимание один любопытный факт – информативность большинства рутинных лабораторных показателей для прогнозирования риска осложнений НЛТ считается дискуссионной, в тоже время их использование для мониторинга гомеостаза пациентов не вызывает сомнений [354]. Существующий скептицизм в отношении использования лабораторных показателей для прогноза развития патологического процесса связан с низкой чувствительностью и специфичностью моделей, создаваемых на основе массива имеющихся результатов исследования пациентов. В тоже время очевидно, что использование рутинных лабораторных показателей позволило бы избежать длительных/ дорогостоящих методов исследования. Быстрое эффективное прогнозирование риска гематурии при наличии конкрементов в МВП позволило бы осуществить раннюю корректировку консервативной терапии, направленной на профилактику осложнений НЛТ. Методология математического анализа и построения моделей, во многом, основана на

поиске закономерностей взаимосвязи показателей друг с другом и клиническим симптомом или синдромом болезни [154]. Установление значимых факторов риска конкретного осложнения, само по себе, не приближает к разработке методов его профилактики, поскольку патогенетические механизмы, индуцированные тем или иным фактором риска остаются не выясненными. Выход из положения видится в анализе причинно-следственных связей, формирующихся в патогенезе НЛТ, что позволит определять ведущие механизмы развития осложнений и, тем самым, скорректировать перечень необходимых методов исследования и показателей для мониторинга патологических процессов, сопровождающих основное заболевание.

*Цель исследования* – обосновать целесообразность отбора лабораторных показателей для прогнозирования риска развития гематурии при НЛТ.

Проанализированы более 30 основных инструментальных и лабораторных показателей: размер и локализация конкремента; уровень гипергликемии и длительность СД; величина АД; уровень СРБ и СОЭ, общее количество лейкоцитов крови и отдельных форменных элементов крови; отношение количества нейтрофилов/лимфоцитов крови (N/L); количество Тц и средний объем тромбоцита (MVP, fl); содержание лейкоцитов и эритроцитов в моче; значения коагулограммы (ПТ, ПТИ, МНО; АЧТВ; ТВ, ФГ); показатели метаболизма белков и липидов; также учитывались возраст и пол. Проведенные исследования продемонстрировали скудную информативность представленных лабораторных показателей. Обращает на себя внимание лишь повышение уровня СРБ на 34,2% ( $P=0,017$ ), содержания лейкоцитов на 33,8% ( $p<0,001$ ) и MVP на 91% ( $p<0,001$ ) (Таблица 3.2), а также снижение протромбина на 6,2% ( $P=0,023$ ) и увеличение тромбопластинового времени на 12,0% ( $P=0,023$ ) у пациентов с гематурией при наличии НЛТ. Означает ли это, что остальные показатели, значения которых находятся в референсном диапазоне, не являются информативными для анализа причин гематурии?

Для ответа на этот вопрос необходимо проанализировать значимые корреляционные связи между показателями, тем самым, установить наличие причинно-следственных связей, отражающих участие патогенетических и компенсаторных механизмов в развитии гематурии при НЛТ.

Таблица 3.2

**Сравнительная характеристика основных показателей крови у пациентов с нефролитиазом при отсутствии и наличии гематурии**

Показатели	Отсутствие гематурии (n=17)		Наличие гематурии (n=179)	
	$\bar{X} \pm SD$	Min –Max	$\bar{X} \pm SD$	Min –Max
Тромбоциты, $\times 10^9$	290,5±24,7	200,0-388,0	272,0±16,2	180,0-360,0
MVP, fl	8,9±0,2	8,0-10,9	17,0±0,2***	8,1-11,2
Нв, г/л	142,7±3,6	124,0-168,0	138,6±2,2	119,0-157,0
Эритроциты, $\times 10^{12}$	4,55±0,2	3,8-5,2	4,7±0,1	4,0-5,1
СРБ, мг/л	7,3±0,7	3,0-14,0	9,8±0,6*	3,0-30,0
СОЭ, мм/ч	17,7±3,2	4,0-50,0	18,6±1,2	0 – 42,0
Лейкоциты, $\times 10^9$	6,8±0,3	5,0-8,9	9,1±0,3***	3,5-27,6
ПЯ лейкоциты, %	3,2±0,5	1,0-9,0	3,2±0,3	1,0-17,0
СЯ лейкоциты, %	64,5±2,4	40,0-76,0	67,7±0,9	43,0-88,0
Эозинофилы, %	1,9±0,4	0-5,0	1,6±0,2	0-8,0
Моноциты, %	5,9±1,0	2,0-16,0	5,7±0,3	1,0-24,0
Лимфоциты, %	30,1±2,9	18,0-46,0	27,8±1,2	4,0-51,0

Примечание: \* – достоверность различий показателей  $p < 0,05$  и \*\* -  $p < 0,01$  и \*\*\*  $p < 0,001$  у пациентов с нефролитиазом при наличии и отсутствии гематурии.

При наличии гематурии выявлена связь между возрастом пациентов и индикаторами воспалительной реакции. Обращает на себя внимание усиление такой связи при возрастании гематурии; так если при легкой и средней степени гематурии коэффициент корреляции возраста с уровнем СРБ составил  $r_{В-СРБ}=0,388$ , то при тяжелой степени –  $r_{В-СРБ}=0,743$ . Таким образом, у пациентов с НЛТ прогрессирование гематурии связано с усилением тяжести воспалительной реакции. Причины этого явления у лиц пожилого возраста могут быть обусловлены ограничением компенсаторных механизмов, направленных на подавление острой воспалительной реакции в МВП [425]. Как следствие, выраженности острого воспаления в МВП при тяжелой гематурии может быть корреляция высокой силы с лейкоцитурией и гематурией (соответственно,  $r_{В-Лу}=0,755$  и  $r_{В-ГТ}=0,818$ ). Размер конкремента как фактор риска осложнений нефролитиаза может рассматриваться в контексте связи с выраженностью гематурии, поскольку при средней степени гематурии выявляется корреляционная связь средней силы ( $r_{РК-ГТ}=0,618$ ).

Изменение количества и/или функциональной активности Тц может быть фактором риска осложнений при нефролитиазе [74]. При легкой степени гематурии просматривается связь количества Тц, лимфоцитов и моноцитов (соответственно,  $r_{Тц-Лф}=0,607$  и  $r_{Тц-Мц}=0,755$ ), что при отсутствии корреляции между Тц и общим количеством лейкоцитов, может отражать существование межклеточных коопераций, направленных на поддержание функциональной активности Тц и ограничение гематурии. Этим, можно объяснить наличие отрицательной корреляции между количеством Тц в крови и эритроцитов в моче ( $r_{Тц-ГТ}=-0,508$ ). При средней степени гематурии одна корреляция заслуживает особого внимания, это отрицательная связь высокой силы между количеством Тц и нейтрофилов ( $r_{Тц-Нф}=-0,744$ ). Поскольку при этом не выявлена корреляция между Тц и другими лейкоцитами, то можно предположить непрямую зависимость между этими клетками крови. Вероятно, снижение количества Тц (как результат повреждения сосудистой стенки и возникновения геморрагии) обусловлено развитием острой

воспалительной реакции в периваскулярной соединительной ткани (формирование периваскулярных инфильтратов), в которой нейтрофилы играют ключевую роль [65]. При наличии микрогематурии выявляется значимая корреляция средней силы между количеством лимфоцитов, Тц, нейтрофилов и моноцитов, что отражает общую реактивность органов гемопоза, направленную на поддержание необходимого количества клеток крови для обеспечения защитной реакции организма при развитии воспаления. Отсутствие отрицательной корреляции свидетельствует о стимулирующем воздействии на лимфоциты со стороны других клеток крови. В этой связи, обращает на себя внимание взаимодействие лимфоцитов с Тц и моноцитами, соответственно  $r_{\text{Лф-Тц}}=0,617$  и  $r_{\text{Лф-Мц}}=0,759$ . Образование агрегатов Тц с лимфоцитами, связано с активацией тромбоцитов; подавляется при блокаде Р-селектина, рецепторов GPIIb/IIIa, CD11b или CD40L. В свою очередь, активация Т-лимфоцитов может усиливать формирование агрегатов с Тц. В последние годы формируется убеждение, что Тц являются регуляторами иммунных реакций [100]. В этом контексте, исследование реактивности Тц позволит прогнозировать выраженность гематурии при НЛТ, планировать необходимость и объем трансфузионной терапии. При отсутствии гематурии выявлена связь средней силы между количеством лейкоцитов и уровнем СРБ, соответственно,  $r_{\text{КЛ-СРБ}}=0,637$  и  $r_{\text{КЛ-СРБ}}=0,689$ ; при макрогематурии сила корреляционной связи между этими показателями повышалась ( $r_{\text{КЛ-СРБ}}=0,808$ ). Таким образом, тяжесть воспаления связана с количеством лейкоцитов крови, что вполне логично, поскольку для реализации воспалительной реакции необходимо непрерывное рекрутирование лейкоцитов [458].

Более высокая связь между уровнем СРБ и количеством лейкоцитов при макрогематурии, по сути, отражает большую востребованность в клетках крови при наличии выраженного воспалительного процесса. Логично предположить, что чем тяжелее протекает воспаление в слизистой оболочке МВП, тем выше будет лейкоцитурия, т.е. выход лейкоцитов из ткани в мочу

(повышается проницаемость гисто-уринального барьера). В этом контексте наличие связи между уровнем СРБ и количеством лейкоцитов в моче могло бы быть доказательством тяжести локального воспаления при микро- и макрогематурии. Анализ показал, что коэффициент корреляции между уровнем СРБ и количеством лейкоцитов в моче при микрогематурии составил  $r_{\text{СРБ-Лу}}=0,507$ , а при макрогематурии –  $r_{\text{СРБ-Лу}}=0,790$ . Таким образом, увеличение силы связи между показателем тяжести воспаления и лейкоцитурией подтверждает, что при макрогематурии в стенке МВП развивается более выраженная воспалительная реакция.

Выявлена корреляционная связь между количеством нейтрофилов и уровнем СРБ крови как при микро-, так и макрогематурии, соответственно,  $r_{\text{Нф-СРБ}}=0,576$  и  $r_{\text{Нф-СРБ}}=0,819$ . Такая зависимость может отражать роль провоспалительных нейтрофилов в тяжести как системного воспаления, так и воспалительной реакции в почке. Как известно [370], Тц содержат в альфа-гранулах разнообразные биологически активные молекулы, в частности, хемокиновые лиганды CXCL 1/4/7 (C-X-C Motif Chemokine Ligand) и CCL 5/3 (C-C motif), ИЛ-8 и TGF- $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$ ). В этой связи, стимуляция Тц активированными нейтрофилами будет способствовать поддержанию воспаления в МВП. Наличие корреляционной связи между количеством нейтрофилов в крови и эритроцитов в моче (выраженность гематурии)  $r_{\text{Нф-ГТ}}=0,700$ , подтверждает участие нейтрофилов в альтерации сосудистой стенки. Повреждение сосудистой стенки нейтрофилами может проявляться не только гематурией, но и повышением проницаемости стенки сосудов для лейкоцитов, следствием чего может быть лейкоцитурия.

Таким образом, предварительный анализ причинно-следственных связей возникающих при гематурии позволяет конкретизировать патологические процессы, связанные с факторами риска гематурии при НЛТ, которые рассчитываются в математических моделях. Наличие гематурии сопровождается компенсаторными реакциями Тц, которые регулируются гуморальными и паракринными механизмами. Ключевыми стимуляторами Тц

являются гуморальные (адреналин, ангиотензин-2) регуляторы и аккумулярованные в плотных гранулах Тц биологически активные вещества (АДФ, АТФ, адреналин, серотонин). Большинство рецепторов Тц ассоциированы преимущественно с Gq- или Gi-белками, которые, в свою очередь, связаны с определенными сигнальными системами, определяющими повышение уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$ . В этом контексте, регуляторы компенсаторных реакций гемостаза могут влиять на моторику мочеточника .

### **3.3. Факторы риска и механизмы развития пиелонефрита при нефролитиазе.**

Актуальной задачей современной нефрологии является уточнение механизмов активации и рекрутирования лейкоцитов из циркулирующей крови в очаг воспаления [279], что позволило бы приблизиться к возможности ограничения развития воспалительной реакции на самых ранних этапах. Существуют многочисленные доказательства, подтверждающие критическую роль адренергических механизмов в регуляции воспаления [91; 406]. Известно, что адренергические рецепторы экспрессируются на поверхности Тц и лейкоцитов [346], а их связывание с лигандами обеспечивает регуляцию адгезии и трансэндотелиальной миграции клеток крови из сосудистого русла [167]. Внеклеточные нуклеотиды также признаны важными стимуляторами лейкоцитов, запускающими множественные ответы через пуриновые P2-рецепторы мембраны, которые представлены P2X-ионотропными рецепторами и G-белок-связанными P2Y-рецепторами [391]. Экспрессия рецепторов P2X<sub>1</sub>, P2X<sub>4</sub>, P2X<sub>5</sub> и P2X<sub>7</sub>, а также P2Y-1,2,4,6,11 – подтверждена на лейкоцитах человека [95; 217]; изменение активности P2-рецепторов клеток крови признается триггером развития воспалительной реакции [409]. Значимость адreno- и пуриновых рецепторов позволяет их рассматривать в качестве в перспективной мишени противовоспалительной терапии [164]. Однако, в этом контексте видится существенная проблема – сложность анализа взаимодействия тромбоцитов и лейкоцитов при одновременной

стимуляции  $\alpha$ ,  $\beta$ -адренергических, P2X- и P2Y-пуринергических рецепторов, инициирующих различные внутриклеточные сигнальные пути. Одним из способов решения этой проблемы является проведение исследований *in vitro* на цельной крови, поскольку открывается не только возможность анализа механизмов взаимодействия тромбоцитов и лейкоцитов при изолированном действии лигандов, но и появляется надежный индикатор такого взаимодействия – количество образовавшихся тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов (ТЛА), которые обеспечивают активацию и рекрутирование лейкоцитов в зону воспаления.

*Цель исследования* – изучить участие  $\alpha_2$ -,  $\beta_2$ -адренорецепторов и пуриновых P2-рецепторов в формировании ТЛА у пациентов с ХОПН.

Для достижения поставленной цели необходимо ответить на следующие исследовательские вопросы:

*Отличается ли формирование ТЛА in vitro у здоровых лиц (контрольная группа) при стимуляции T $\alpha$  адреналином, АДФ и ФАТ?* Базальный уровень ТЛА (формирование агрегатов в циркулирующей крови *in vivo* в физиологических условиях) находился в пределах  $4,364 \pm 0,367\%$ . При стимуляции T $\alpha$  адреналином выявлена тенденция к повышению количества агрегатов – на 23,7% ( $p > 0,05$ ). АДФ воспроизводил статистически значимый прирост ТЛА относительно базального уровня на 83,3% ( $p = 0,001$ ) и эффекта адреналина – на 48,1% ( $p = 0,021$ ); для ФАТ эти показатели составили, соответственно, 79,1% ( $p < 0,01$ ) и 44,8% ( $p = 0,005$ ). Индуцирующее влияние АДФ и ФАТ на клетки крови совпадало, соответственно –  $8,000 \pm 1,923\%$  и  $7,818 \pm 0,536\%$  ( $p > 0,05$ ). Таким образом, в физиологических условиях: (а) стимулирующий эффект адреналина на клетки крови существенно не влиял на формирование ТЛА; (б) моделирование *in vitro* паракринных механизмов взаимодействия T $\alpha$  и лейкоцитов путем введения АДФ и ФАТ в цельную кровь свидетельствует о сопоставимости влияния T $\alpha$  на лейкоциты и лейкоцитов на T $\alpha$  при формировании ТЛА; (в) активация  $\alpha_2$ -адренорецепторов клеток крови

не сопровождалась амплификацией внутриклеточного сигнала посредством паракринных механизмов, взаимодействующих лейкоцитов и Тц, в противном случае индуцирующее влияние адреналина на формирование ТЛА в цельной крови было бы выше, чем у агонистов АДФ и ФАТ.

*Отличается ли содержание ТЛА в циркулирующей крови (базальный уровень ТЛА) у пациентов в фазе ремиссии и рецидива ХОПН?* Результаты морфометрического исследования мазков крови свидетельствуют, что количество ТЛА в фазе ремиссии ХОПН соответствует таковому в контрольной группе ( $p=0,384$ ). В фазе рецидива ХОПН содержание ТЛА в цельной крови превышает базальный уровень агрегатов в контрольной группе и в фазе ремиссии примерно в 2,2 раза ( $p<0,001$ ). Вероятно, в фазе рецидива ХОПН интенсивное рекрутирование лейкоцитов крови достигается посредством включения механизмов, не проявляющих себя у здоровых лиц и пациентов с ремиссией заболевания. Выяснение данных механизмов активации клеток крови при формировании ТЛА в разных фазах ХОПН позволит приблизиться к пониманию причин рецидива острого воспаления в МВП.

*Отличается ли формирование ТЛА при стимуляции Тц и лейкоцитов у пациентов в фазе ремиссии ХОПН?* Установлено, что количество ТЛА, образовавшихся при введении адреналина в цельную кровь, возросло по сравнению с контрольной группой на 29,6% ( $p=0,049$ ) и на 79,5% ( $p=0,003$ ) относительно их количества до стимуляции (Таблица 3.3). Следовательно, рекрутирование лейкоцитов посредством ТЛА при хроническом воспалении в МВП обеспечивается системным механизмом активации САС, причем степень воспроизводимости количества агрегатов связана с гиперреактивностью  $\alpha_2$ - адренорецепторов клеток крови. При стимуляции клеток крови АДФ количество ТЛА повысилось на 62,4% ( $p=0,002$ ) относительно их численности до стимуляции, что свидетельствует об участии пуриновых рецепторов клеток крови во взаимодействии лейкоцитов и Тц.

В тоже время, отсутствие значимой разницы ТЛА, сформировавшихся при воздействии АДФ на цельную кровь, у пациентов в фазе ремиссии ХОПН и у лиц контрольной группы свидетельствует о нормореактивности P2Y рецепторов Тц и лейкоцитов. Не выявлена существенная разница между количеством ТЛА, сформировавшихся при воздействии АДФ и адреналина. Вероятно, адреналин не воспроизводит амплификацию сигнала  $\alpha 2$ -адренорецептора в клетках крови, которая была бы возможна при включении паракринных механизмов.

Добавление в цельную кровь ФАТ сопровождалось увеличением количества ТЛА на 135% ( $p < 0,001$ ) относительно их численности до стимуляции, что подтверждает участие ФАТ-рецепторов в активации Тц при ремиссии ХОПН. Поскольку количество ТЛА, сформировавшихся в фазу ремиссии ХОПН при инкубации крови с ФАТ, превышало на 17,6% ( $p = 0,010$ ) численность ТЛА в контрольной группе, образованных в аналогичных условиях, то можно констатировать: повышение реактивности ФАТ-рецепторов клеток крови при наличии хронического воспаления в МВП и участие лейкоцитов, секретирующих ФАТ, в активации Тц и формировании ТЛА. Тем самым, подтверждается функционирование паракринного механизма, связанного с активацией лейкоцитов. Обращает на себя внимание, что количество ТЛА сформировавшихся в фазу ремиссии ХОПН при инкубации крови с ФАТ на 31,4% ( $p = 0,008$ ) превышает содержание агрегатов, образовавшихся при воздействии адреналина. Таким образом, паракринная стимуляция Тц активными лейкоцитами при формировании ТЛА воспроизводила более выраженный эффект, чем системный механизм, обеспечивающий одновременную активацию лейкоцитов и Тц посредством адреналина. Факт более выраженного формирования ТЛА при воздействии на клетки крови ФАТ по сравнению с АДФ (на 45,3%;  $p > 0,05$ ) отражает преобладание паракринного влияния лейкоцитов на Тц.

Таблица 3.3

**Количество ТЛА (%) сформировавшихся при стимуляции тромбоцитов  
и лейкоцитов *in vitro* у пациентов с ХОПН**

Условия исследования	$\bar{X} \pm m$	Minimum Maximum	95% ДИ (левый-правый)
<b>Фаза ремиссии ХОПН</b>			
До стимуляции	3,909±0,31	1,000 – 5,000	3,207 - 4,611
Стимуляция клеток крови адреналином	7,000±0,940 P <sub>1</sub> <0,05; P <sub>2</sub> =0,003	3,000 – 12,00	4,867 - 9,133
Стимуляция клеток крови АДФ	6,333±2,33 P <sub>2</sub> =0,002	2,000 – 10,000	3,250 – 9,250
Стимуляция клеток крови ФАТ	9,200±1,775 P <sub>1</sub> =0,01; P <sub>2</sub> <0,001	2,000 – 20,000	5,184 - 13,216
<b>Фаза рецидива ХОПН</b>			
До стимуляции	8,118±0,528 P <sub>1</sub> =0,002; P <sub>3</sub> =0,023	6,000-13,000	6,999-9,236
Стимуляция клеток крови адреналином	9,375±0,746 P <sub>1</sub> =0,004; P <sub>2</sub> <0,05; P <sub>3</sub> =0,022	4,000-14,000	7,784- 10,966
Стимуляция клеток крови АДФ	9,833±0,767 P <sub>1</sub> =0,022; P <sub>2</sub> =0,028; P <sub>3</sub> =0,019	6,000-13,000	8,145-11,522
Стимуляция клеток крови ФАТ	12,143±1,162 P <sub>1</sub> =0,008; P <sub>2</sub> =0,011 P <sub>3</sub> <0,02.	8,000-22,000	9,633-14,653

*Примечание:* P<sub>1</sub>– вероятность различий количества ТЛА, сформировавшихся при стимуляции клеток крови по сравнению с количеством ТЛА имеющих в периферической крови лиц контрольной группы; P<sub>2</sub>– по сравнению с количеством ТЛА до стимуляции агонистом, P<sub>3</sub> – по сравнению с количеством ТЛА в группе с фазой ремиссии ХОПН

Выявлена корреляционная связь между количеством ТЛА, образовавшихся при инкубации клеток крови с АДФ и ФАТ ( $r=0,590$ ;  $p=0,022$ ), а также –с адреналином и АДФ ( $r=0,187$ ;  $p=0,038$ ). По сути, при реализации хронического воспаления в МВП, поддерживается взаимная стимуляция лейкоцитов и Тц, на основе паракринной регуляции; активация САС может быть фактором риска рецидива ХОПН, поскольку адреналин может стимулировать Тц, которые будут модулировать активность лейкоцитов.

*Отличается ли формирование ТЛА при стимуляции Тц и лейкоцитов у пациентов в фазе рецидива ХОПН?*

Установлено, что количество ТЛА, образовавшихся при инкубации клеток крови с адреналином, возросло по сравнению с контрольной группой на 73,6% ( $p=0,002$ ) и на 15,5% ( $p=0,049$ ) относительно их числа до стимуляции. Следовательно, рекрутирование лейкоцитов при остром воспалении в МВП происходит на фоне гиперреактивности  $\alpha_2$ -адренорецепторов и может воспроизводиться адреналином. Стимуляция клеток крови посредством АДФ сопровождалась повышением количества ТЛА на 22,9% ( $p=0,022$ ) и 21,1% ( $p=0,028$ ) по сравнению с их содержанием в контрольной группе и до стимуляции данным агонистом. Если сопоставить реактивность агонистов по приросту количества ТЛА относительно их уровня до стимуляции, то ведущую роль играет ФАТ, поскольку количество ТЛА увеличилось на 49,6% ( $p=0,011$ ).

Таким образом, формирование ТЛА в фазу рецидива ХОПН: (а) происходит при участии активированных лейкоцитов и Тц, паракринные механизмы которых обеспечивают взаимодействие клеток крови для реализации острого воспаления в МВП; (б) активация ФАТ-рецепторов Тц посредством агониста секретируемого лейкоцитами, более эффективна в плане формирования ТЛА, чем активация P2Y-рецепторов лейкоцитов; с помощью пуриновых нуклеотидов (АТФ и АДФ) секретируемых из плотных гранул Тц.

Суть причинно-следственных связей, участвующих в во взаимодействии Тц и лейкоцитов при действии адреналина, АДФ и ФАТ, можно прояснить анализируя соответствующие корреляционные связи. Так, выявлена сильная

связь между количеством ТЛА, индуцированных ФАТ и адреналином ( $r=0,787$ ;  $p<0,001$ ) и отсутствие такой при анализе воздействия адреналина и АДФ на клетки крови ( $r=0,223$ ;  $p>0,05$ ); корреляция средней силы ( $r=0,550$ ;  $p=0,012$ ) обнаружена между индуцирующим влиянием ФАТ и АДФ. По сути данных фактов, можно констатировать (а) преимущественное воздействие адреналина на лейкоциты (проявление системной активации клеток крови при развитии острого воспаления в МВП), которые могут стимулировать Тц. В свою очередь, активированные Тц секретируют АДФ и стимулируют пуриновые рецепторы лейкоцитов, тем самым усиливается влияние адреналина на лейкоциты (амплификация сигнала с  $\alpha_2$ -адренорецептора). По сравнению с ремиссией ХОПН отмечается более выраженный эффект АДФ, а также сопоставимые эффекты адреналина и ФАТ ( $p>0,05$ ). В фазе ремиссии и рецидива ХОПН формирование ТЛА и рекрутирование лейкоцитов крови из крови в очаг воспаления достигается посредством включения системного (влияние адреналина) и паракринных механизмов (секреция АДФ, АДФ и ФАТ). Достижимый эффект зависит от активности  $\alpha_2$ -,  $\beta_2$ -адренорецепторов, P2Y-пуриновых и ФАТ-рецепторов Тц и лейкоцитов. Дальнейшие исследования позволят не только подойти к пониманию регуляции оптимального соотношения разных видов лейкоцитов при развитии острого воспаления, но и обосновать новые возможности управления фазой рецидивирования ХОПН.

#### **3.4. Анализ факторов риска развития осложнений нефролитиаза.**

Для анализа причинно-следственных связей использован метод множественной корреляции. Анализ проведен для 25 *основных* факторных признаков: возраст, размер конкремента, уровень гипергликемии, величина систолического АД; содержание СРБ; СОЭ, количество лейкоцитов крови; количество форменных элементов крови (Э, Тц, нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов); содержание лейкоцитов и эритроцитов в моче; значения коагулограммы (ПТВ, ПТ, МНО, АЧТВ, ТВ); показатели метаболизма белков и липидов (уровень креатинина и мочевины крови; общий

холестерин, триглицериды,  $\beta$ -липопротеиды). На основании значения показателей ранговой корреляции Спирмена, имеющих статистически значимую разницу от 0 ( $p < 0,05$ ), отобраны 13 причинно-следственных связей заслуживающих внимания.

При отсутствии гематурии обращает на себя внимание связь между возрастом и индикаторами воспалительной реакции, в частности, с уровнем СРБ и лейкоцитозом (соответственно,  $r_{В-СРБ}=0,424$  и  $r_{В-КЛ}=0,570$ ;  $p < 0,05$ ), что вероятно объясняет появление лейкоцитурии у данного контингента больных. Таким образом, лица пожилого возраста, если и относятся к группе риска при НЛТ, то это связано с развитием воспаления в МВП. Особенностью воспалительной реакции может быть лимфопения (выявлена отрицательная корреляция между возрастом и количеством лимфоцитов  $r_{В-КЛф}=-0,543$ ;  $p < 0,05$ ), что, вероятно, предопределяет нарушение иммунореактивности организма и хронизацию воспаления в тканях почки и МВП.

При наличии гематурии выявлена связь между возрастом пациентов и индикаторами воспалительной реакции (Таблица 3.4). Обращает на себя внимание усиление такой связи при возрастании гематурии; так если при легкой и средней степени гематурии коэффициент корреляции между возрастом и уровнем СРБ составил  $r_{В-СРБ}=0,388$  ( $p < 0,05$ ), то при тяжелой степени –  $r_{В-СРБ}=0,743$  ( $p < 0,05$ ).

Следовательно, у пациентов с НЛТ прогрессирование гематурии связано с усилением тяжести воспалительной реакции. Причины этого явления у лиц пожилого возраста могут быть обусловлены ограничением компенсаторных механизмов, направленных на подавление острой воспалительной реакции в МВП. Подтверждением наличия острого пиелонефрита может быть корреляционная связь средней силы возраста пациента с количеством нейтрофилов при разной степени гематурии: при легкой и средней степени –  $r_{В-Нф}=0,694$  ( $p < 0,05$ ), при тяжелой –  $r_{В-Нф}=0,654$  ( $p < 0,05$ ); при этом отсутствовала связь с количеством агранулоцитов. Как следствие, выраженности острого воспаления в МВП при тяжелой гематурии

может быть корреляция высокой силы с лейкоцитурией и гематурией (соответственно,  $r_{В-Лу}=0,755$  и  $r_{В-ГТ}=0,768$ ;  $p<0,05$ ).

О влиянии конкремента на развитие системной воспалительной реакции указывает корреляционная связь средней силы между размером камня в МВП и СРБ, лейкоцитозом; при этом отсутствовала значимая корреляция между размером конкремента и лейкоцитурией. Такой феномен обычно характерен для ситуации с активацией системы гемопоеза при сохранении барьерной функции эпителия слизистой оболочки МВП, т.е. когда лейкоциты формирующегося инфильтрата не повреждают многослойный переходный эпителий лоханки и/или мочеточника. Наличие связи между размером конкремента и количеством лимфоцитов ( $r_{РК-КЛф} = 0,489$ ;  $p<0,05$ ) свидетельствует, что площадь альтерации слизистой при нефролитиазе является фактором поддержания длительной хронической воспалительной реакции в МВП. Размер конкремента как фактор риска осложнений нефролитиаза может рассматриваться в контексте связи с (а) выраженностью гематурии, поскольку при средней степени гематурии выявляется корреляционная связь средней силы ( $r_{РК-ГТ}=0,618$ ); (б) тяжестью воспаления в МВП: при легкой и средней степени гематурии, соответственно  $r_{РК-СРБ}=0,565$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{РК-СРБ}=0,743$  ( $p<0,05$ ). Увеличение силы корреляции при средней степени гематурии, вероятно, связано с большей площадью альтерации слизистой оболочки при увеличении размеров конкрементов в лоханке и мочеточнике.

Гипергликемия может быть фактором риска при НЛТ, поскольку провоцирует развитие системной воспалительной реакции, связанной с дисфункцией эндотелия; подтверждением этой гипотезы является корреляционная связь средней силы между содержанием глюкозы в крови и СРБ, лейкоцитозом (соответственно  $r_{ГГ-СРБ}=0,408$  и  $r_{ГГ-Лц} = 0,361$ ;  $p<0,05$ ).

Таблица 3.4.

**Корреляционная матрица патогенетических факторов микрогематурии при нефролитиазе**

Показатель	В	РК	ГГ	КЭ	Тц	СРБ	КЛ	КНф	КЛф	КМц	ТВ	ЛУ	ГТ
В						0,388	0,654	0,694				0,567	0,604
РК						0,565							0,618
ГГ					-0,508	0,322	0,555					0,348	
КЭ													-0,323
Тц			-0,508						0,617	0,755		0,697	0,508
СРБ	0,388	0,565	0,322				0,689	0,576	0,600			0,507	0,562
КЛ	0,654		0,555				0,689					0,655	0,591
КНф	0,694						0,576		0,560			0,562	0,402
КЛф					0,617	0,600		0,560		0,759			
КМц					0,755				0,759		-0,677	-0,527	
ТВ										-0,677			-0,431
ЛУ	0,567		0,348		0,697	0,507	0,655	0,562		-0,527			
ГТ	0,604	0,618		-0,323	0,508	0,562	0,591	0,402			-0,431		

*Примечания:* В-возраст; РК-размер конкремента; ГГ- значение гипергликемии; КЭ-количество эритроцитов крови; Тц- количество тромбоцитов крови; уровень СРБ; КЛ-количество лейкоцитов крови; КНф-количество сегментоядерных нейтрофилов крови; КЛф- количество лимфоцитов крови; КМц-количество моноцитов крови; ТВ-тромбиновое время; ЛУ-лейкоцитурия; ГТ-гематурия. Приведены значения показателей ранговой корреляции Спирмена, которые имеют статистически значимую разницу от 0 ( $p < 0,05$ ).

Риски при гипергликемии связаны как с возможностью тромбогенеза и развитием ишемии тканей почки, что приводит к фиброзу соединительной ткани, так и – возникновением гематурии при прогрессировании воспалительного процесса в стенке сосудов. У пациентов с гипергликемией появление гематурии происходит на фоне лейкоцитоза, при этом выявляется корреляционная связь средней силы  $r_{ГГ-КЛ}=0,555$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{ГГ-КЛ}=0,707$  ( $p<0,05$ ), соответственно при микро- макрогематурии. Касательно тяжести воспалительной реакции в тканях, которая может быть связана с уровнем гипергликемии, то при средней степени гематурии данная закономерность прослеживается наиболее четко. Так, сила корреляционной связи гипергликемии и СРБ возрастала до среднего уровня ( $r_{ГГ-СРБ}=0,657$ ;  $p<0,05$ ) при макрогематурии, тогда как при микрогематурии – оставалась слабой ( $r_{ГГ-СРБ}=0,322$ ;  $p<0,05$ ), для сравнения – у пациентов с НЛТ без гематурии  $r_{ГГ-СРБ}=0,408$  ( $p<0,05$ ). Выявлена отрицательная корреляция высокой силы между содержанием глюкозы в крови и количеством Тц ( $r_{ГГ-Тц}=-0,743$ ;  $p<0,05$ ), что увязывается с нарушением системы коагуляции ( $r_{ГГ-ТВ}=0,489$ ;  $p<0,05$ ). При гипергликемии возрастает проницаемость гисто-гематического барьера, отражением чего является наличие средней силы корреляции с лейкоцитурией ( $r_{ГГ-ЛУ}=0,577$ ;  $p<0,05$ ).

Морфо-функциональные характеристики тромбоцитов ранее не рассматривались как факторы риска осложнений при НЛТ. Хотя, очевидно, что уменьшение количества или снижение функции Тц может вызывать нарушение гемостаза, в частности, вследствие нарушения конечного пути свертывания крови, связанного с активацией комплекса факторов IXa и VIIIa на поверхности Тц [2]. Однако, выявленная корреляция высокой силы между количеством Тц и длительностью тромбинового времени ( $r=-0,793$ ;  $p<0,05$ ) коагулограммы у пациентов с НЛТ без гематурии свидетельствует, что нарушения функциональной активности Тц могут быть фактором риска гематурии. Дисфункция Тц является фактором риска инициации и поддержания воспалительной реакции, поскольку Тц контролируют

миграцию лейкоцитов из сосудистого русла в периваскулярную соединительную ткань. Наличие взаимосвязи между количеством Тц в крови и содержанием лейкоцитов в моче ( $r = 0,600$ ), а также между количеством Тц и уровнем СРБ ( $r_{\text{Тц-СРБ}} = 0,646$ ;  $p < 0,05$ ) подтверждает такую возможность. Что касается корреляционной связи высокой силы между количеством Тц и лейкоцитов в крови ( $r_{\text{Тц-КЛ}} = 0,795$ ;  $p < 0,05$ ), то это является отражением реактивности системы гемопоеза при развитии воспаления в организме.

Изменение количества и/или функциональной активности Тц может быть фактором риска осложнений при нефролитиазе. При микрогематурии выявлена связь между количеством тромбоцитов и лимфоцитов, моноцитов (соответственно,  $r_{\text{Тц-Лф}} = 0,617$  и  $r_{\text{Тц-Мц}} = 0,755$ ;  $p < 0,05$ ), что при отсутствии корреляции между Тц и общим количеством лейкоцитов, может отражать существование межклеточных коопераций, направленных на поддержание проагрегантной активности Тц и ограничение гематурии. Этим, можно объяснить наличие отрицательной корреляции между количеством Тц в крови и эритроцитов в моче ( $r_{\text{Тц-ГТ}} = -0,508$ ;  $p < 0,05$ ). При макрогематурии одна корреляция заслуживает особого внимания, это отрицательная связь высокой силы между количеством Тц и нейтрофилов ( $r_{\text{Тц-Нф}} = -0,744$ ;  $p < 0,05$ ). Поскольку при этом не выявлена корреляция между Тц и другими лейкоцитами, то можно предположить непрямую зависимость между этими клетками крови. Вероятно, снижение количества Тц (как результат повреждения сосудистой стенки и возникновения геморрагии) обусловлено развитием острой воспалительной реакции в периваскулярной соединительной ткани (формирование периваскулярных инфильтратов), в которой нейтрофилы играют ключевую роль. Уменьшение силы корреляционной связи между количеством Тц и длительностью тромбопластинового времени ( $r_{\text{Тц-ТВ}} = -0,463$ ;  $p < 0,05$ ), по сравнению с таковой у пациентов с НЛТ без гематурии ( $r_{\text{Тц-ТВ}} = -0,793$ ;  $p < 0,05$ ), отражает снижение компенсаторных возможностей Тц в ограничении микрогематурии.

Просматривается участие Тц в лейкоцитурии, причем таковое сохраняется независимо от тяжести гематурии связанной с НЛТ. Так, при отсутствии гематурии и микрогематурии выявлена корреляция одинаковой силы (соответственно,  $r_{Тц-Лу1}=0,600$ ,  $r_{Тц-Лу2}=0,697$ ;  $p<0,05$ ).

Актуальность исследования механизмов развития воспаления при действии факторов риска нефролитиаза связана с отсутствием информативных индикаторов тяжести воспалительной реакции и понимания взаимодействия клеток крови, реализующих местную защитную реакцию в МВП. Проведенный корреляционный анализ показал, что наиболее информативными индикаторами тяжести воспаления являются уровень СРБ, лейкоцитоз и лейкоцитурия, а значит можно констатировать что у пациентов с нефролитиазом при отсутствии гематурии имеет место как системная так и органная (местная) воспалительная реакция. В этой связи важно было установить причинно-следственные связи, определяющие тяжесть воспаления; к таковым можно отнести лейкоцитоз и размер Тц (соответственно  $r_{СРБ-Лц}=0,637$  и  $r_{СРБ-МВП}=0,637$ ;  $p<0,05$ ). Причем тяжесть воспаления связана как с количеством нейтрофилов, так и лимфоцитов ( $r_{СРБ-нф}=0,722$  и  $r_{СРБ-лф}=0,535$ ;  $p<0,05$ ), что, вероятно, отражает присутствие как острой так и хронической воспалительной реакции в МВП пациентов с нефролитиазом. Наличие корреляционной связи средней силы между величиной СРБ крови и лейкоцитурией ( $r_{СРБ-Лу}=0,538$ ;  $p<0,05$ ) позволяет констатировать, что выраженность местной воспалительной реакции в МВП проявляется изменением СРБ, а значит данный индикатор может в определенной степени отражать тяжесть воспаления. Выявленная корреляционная связь между общим количеством лейкоцитов крови и возрастом, размером конкремента, уровнем гипергликемии позволяет уточнить возможные факторы риска нефролитиаза, которые могут влиять на лейкоцитоз и которые необходимо учитывать при трактовке формирующихся причинно-следственных связей. Особое внимание при анализе воспаления следует уделять количеству Тц и лимфоцитов (соответственно,  $r_{КЛ-Тц}=0,795$  и

$r_{\text{КЛ-Лф}}=0,705$ ;  $p<0,05$ ), а также тяжести воспалительной реакции ( $r_{\text{КЛз-СРБ}}=0,637$ ;  $p<0,05$ ), поскольку выраженность лейкоцитоза у пациентов с нефролитиазом без гематурии определяется взаимодействием Тц и лимфоцитов, поддерживающих хроническую воспалительную реакцию в МВП. При этом связь лейкоцитоза и лейкоцитурии ( $r_{\text{КЛ-ЛУ}}=0,584$ ;  $p<0,05$ ) отражает обеспечение местного воспалительного процесса за счет лейкоцитов крови.

В связи с формированием воспалительных инфильтратов в слизистой МВП представляет интерес востребованность клеток крови. Выявленная корреляция высокой силы между общим количеством лейкоцитов и содержанием лимфоцитов, моноцитов в крови свидетельствует о потребности агранулоцитов для обеспечения хронической воспалительной реакции. Подтверждением гипотезы о хронизации воспаления при нефролитиазе без гематурии может быть существующее взаимодействие лимфоцитов и моноцитов ( $r_{\text{Лф-Мц}}=0,638$ ;  $p<0,05$ ), а также наличие отрицательной связи между количеством лимфоцитов и нейтрофилов ( $r_{\text{Лф-Нф}}=-0,507$ ;  $p<0,05$ ). Модулирующее влияние моноцитов на реализацию воспалительной реакции проявляется не только взаимодействием с лимфоцитами, но и Тц ( $r_{\text{Мц-Тц}}=0,667$ ;  $p<0,05$ ), что, вероятно, связано с выявленным повышением активности механизмов коагуляции крови ( $r_{\text{Тц-ТВ}}=-0,793$ ;  $p<0,05$ ). Является ли лейкоцитурия отражением тяжести воспалительной реакции в МВП? сопровождается ли лейкоцитурия системной воспалительной реакцией? – это основные исследовательские вопросы, ответы на которые позволят определить мишени для совершенствования консервативной терапии у пациентов с НЛТ. Поскольку выявлена связь средней силы между количеством лейкоцитов в моче и уровнем СРБ крови ( $r_{\text{ЛУ-СРБ}}=0,533$ ;  $p<0,05$ ), то данные индикаторы могут использоваться для прогнозирования выраженности воспаления. Механизмы лейкоцитурии при нефролитиазе связаны с увеличением количества/ активности как нейтрофилов так и лимфоцитов (соответственно  $r_{\text{ЛУ-Нф}}=0,665$  и  $r_{\text{ЛУ-Лф}}=0,477$ ;  $p<0,05$ ), т.е. по сути, увеличение проницаемости гисто-гематического барьера, а следовательно, и

тяжесть воспаления в МВП, определяется взаимодействием клеток крови. При наличии гематурии сохранялась связь между возрастом пациентов и индикаторами воспалительной реакции. Обращает на себя внимание усиление такой связи при возрастании гематурии; так если при микрогематурии коэффициент корреляции возраста с уровнем СРБ составил  $r_{В-СРБ}=0,388$  ( $p<0,05$ ), то при макро –  $r_{В-СРБ}=0,743$  ( $p<0,05$ ). Причины этого явления у лиц пожилого возраста могут быть связаны с низкой эффективностью защитных механизмов, направленных на ограничение развития острой воспалительной реакции в МВП. Установлена связь возраста с (а) выраженностью лейкоцитурии и гематурии (соответственно,  $r_{В-ЛУ}=0,755$  и  $r_{В-ГТ}=0,818$ ;  $p<0,05$ ); (б) отрицательная корреляция с количеством эритроцитов, тромбоцитов, что, вероятно, отражает большую возрастную уязвимость линии гемопоэза, связанной с образованием эритроцитов и мегакариоцитов.

Гипергликемия остается фактором риска системной воспалительной реакции при разной выраженности гематурии. Если судить по лейкоцитозу, то у пациентов с гипергликемией появление гематурии происходит на фоне лейкоцитоза; при этом выявляется корреляционная связь средней силы  $r_{ГГ-КЛ}=0,555$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{ГГ-КЛ}=0,707$  ( $p<0,05$ ), соответственно, при микро- и макрогематурии. Для сравнения у пациентов с НЛТ без гематурии, такая связь была слабой силы, а, следовательно, влияние гипергликемии на лейкоцитоз проявлялось не у всех пациентов. Касательно тяжести воспалительной реакции в тканях, которая может быть связана с уровнем гипергликемии, то при средней степени гематурии данная закономерность прослеживается наиболее четко. Так, сила корреляционной связи гипергликемии и СРБ возрастала до среднего уровня ( $r_{ГГ-СРБ}=0,657$ ;  $p<0,05$ ) при макрогематурии, тогда как при микрогематурии – оставалась слабой ( $r_{ГГ-СРБ}=0,322$ ;  $p<0,05$ ). Однако, характер воспалительной реакции отличается при разной выраженности гематурии. При микрогематурии у пациентов с гипергликемией возможно наличие хронической воспалительной реакции в МВП. Так, если судить по коэффициенту корреляции гипергликемии с количеством клеток

крови, то только реактивность системы лимфопоэза (количество лимфоцитов в крови) проявлялась у данного контингента больных. При макрогематурии у пациентов с нефролитиазом выявлялась связь гипергликемии с нейтрофилопозом ( $r_{ГГ-СРБ} = 0,649$ ;  $p < 0,05$ ), что отражает обеспечение клетками крови острой воспалительной реакции в МВП. Подтверждением разного характера воспалительной реакции у пациентов с гипергликемией может быть тяжесть воспаления. Судя по уровню СРБ, тяжесть воспаления слабо связана с гипергликемией при отсутствии гематурии и наличии микрогематурии, но возрастает при макрогематурии. Обращает на себя внимание связь гипергликемии с характеристиками Тц, в частности, выявлена высокой силы отрицательная корреляция между содержанием глюкозы в крови и количеством Тц ( $r_{ГГ-Тц} = -0,743$ ;  $p < 0,05$ ), что увязывается с нарушением системы коагуляции ( $r_{ГГ-ТВ} = 0,649$ ;  $p < 0,05$ ). При гипергликемии возрастает проницаемость гисто-гематических барьеров, отражением чего является наличие средней силы корреляции с лейкоцитурией ( $r_{ГГ-Лу} = 0,577$ ;  $p < 0,05$ ).

Изменение количества и/или функциональной активности Тц может быть фактором риска осложнений при нефролитиазе. При легкой степени гематурии просматривается связь количества Тц, лимфоцитов и моноцитов (соответственно,  $r_{Тц-Лф} = 0,617$  и  $r_{Тц-Мц} = 0,755$ ;  $p < 0,05$ ), что при отсутствии корреляции между Тц и общим количеством лейкоцитов, может отражать существование межклеточных коопераций, направленных на поддержание функциональной активности Тц и ограничение гематурии. Этим, можно объяснить наличие отрицательной корреляции между количеством Тц в крови и эритроцитов в моче ( $r_{Тц-ГТ} = -0,508$ ;  $p < 0,05$ ). При макрогематурии выявлена отрицательная связь высокой силы между количеством Тц и нейтрофилов ( $r_{Тц-Нф} = -0,744$ ;  $p < 0,05$ ). Поскольку при этом не выявлена корреляция между Тц и другими лейкоцитами, то можно предположить непрямую зависимость между этими клетками крови. Вероятно, снижение количества Тц (как результат повреждения сосудистой стенки) обусловлено наличием острого воспаления в периваскулярной соединительной ткани, в развитии которого нейтрофилы

играют ключевую роль. Уменьшение силы корреляционной связи между количеством Тц и длительностью тромбинового времени ( $r_{\text{Тц-ТВ}} = -0,463$ ;  $p < 0,05$ ), по сравнению с таковой у пациентов с нефролитиазом без гематурии ( $r_{\text{Тц-ТВ}} = -0,793$ ;  $p < 0,05$ ), отражает снижение компенсаторных возможностей Тц в ограничении макрогематурии. Необходимо подчеркнуть, что тромбоцитопения может быть следствием повреждения сосудов в слизистой оболочке МВП при наличии крупных конкрементов, а также – влияния гипергликемии на тромбоцитопоз. Данный факт необходимо учитывать при анализе причинно-следственных связей патогенеза осложнений НЛТ, если в таковых принимают участие Тц. Просматривается участие Тц в лейкоцитурии, причем таковое сохраняется независимо от тяжести гематурии связанной с НЛТ. Так, при отсутствии гематурии, микро- и макрогематурии выявлена средней силы корреляция, соответственно,  $r_{\text{Тц-Лу}} = 0,600$ ,  $r_{\text{Тц-Лу}} = 0,697$  и  $r_{\text{Тц-Лу}} = 0,668$  ( $p < 0,05$ ). Можно предположить, что Тц способствуют увеличению проницаемости гисто-гематического барьера в слизистой оболочке МВП, следствием чего является лейкоцитурия. Причем этот процесс является стереотипным при наличии воспаления в МВП.

В контексте анализа причин тяжести воспаления при нефролитиазе представляют интерес корреляционные связи уровня СРБ с факторами риска осложнений нефролитиаза; содержанием клеток крови, участвующих в воспалительной реакции при наличии у пациента микро- и макрогематурии. Что касается значимых факторов риска, то независимо от тяжести гематурии таковым является размер конкремента: коэффициент корреляции уровня СРБ с данным показателем составил: при микрогематурии  $r_{\text{СРБ-РК}} = 0,565$  ( $p < 0,05$ ) и макрогематурии –  $r_{\text{СРБ-РК}} = 0,743$  ( $p < 0,05$ ). Высокая сила связи между указанными показателями при макрогематурии свидетельствует, что альтерация сосудов в МВП зависит от состава и площади инфильтратов в периваскулярном пространстве, что, в свою очередь, связано с размером конкремента. Гипергликемия, как фактор риска сосудистых осложнений, в большей степени проявляет себя при макрогематурии. Так, при отсутствии

гематурии и микрогематурии коэффициенты корреляции гипергликемии и уровня СРБ были одинаковыми по силе связи  $r_{ГГ-СРБ}=0,408$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{ГГ-СРБ}=0,322$  ( $p<0,05$ ), тогда как при макрогематурии сила корреляционной связи между этими показателями повышалась до средних значений  $r_{ГГ-СРБ}=0,657$  ( $p<0,05$ ). Данный факт, вероятно, отражает вовлечение стенки более крупных сосудов (на уровне мелких сосудов мышечного типа, в т.ч. артериол) в воспалительный процесс. В этом случае можно объяснить различную выраженность гематурии. Подтверждением этой гипотезы является сила корреляционной связи между тяжестью воспаления и количеством эритроцитов в моче – коэффициент корреляции СРБ и микрогематурии находился на уровне средней силы связи  $r_{СРБ-ГГ}=0,562$  ( $p<0,05$ ), а при макрогематурии –  $r_{СРБ-ГГ}=0,743$  ( $p<0,05$ ). Вполне логично, что тяжесть воспаления в большей степени связана с деструкцией стенки более крупных сосудов, тогда как при микрогематурии – менее активный (хронический) воспалительный процесс сопровождается повышением проницаемости стенки мелких сосудов микроциркуляторного русла.

Поскольку количество лейкоцитов в крови и моче достаточно объективно характеризуют воспалительную реакцию, имело смысл сопоставить эти показатели при различной выраженности гематурии. При отсутствии гематурии и микрогематурии выявлена связь средней силы между количеством лейкоцитов и уровнем СРБ, соответственно,  $r_{КЛ-СРБ}=0,637$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{КЛ-СРБ}=0,689$  ( $p<0,05$ ); при макрогематурии сила корреляционной связи между этими показателями повышалась до высоких значений  $r_{КЛ-СРБ}=0,808$  ( $p<0,05$ ). Таким образом, тяжесть воспаления связана с количеством лейкоцитов крови, что вполне логично, поскольку для реализации воспалительной реакции необходимо непрерывное рекрутирование лейкоцитов. Более высокая связь между уровнем СРБ и количеством лейкоцитов при макрогематурии, по сути, отражает большую востребованность в клетках крови при наличии выраженного воспалительного процесса. Логично предположить, что чем тяжелее протекает воспаление в

слизистой оболочке МВП, тем выше будет лейкоцитурия, т.е. выход лейкоцитов из ткани в мочу (повышается проницаемость гисто-уринального барьера). В этом контексте наличие связи между уровнем СРБ и количеством лейкоцитов в моче могло бы быть доказательством тяжести локального воспаления при микро- и макрогематурии. Анализ показал, что коэффициент корреляции между уровнем СРБ и количеством лейкоцитов в моче при микрогематурии составил  $r_{\text{СРБ-Лу}}=0,507$  ( $p<0,05$ ), а при макрогематурии –  $r_{\text{СРБ-Лу}}=0,793$  ( $p<0,05$ ). Таким образом, сила связи между показателем тяжести воспаления и лейкоцитурией подтверждает, что при макрогематурии в стенке МВП развивается более выраженная воспалительная реакция

При наличии лейкоцитоза о характере воспалительной реакции (хроническое или острое воспаление) можно, в определенной степени, судить по количеству лимфоцитов и нейтрофилов крови. В этой связи представляет интерес анализ связи тяжести воспаления и наличия клеток крови участвующих в воспалении. При микрогематурии выявлена связь средней силы между количеством лимфоцитов, нейтрофилов и уровнем СРБ, соответственно,  $r_{\text{Лф-СРБ}}=0,600$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{\text{Нф-СРБ}}=0,576$  ( $p<0,05$ ); при макрогематурии корреляционная связь обнаружена только между количеством нейтрофилов и уровнем СРБ  $r_{\text{Нф-СРБ}}=0,819$  ( $p<0,05$ ). Можно предположить, что при микрогематурии лимфоциты и нейтрофилы в равной степени связаны с тяжестью воспаления, тогда как при макрогематурии с этим индикатором связаны, в основном, нейтрофилы, которые являются ключевыми эффекторными клетками, обеспечивающими фагоцитоз и альтерацию соединительной ткани при остром воспалении.

Взаимодействие клеток крови при развитии воспаления в стенке МВП, во многом, определяется складывающимися причинно-следственными связями. При наличии микрогематурии выявляется значимая корреляция средней силы между количеством лимфоцитов, Тц, нейтрофилов и моноцитов, что отражает общую реактивность органов гемопоеза, направленную на поддержание необходимого количества клеток крови для обеспечения

защитной реакции организма при развитии воспаления. В этой связи, обращает на себя внимание взаимодействие лимфоцитов с Тц и лимфоцитов с моноцитами, соответственно  $r_{\text{Лф-Тц}}=0,617$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{\text{Лф-Мц}}=0,759$  ( $p<0,05$ ). Образование агрегатов Тц с лимфоцитами, связано с активацией тромбоцитов; подавляется при блокаде Р-селектина, рецепторов GPIIb/IIIa, CD11b или CD40L. В свою очередь, активация Т-лимфоцитов может усиливать формирование агрегатов с Тц. В последние годы формируется убеждение, что Тц являются регуляторами иммунных реакций [100]. Основанием для таких заключений является: (а) наличие в Тц факторов роста, цитокинов и хемокинов, которые активно влияют на элементы иммунной системы; (б) присутствие Toll-like рецепторов (TLR) на поверхности Тц, что объясняет их активацию и участие в иммунном ответе. Оказалось, что в начале воспаления Тц секретируют фактор тромбоцитов-4 и ФАТ, которые специфически стимулируют дифференцировку Т-клеток в направлении Th-1, Th -17 и CD4 Т-клеток, продуцирующих интерферон- $\gamma$ /интерлейкин-17. На более поздних стадиях воспаления увеличивалась способность Тц образовывать агрегаты с CD4 Т-клетками; такое взаимодействие ограничивало воспалительную реакцию. Взаимодействие лимфоцитов с моноцитами (а) обеспечивает трансэндотелиальную миграцию клеток крови, которая зависит от активации лимфоцитарного интегрина (integrin lymphocyte-function-associated antigen 1, LFA-1); (б) может способствовать привлечению нейтрофилов и моноцитов в поврежденные ткани почки, поскольку В-лимфоциты продуцируют хемокин CCL7, [179]; (в) поддерживают хронический воспалительный процесс в почках [451]. При макрогематурии описанные взаимодействия клеток крови отсутствуют, что может быть связано с (а) лимфопенией, развивающейся у пациентов старше 65 лет, которые представлены в этой группе ( $r_{\text{Лф-В}}=-0,477$ ;  $p<0,05$ ); (б) отсутствием потребности в рекрутировании лимфоцитов и моноцитов в зону инфильтрата, если имеет место острая воспалительная реакция.

Относительно нейтрофилов. Выявлена корреляционная связь между количеством нейтрофилов и уровнем СРБ крови как при микро-, так и макрогематурии, соответственно  $r_{\text{нф-СРБ}}=0,576$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{\text{нф-СРБ}}=0,819$  ( $p<0,05$ ). Такая зависимость может отражать роль провоспалительных нейтрофилов в тяжести как системного воспаления, так и воспалительной реакции в почке. При макрогематурии проявляется корреляционная связь высокой силы между нейтрофилами и Тц ( $r_{\text{нф-Тц}}=0,744$ ;  $p<0,05$ ), причем данная связь отсутствует при микрогематурии. Если предположить, что нейтрофилы участвуют в альтерации стенки артериол (самых больших сосудов в микроциркуляторном русле, что является определяющим для макрогематурии), то выявленная взаимосвязь отражает самоподдержание острой воспалительной реакции в МВП [370]. В этой связи, стимуляция Тц активированными нейтрофилами будет способствовать поддержанию воспаления в МВП. Наличие корреляционной связи между количеством нейтрофилов в крови и эритроцитов в моче (выраженность гематурии)  $r_{\text{нф-гт}}=0,700$  ( $p<0,05$ ), подтверждает участие нейтрофилов в альтерации сосудистой стенки; данный процесс может проявляться не только гематурией, но и повышением проницаемости сосудов микроциркуляторного русла для лейкоцитов, следствием чего может быть лейкоцитурия. Так, при микро- и макрогематурии выявлена корреляционная связь между количеством нейтрофилов в крови и лейкоцитов в моче (соответственно  $r_{\text{нф-лу}}=0,562$  и  $r_{\text{нф-лу}}=0,714$ ;  $p<0,05$ ), что подтверждает воздействие нейтрофилов на проницаемость эндотелия сосудов. Возможными механизмами такого взаимодействия может быть протеинкиназа С (РКСδ), которая является ключевым сайтом фосфорилирования, контролирующим провоспалительную передачу сигналов и взаимодействие нейтрофилов с эндотелиальными клетками, а также экспрессия нейтрофилами интегрина  $\beta 1$  обеспечивающего взаимодействие с базальной мембраной венул [193]. Нельзя исключить, что эндотелий контролирует обратный возврат в сосудистое русло активированных нейтрофилов из инфильтратов. Данный механизм объясняет

как локальное воспаление слизистой оболочки МВП может вызывать последующие патологические эффекты в почке.

Факторами риска лейкоцитурии при наличии гематурии является возраст пациентов и гипергликемия. Так, при микро- и макрогематурии выявлена корреляционная связь между возрастом и количеством лейкоцитов в моче, соответственно  $r_{\text{ЛУ-В}}=0,567$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{\text{ЛУ-В}}=0,755$  ( $p<0,05$ ), что вероятно можно связать с возрастными изменениями гисто-гематического барьера [434]. При гипергликемии трансмиграция лейкоцитов в мочу, вероятно, также обусловлена повышением проницаемости сосудистой стенки и ремоделированием внеклеточного матрикса, а также развитием воспалительной реакции в тканях почки. Ключевым моментом лейкоцитурии при нефролитиазе является развитие воспаления в МВП, о чем свидетельствует наличие корреляционной связи между количеством лейкоцитов в крови и моче  $r_{\text{ЛуЛц}}=0,655$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{\text{ЛуЛц}}=0,755$  ( $p<0,05$ ), соответственно, при микро- и макрогематурии). При микрогематурии фактором риска является возраст пациента ( $r_{\text{ГТ-В}}=0,604$ ;  $p<0,05$ ), тогда как при макрогематурии – размер конкремента ( $r_{\text{ГТ-В}}=0,618$ ;  $p<0,05$ ). Выраженность гематурии зависит от тяжести воспалительной реакции, при микро- и макрогематурии, коэффициенты корреляции, соответственно,  $r_{\text{ГТ-СРБ}}=0,562$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{\text{ГТ-СРБ}}=0,699$  ( $p<0,05$ ). Судя по взаимосвязи количества эритроцитов в моче (выраженность гематурии) и количеством нейтрофилов в крови  $r_{\text{ГТ-Нф}}=0,402$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{\text{ГТ-Нф}}=0,700$  ( $p<0,05$ ), соответственно, при микро- и макрогематурии), именно нейтрофилы играют ведущую роль в патогенезе гематурии. Наличие отрицательной связи между гематурией и количеством Тц (при микро- и макрогематурии, соответственно,  $r_{\text{ГТ-Тц}}=0,508$  и  $r_{\text{ГТ-Нф}}=-0,719$ ;  $p<0,05$ ), а также увеличение силы корреляционной связи между макрогематурией и длительностью тромбинового времени ( $r_{\text{ГТ-ТВ}}=-0,672$ ;  $p<0,05$ ), по сравнению с таковой у пациентов с микрогематурией ( $r_{\text{Тц-ТВ}}=-0,431$ ;  $p<0,05$ ), отражают снижение компенсаторных возможностей Тц в ограничении макрогематурии.

## ГЛАВА 4. ГЕНДЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ НЕФРОЛИТИАЗЕ.

### 4.1. Особенности развития осложнений нефролитиаза у мужчин

В настоящее время неспособность включить в анализ патогенеза заболевания пол пациента или игнорирование возраста рассматривается, как упущенная возможность повысить эффективность лечения мужчин и женщин [244]. Понимание особенностей механизмов патогенеза, специфичных для мужского и женского организма, имеет важное значение для разработки стратегии персонализированной медицины, учитывающей индивидуальную реактивность пациента. В этом контексте актуальной проблемой является стойкая гематурия у мужчин, которая рассматривается как фактор риска развития хронических заболеваний почек [180] и даже смертности пациентов [181]. Так, скорректированное отношение рисков (Hazard ratio) смертности мужчин при наличии гематурии составляет 1,49 (95% ДИ 1,22–1,81) при учете всех возможных причин смертности и – 1,83 (95% ДИ 1,23–2,71) для прогнозирования смертности мужчин от сердечно-сосудистых заболеваний по сравнению с таковыми у пациентов при отсутствии гематурии.

Инфекция в МВП стала серьезной социально-экономической проблемой из-за появления штаммов с множественной лекарственной устойчивостью, обуславливающих высокую частоту рецидивов [16]. В этой связи представляет интерес исследование [88], которые рассматривают пол пациента как важный фактор при выборе эмпирического лечения ИМП, в основном из-за различий в устойчивости к противомикробным препаратам. Так, установлено что ципрофлоксацин, подходит для лечения женщин, но не подходит для лечения ИМП у мужчин.

Из препаратов второй линии триметоприм-сульфаметоксазол (TMP-SMX) и амоксициллин-клавулановая кислота (AMX-CA) рекомендуются для лечения неосложненных ИМП у женщин, но таковые малоэффективны у мужчин. Подтверждение этой мысли можно найти у Ten Oever J. [395], который пришел к заключению, что у мужчин нитрофурантоин является ценным вариантом лечения инфекции мочевыводящих путей. Считается, что факторами а развития инфекции МВП при нефролитиазе могут быть локализация и размер конкремента [239], лейкоцитоз, гидронефроз [366], артериальная гипертензия и СД [1;231]. Однако, проявляются ли гендерные различия в развитии осложнений НЛТ при действии одних и тех же факторов риска остается не ясным.

*Цель исследования* – изучить особенности развития гематурии и инфекции мочевыводящих путей при нефролитиазе у мужчин.

*Исследовательский вопрос* – отличается ли выраженность гематурии у мужчин с НЛТ при наличии и отсутствии инфекции в МВП? У 59 мужчин по результатам микробиологического исследования моча была стерильной. Микрогематурия ( $18,7 \pm 2,2\%$ ; 95% ДИ 14,3-23,2%) обнаружена у 39 (84,7%) больных, макрогематурия – у 9 (15,3%), у 11 (18,6%) – гематурия отсутствовала (Таблица 4.1). Ассоциация инфекции МВП с гематурией обнаружена у 33 (55,9%) мужчин. Основными патогенами, обнаруженными в моче были *Escherichia coli* (36,4%), *Enterococcus faecalis* (27,3%), *Klebsiella pneumonia* (18,2%). Микрогематурия ( $27,9 \pm 3,5\%$ ; 95% ДИ 20,9-34,9%) выявлена у 20 (60,6%) больных, макрогематурия – у 13 (39,4%). Таким образом, у мужчин с НЛТ не выявлено различий частоты гематурии ( $p > 0,05$ ) при наличии и отсутствии инфекции в МВП, в тоже время, ИМП была фактором риска увеличения выраженности микрогематурии ( $P = 0,042$ ).

Таблица 4.1

**Факторы риска развития гематурии и инфекции мочевыводящих путей при нефролитиазе у мужчин**

Фактор риска	Выраженность микрогематурии (абс. кол-во пациентов, %)	Частота макрогематурии (абс. кол-во пациентов, %)	Частота ИМП (абс. кол-во пациентов %)
Контроль (НЛТ при отсутствии ИМП) n=59 – у 11 (18,6%) – гематурия отсутствовала	39 (66,1%) случаев 18,7±2,2% (95% ДИ 14,3-23,2%)	9 (15,3%),	–
Инфекция мочевыводящих путей (ИМП) n=33	20 (60,6%) 27,9±3,5% (95% ДИ 20,9-34,9%)	13 (39,4%).	33 (35,9%)
Возраст>65 лет n=12 – у 1 (8,3%) пациента гематурия отсутствовала.	11 (33,3%) 20,1±4,7 э/пз (95% ДИ 9,4-30,8 э/пз),	0	–
Возраст>65 лет +ИМП n=16	16 (57,1%) 43,7±6,6 (95% ДИ 30,0-57,4%)	0	16 (57,1%)
Конкременты в лоханке n=9	8 (88,9%) 16,3±4,4 э/пз (95% ДИ 6,3-26,4 э/пз)	1 (11,1%)	–
Конкременты в лоханке +ИМП n=12	10 (83,3%) 42,6±5,3 э/пз (95% ДИ 30,8-54,5%)	2 (16,7%)	12 (57,1%)
Конкремент в мочеточнике n=33	30 (90,9%) 20,0±3,3 э/пз (95% ДИ 13,1-26,8).	3 (9,1%)	–
Конкремент в мочеточнике+ ИМП n=38	24 (63,2%) 38,1±6,8 э/пз (95% ДИ 23,7-52,3%)	14 (36,8%)	38 (53,5%)
Артериальная гипертензия (НЛТ+АГ+ИМП) n=11 – у 1 пациента гематурия отсутствовала	5 (45,5%); 48,1±5,1 э/пз (95% ДИ 36,4-59,8%)	5 (45,5%)	7 (63,6%)
СД 2 типа (НЛТ+СД+ИМП) n=20	13 (65%) 29,2±5,4% (95% ДИ 17,0-41,4%)	7 (35,0%)	13 (65,0%)

*Исследовательский вопрос – является ли пожилой возраст мужчин фактором риска развития инфекции в МВП?*

Из 92 обследованных мужчин 64 (69,6%) человека находились в возрасте <65 лет ( $50,8 \pm 1,4$  года; 95% ДИ 48,0-53,5 года), при этом у 35 (54,7%) выявлена ИМП, у 29 (45,3%) больных инфекция в МВП отсутствовала. Контингент лиц пожилого возраста (>65 лет) представлен 28 мужчинами (средний возраст  $72,7 \pm 1,0$  года; 95% ДИ 70,8-74,6 года), из которых у 16 (57,1%) выявлена ИМП и у 12 (42,9%) человек инфекция в МВП отсутствовала. Проведенный анализ свидетельствует, что у мужчин пожилого возраста чаще ( $P=0,034$ ) выявляется ИМП. В этой связи необходимо было выяснить – отличается ли выраженность гематурии у лиц разных возрастных категорий при наличии и отсутствии ИМП? У 11 (91,7%) мужчин > 65 лет при наличии НЛТ и отсутствии инфекции в МВП значения микрогематурии находились на уровне  $20,1 \pm 4,7$  э/пз (95% ДИ 9,4-30,8 э/пз); у 1 (8,3%) пациента гематурия не выявлена. При наличии НЛТ и инфекции в МВП у 16 мужчин старше 65 лет значения микрогематурии в 2,5 раза выше ( $P<0,001$ ), чем у больных моложе 65 лет, соответственно:  $43,7 \pm 6,6$  э/пз (95% ДИ 30,0-57,4%) и  $17,7 \pm 2,1$  э/пз (95% ДИ 13,5-21,8 э/пз). Частота макрогематурии не отличалась ( $P=0,111$ ): из 64 мужчин в возрасте <65 лет макрогематурия выявлена у 17 (26,6%) человек; тогда как у 28 больных >65 лет таковая не выявлена. Таким образом, при сочетании НЛТ с инфекцией МВП пожилой возраст мужчин является фактором риска усиления микрогематурии.

*Исследовательский вопрос – влияет ли размер и локализация конкремента на развитие инфекции МВП и возникновение микрогематурии у мужчин?*

У 92 мужчин локализация конкрементов была следующей: 47 (51,1%) случаев в верхней трети и у 45 (48,9%) пациентов в средней и нижней трети мочеточника. В верхней трети мочеточника размер конкремента составил  $16,9 \pm 1,8$  мм (min-max 7,0-25,0мм); наиболее часто (17 пациентов, 65,4%) встречались конкременты от 2,0 до 13,0 мм. В средней и нижней трети

мочеточника размер конкремента достигал  $12,0 \pm 0,5$  мм (min-max 7,0-13,0мм); причем наиболее часто (35 пациентов, 76,1%) встречались конкременты от 5 до 10 мм. Инфекция МВП присутствовала у 50 (54,3%) мужчин при наличии конкрементов в мочеточнике. Соответственно, инфекция МВП отсутствовала у 42 (45,7%) мужчин при наличии конкрементов в мочеточнике. У 18 (39,1%) мужчин обнаружен гидронефроз, причиной которого была обструкция МВП, причем в 3 (16,7%) случаях конкремент располагался в пиело-уретеральном сегменте, в 5 (27,8%) – в верхней трети и в 10 (55,6%) случаях в средней и нижней трети мочеточника. У 50 мужчин при локализации конкремента в мочеточнике и наличии ИМП значения микрогематурии в 1,9 раза выше ( $P=0,025$ ), чем у 33 мужчин при наличии конкремента и отсутствии ИМП, соответственно:  $38,1 \pm 6,8$  э/пз (95% ДИ 23,7-52,3 э/пз) и  $20,0 \pm 3,3$  э/пз (95% ДИ 13,1-26,8 э/пз). Из 38 мужчин с конкрементами в мочеточнике и наличием ИМП макрогематурия выявлена у 14 (36,8%) человек, причем размер конкрементов был больше 6 мм; тогда как из 33 мужчин с конкрементами в мочеточнике без ИМП таковая выявлена у 3 (9,1%) человек, размер конкрементов был меньше 6 мм. Следовательно, можно заключить, что у мужчин с НЛТ: (а) размеры конкрементов в лоханке не являлись фактором риска появления инфекции в МВП и частоты макрогематурии; (б) локализация и размер (>6 мм) конкремента в мочеточнике являлись факторами риска появления ИМП и повышения частоты макрогематурии.

Полученные результаты совпадают с рядом известных фактов. В частности, локализация и размер конкремента в мочеточнике считаются фактором риска микро- и макрогематурии [108]. Практическая значимость полученных результатов определяется возможностью прогнозирования спонтанного выведения конкремента. Установлено, что размер конкремента 6,7 мм является пороговым значением, определяющим возможность выведения конкремента из мочеточника (для разработанной модели AUC = 0,953; 95% ДИ 0,905-1,000; чувствительность 96,7%, специфичность 82,5%,  $p < 0,001$ ). [73] обращают внимание на зависимость у мужчин спонтанного

выведения конкремента от его локализации. Так, при расположении конкрементов в верхней трети мочеточника частота удаления камней составила 81,3%, в средней трети – 45,5% и в нижней трети мочеточника – 27,7%.

*Влияет ли коморбидность при нефролитиазе на частоту развития инфекции МВП и гематурию у мужчин?*

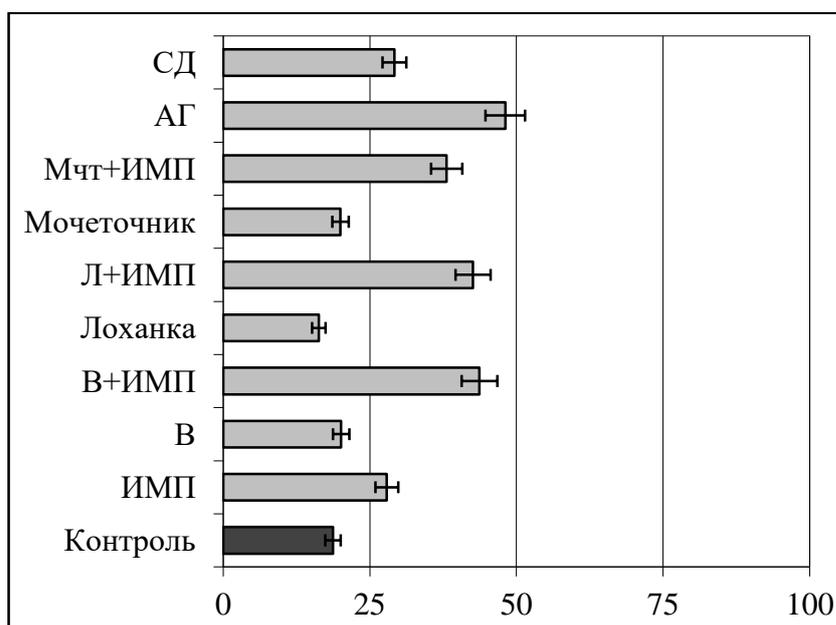
У 61 (66,3%) мужчины с НЛТ отсутствовала артериальная гипертензия (АГ) и диабет; средний возраст больных составил  $56,9 \pm 4,3$  года; 43 (70,5%) пациента, относились к среднему возрастному диапазону (45-59 лет). Значения АДс –  $128,4 \pm 2,2$  мм.рт.ст. (95% ДИ 120,1-130,0 мм.рт.ст.) и АДд –  $89,5 \pm 2,0$  мм.рт.ст. (95% ДИ 85,5-95,7 мм.рт.ст.). Биохимический анализ периферической крови не выявил нарушений метаболизма липопротеинов. Уровень глюкозы в крови «натощак» составил  $5,2 \pm 0,2$  ммоль/л. Микрогематурия ( $17,1 \pm 1,8$  э/пз; 95% ДИ 13,5-20,6 э/пз) имела место у 43 (70,5%) и макрогематурия – у 18 (29,5%) мужчин. Конкременты располагались у 12 (19,7%) пациентов в лоханочно-уретеральном сегменте мочеточника, у 18 (29,5%) – в верхней трети и у 31 (50,8%) пациента в средней и нижней трети мочеточника. У 26 (42,6%) мужчин диагностирована фаза рецидива и у 35 (57,4%) – фаза ремиссии ХОПН; НПВП принимали 21 (34,4%) пациент.

У 11 (12,0%) обследованных мужчин с НЛТ выявлена АГ. Возраст пациентов составил  $64,2 \pm 3,0$  года. АГ I степени имела место у 8 (72,7%) пациентов, АГ II степени – у 2 (18,2%) и АГ III степени – у 1 (9,1%) пациента. АДс составило  $143,5 \pm 3,4$  мм.рт.ст. (95% ДИ 136,5-150,5 мм.рт.ст.) и АДд –  $90,9 \pm 2,3$  мм.рт.ст. (95% ДИ 86,2-95,7 мм.рт.ст.). Конкременты располагались в 5 (45,4%) случаях в лоханке, у 3 (27,3%) – в верхней трети и у 3 (27,3%) пациентов в нижней трети мочеточника. У 7 (63,6%) мужчин при ассоциации НЛТ с АГ выявлена инфекция в МВП; лейкоцитурия составила  $31,7 \pm 5,1$  л/пз (95% ДИ 18,6-44,7 л/пз). У мужчин с НЛТ при наличии АГ обнаружено повышение общего холестерина ( $6,1 \pm 0,32$  ммоль/л;  $p < 0,05$ ) и  $\beta$ -липопротеидов ( $3,57 \pm 0,13$  ммоль/л;  $p < 0,05$ ); данный факт указывает на риск

развития атеросклероза. У 7 (63,6%) пациентов была фаза рецидива и у 4 (36,4%) – фаза ремиссии ХОПН. Микрогематурия ( $48,1 \pm 5,1$  э/пз; 95% ДИ 36,4–59,8 э/пз) имела место у 5 (45,5%) мужчин; макрогематурия выявлена у 5 (45,5%) пациентов и у 1 (9,0%) пациента гематурия отсутствовала. При коморбидности НЛТ с АГ значения микрогематурии у мужчин были на 90,6% больше ( $p < 0,001$ ), чем в случаях наличия конкрементов и отсутствия АГ. Корреляционная связь высокой силы выявлена между уровнем АДс и выраженностью микрогематурии  $r_{\text{АДс-ГТ}} = 0,713$  ( $p < 0,05$ ). Частота возникновения макрогематурии у мужчин с НЛТ при наличии и отсутствии АГ значимо не различалась ( $p > 0,05$ ): из 61 мужчины с НЛТ при отсутствии АГ макрогематурия выявлена у 12 (19,7%) человек; тогда как из 11 мужчин с НЛТ при наличии АГ таковая выявлена у 5 (45,5%) человек.

У 20 (21,7%) мужчин с НЛТ выявлен СД 2 типа. Возраст пациентов составил  $55,4 \pm 3,4$  года (значения *minim-maxim*, соответственно, 24 – 77 лет); большинство мужчин (15 человек, 75,0%) относились к среднему возрастному диапазону. Конкременты располагались у 3 (15,0%) пациентов в лоханке, у 3 (15,0%) – в верхней трети и у 14 (70,0%) пациентов в средней и нижней трети мочеточника. У 4 (20,0%) пациентов обнаружен гидронефроз, причиной которого в 2 (50,0%) случаях был конкремент расположенный в верхней трети и в 2 (50,0%) случаях в средней и нижней трети мочеточника. По заключению эндокринолога на момент госпитализации все пациенты находились в стадии субкомпенсации СД – уровень глюкозы крови натощак  $7,1 \pm 0,1$  ммоль/л (95% ДИ 6,6–7,6 ммоль/л). У 13 (65,0%) мужчин имела место легкая степень тяжести течения СД – уровень глюкозы крови натощак  $7,3 \pm 0,2$  ммоль/л (95% ДИ 7,0–7,5 ммоль/л); у 7 (35,0%) больных выявлена средняя степень тяжести –  $8,5 \pm 0,2$  ммоль/л (95% ДИ 7,9–9,1 ммоль/л). Ассоциация инфекции МВП с СД 2 типа обнаружена у 13 (65,0%) мужчин, у 7 (35,0%) больных с диабетом ИМП не выявлена, тогда как у 61 мужчины с НЛТ без АГ и диабета инфекция в МВП выявлена у 20 (32,8%) человек. Проведенный анализ свидетельствует, что у мужчин при ассоциации инфекции МВП с СД 2 типа чаще ( $P = 0,022$ )

выявляется ИМП. Микрогематурия ( $29,2 \pm 5,4$  э/пз; 95% ДИ 17,0-41,4э/пз) имела место у 13 (65,0%) пациентов; у 7 (35,0%) – макрогематурия. При коморбидности НЛТ с СД значения микрогематурии были в 2,8 раза больше ( $p < 0,001$ ), чем у мужчин при наличии конкрементов и отсутствии диабета. Необходимо ответить, что у мужчин с НЛТ при наличии АГ выраженность микрогематурии была на 64,7% выше ( $p < 0,05$ ), чем у пациентов при ассоциации нефролитиаза с СД-2 типа. Частота макрогематурии не отличалась ( $P > 0,05$ ): из 20 мужчин при ассоциации инфекции МВП с СД 2 типа макрогематурия выявлена у 7 (35,0%) человек; тогда как из 61 мужчины с НЛТ без АГ и диабета таковая выявлена у 12 (19,7%) человек. Таким образом, у мужчин с НЛТ пожилой возраст, наличие инфекции в МВП и коморбидность с АГ являются значимыми факторами риска микрогематурии, выраженность которой может превышать 40 э/пз (Рисунок.4.1).



**Рис. 4.1. Сравнительная характеристика влияния факторов риска на выраженность микрогематурии у мужчин с нефролитиазом**

Примечание. На оси абсцисс – количество эритроцитов в моче (э/пз), на оси ординат – факторы риска и их сочетание. К- контроль, мужчины с нефролитиазом без ИМП; В-возраст >65 лет, ИМП-инфекция мочевыводящих путей, Л-лоханка, Мчт-мочеточник, АГ-артериальная гипертензия, СД – сахарный диабет 2 типа.

В когорте мужчин с НЛТ при наличии и отсутствии инфекции в МВП, не выявлено различий частоты гематурии, однако ИМП была фактором риска увеличения выраженности микрогематурии ( $P=0,042$ ); у мужчин пожилого возраста чаще ( $P=0,034$ ) выявляется ИМП. При локализации конкремента в мочеточнике и наличии ИМП выраженность микрогематурии и частота макрогематурии больше ( $p<0,05$ ), чем у мужчин при наличии конкремента в мочеточнике и отсутствии ИМП. Размер конкремента в мочеточнике  $>6$  мм являлся фактором риска инфекции в МВП и повышения частоты макрогематурии.

В литературе присутствуют единичные публикации, касающиеся сопоставимости рисков гематурии при коморбидности НЛТ. Так, [89] приводят данные о риске микрогематурии при СД 2 типа у мужчин на уровне ОШ 2,8 (95% ДИ 1,3-5,8  $P <0,05$ ), тогда как при наличии АГ – ОШ достигает 4,37 (95% ДИ 2,15-9,01;  $P<0,001$ ) [195]. Нами установлено, что у мужчин при коморбидности НЛТ с АГ значения микрогематурии больше ( $p<0,001$ ), чем в случаях наличия конкрементов в МВП при отсутствии АГ. Частота возникновения макрогематурии у мужчин с НЛТ при наличии и отсутствии АГ значимо не различалась ( $p>0,05$ ). При ассоциации НЛТ с СД 2 типа чаще ( $P=0,022$ ) выявляется ИМП, и в таких случаях выраженность микрогематурии возрастает ( $p<0,001$ ). У мужчин с нефролитиазом осложненным ИМП при наличии АГ выраженность микрогематурии выше ( $p<0,05$ ), чем у пациентов при ассоциации нефролитиаза, ИМП и СД-2 типа. Таким образом, результаты проведенных исследований влияния факторов риска на развитие осложнений НЛТ у мужчин обосновывают необходимость дальнейшего изучения механизмов, лежащих в основе развития ИМП и прогрессирования гематурии, что позволит в перспективе наметить пути повышения эффективности консервативной терапии с учетом гендерных особенностей реактивности организма.

## **4.2. Нефролитиаз как фактор риска инфекции мочевыводящих путей у женщин.**

Инфекция мочевыводящих путей – одна из самых распространенных проблем, связанных со здоровьем женщин [396]. К факторам риска развития ИМП относят беременность и устойчивость к противомикробным препаратам [19], постменопаузу [77], воспалительные заболевания органов малого таза, возникновение различных урологических проблем связанных с беременностью, наличие СД [231] и НЛТ [239]. Мочекаменная болезнь встречается у 8 из 1000 беременных и чаще встречается у женщин с сопутствующими заболеваниями [376]. Беременность, осложненная мочекаменной болезнью, имела более высокий уровень неблагоприятных исходов для плода, включая недоношенность и самопроизвольные аборты. У беременных женщин в возрасте до 50 лет вероятность образования камней в почках более чем в два раза выше, чем у женщин не рожавших [48]. Вероятно, это связано с ожирением и более высоким рН мочи из-за высокой абсорбции органических анионов с пищей, что приводит к увеличению цитрата в моче. Наличие НЛТ в анамнезе предопределяет развитие гестационного диабета и гипертензивных расстройств при беременности, особенно у женщин с высоким индексом массы тела в первом триместре [393]. В тоже время, при беременности развиваются пролитогенные изменения мочи, которые могут впоследствии усилить склонность к нефролитиазу [325]. В этом контексте очевидна необходимость конкретизировать основные характеристики нефролитиаза у женщин и особенности развития осложнений, связанных с наличием конкрементов в МВП, что позволит не только прогнозировать риски возникновения ИМП и гематурии, но и разработать таргетные методы профилактики.

*Цель исследования-* изучить особенности развития инфекции в мочевыводящих путях и гематурии при НЛТ у женщин.

*Исследовательский вопрос – отличается ли выраженность гематурии у женщин с НЛТ при наличии и отсутствии инфекции в МВП?*

Из 104 обследованных женщин с НЛТ у 47 (45,2%) человек моча была стерильной; в данной когорте гематурия отсутствовала у 17 (36,2%) женщин. У 57 (54,8%) женщин выявлена инфекция в МВП, из которых в 17 (29,8%) случаях гематурия не выявлена. Основными патогенами, обнаруженными в моче были *Escherichia coli* (30,5%), *Klebsiella pneumoniae* (23,2%), *Staphylococcus aureus* (20,3%), виды *Enterococcus* (19,5%). У 30 женщин с НЛТ при отсутствии ИМП микрогематурия ( $15,0 \pm 2,9$  э/пз; 95% ДИ 9,0-21,1э/пз) обнаружена у 12 (40,0%) человек, макрогематурия – у 7 (23,3%) и у 11 (36,7%) женщин гематурия отсутствовала (Таблица 4.2). Из 40 (70,2%) женщин с НЛТ осложнённым инфекцией в МВП микрогематурия ( $39,9 \pm 4,1$  э/пз; 95% ДИ 27,6-52,3э/пз) выявлена у 31 (77,5%) женщины, причем ее значения в 2,7 раза выше ( $P < 0,001$ ), чем при отсутствии инфекции в МВП; макрогематурия обнаружена у 9 (22,5%) женщин. Таким образом, у женщин с НЛТ при наличии ИМП чаще выявляется гематурия ( $p < 0,001$ ) по сравнению со случаями отсутствия инфекции в МВП; ИМП является фактором риска увеличения выраженности микрогематурии ( $P < 0,001$ ). На связь ИМП с гематурией указывают [357]. В иммунном ответе на бактериальные инфекции важную роль может играть экспрессия  $P2X_1$ -рецепторов на иммунных клетках и Тц [373].

*Исследовательский вопрос – является ли пожилой возраст женщин фактором риска развития инфекции в МВП?* Из 104 обследованных женщин 68 (65,4%) – находились в возрасте  $< 65$  лет ( $49,5 \pm 1,4$  года; 95% ДИ 46,6-52,3 года), при этом у 40 (58,8%) выявлена ИМП, у 28 (41,2%) женщин инфекция в МВП отсутствовала. Контингент лиц пожилого возраста ( $> 65$  лет) представлен 36 женщинами (средний возраст  $72,1 \pm 1,0$  года; 95% ДИ 70,1-74,0 года), из которых у 16 (44,4%) выявлена ИМП и у 20 (55,6%) человек инфекция в МВП отсутствовала.

Таблица 4.2

**Факторы риска развития гематурии и инфекции мочевыводящих путей осложнения при НЛТ у женщин**

Фактор риска	Выраженность микрогематурии (абс. кол-во пациентов, %)	Частота макрогематурии (абс. кол-во пациентов, %)	Частота ИМП (абс. кол-во пациентов, %)
Контроль (НЛТ при отсутствии ИМП, n=30) у 11 (36,7%) женщин гематурия отсутствовала	12 (40,0%) 15,0±2,9% (95% ДИ 9,0-21,1%)	7 (23,3%)	
Инфекция мочевыводящих путей ассоциированная с гематурией n=40	31 (77,5%) 39,9±4,1% (95%ДИ 27,6-52,3%) (P=0,004)	9 (22,5%).	40 (57,1%)
Возраст>65 лет n=20	16 (55,6%) 19,7±5,1 э/пз (95% ДИ 22,1-66,9 э/пз).	4 (14,3%)	–
Возраст>65 лет +ИМП n=16	10 (62,5%) 43,7±6,6% (95% ДИ 9,0-30,3%)	6 (37,5%)	16 (44,4%)
Конкременты в лоханке n=19	15 (78,9%) 18,8±6,7 э/пз (95% ДИ 4,7-32,9 э/пз).	4 (21,1%)	–
Конкременты в лоханке +ИМП n=25	17 (68,0%) 50,9±9,3 (95% ДИ 31,2-70,6%)	8 (32,0%)	<b>25 (56,8%)</b>
Конкремент в мочеточнике n=27	21 (77,8%) 13,4±3,0 э/пз (95% ДИ 7,1-19,8 э/пз).	6 (22,2%)	–
Конкремент в мочеточнике+ ИМП n=33	16 (48,5%) 35,3±8,5 (95% ДИ 17,5,2-53,1%)	17 (51,5%)	<b>33 (55,0%)</b>
Артериальная гипертензия (НЛТ+АГ+ИМП) n=10	4 (40,0%) 36,1±5,2% (95% ДИ 23,4-48,9%)	6 (60,0%)	<b>10 (100%)</b>
СД 2 типа (НЛТ+СД+ИМП) n=17 женщин; в 2 (11,8%) случаях гематурия отсутствовала	13 (76,4%) 40,9±11,4% (95% ДИ 16,1-65,7%)	2 (11,8%)	17 (100,0%)

Приведенный анализ свидетельствует, что в обследованной когорте пожилой возраст женщин не являлся фактором риска ИМП. В этой связи необходимо было выяснить – отличается ли выраженность гематурии у женщин младше и старше 65 лет в зависимости от ИМП?

У 28 женщин моложе 65 лет при наличии НЛТ и отсутствии ИМП микрогематурия выявлена у 24 (85,7%) человек и составила  $22,3 \pm 6,0$  э/пз (95% ДИ 9,3–35,3 э/пз), тогда как макрогематурия имела место в 4 (14,3%) случаях. У 16 (80,0%) женщин старше 65 лет с НЛТ и отсутствием инфекции в МВП – значения микрогематурии находились на уровне  $19,7 \pm 5,1$  э/пз (95% ДИ 22,1–66,9 э/пз), а макрогематурия подтверждена у 4 (20%) человек. Следовательно, у женщин с НЛТ при отсутствии инфекции МВП пожилой возраст не является фактором риска усиления микрогематурии и развития макрогематурии. У 10 (62,5%) женщин старше 65 лет при наличии НЛТ и ИМП, микрогематурии в 2,2 раза выше ( $P < 0,045$ ), чем у 16 женщин аналогичного возраста при наличии НЛТ и отсутствии ИМП, соответственно:  $43,7 \pm 6,6$  э/пз (95% ДИ 9,0–30,3 э/пз) и  $19,7 \pm 5,1$  э/пз (95% ДИ 22,1–66,9 э/пз). Из 28 женщин в возрасте  $< 65$  лет макрогематурия выявлена у 2 (7,1%) человек; тогда как из 16 больных  $> 65$  лет таковая выявлена у 6 (37,5%) человек, т.е. частота макрогематурии у женщин пожилого возраста возрастала ( $P = 0,035$ ). Таким образом, при сочетании НЛТ с инфекцией МВП пожилой возраст женщин является фактором риска усиления микрогематурии и частоты макрогематурии. [419] также пришли к заключению, что у женщин с конкрементами в лоханке и мочеточнике чаще развивается ИМП, причем пик распространенности НЛТ приходится на возраст 60–69 лет. У женщин в постменопаузе секреция ионов  $Mg^{2+}$  с суточной мочой значительно ниже, чем у женщин без менопаузы [112], что, вероятно, является фактором риска образования конкрементов. Многоцентровое проспективное обсервационное проведенное [138] показало, что у женщин пожилого возраста ( $83,1 \pm 6,9$  года) развитие инфекции в МВП связано с высоким уровнем энтеробактерий, продуцирующих бета-лактамазы, и неадекватным эмпирическим противомикробным лечением. Повышение

риска развития инфекции МВП у лиц пожилого возраста также связывают с наличием сопутствующих заболеваний, сопровождающихся повреждением стенки сосудов (ишемической болезни сердца, хронических заболеваний почек и СД) [364]. Малоизученным вопросом остается реализация воспалительной реакции в лоханке и мочеточнике, которая развивается в ответ на инвазию микробов. Оказалось, что у женщин старше 65 лет пониженная активность Тц может быть фактором риска развития острого пиелонефрита [46]. Триггером воспалительной реакции является активность  $\alpha_2$ -адренорецепторов и ФАТ-рецепторов, которые стимулируют клетки крови и обеспечивают рекрутирование лейкоцитов для реализации острой воспалительной реакции в стенке МВП.

*Исследовательский вопрос – влияет ли размер и локализация конкремента на развитие инфекции МВП и возникновение микрогематурии у женщин?*

Из 104 женщин в 44 (42,3%) случаях конкременты располагались в лоханочно-уретеральном сегменте, у 28 (26,9%) – в верхней трети и 32 (30,8%) случаях в средней и нижней трети мочеточника. Размер конкремента в лоханке составил  $84,8 \pm 24,2$  мм (min- max 3,5-90,0 мм), причем наиболее часто (12 женщин, 27,3%) встречались конкременты от 6,0 до 60,0 мм. Гидронефроз выявлен у 21 (20,2%) женщины, причиной которого была обструкция МВП; в 5 (23,8%) случаях конкремент располагался в лоханке, в 5 (23,8%) – в верхней трети и в 11 (52,4%) случаях в средней и нижней трети мочеточника. Инфекция МВП выявлена у 25 (56,8%) женщин с конкрементами в лоханке и у 33 (55,0%) пациенток с конкрементами в мочеточнике; размеры конкрементов в лоханке в 2,1 раза больше ( $p < 0,05$ ), чем таковые в мочеточнике. Инфекция МВП отсутствовала у 19 (43,2%) женщин с конкрементами в лоханке и у 27 (45,0%) при наличии конкрементов в мочеточнике. Частота возникновения инфекции при локализации конкрементов в лоханке и мочеточнике статистически значимо не различалась ( $p > 0,05$ ). При локализации конкремента в лоханке и наличии ИМП у 17 (68,0%) женщин значения микрогематурии в 2,7 раза выше

( $P=0,008$ ), чем у 15 (78,9%) женщин при наличии конкремента и отсутствии ИМП соответственно:  $50,9 \pm 9,3$  э/пз (95% ДИ 31,2-70,6 э/пз) и  $18,8 \pm 6,7$  э/пз (95% ДИ 4,7-32,9 э/пз). Таким образом, в случае присоединения инфекции при локализации конкрементов в лоханке почки, возрастает риск усиления микрогематурии. Частота возникновения макрогематурии в лоханке статистически значимо не различалась ( $p > 0,05$ ): из 25 женщин с конкрементами в лоханке и наличием ИМП макрогематурия выявлена у 8 (32,0%) человек; тогда как из 19 женщин с конкрементами в лоханке без ИМП таковая выявлена у 4 (21,1%) человек.

При локализации конкремента в мочеточнике у всех женщин (33 наблюдения, 100,0%) возникала ИМП. Микрогематурия выявлена у 16 (48,5%) женщин, значения которой в 2,6 раза выше ( $P=0,023$ ), чем у 21 (77,8%) женщины при наличии конкремента и отсутствии ИМП, соответственно:  $35,3 \pm 8,5$  э/пз (95% ДИ 17,5,2-53,1 э/пз) и  $13,4 \pm 3,0$  э/пз (95% ДИ 7,1-19,8 э/пз). Следовательно, в случае присоединения инфекции при локализации конкрементов в мочеточнике возрастает риск усиления микрогематурии. При локализации конкрементов в мочеточнике частота макрогематурии возрастала ( $p < 0,033$ ) при наличии ИМП. Так, из 33 женщин с конкрементами в мочеточнике и наличии ИМП макрогематурия выявлена у 17 (44,7%) человек, причем размер конкрементов был больше 6 мм, тогда как из 27 женщин с конкрементами в мочеточнике без ИМП таковая выявлена у 6 (22,2%) человек, размер конкрементов был меньше 6 мм. Таким образом, у женщин с конкрементами в лоханке почки и мочеточнике присоединение инфекции является фактором риска усиления микрогематурии. Локализация и размер ( $> 6$  мм) конкремента в мочеточнике являлись факторами риска появления ИМП и повышения частоты макрогематурии. [326] считают НЛТ важным фактором риска гематурии у женщин. Вторжение в уротелий и индукция воспаления являются ключевыми механизмами, с помощью которых бактериальные патогены вызывают ИМП [96]. Вероятно, ремоделирование слизистой оболочки МВП, связанное с механическим воздействием

конкремента, и эффективность местного адаптационного иммунного ответа, ограничивающего воспалительную альтерацию слизистой оболочки при инвазии микробов, определяют выраженность гематурии.

*Влияет ли коморбидность при нефролитиазе на частоту развития инфекции МВП и гематурию у женщин?* У 60 (57,7%) обследованных женщин отсутствовала коморбидность НЛТ с АГ и СД; средний возраст составил  $54,5 \pm 2,0$  года, причем 21 (35,0%) пациентка относились к лицам пожилого возраста –  $71,2 \pm 1,4$  года (95% ДИ 68,3-74,1 года). Конкременты располагались у 26 (43,3%) женщин в лоханке, у 13 (21,7%) – в верхней трети и у 21 (35,0%) пациентки в средней и нижней трети мочеточника. У 17 (28,3%) пациенток подтверждена фаза рецидива и у 43 (71,7%) – фаза ремиссии ХОПН; НПВП принимали 20 (33,3%) женщин. Значения АДс –  $125,5 \pm 3,6$  мм.рт.ст. (95% ДИ 118,5-133,7 мм.рт.ст.) и АДд –  $87,58 \pm 3,0$  мм.рт.ст. (95% ДИ 85,0-95,2 мм.рт.ст.). Биохимический анализ периферической крови не выявил нарушений метаболизма липопротеинов. Уровень глюкозы в крови «натощак» составил  $5,1 \pm 0,1$  ммоль/л (95% ДИ 4,9-5,3 ммоль/л). Микрогематурия ( $21,9 \pm 4,0$  э/пз; 95% ДИ 13,9-30,0 э/пз) имела место у 47 (78,3%) женщин, макрогематурия – у 13 (21,7%) пациенток.

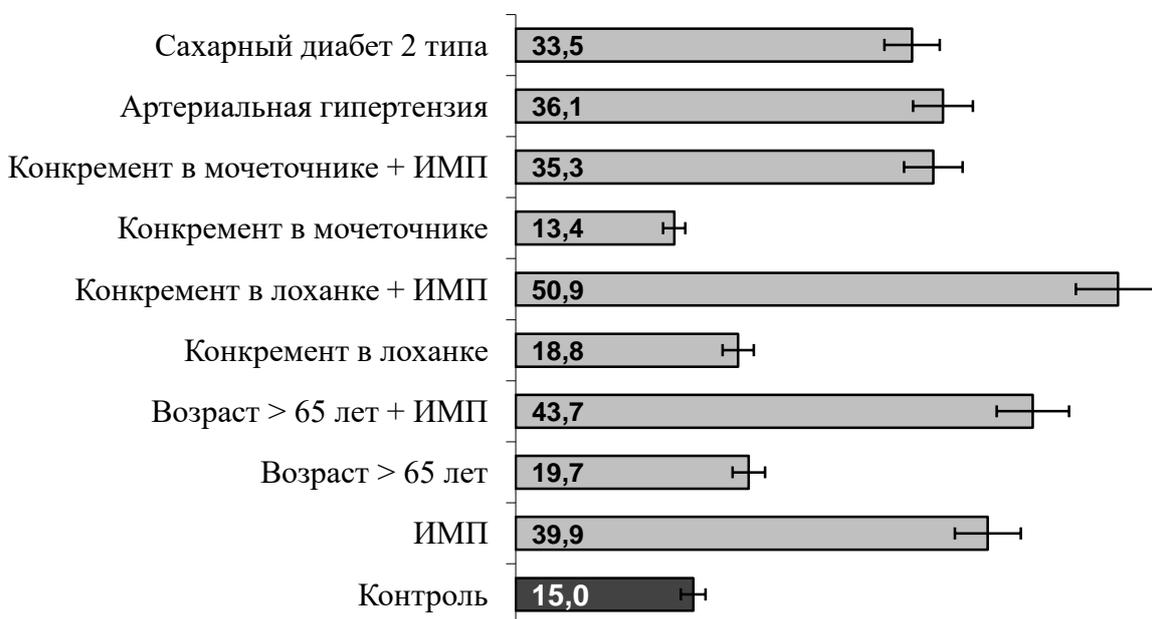
АГ выявлена у 10 (10,4%) женщин с НЛТ. Возраст пациенток составил  $63,1 \pm 3,3$  года. АГ I степени имела место у 7 (70%) пациенток, АГ II степени – у 2 (20%) и АГ III степени – у 1 (10%) пациентки. Конкременты располагались у 6 (60,0%) женщин в лоханке, у 2 (20,0%) – в верхней трети и у 2 (20,0%) пациенток в нижней трети мочеточника. У 1 (10,0%) пациентки обнаружен гидронефроз, при этом конкремент располагался в верхней трети мочеточника. У всех женщин при ассоциации НЛТ с АГ выявлена инфекция в МВП; лейкоцитурия ( $40,6 \pm 3,1$  л/пз; 95% ДИ 33,5-47,7 л/пз). В представленной когорте АДс –  $136,8 \pm 3,3$  мм.рт.ст. (95% ДИ 129,7-143,9 мм.рт.ст.) и АДд –  $90,7 \pm 1,5$  мм.рт.ст. (95% ДИ 87,5-93,1 мм.рт.ст.). У женщин при ассоциации НЛТ с АГ не обнаружено нарушений метаболизма липидов. У 5 (50,0%) пациенток имела место фаза рецидива и у 5 (50,0%) – фаза ремиссии ХОПН.

Микрогематурия ( $36,1 \pm 5,2$  п/зр; 95% ДИ 23,4-48,9 э/пз) имела место у 4 (40,0%) пациенток; макрогематурия – у 6 (60,0%). При коморбидности НЛТ с АГ значения микрогематурии у женщин были на 64,8% больше ( $p < 0,05$ ), чем в случаях наличия конкрементов и отсутствия АГ. Корреляционная связь средней силы выявлена между уровнем АДс и выраженностью микрогематурии  $r_{\text{АДс-ГТ}} = 0,588$  ( $p < 0,05$ ). Частота возникновения макрогематурии у женщин с НЛТ при наличии и отсутствии АГ значительно различалась ( $P = 0,032$ ): из 60 женщин с НЛТ при отсутствии АГ макрогематурия выявлена у 13 (21,7%) человек; тогда как из 10 женщин с НЛТ при наличии АГ макрогематурия выявлена у 6 (60,0%) человек.

У 28 женщин с НЛТ выявлен СД 2 типа, из них у 11 (39,3%) человек инфекция в МВП отсутствовала. Уровень глюкозы в крови –  $7,6 \pm 0,3$  ммоль/л (95% ДИ 6,9-8,3 ммоль/л). Конкременты располагались в лоханке – в 2 (18,2%) случаях, в верхней трети в 4 (36,4%), в средней и нижней трети мочеточника в 5 (45,5%) случаях. Микрогематурия ( $10,1 \pm 0,3$  э/пз) выявлена у 7 (63,6%) женщин, у 2 (18,2%) пациенток имела место макрогематурия, еще в 2 (18,2%) случаях гематурия отсутствовала. Только у 7 (63,6%) пациенток имела место лейкоцитурия ( $10,0 \pm 1,2$  л/пз; 95% ДИ 6,9-13,1 л/пз); в 5 (45,5%) случаях женщины принимали НПВП. У 17 (60,7%) женщин при ассоциации НЛТ с СД 2 типа выявлена инфекция в МВП. Уровень глюкозы в крови  $8,5 \pm 0,7$  ммоль/л (95% ДИ 7,1-10,1 ммоль/л), т.е. был сопоставимым с гипергликемией у женщин с НЛТ при отсутствии инфекции в ИМП. Конкременты располагались в лоханке – в 8 (47,1%) случаях, в верхней трети в 4 (23,5%), в средней и нижней трети мочеточника в 5 (29,4%) случаях. Более выраженная микрогематурия ( $40,9 \pm 11,4$  э/пз;  $P = 0,024$  по сравнению с таковой у женщин без инфекции в МВП) выявлена у 13 (76,4%) пациенток, у 2 (11,8%) – имела место макрогематурия, у 2 (11,8%) женщин гематурия отсутствовала. Проведенный анализ свидетельствует, что у женщин с НЛТ при наличии СД 2 типа чаще ( $P = 0,028$ ) выявлялась ИМП. Так, ассоциация инфекции МВП с СД 2 типа обнаружена у 17 (60,7%) из 28 женщин, тогда как из 60 женщин с НЛТ без АГ

и диабета инфекция в МВП выявлена у 20 (32,8%) человек. Частота макрогематурии при коморбидности НЛТ и СД возрастает ( $P=0,034$ ): из 28 женщин при ассоциации НЛТ и СД 2 типа макрогематурия выявлена у 13 (46,4%) человек; тогда как из 60 женщин с НЛТ без АГ и диабета таковая выявлена у 13 (21,7%) человек. Необходимо отметить, что у женщин с НЛТ при наличии АГ выраженность микрогематурии значимо не отличалась по сравнению со случаями ассоциации НЛТ с СД-2 типа.

Частота макрогематурии отличалась ( $P=0,027$ ): из 17 женщин при ассоциации инфекции МВП с СД 2 типа макрогематурия выявлена у (11,8%) человек; тогда как из 10 женщин с НЛТ и АГ таковая выявлена у 6 (60,0%) человек. Таким образом, у женщин с НЛТ наличие инфекции в МВП и коморбидность с АГ или СД являются значимыми факторами риска микрогематурии, выраженность которой может превышать 30 э/пз (Рисунок 4.2).



**Рис. 4.2 Сравнительная характеристика влияния факторов риска на выраженность микрогематурии у женщин с нефролитиазом (количество эритроцитов моче, э/пз)**

Примечание. Контроль – женщины с нефролитиазом без ИМП

Доказательства зависимости гематурии от АГ и СД приводят [170]. Более того, признание СД в качестве фактора риска гематурии позволило [89] создать соответствующую модель прогнозирования микрогематурии; обращает на себя внимание, что отношение шансов (ОШ) развития микрогематурии в зависимости от уровня гипергликемии и протеинурии было сопоставимым, соответственно ОШ 2,8 (1,3-5,8) и ОШ 2,9 (1,7-5,0). Таким образом, у 54,8% женщин с нефролитиазом возникает инфекция в мочевыводящих путях, которая является фактором риска увеличения выраженности микрогематурии ( $P < 0,001$ ). ИМП отсутствовала у 43,2% женщин с конкрементами в лоханке и у 45,0% – с конкрементами в мочеточнике. Частота возникновения инфекции при локализации конкрементов в лоханке и мочеточнике не различалась ( $p > 0,05$ ); Локализация и размер ( $> 6$  мм) конкрементов в мочеточнике являлись факторами риска появления инфекции в МВП и повышения частоты макрогематурии. При коморбидности нефролитиаза с АГ значения микрогематурии на 64,8% больше ( $p < 0,05$ ), а частота макрогематурии выше ( $P = 0,032$ ), чем в случаях наличия конкрементов и отсутствия АГ. При ассоциации нефролитиаза с СД 2 типа чаще ( $P = 0,028$ ) выявляется инфекция в МВП, которая является фактором риска увеличения микрогематурии ( $P = 0,024$ ) и частоты макрогематурии ( $P = 0,034$ ). Макрогематурия более часто ( $P = 0,027$ ) выявляется при коморбидности нефролитиаза с АГ, чем при ассоциации нефролитиаза с СД 2 типа.

#### **4.3. Ассоциация нефролитиаза с артериальной гипертензией: гендерные особенности патогенеза коморбидности.**

До настоящего времени нет ясности в патогенезе коморбидности НЛТ, что ограничивает возможности эффективного лечения данного контингента пациентов [282]. Применительно к ассоциации НЛТ с артериальной гипертензией (АГ) остаются не выясненными причинно-следственные связи такой коморбидности [14]. Так, [312; 116] на основании проспективного

когортного исследования пришли к заключению, что гипертония, диабет и ожирение являются факторами риска образования камней в почках. Однако, [241] полагают, что связь гипертонии с НЛТ неясна, тогда как [358] убеждены, что НЛТ значительно увеличивает риск гипертонии – отношение шансов (ОШ) 1,43 (95% ДИ 1,30–1,56). На гендерные и возрастные особенности патогенеза АГ обращают внимание [10., 173]. Применительно к коморбидности НЛТ такой интерес может быть связан с попытками персонифицировать диагностику и профилактику развития осложнений [48].

*Цель исследования* – изучить гендерные особенности реактивности симпато-адреналовой (САС) и ренин-ангиотензиновой систем (РАС) пациентов при коморбидности нефролитиаза с АГ.

У 61 (66,3%) мужчины с НЛТ отсутствовала АГ; средний возраст больных составил  $56,9 \pm 4,3$  года; 43 (70,5%) пациента, относились к среднему возрастному диапазону (45-59 лет). Биохимический анализ периферической крови не выявил нарушения метаболизма липопротеинов. Уровень глюкозы в крови «натощак» составил  $5,2 \pm 0,2$  ммоль/л. Микрогематурия ( $17,1 \pm 1,8$  э/пз; 95% ДИ 13,5-20,6 э/пз) имела место у 43 (70,5%) пациентов, макрогематурия – у 18 (36,4%) мужчин. Конкременты располагались у 12 (19,7%) пациентов в лоханке, у 18 (29,5%) – в верхней трети и у 31 (50,8%) пациента в средней и нижней трети мочеточника. У 60 (57,7%) обследованных женщин отсутствовала коморбидность НЛТ с АГ; средний возраст составил  $54,5 \pm 2,0$  года, причем 21 (35,0%) пациентка относились к лицам пожилого возраста. Уровень глюкозы в крови «натощак» составил  $5,1 \pm 0,1$  ммоль/л (95% ДИ 4,9-5,3 ммоль/л). Микрогематурия ( $32,2 \pm 5,1$  э/пз; 95% ДИ 21,9-42,5 э/пз) выявлена у 47 (78,3%) женщин, макрогематурия – у 13 (21,7%) пациенток. У женщин с НЛТ микрогематурия была на 88,3% больше ( $P=0,019$ ), чем у мужчин. Конкременты располагались у 26 (43,3%) женщин в лоханке, у 13 (21,7%) – в верхней трети и у 21 (35,0%) пациентки в средней и нижней трети мочеточника. У 17 (28,3%) пациенток имела место фаза рецидива и у 43 (71,7%) – фаза ремиссии ХОПН; НПВП принимали 20 (33,3%) женщин.

У 11 (12,0%) обследованных мужчин с НЛТ выявлена АГ. Возраст пациентов составил  $64,2 \pm 3,0$  года. АГ I степени имела место у 8 (72,7%) пациентов, АГ II степени – у 2 (18,2%) и АГ III степени – у 1 (9,1%) пациента. У мужчин с НЛТ при наличии АГ обнаружено повышение общего холестерина и  $\beta$ -липопротеидов ( $p < 0,05$ ), что указывает на риск развития атеросклероза (Таблица 4.3).

Таблица 4.3

**Показатели метаболизма липидов у мужчин с нефролитиазом при наличии и отсутствии артериальной гипертензии**

Показатели	Отсутствие АГ (n=61)		Наличие АГ (n=11)	
	$\bar{x} \pm SD$	Размах (Min –Max)	$\bar{x} \pm SD$	Размах (Min –Max)
Общий холестерин, ммоль/л	$5,02 \pm 0,15$	3,68-6,55	$6,10 \pm 0,32^*$	3,44-8,22
Триглицериды, ммоль/л	$1,60 \pm 0,25$	0,65-3,90	$1,70 \pm 0,28$	0,95-3,60
$\beta$ -липопротеиды (ЛПНП, г/л)	$3,05 \pm 0,20$	2,18-4,00	$3,57 \pm 0,13^*$	2,53-3,95
Индекс атерогенности	$3,23 \pm 0,27$	2,2-3,8	$3,5 \pm 0,18$	3,0-4,5

Примечание: \* – достоверность различий показателей  $p < 0,05$ ; у пациентов с нефролитиазом при наличии и отсутствии гематурии.

У 7 (63,6%) пациентов имела место фаза рецидива и у 4 (36,4%) – фаза ремиссии ХОПН. Микрогематурия имела место у 5 (50,0%) мужчин; макрогематурия у 5 (50,0%) пациентов; у 1 пациента гематурия отсутствовала. При коморбидности НЛТ с АГ значения микрогематурии у мужчин были на 90,6% больше ( $p < 0,001$ ), чем у мужчин при наличии конкрементов и отсутствии АГ. Выявлена значимая корреляционная связь выявлена между уровнем САД и выраженностью микрогематурии  $r_{САД-ГТ} = 0,713$  ( $p < 0,05$ ).

Конкременты располагались в 5 (45,4%) случаях в лоханке, у 3 (27,3%) – в верхней трети и у 3 (27,3%) пациентов в нижней трети мочеточника. У 7 (63,6%) мужчин при ассоциации НЛТ с АГ выявлена инфекция в МВП; лейкоцитурия составила  $31,7 \pm 5,1$  л/пз (95% ДИ 18,6-44,7 л/пз).

АГ также выявлена у 10 (10,4%) женщин с НЛТ. Возраст пациенток составил  $63,1 \pm 3,3$  года. АГ I степени имела место у 7 (70%) пациенток, АГ II степени – у 2 (20%) и АГ III степени – у 1 (10%) пациенток. Межгрупповых различий зарегистрированных значений АД у мужчин и женщин не выявлено. У женщин при ассоциации НЛТ с АГ не обнаружено нарушений метаболизма липидов. У 5 (50,0%) пациенток выявлена фаза рецидива и у 5 (50,0%) – фаза ремиссии ХОПН. Микрогематурия ( $36,1 \pm 5,2\%$ ; 95% ДИ 23,4-48,9%) имела место у 7 (70,0%) пациенток; макрогематурия – у 3 (30,0%). Таким образом, выраженность микрогематурии и частота выявления макрогематурии не различались в сравнении с таковыми показателями у женщин с НЛТ при отсутствии АГ. При ассоциации НЛТ с АГ не выявлена значимая разница между мужчинами и женщинами в выраженности и частоте выявления гематурии. Корреляционная связь между уровнем САД и значениями микрогематурии отсутствовала. У всех женщин при ассоциации НЛТ с АГ выявлена инфекция в МВП. Лейкоцитурия у женщин была на 28,1% больше ( $P=0,045$ ) чем у мужчин.

Проведенное исследование *in vitro* на суспензии Тц показало, что при ассоциации НЛТ с АГ у мужчин адреналин и Ан-2 воспроизводили гиперреактивность соответствующих рецепторов (Таблица 4.4). Активность  $\alpha_2$ -адренорецептора была на 17,2% и АТ<sub>1</sub>-рецептора на 23,0% больше, чем таковые у пациентов при отсутствии коморбидности НЛТ. В случае ассоциации НЛТ и АГ значимая корреляционная связь выявлена между уровнем САД и активностью исследованных рецепторов, соответственно  $r_{САД-\alpha_2-AP}=0,551$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{САД-AT-1P}=0,600$  ( $p<0,05$ ). У женщин при ассоциации НЛТ с АГ оба агониста также воспроизводили гиперреактивность рецепторов; однако доминирующим был АТ<sub>1</sub>-рецептор, активность которого превышала на

9,3% ( $p < 0,05$ ) таковую при отсутствии коморбидности. Обращает на себя внимание гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора (95% правый ДИ 63,2%) у 4 (40%) пациентов при отсутствии коморбидности НЛТ. Значимая корреляционная связь выявлена между уровнем САД и активностью  $AT_1$ -рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора (соответственно  $r_{САД-AT-1P} = 0,411$  и  $r_{САД-\alpha_2AP} = 0,357$ ;  $p < 0,05$ ) у пациентов с коморбидностью НЛТ. Дополнительно проведенный сопоставительный анализ показал, что при коморбидности НЛТ активность  $\alpha_2$ -адренорецептора у мужчин на 10,7% больше ( $P = 0,007$ ), чем у женщин. Значимых гендерных различий активности рецептора при отсутствии коморбидности не выявлено. У мужчин по сравнению с женщинами при ассоциации НЛТ с АГ активность  $AT_1$ -рецептора также была выше (на 12,5%;  $P = 0,023$ ). Приведенные результаты предполагают различную активность САС у мужчин и женщин с гипертонической болезнью, по сути различную гендерную адренореактивность организма [423]. Гендерные различия патогенеза АГ могут быть связаны с активностью ангиотензин-превращающего фермента-2 (АПФ-2), концентрацией и спектром половых гормонов, уровнем эндотелина-1 и порогом возбуждения симпатической нервной системы [379].

Дискутабельным остается вопрос – почему при наличии конкрементов в МВП и включении ренальных рефлексов у одних пациентов имеется АГ, а у других ее нет? Причиной этого феномена может быть индивидуальная реактивность организма, проявляющаяся разной активностью рецепторов на тромбоцитах, эндотелии и гладких миоцитах стенки сосудов. Подтверждением этой гипотезы могут быть (а) выявленные нами различия активности  $\alpha_2$ -адренорецептора и/или  $AT_1$ -рецептора при наличии и отсутствии АГ; (б) возможность сопряженности данных рецепторов с Gi-белком сигнального пути, что может сопровождаться потенцированием вазомоторных эффектов у больных с АГ [132].

Таблица 4.4

**Различия индуцированной агрегации тромбоцитов (%) у больных с нефролитиазом при наличии и отсутствии АГ**

Мужчины				
Агонисты	НЛТ+АГ (n=11)		НЛТ (n=61)	
	$\bar{x} \pm m$	Min–Max <sub>I</sub>	$\bar{x} \pm m$	Min–Max <sub>I</sub>
Адреналин	66,0±1,1 P <sub>1-2</sub> <0,001	60,0-72,0	56,3±1,9	41,0-61,1
Ан-2	65,7±2,1 P <sub>1-2</sub> <0,001	50,0-75,0	53,4±2,1	32,0-58,0
Женщины				
Агонисты	НЛТ+АГ (n=10)		НЛТ (n=60)	
	$\bar{x} \pm m$	Min–Max <sub>I</sub>	$\bar{x} \pm m$	Min–Max <sub>I</sub>
Адреналин	59,6±1,8	50,0-71,0	56,7±2,0	46,0-66,0
Ан-2	58,4±1,2 P <sub>1-2</sub> <0,05	41,0-72,0	53,4±1,8	32,0-58,0

Примечание. P<sub>1-2</sub> – вероятность различий АТц при НЛТ ассоциированным с артериальной гипертензией (АГ) относительно такой у больных с НЛТ без АГ.

Проведенное исследование выявило еще один интересный факт. При коморбидности НЛТ с АГ значения микрогематурии у мужчин были выше ( $p<0,001$ ), чем у мужчин при наличии только НЛТ. У женщин данный феномен не проявлялся – выраженность микрогематурии не различалась при наличии и отсутствии коморбидности НЛТ. Увеличение гематурии при наличии у пациента АГ укладывается в законы гемодинамики, объясняющие связь геморрагии и АД [148]. У женщин с НЛТ отсутствие такой связи, вероятно, обусловлено исходно высокой гематурией, на которую АГ не оказывала существенного влияния. Причиной этого явления может быть тяжесть и длительность воспалительной реакции в слизистой оболочке МВП, о чем свидетельствует более выраженная лейкоцитурия у женщин ( $p<0,05$ ). В настоящее время влияние воспаления на развитие АГ не вызывает сомнений. Возможными механизмами повышения АД могут быть цитокины / хемокины,

которые способствуют повреждению стенки сосудов [148]; инфильтрация иммунными клетками стенки сосудов, почек и ЦНС; окислительный стресс, почечная РАС и симпатический тонус сосудов [452], а также половые гормоны, которые по-разному модулируют АПФ-2. [260]. В литературе имеются факты, подтверждающие что наличие воспаления в строме почки может сопровождаться активацией симпатической нервной системы, поскольку ИЛ-1 $\beta$  реализует свой эффект через ядра гипоталамуса [454]. Медикаментозную коррекцию АГ при наличии нефролитиаза целесообразно проводить с учетом индивидуальной реактивности САС и РАС, выраженности гематурии и воспаления в МВП у мужчин и женщин.

#### **4.4. Молекулярные механизмы развития осложнений нефролитиаза, ассоциированного с СД 2 типа .**

Факторами риска развития и прогрессирования НЛТ считаются возраст, пол, диета, диабет, наличие АГ [4; 41]. Традиционно развитие гематурии при НЛТ связывают с размерами конкремента, наличием инфекции в МВП, иногда с состоянием системы гемостаза и т.п. [257]. Априори считается, что механическое повреждение слизистой оболочки МВП конкрементом является ключевым фактором патогенеза гематурии (повреждение сосудов). Однако, в данном контексте более корректно учитывать инициацию воспалительной реакции, которая проявляется инфильтрацией периваскулярной ткани лейкоцитами, с последующей альтерацией стенки сосудов микроциркуляторного русла [238]. По сути, гематурия при нефролитиазе связана с воспалением.

Сахарный диабет (СД) считается фактором риска нефролитиаза [224], однако причины этого явления не выяснены. Из наиболее известных гипотез можно упомянуть связь гипергликемии с инфекцией МВП [28], гендерную реактивность организма [196], снижение рН мочи [70]. Известно, что СД может проявляться гематурией, связанной с эндотелиальной дисфункцией и ремоделированием стенки сосудов [416] в том числе, связанном с функцией

нейтрофилов [53]. Логично предположить, что коморбидность НЛТ и диабета может сопровождаться увеличением тяжести гематурии и воспалительной реакции в слизистой оболочке МВП, тем более, если эти осложнения взаимосвязаны. В настоящее время этот вопрос не получил должного отражения в литературе, более того сложно оценить какие молекулярные механизмы вовлечены в развитие осложнений при данной коморбидности НЛТ. Перспективными индикаторами механизмов развития гематурии и воспалительной реакции при НЛТ может быть функциональная активность пуриновых (P2X-, P2Y1-, P2Y12-рецепторов), ФАТ-рецепторов и GP VI-рецепторов, участие которых в воспалении и ремоделировании сосудистой стенки не вызывает сомнений [87]. В этом контексте анализ рецепторного аппарата Тц *in vitro* представляется перспективным, поскольку позволяет анализировать механизмы гемостаза и развития воспаления при действии основных факторов риска НЛТ и СД.

*Цель исследования* – изучить молекулярные механизмы развития гематурии и лейкоцитурии при коморбидности нефролитиаза с СД 2 типа.

У 121 (61,7%) пациентов с НЛТ отсутствовал СД; средний возраст больных составил  $55,7 \pm 3,1$  года. Уровень глюкозы в крови натощак составил  $5,2 \pm 0,3$  ммоль/л. Конкременты располагались у 38 (31,4%) пациентов в лоханке, у 31 (25,6%) – в верхней трети и у 52 (43,0%) больных в средней и нижней трети мочеточника. У 44 (36,4%) пациентов диагностирована фаза рецидива и у 77 (63,6%) – фаза ремиссии ХОПН; 41 (33,9%) пациент принимали НПВП. Микрогематурия ( $27,2 \pm 3,0$  э/пз; 95% ДИ 21,2-33,3э/пз) имела место у 90 (74,4%) пациентов, макрогематурия – у 31 (25,6%) больного.

Из 48 пациентов, у которых НЛТ ассоциирована с СД 2 типа, в 37 (77,1%) случаях имела место легкая степень тяжести течения диабета – уровень глюкозы крови натощак  $7,3 \pm 0,2$  ммоль /л (95% ДИ 7,0-7,6 ммоль/л); в 10 (20,8%) – выявлена средняя степень тяжести –  $8,5 \pm 0,2$  ммоль/л (95% ДИ 7,9-9,1 ммоль /л), в 1 (2,1%) случае – тяжелая степень тяжести диабета. Конкременты располагались у 13 (27,1%) пациентов в лоханке, у 12 (25,0%) –

в верхней трети и у 23 (47,9%) пациентов в средней и нижней трети мочеточника. У 28 (58,3%) пациентов была фаза рецидива и у 20 (41,7%) – фаза ремиссии ХОПН; НПВП принимали 27 (56,3%) пациентов. Микрогематурия имела место у 27 (56,2%) пациентов, у 21 (43,8%) – макрогематурия. У пациентов с коморбидностью НЛТ и СД 2 типа при анализе мочи выявлено большее количество эритроцитов (на 66,3%;  $P=0,014$ ), а также чаще встречалась макрогематурия ( $P=0,034$ ) по сравнению с пациентами у которых имел место только НЛТ. *Гипотеза* – если реактивность рецепторов на клетках мишенях при коморбидности НЛТ с СД 2 типа отличается от таковой при наличии только НЛТ, то молекулярные механизмы, связанные с гипергликемией, могут быть фактором риска выраженности гематурии и тяжести воспалительной реакции, вызванных наличием конкрементов в МВП.

*Исследовательский вопрос* – активность каких рецепторов Тц модулируется при наличии СД у пациентов с НЛТ? Сопоставление активности рецепторов Тц у пациентов с НЛТ при наличии и отсутствии СД (Таблица 4.5) свидетельствует, что гипергликемия сопровождается повышением реактивности P2X-рецепторов (на 17,2%,  $p<0,001$ ), ФАТ-рецептора (на 12,9%,  $p<0,001$ ) и GPVI-рецептора (на 26,8%  $p<0,001$ ) по сравнению с таковой у больных с НЛТ без гипергликемии. Таким образом, влияние СД 2 типа на патогенез осложнений НЛТ связано (а) с ишемией тканей почки, сопровождающейся повышением содержания внеклеточных нуклеотидов и стимуляцией пуриновых P2X-рецепторов; (б) развитием системной воспалительной реакции, сопровождающейся стимуляцией ФАТ-рецепторов Тц со стороны активированных лейкоцитов; (в) ремоделированием стенки сосудов, которое проявляется повышением уровня в крови растворимого коллагена и стимуляцией GPVI-рецепторов. Молекулярные механизмы патогенеза связанные с данными рецепторами, в конечном счете, могут потенцировать осложнения вызванные наличием конкрементов в МВП.

Таблица 4.5

**Различия индуцированной АТц (%) у больных с НЛТ  
при наличии и отсутствии СД.**

Индуктор	НЛТ (n=121)		НЛТ+СД 2 типа (n=48)	
	$\bar{X} \pm m$	Min–Max <sub>I</sub>	$\bar{X} \pm m$	Min–Max <sub>I</sub>
АТФ	51,8±1,2	18,0–61,0	60,7±0,7 p<0,001	50,0-67,0
ФАТ	59,6±1,2	44,0-80,0	67,3±1,8 p<0,001	40,0-80,0
Коллаген	47,7±1,4	17,0-76,0	60,5±1,7 p<0,001	47,0-71,0

Примечание. p – вероятность различий АТц при ассоциации НЛТ с СД 2 типа относительно такой у пациентов с НЛТ без СД.

*Исследовательский вопрос* – проявляется ли выраженность лейкоцитурии изменением активности рецепторов на Тц у пациентов с коморбидностью НЛТ и СД 2 типа? Для решения этой задачи на первом этапе анализа сопоставили количество лейкоцитов в моче у пациентов с НЛТ и НЛТ ассоциированным с СД 2 типа. Оказалось, что при коморбидности НЛТ лейкоцитурия была в 2,3 раза выше (p=0,003), чем при наличии только НЛТ, соответственно 26,8±4,5 л/пз (min-max 13,0-100,0 л/пз) и 11,7±0,9 (min-max 10,0-50,0 л/пз). На втором этапе – пациентов распределили на две подгруппы: А – с легкой степенью лейкоцитурии (менее или равно 15 л/пз) и Б – со средней + тяжелой степенью лейкоцитурии (более 15 л/пз). Оказалось, что в подгруппе А активность всех рецепторов была сопоставимой (p>0,05), тогда как в подгруппе Б активность ФАТ– и GPVI– рецепторов превышала активность P2X-рецептора соответственно на 11,5% и 13,9% (p<0,01) (Таблица 4.6).

Таблица 4.6

**Различия индуцированной АТц (%) при различной выраженности лейкоцитурии у больных с коморбидностью НЛТ и СД 2 типа.**

Индуктор	Подгруппа А (лейкоцитурия $\leq 15$ пз; n=28)		Подгруппа Б (лейкоцитурия $> 15$ пз; n=20)	
	$\bar{x} \pm m$	Min–Max <sub>I</sub>	$\bar{x} \pm m$	Min–Max <sub>I</sub>
АТФ	58,0 $\pm$ 1,2	50,0-65,0	59,0 $\pm$ 1,3	45,0-65,0
ФАТ	61,1 $\pm$ 2,6	40,0-80,0	65,8 $\pm$ 1,5 $P_{\text{АТФ-ФАТ}} < 0,01$	50,0-80,0
Коллаген	59,6 $\pm$ 1,6	50,0-69,0	67,2 $\pm$ 1,0*** $P_{\text{АТФ-Коллаг}} < 0,01$	60,0-73,0

Примечание. p – вероятность различий АТц с разными агонистами; \*\*\*- вероятность различий АТц при различной выраженности лейкоцитурии.

Необходимо выделить более высокую активность GPVI- рецепторов в подгруппе Б (на 12,7%;  $p < 0,001$ ) по сравнению с таковой в подгруппе А. Вероятно, усиление деградации базальной мембраны стенки сосудов микроциркуляторного русла является следствием возрастания тяжести воспаления в слизистой оболочке МВП. Выявленный уровень гиперреактивности рецепторов может быть как следствием воздействия на клетки-мишени патогенетических факторов гипергликемии, так и результатом взаимодействия путей сигнализации. Проверка данной гипотезы показала, что в подгруппе А имелась взаимосвязь между активностью ФАТ-рецептора и GPVI- рецептора ( $r = 0,448$ ;  $p < 0,05$ ).

Большее разнообразие взаимодействия рецепторов обнаружено в подгруппе Б. Во-первых, обнаружена корреляция между активностью P2X-рецептора и ФАТ-рецептор ( $r = 0,322$ ;  $p < 0,05$ ), что свидетельствует о связи

между ишемией тканей почки и активацией лейкоцитов. Во-вторых, выявлена взаимосвязь между активностью P2X-рецептора и GPVI- рецептора ( $r = 0,430$ ;  $p < 0,05$ ), отражающая зависимость ишемии почки от ремоделирования стенки сосуда. В-третьих, сила связи между активностью ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора ( $r = 0,534$ ;  $p < 0,05$ ) была выше таковой в подгруппе А, что отражает увеличение зависимости деградации базальной мембраны стенки сосудов от функциональной активности лейкоцитов. Обнаруженные корреляции отражают функционирование патогенетических механизмов при ассоциации НЛТ и СД 2 типа с участием P2X-, ФАТ- и GPVI- рецепторов. Вероятно, гипергликемия провоцирует повышение активности Тц и лейкоцитов, что сопровождается увеличением проницаемости стенки сосудов, следствием чего может быть усиление ишемии почки.

*Гипотеза* – если при прогрессировании лейкоцитурии происходит деградация коллагена базальной мембраны сосудов и повышается проницаемость сосудистой стенки, то возможно усиление гематурии. Проведенные исследования показали, что в подгруппе А у 23 (82,2%) пациентов имела место микрогематурия, у 2 (7,1%) пациентов – макрогематурия и в 3 (10,7%) случаях гематурия отсутствовала. В подгруппе Б у 13 (65%) больных имела место микрогематурия, и у 7 (35%) – макрогематурия. Обращает на себя внимание увеличение ( $P = 0,039$ ) частоты макрогематурии в подгруппе Б. Выраженность микрогематурии в подгруппе Б была в 5 раз выше, чем в подгруппе А, соответственно  $76,6 \pm 5,2$  э/пз (95% ДИ 64,7-88,5 э/пз) и  $15,5 \pm 3,3$  э/пз (95% ДИ 8,6-22,3 э/пз). Таким образом, при коморбидности НЛТ и СД 2 типа возрастает риск гематурии, связанный с активацией рецепторов на Тц и лейкоцитах, что сопровождается деградацией коллагена IV-типа базальной мембраны сосудов и диспадезом эритроцитов.

В настоящее время Тц рассматриваются в виде адресатов и игроков, несущих и трансформирующих нарушение обмена веществ в сосудистое повреждение [61]. В этом контексте представляют интерес: (а) гипергликемия, гликемическая изменчивость и резистентность к инсулину в качестве

детерминант и предикторов активации Тц [38]; (б) воспалительные медиаторы, секретируемые Тц, растворимый CD40-лиганд, CD36, Dickkopf-1 и, возможно, sRAGE, которые расширяют функциональный репертуар Тц от участников гемостаза и тромбоза до мощных амплифайеров воспаления, способствующих высвобождению цитокинов и хемокинов, активации клеток и клеточно-клеточных взаимодействий [400]. Отмеченная стимуляция P2X-рецепторов Тц может быть обусловлена повышением внеклеточного уровня пуринов вследствие перманентной гипоксии/ ишемии тканей почки при наличии НЛТ и СД [139]. Эндогенные лиганды для пуриновых рецепторов (АТР, АДФ и аденозин) могут высвобождаться из разных типов клеток сосудистой стенки, а также из циркулирующих эритроцитов и Тц, причем ферменты-эктонуклеотидазы, отвечающие за конверсию пуринов, представлены на поверхности эндотелия [64]. Анализируя возможные последствия стимуляции P2X-рецепторов, следует упомянуть поддержание воспалительного процесса, который реализуется в результате взаимодействия Тц и лейкоцитов [420]; вазоконстрикцию связанную с паракринным влиянием АТФ и АДФ на эндотелий и гладкие миоциты стенки сосудов [248].

При анализе механизмов воспалительной реакции заслуживает внимания активность ФАТ-рецепторов, поскольку их лиганд ФАТ: (а) секретируется лейкоцитами и традиционно рассматривается как индикатор активности нейтрофилов [318]; (б) является индуктором формирования ТЛЖ при развитии воспаления [120]; (в) считается провоспалительным медиатором и модулятором местных цитокиновых сетей [233]. В случае коморбидности НЛТ с СД, гиперреактивность ФАТ-рецепторов на клетках-мишенях не только поддерживает системную воспалительную реакцию, но и может сопровождаться: снижением СКФ, появлением макроальбуминурии [129]; развитием микроангиопатии вследствие нарушения функции эндотелия [209]; повышением синтеза внеклеточного матрикса поскольку в фибробластах активируется внутриклеточный сигнальный путь протеинкиназа С–трансформирующий фактор роста  $\beta 1$  [456].

Обнаруженное повышение активности GP VI– рецептора у пациентов с коморбидностью НЛТ, вероятно, обусловлено связыванием с индуктором матриксных металлопротеиназ (MMP) внеклеточного матрикса (EMMPRIN; CD147), который экспрессируется в Тц и лейкоцитах [308]. Наибольший интерес представляет состояние коллагеновых волокон БМ (коллаген IV-типа) стенки сосуда и внеклеточного матрикса интерстициальной соединительной ткани [404] Большинство исследователей склоняются к мысли, что деградация белков внеклеточного матрикса почки и повышение проницаемости гистогематического барьера связаны с активацией MMP. При коморбидности НЛТ с СД гиперреактивность GP VI–рецептора к коллагену IV типа представляет интерес в связи с анализом причин гематурии. В этой связи необходимо упомянуть исследование [275], в котором было показано, что повышенный уровень коллагена IV-типа связан с ремоделированием стенки сосудов. Дказательства влияния ремоделирования сосудистой стенки на ее проницаемость приводят [427]. В этой связи СД может рассматриваться как важный фактор риска гематурии, поскольку высокий уровень глюкозы индуцирует экспрессию коллагена IV-типа, фибронектина и ламинина через путь сигнализации PI3K / Akt, что сопровождается ремоделированием стенки сосудов [206].

Таким образом, ассоциация НЛТ и СД 2 типа сопровождается увеличением выраженности микрогематурии и лейкоцитурии, возрастанием частоты случаев макрогематурии. Влияние диабета на патогенез осложнений НЛТ связано с усилением ишемии тканей почки, системной воспалительной реакции и ремоделирования стенки сосудов, что проявлялось гиперреактивностью P2Y-рецепторов, ФАТ-рецептора и GP VI-рецептора на Тц. В данном контексте активность указанных рецепторов можно рассматривать как систему потенциальных биомаркеров и прогностических факторов развития осложнений при коморбидности НЛТ с СД 2 типа.

## ГЛАВА 5.

### МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ МОТОРИКИ МВП ПРИ ЛИТОКИНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ КОНКРЕМЕНТОВ СРЕДНИХ РАЗМЕРОВ В ВЕРХНЕЙ ТРЕТИ МОЧЕТОЧНИКА

Ограниченность теоретических знаний, касающихся механизмов элиминации конкрементов из мочеточника, сдерживает совершенствование ЛКТ. До настоящего времени отсутствует целостная теория физиологической регуляции моторики мочеточника. Основными регуляторами сокращения ГМК в мочевыводящих путях считаются адрен- и холинергический отделы вегетативной нервной системы, а также пуриновые нуклеотиды [362], тогда как простагландины, эндотелины, оксид азота и аденозин рассматриваются как факторы релаксации миоцитов [144]. Может сложиться впечатление, что ЛКТ при нефролитиазе базируется на теоретических знаниях, касающихся регуляции моторики МВП, поскольку рекомендуется использование селективных  $\alpha_1$ -адреноблокаторов, НПВП, спазмолитиков, блокаторов  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов, а также средств для профилактики и лечения инфекций МВП. Причем ключевую роль в современных стандартах и протоколах лечения МКБ отводят селективным  $\alpha_1$ -адреноблокаторам ( $\alpha_{1A}$ -АБ). Тем не менее, по признанию разработчиков действующих методических рекомендаций [335] рандомизированные многоцентровые исследования не доказали преимущества такой терапии. Результаты метанализа исследований, посвященных использованию  $\alpha$ АБ для экспульсивной терапии при камнях мочеточника, оказались несколько неожиданными. Блокаторы данных рецепторов оказались менее эффективными при камнях меньшего размера ( $\leq 5$  мм), чем при более крупных камнях ( $> 5$  мм), причем данный эффект не зависел от расположения камня и типа  $\alpha$ -блокатора [67].

*Гипотеза.* С нашей точки зрения, эффективность ЛКТ при локализации конкрементов средних размеров в верхней трети мочеточника достигается вследствие (а) полной обтурации просвета мочеточника (т.е. когда размер

конкремента превышает 5мм), что создает условия для возникновения высокого градиента гидростатического давления между участками мочеточника выше и ниже конкремента; б) воспроизведения максимальной релаксации ГМК в стенке мочеточника. При наличии в просвете мочеточника конкрементов <5мм, вероятно, создаются условия для «просачивания» мочи между стенкой мочеточника и конкрементом, что нивелирует градиент гидростатического давления, обеспечивающего продвижение конкремента. Таким образом, размер конкремента и степень обтурации МВП определяют включение механизма, обеспечивающего элиминацию конкремента. В случае локализации крупного конкремента в верхней трети мочеточника логично предположить, что условием его эффективной элиминации может быть максимальная релаксация ГМК и дилатация просвета МВП. Данную цель преследует назначение  $\alpha_{1A}$ -АБ при нефролитиазе. Однако, желаемое функциональное состояние мочеточника достигается не у всех пациентов, подтверждением чего может быть количество экстренных малоинвазивных оперативных вмешательств на МВП при нефролитиазе.

### **5.1. Анализ *in vitro* активности рецепторов, регулирующих моторику МВП при нефролитиазе.**

*Цель исследования*– оценить активность рецепторов, регулирующих сократительную способность мочеточника ( $\alpha_2$ -адренорецептор и пуриновый P2X<sub>1</sub>-рецептор) и релаксацию гладкой мышечной ткани (аденозиновый A2A-рецептор и TP-рецептор) при стандартной ЛКТ, включающей (блокатор  $\alpha_1$ -адренорецептора и НПВП, ингибирующий синтез на участке ЦОГ-ТхА2) у пациентов с локализацией конкрементов средних размеров в верхней трети мочеточника.

*Исследовательский вопрос* – проявляется ли эффект регуляторных механизмов моторики мочеточника при наличии мелких и средних конкрементов из мочеточника? является ли функциональная активность рецепторов на Тц информативным индикатором, отражающим присутствие

компенсаторных механизмов, направленных на элиминацию конкрементов; внутриклеточная сигнализация каких рецепторов Тц отражает модуляцию внутриклеточного уровня  $Ca^{2+}$  при спонтанной элиминации конкрементов из верхней трети мочеточника; что предопределяет сокращение и расслабление ГМК в МВП?

До начала ЛКТ при анализе рецепторного аппарата Тц обнаружена гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, ТхА2-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, нормореактивность P2Y-рецепторов, ФАТ-рецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора, GPVI-рецептора, а также гипореактивность А2А-рецептора (Таблица 5.1).

*Таблица 5.1.*

**Кластер активности рецепторов тромбоцитов до ЛКТ в когорте больных с локализацией конкрементов в верхней трети мочеточника (n=61)**

Вид рецептора	Среднее значение активности рецептора (%), $\bar{X} \pm SD$	Min – Max	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
$\alpha_2$ -адренорецептор	65,9±0,7	54,0-73,0	64,5	67,2
ТР-рецептор	65,3±0,7	53,0-75,0	63,9	66,7
P2X <sub>1</sub> -рецептор	64,6±0,7	49,0-76,0	63,1	66,1
P2Y-рецепторы	53,0±0,5***	47,0-61,0	51,9	54,1
ФАТ-рецептор	51,0±1,5	30,0-64,0	48,0	54,0
АТ <sub>1</sub> -рецептор	45,3±0,6	39,0-52,0	44,1	46,6
GPVI-рецептор	44,5±1,0	21,0-53,0	42,4	47,0
А2А-рецептор	33,4±0,7***	25,0-46,0	32,0	34,9

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности  $\alpha_2$ -адренорецептора на уровне  $p < 0,001$ .

Активность  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора и ТР-рецептора была сопоставимой ( $p > 0,05$ ). Кластер функциональной активности рецепторов может быть представлен следующим образом: активность  $\alpha_2$ -адренорецептора = активности ТР-рецептора = активности P2X<sub>1</sub>-рецептора > активности P2Y-

рецепторов = активности ФАТ-рецептора = активности АТ<sub>1</sub>-рецептора = активности GPVI-рецептора > активности А2А-рецептора. Следовательно, компенсаторные механизмы, направленные на спонтанную элиминацию конкрементов мелких и средних размеров из верхней трети мочеточника, характеризуются усилением сократительной активности ГМК (отражением чего является активация α<sub>2</sub>-адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора и ТхА2-рецептора). Включение данных компенсаторных механизмов может быть обусловлено активацией САС (результат ноцицепции при «почечной колике»), ишемией и альтерацией тканей МВП, связанной с наличием конкремента в просвете МВП и перманентной вазоконстрикции (следствием чего является повышение внеклеточного содержания АТФ и острого пиелонефрита, сопровождающегося активацией клеток крови и формированием инфильтратов в стенке мочеточника (индикатором воспалительной реакции является повышение активности ЦОГ усиление синтеза ТхА2). Поскольку стандартная ЛКТ не во всех случаях сопровождалась перемещением конкрементов из верхней трети мочеточника, то логично предположить наличие различий в регуляции компенсаторных механизмов моторики мочеточника.

*Исследовательский вопрос* – отличается ли внутриклеточная сигнализация, модулирующая функциональную активность ГМК при эффективной (1-й группа) и неэффективной (2-я группа) ЛКТ? Средний размер конкремента составил в 1-й группе – 15,1±0,9 мм (min-max 7,0-25,0мм), во 2-й группе – 16,9±1,8 мм (min-max 7,0-25,0мм); межгрупповых различий не выявлено (p>0,05). Анализ показал, что при ЭЭК проявлялась гиперреактивность α<sub>2</sub>-адренорецептора, ТхА2-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, нормореактивность P2Y-рецепторов, ФАТ-рецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора, гипореактивность GPVI-рецептора и аденозинового А2А-рецептора (Таблица 5.2). При НЭК имела место гиперреактивность α<sub>2</sub>-адренорецептора, ТхА2-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, ФАТ-рецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора, GPVI-рецептора, гипореактивность –P2Y-рецепторов и А2А-рецептора.

Таблица 5.2.

**Кластер активности рецепторов тромбоцитов при эффективной и неэффективной ЛКТ.**

Вид рецептора	Среднее значение активности рецептора (%), $\bar{X} \pm SD$	Min – Max	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
<b>Эффективная ЛКТ</b>				
$\alpha_2$ -адрено-рецептор	63,7±0,7	54,0-72,0	62,2	65,2
TR-рецептор	63,4±0,8	53,0-74,0	61,8	65,1
P2X <sub>1</sub> -рецептор	62,1±0,8	49,0-71,0	60,4	63,7
P2Y-рецепторы	51,6±0,7***	47,0-57,0	50,1	53,2
ФАТ-рецептор	45,3±2,2***	30,0-60,0	40,6	50,0
AT <sub>1</sub> -рецептор	44,7±0,8***	39,0-50,0	43,1	46,4
GPVI-рецептор	41,9±1,8***	21,0-52,0	38,1	45,7
A2A-рецептор	36,2±0,7***	28,0-46,0	34,7	37,7
<b>Не эффективная ЛКТ</b>				
$\alpha_2$ -адрено-рецептор	70,0±0,6 P<0,001	63,0-73,0	68,7	71,3
TR-рецептор	68,9±0,9 P<0,001	62,0-75,0	67,0	70,7
P2X <sub>1</sub> -рецептор	69,3±0,8 P<0,001	63,0-76,0	67,6	71,0
ФАТ-рецептор	60,3±0,8*** P<0,001	60,0-70,0	53,0	66,0
AT <sub>1</sub> -рецептор	58,5±0,9***	51,0-64,0	56,6	60,4
P2Y-рецепторы	41,3±0,6*** P<0,001	36,0-46,0	40,0	42,6
GPVI-рецептор	59,0±0,7*** P<0,001	54,0-65,0	57,6	60,4
A2A-рецептор	28,1±0,6*** P<0,001	25,0-34,0	26,8	29,5

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности  $\alpha_2$ -адренорецептор. P– достоверность различий активности рецептора при неэффективной ЛКТ уровне p<0,001 по сравнению с значениями при эффективной ЛКТ.

Следовательно, стереотипными механизмами регуляции компенсаторных реакций моторики мочеточника, независимо от исхода элиминации, являлись чрезмерная стимуляция  $\alpha_2$ -адренорецептора, ТхА2-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора и десенситизация аденозинового А2А-рецептора. Поскольку  $\alpha_2$ -адренорецептор сопряжен с Gi-белком, ТхА2-рецептор – с Gq-G<sub>13</sub> белками, а P2X<sub>1</sub>-рецептор открывает управляемый АТФ катионного канал, то можно ожидать существенное повышение содержания внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> с целью усиления сокращения ГМК. При НЭК активность  $\alpha_2$ -адренорецептора была больше на 9,9% (p<0,001), ТР-рецептора – на 8,7% (p<0,001), P2X<sub>1</sub>-рецептора на 11,6% (p<0,001), ФАТ-рецептора – на 33,1% (p<0,001), АТ<sub>1</sub>-рецептора – на 30,8% (p<0,001), чем таковая при ЭЭК, что может проявляться гипертонусом мышечной оболочки при нарушении элиминации конкрементов. В этом контексте критическое значение имеют механизмы релаксации гладкой мышечной ткани МВП; ключевую роль в этом процессе играет сигнализация связанная с активацией аденозинового А2А-рецептора. Данный тип рецептора передает сигнализацию через стимулирующий G-белок (Gs-), что приводит к активации аденилатциклазы и повышению уровня цАМФ, следствием чего может быть снижение внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> и разобщение актиновых и миозиновых филаментов, т.е. достигается расслабление ГМК. При НЭК активность А2А-рецептора была на 22,4% (p<0,001) меньше, чем при ЭЭК, хотя в обоих случаях имела место гипореактивность рецептора. Таким образом, (а) при наличии конкрементов мелких и средних размеров в верхней трети мочеточника имеет место дискоординация компенсаторных механизмов моторики мочеточника, которая проявляется усилением фазы сокращения и ограничением фазы расслабления ГМК; (б) наиболее информативными индикаторами регуляции сократительной активности мышечной оболочки мочеточника являлась активность  $\alpha_2$ -адренорецептора, ТР-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, тогда как релаксация ГМК связана с активностью А2А-рецептора.

## 5.2. Анализ *in vitro* активности рецепторов, регулирующих моторику МВП через 24-72ч ЛКТ.

*Гипотеза.* При ЭЭК в течение 5 суток происходит перемещение конкрементов из верхней в среднюю-нижнюю трети мочеточника; это возможно при достижении оптимальной внутриклеточной сигнализации, обеспечивающей синхронизацию процессов сокращения и расслабления ГМК. И противоположная ситуация – при НЭК в течение 10 суток конкремент не перемещается из верхней трети мочеточника, что может быть следствием гипертонуса мышечной оболочки и/или недостаточной релаксации ГМК. Поскольку оба процесса зависят от уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$ , то при стандартной ЛКТ у пациентов с ЭЭК и НЭК должны проявляться различия сигнализации путей, обеспечивающих транспорт ионов  $Ca^{2+}$ .

*Исследовательский вопрос* – как изменяется в динамике регуляция компенсаторных реакций ГМК при эффективной и не эффективной ЛКТ? Через 24ч после начала ЛКТ при ЭЭК активность  $P2X_1$ -рецептора была на 4,1% ( $P=0,028$ ),  $\alpha_2$ -адренорецептора на 19,6% ( $P<0,001$ ) и TP-рецептора на 18,7% ( $P<0,001$ ) меньше, чем при НЭК (Таблица 5.3). Обращает на себя внимание снижение до физиологического уровня активности  $\alpha_2$ -адренорецептора и  $P2X_1$ -рецептора (нормореактивность) при ЭЭК, тогда как при НЭК сохранялась гиперреактивность данных рецепторов. В тоже время активность аденозинового  $A2A$ -рецептора в обеих группах сохранялась в диапазоне гипореактивности, хотя при ЭЭК была на 33,2% ( $P<0,001$ ) больше, чем при НЭК. Следовательно, уже через 24ч после начала ЛКТ в группе пациентов с эффективной элиминацией проявлялось нивелирование регуляции компенсаторных реакций мышечной оболочки мочеточника (МОМ), направленных на усиление сократительной активности ГМК ( $\alpha_2$ -адренорецептор и  $P2X_1$ -рецептор). На этом фоне сохраняющаяся низкая релаксация МОМ (десенситизация  $A2A$ -рецептора) может трактоваться как опосредованный механизм дилатации просвета мочеточника при наличии конкрементов средних размеров.

Таблица 5.3.

**Кластер активности рецепторов тромбоцитов через 24ч ЛКТ при  
локализации конкрементов в верхней трети мочеточника.**

Вид рецептора	Среднее значение активности рецептора (%), $\bar{X} \pm SD$	Min –Max	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
Эффективная ЛКТ				
P2X <sub>1</sub> -рецептор	59,2±0,8	49,0-70,0	57,5	60,8
α <sub>2</sub> -адрено-рецептор	52,9±1,4***	38,0-68,0	50,0	55,8
TP-рецептор	51,3±1,2***	40,0-63,0	48,9	53,8
A2A-рецептор	40,5±1,0***	32,0-53,0	38,4	42,6
Не эффективная ЛКТ				
P2X <sub>1</sub> -рецептор	61,7±0,7 P=0.028	57,0-68,0	60,1	63,2
α <sub>2</sub> -адрено-рецептор	65,8±0,8*** P<0,001	61,0-73,0	64,0	67,5
TP-рецептор	63,1±0,7 P<0,001	59,0-71,0	61,5	64,6
A2A-рецептор	30,4±0,5*** P<0,001	27,0-34,0	29,5	31,4

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности P2X<sub>1</sub>-рецептора. P – достоверность различий активности рецептора при неэффективной ЛКТ на уровне: p<0,001 по сравнению со значениями при эффективной ЛКТ.

При ЭЭК анализ множественной корреляции выявил положительную связь между активностью α<sub>2</sub>-адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора (соответственно,  $r_{\alpha_2AP-P2X} = 0,530$ , p<0,05 и  $r_{\alpha_2AP-TP} = 0,601$ , p<0,05); имела место связь между активностью P2X<sub>1</sub>-рецептора и TP-рецептора ( $r_{P2X-TP} = 0,358$ ; p<0,05). При НЭК присутствовала аналогичная связь между активностью α<sub>2</sub>-адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора (соответственно,  $r_{\alpha_2AP-P2X} = 0,576$ , p<0,05 и  $r_{\alpha_2AP-TP} = 0,634$ , p<0,05); однако усиливалась связь между активностью P2X<sub>1</sub>-рецептора и TP-рецептора ( $r_{P2X-TP} = 0,529$ ; p<0,05). В чем смысл сформировавшихся причинно-следственных

связей между активностью рецепторов, контролирующих сократительную активность ГМК? Гипотеза- взаимодействие рецепторов, усиливающих сократительную активность ГМК подтверждает участие разных механизмов повышения уровня  $Ca^{2+}$  (например,  $\alpha_2$ -адренорецептор сопряжен с Gi-белком; P2X<sub>1</sub>-рецептор открывает  $Ca^{2+}$ -канал, тогда как TP-рецептор запускает сигнализацию посредством G<sub>13</sub>- и Gq-белков), при этом может достигаться усиление сократительной активности МОМ, направленное на элиминацию конкремента. Остается вопрос – почему не происходит перемещение конкремента при НЭК, несмотря на более высокую активность  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, TxA<sub>2</sub>-рецептора? Во-первых, усиления сократительной активности ГМК недостаточно для траффика конкрементов размер которых превышает диаметр мочеточника; более того имеется риск контрактуры ММО. Во-вторых, при отсутствии эффективных механизмов снижения внутриклеточного содержания ионов  $Ca^{2+}$  в фазе расслабления может развиваться повышения тонуса стенки МВП (гипертонус). Такое состояние стенки мочеточника делает невозможным перемещение конкремента посредством гидродинамического механизма, для которого релаксация ММО является необходимым условием.

Через 48ч после начала ЛКТ при ЭЭК активность изученных рецепторов соответствовала уровню нормореактивности, тогда как при НЭК сохранялась гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора и TxA<sub>2</sub>-рецептора, а также гипореактивность аденозинового A<sub>2A</sub>-рецептора (Таблица 5.4). Регуляция моторики МОМ при НЭК характеризовалась усилением сигнализации, связанной с  $\alpha_2$ -адренорецептором, TxA<sub>2</sub>-рецептором и P2X<sub>1</sub>-рецептором, активность которых превышала таковые при ЭЭК, соответственно, на 53,3%, 37,1% и 13,4% (P<0,001).

Таблица 5.4.

**Кластер активности рецепторов тромбоцитов через 48ч ЛКТ  
при локализации конкрементов в верхней трети мочеточника.**

Вид рецептора	Среднее значение активности рецептора (%), $\bar{X} \pm SD$	Min –Max	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
<b>Эффективная ЛКТ</b>				
P2X <sub>1</sub> -рецептор	52,1±1,1	42,0-63,0	49,9	54,3
TP-рецептор	48,7±1,5	36,0-63,0	45,6	51,8
A2A-рецептор	45,1±0,9***	37,0-55,0	43,2	47,0
α <sub>2</sub> -адрено-рецептор	42,4±1,3***	32,0-57,0	39,8	45,0
<b>Не эффективная ЛКТ</b>				
P2X <sub>1</sub> -рецептор	59,1±1,0 P<0,001	55,0-69,0	57,1	61,2
TP-рецептор	61,9±0,6 P<0,001	56,0-67,0	60,6	63,3
A2A-рецептор	37,5±0,8*** P<0,001	32,0-44,0	35,9	39,2
α <sub>2</sub> -адрено-рецептор	65,0±0,9*** P<0,001	59,0-73,0	63,2	66,9

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности P2X<sub>1</sub>-рецептора. P – достоверность различий активности рецептора при неэффективной ЛКТ на уровне: p<0,001 по сравнению со значениями при эффективной ЛКТ.

При ЭЭК по сравнению с предыдущим сроком наблюдения, активность P2X<sub>1</sub>-рецептора и α<sub>2</sub>-адренорецептора снижалась на 12,0% и 19,9% (P<0,001); активность TxA<sub>2</sub>-рецептора не изменялась. При НЭК активность указанных рецепторов не претерпевала значимых изменений. Активность A2A рецептора повышалась при ЭЭК на 11,3% (P=0,002) и НЭК на 23,3% (P<0,001) по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. Следовательно, при ЭЭК наблюдается оптимизация сигнализации, связанной с противоположными процессами транспорта ионов Ca<sup>2+</sup>, что, вероятно, направлено на синхронизацию фаз сокращения и расслабления MOM. При НЭК также

усиливается сигнализация, связанная с компенсаторным усилением релаксации ГМК (стимуляция A2A-рецептора), однако сохраняется сигнализация, обеспечивающая усиление сократительной функции ГМК. Следствием этих нарушения может быть дискоординация моторики ММО.

При ЭЭК сохранялась связь между активностью  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора (соответственно,  $r_{\alpha_2AP-P2X} = 0,649$ ,  $p < 0,05$ ); уменьшалась взаимосвязь между активностью  $\alpha_2$ -адренорецептора и TP-рецептора ( $r_{\alpha_2AP-TxA_2} = 0,406$ ,  $p < 0,05$ ) и сохранялась связь между активностью P2X<sub>1</sub>-рецептора и TP-рецептора ( $r_{P2X-TxA_2} = 0,314$ ;  $p < 0,05$ ). Появилась отрицательная корреляционная связь между активностью A2A-рецептора и  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора (соответственно,  $r_{A2A-\alpha_2AP} = -0,574$ ,  $p < 0,05$  и  $r_{A2A-P2X} = -0,537$ ,  $p < 0,05$ ); что объясняет причину десенситизации рецепторов контролирующей сократительную активность ГМК. При НЭК сохранялась связь между активностью  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора (соответственно,  $r_{\alpha_2AP-P2X} = 0,644$ ,  $p < 0,05$  и  $r_{\alpha_2AP-TP} = 0,610$ ,  $p < 0,05$ ), а также между активностью P2X<sub>1</sub>-рецептора и TP-рецептора ( $r_{P2X-TxA_2} = 0,547$ ;  $p < 0,05$ ). Выявлена отрицательная корреляционная связь между активностью A2A-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора ( $r_{A2A-P2X} = -0,322$ ,  $p < 0,05$ ); отсутствовала связь между активностью A2A-рецептора и  $\alpha_2$ -адренорецептора. При сохранении активности P2X<sub>1</sub>-рецептора появление связи между сигнализацией A2A-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора может отражать интенсификацию метаболизма пуринов для усиления продукции аденозина.

Через 72ч после начала ЛКТ при ЭЭК активность пуриновых A2A-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора соответствовала уровню нормореактивности,  $\alpha_2$ -адренорецептора и TxA<sub>2</sub>-рецептора – гипореактивности (Таблица 5.5). При НЭК в этот срок наблюдения сохранялась гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора и TxA<sub>2</sub>-рецептора, а также гипореактивность аденозинового A2A-рецептора.

Таблица 5.5

**Кластер активности рецепторов тромбоцитов через 72ч ЛКТ.  
при локализации конкрементов в верхней трети мочеточника.**

Вид рецептора	Среднее значение активности рецептора (%), $\bar{X} \pm SD$	Min –Max	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
<b>Эффективная ЛКТ</b>				
A2A-рецептор	50,1±2,1	35,0-68,0	45,9	54,3
P2X <sub>1</sub> -рецептор	48,9±2,2	29,0-66,0	44,4	53,5
α <sub>2</sub> -адрено-рецептор	43,4±0,6**	37,0-49,0	42,2	44,6
TR-рецептор	42,0±1,8**	22,0-55,0	38,3	45,7
<b>Не эффективная ЛКТ</b>				
A2A-рецептор	37,7±0,8 P<0,001	32,0-44,0	36,0	39,3
P2X <sub>1</sub> -рецептор	65,8±0,9*** P<0,001	59,0-71,0	63,8	67,7
α <sub>2</sub> -адрено-рецептор	61,8±0,7*** P<0,001	57,0-68,0	60,3	63,2
TR-рецептор	59,7±0,5*** P<0,001	57,0-65,0	58,6	60,7

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности A2A-рецептора. P– достоверность различий активности рецептора при неэффективной ЛКТ на уровне: p<0,001 по сравнению со значениями при эффективной ЛКТ.

При ЭЭК активность P2X<sub>1</sub>-рецептора, α<sub>2</sub>-адренорецептора и TxA<sub>2</sub>-рецептора статистически значимо не отличалась от таковой через 48ч ЛКТ. При НЭК по сравнению с предыдущим сроком наблюдения активность P2X<sub>1</sub>-рецептора возросла на 11,3% (P<0,001), α<sub>2</sub>-адренорецептора снизилась на 4,9% (P=0,002, TR-рецептора не изменялась. Активность A2A рецептора повышалась при ЭЭК на 11,1% (P<0,001) и не изменилась при НЭК по сравнению с предыдущим сроком наблюдения.

Следовательно, эффективная элиминация осуществлялась на фоне синхронизации фаз сокращения и расслабления ГМК, поскольку восстанавливалась физиологическая активность соответствующих рецепторов, контролирующих транспорт ионов  $\text{Ca}^{2+}$ . Нарушение такой синхронизации при НЭК являлось одной из причин нарушения транспорта конкрементов в верхней трети мочеточника. При ЭЭК сохранялась отрицательная корреляционная связь между активностью A2A-рецептора и  $\alpha_2$ -адренорецептора ( $r_{\alpha_2\text{AP-P2X}} = -0,669$ ,  $p < 0,05$ ) и P2X<sub>1</sub>-рецептора ( $r_{\text{A2A-P2X}} = -0,480$ ,  $p < 0,05$ ). При НЭК сохранялась связь между активностью  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора (соответственно,  $r_{\alpha_2\text{AP-P2X}} = 0,640$ ,  $p < 0,05$  и  $r_{\alpha_2\text{AP-TP}} = 0,533$ ,  $p < 0,05$ ), а также между активностью P2X<sub>1</sub>-рецептора и TP-рецептора ( $r_{\text{P2X-TP2}} = 0,600$ ;  $p < 0,05$ ). Отсутствовала связь между активностью A2A-рецептора и  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора. Следствием такой дисрегуляции путей сигнализации обеспечивающей транспорт ионов  $\text{Ca}^{2+}$  может быть нарушение моторики MOM.

### **5.3. Анализ *in vitro* активности рецепторов, регулирующих моторику МВП через 5-10 суток ЛКТ.**

Через 5 суток после начала ЛКТ при ЭЭК активность A2A-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора и TxA<sub>2</sub>-рецептора соответствовала уровню нормореактивности,  $\alpha_2$ -адренорецептора – гипореактивности (Таблица 5.6). При НЭК в этот же срок наблюдения сохранялась гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора и TxA<sub>2</sub>-рецептора, а также гипореактивность аденозинового A2A-рецептора. В группе с ЭЭК перемещение конкремента происходило на фоне снижения активности  $\alpha_2$ -адренорецептора (на 14,8%;  $P < 0,001$ ), повышения активности TxA<sub>2</sub>-рецептора (на 18,3%;  $P < 0,001$ ) и сохранения активности P2X<sub>1</sub>-рецептора по сравнению с предыдущим сроком наблюдения.

Таблица 5.6.

**Кластер активности рецепторов тромбоцитов через 5 суток ЛКТ.  
при локализации конкрементов в верхней трети мочеточника.**

Вид рецептора	Среднее значение активности рецептора (%), $\bar{X} \pm SD$	Min –Max	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
<b>Эффективная ЛКТ</b>				
ТР-рецептор	49,7±0,8	44,0-55,0	48,0	51,4
P2X <sub>1</sub> -рецептор	49,2±0,7	43,0-54,0	47,8	50,7
A2A-рецептор	45,2±0,7*	40,0-51,0	43,7	46,7
α <sub>2</sub> -адрено-рецептор	37,0±0,8***	31,0-42,0	35,3	38,7
<b>Не эффективная ЛКТ</b>				
ТР-рецептор	58,2±0,6 P<0,001	55,0-64,0	57,0	59,4
P2X <sub>1</sub> -рецептор	62,5±0,9*** P<0,001	56,0-68,0	60,6	64,4
A2A-рецептор	40,7±0,8*** P<0,001	35,0-46,0	39,1	42,3
α <sub>2</sub> -адрено-рецептор	58,8±0,7 P<0,001	54,0-65,0	57,4	60,2

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности ТР-рецептора. P– достоверность различий активности рецептора при неэффективной ЛКТ на уровне: p<0,001 по сравнению со значениями при эффективной ЛКТ.

При НЭК по сравнению со сроком наблюдения 72ч ЛКТ активность P2X<sub>1</sub>-рецептора и α<sub>2</sub>-адренорецептора снизилась на 5,0% (P=0,016), ТхA2-рецептора не изменилась. Активность A2A рецептора уменьшилась при ЭЭК на 9,8% (P<0,001), однако оставалась на уровне нижней границы нормореактивности, при НЭК активность рецептора возросла на 8,0% (P=0,009) по сравнению с предыдущим сроком наблюдения.

Таким образом, через 5 суток ЛКТ механизмы регуляции компенсаторных реакций ГМК при ЭЭК характеризовались (а) сохранением пуринергической сигнализации (P2X<sub>1</sub>-рецептор), что позволяет рассматривать

стимуляцию данного рецептора как стереотипный механизм усиления сократительной активности ГМК; (б) включением аддитивных механизмов способных модулировать сократительную активность ГМК, которые представлены  $\alpha_2$ -адренорецептором и TR-рецептором. Пути сигнализации данных рецепторов, вероятно, могут поддерживать баланс транспортных процессов повышения внутриклеточного  $Ca^{2+}$ ; (в) вариабельностью (пластичностью) аденозинергической сигнализации (A2A-рецептор), обеспечивающей необходимый уровень релаксации ГМК в зависимости от активности рецепторов, увеличивающих сократительную активность ГМК. По сути, A2A-рецептор представляет собой элемент функциональной обратной связи, поддерживающий оптимальный пул  $Ca^{2+}$ , необходимый для синхронизации фаз сокращения и расслабления, том числе путем десенситизации  $\alpha_2$ -адренорецептора, но не P2X<sub>1</sub>-рецептора.

При НЭК через 5 суток ЛКТ нарушение моторики MOM обусловлено нарушением взаимодействия механизмов, регулирующих фазу «сокращение-расслабление» ГМК. При этом (а) гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора и TR-рецептора является стереотипным механизмом патогенеза дисфункции MOM, следствием чего, вероятно, является критическое повышение цитоплазматического уровня  $Ca^{2+}$  и силы сокращения ГМК. При чрезмерной стимуляции данных рецепторов вариабельность активности не оказывает существенного влияния на тонус ГМК, который остается фактором, лимитирующим движение конкремента в просвете мочеточника; (в) гипореактивность A2A-рецептора также является стереотипным механизмом нарушения моторики мочеточника, связанным с неэффективным удалением избытка ионов  $Ca^{2+}$  из цитоплазмы ГМК, следствием чего может быть гипертонус MOM.

При ЭЭК обнаружена отрицательная корреляционная связь между активностью  $\alpha_2$ -адренорецептора и A2A-рецептора ( $r_{\alpha_2AP-A2A} = -0,407$ ,  $p < 0,05$ ), TxA<sub>2</sub>-рецептора ( $r_{\alpha_2AP-TxA_2} = -0,539$ ,  $p < 0,05$ ). По сравнению с предыдущим сроком наблюдения, сохраняющаяся физиологическая стимуляция A2A-

рецептора обеспечивала десенситизацию  $\alpha_2$ -адренорецептора, что, в свою очередь, активировало сигнализацию TR-рецептора, усиливающего поступление ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и необходимого для поддержания сократительной активности МОМ. Данный каскад взаимодействия рецепторов подтверждает наличие механизмов, поддерживающих синхронизацию процессов сокращения и расслабления ГМК, что является необходимым условием для транспорта конкрементов размерами  $\geq 7$  мм в верхней трети мочеточника. При НЭК сохранялась связь между активностью  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, хотя и снижалась сила такого взаимодействия ( $r_{\alpha_2\text{AP-P2X}} = 0,451$ ,  $p < 0,05$ ). Появлялась отрицательная связь между активностью A2A-рецептора и  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора ( $r_{\alpha_2\text{AP-A2A}} = -0,344$ ,  $p < 0,05$ ;  $r_{\alpha_2\text{AP-P2X}} = -0,319$ ,  $p < 0,05$ ). Учитывая, что в этот срок наблюдения у данного контингента больных не наблюдалось перемещения конкрементов размерами  $\geq 7$  мм, можно предположить, что: (а) имеет место синергизм при стимуляции  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, следствием чего является критическое повышение уровня  $\text{Ca}^{2+}$  в ГМК и их контрактура; (б) возможности аденозинергической сигнализации являются недостаточными для нивелирования усиливающегося влияния стимуляции P2X<sub>1</sub>-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора и TR-рецептора. Следствием такой дисрегуляции путей сигнализации может быть избыток ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в ГМК и нарушение моторики МОМ.

Через 7 суток после начала ЛКТ завершалось перемещение конкрементов из пиело-уретерального сегмента в среднюю-нижнюю треть мочеточника. При этом активность A2A-рецептора соответствовала уровню гиперреактивности, а P2X<sub>1</sub>-рецептора, TR-рецептора и  $\alpha_2$ -адренорецептора – гипореактивности (Таблица 5.7). У пациентов с НЭК сохранялась гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора и GxA2-рецептора, а также гипореактивность аденозинового A2A-рецептора.

Таблица 5.7.

**Кластер активности рецепторов тромбоцитов через 7 суток ЛКТ  
при локализации конкрементов в верхней трети мочеточника.**

Вид рецептора	Среднее значение активности рецептора (%), $\bar{X} \pm SD$	Min –Max	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
<b>Эффективная ЛКТ</b>				
A2A-рецептор	58,2±0,7	53,0-64,0	56,7	59,7
P2X <sub>1</sub> -рецептор	40,3±0,8*** P<0,001	35,0-46,0	38,7	42,0
TP-рецептор	38,1±0,8*** P<0,05	31,0-42,0	36,5	39,7
α <sub>2</sub> -адрено-рецептор	34,7±0,7*** P<0,01	29,0-39,0	33,2	36,3
<b>Не эффективная ЛКТ</b>				
A2A-рецептор	40,1±0,7 P<0,001	35,0-46,0	38,5	41,6
P2X <sub>1</sub> -рецептор	62,7±0,9*** P<0,001	56,0-69,0	60,7	64,6
TP-рецептор	60,9±0,6***	57,0-67,0	59,2	62,1
α <sub>2</sub> -адрено-рецептор	66,1±0,8*** P<0,001	60,0-72,0	64,5	67,8

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности A2A-рецептора. P– достоверность различий активности рецептора при неэффективной ЛКТ на уровне: p<0,001 по сравнению со значениями при эффективной ЛКТ.

В группе пациентов с ЭЭК установлено повышение активности A2A-рецептора на 28,8% (P<0,001), а также снижение активности TP-рецептора на 23,4% (P<0,001), P2X<sub>1</sub>-рецептора –на 18,1% (P<0,001) и α<sub>2</sub>-адренорецептора – на 6,2% (P<0,05) по сравнению со сроком наблюдения 5 суток ЛКТ. Следовательно, через 7 суток ЛКТ завершение перемещения конкрементов из верхней трети мочеточника происходило на фоне двух процессов – усиления релаксации (A2A-рецептор) и снижения сократительной активности МОМ (P2X<sub>1</sub>-рецептор, TxA<sub>2</sub>-рецептор и α<sub>2</sub>-адренорецептор). В сущности,

происходит десенситизация рецепторов, способных повышать сократительную активность ГМК, путем усиления аденозинергической сигнализации. Данный феномен является определяющим для элиминации конкремента и воспроизводится путем постепенного усиления продукции аденозина. Следствием чего может быть переход от гипо- до гиперреактивности A2A-рецептора. Анализ множественной корреляции позволил выявить: (а) отрицательную корреляционную связь между активностью A2A-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, α<sub>2</sub>-адренорецептора ( $r_{A2A-P2X} = -0,504$ ,  $p < 0,05$ ), TP-рецептора ( $r_{A2A-TP} = -0,610$ ,  $p < 0,05$ ). По сравнению с предыдущим сроком наблюдения произошло усиление продукции аденозина, в результате чего возникла гиперреактивность A2A-рецептора. При этом достигалась максимальная эффективность адаптационной реакции при которой возникала десенситизация не только α<sub>2</sub>-адренорецептора, но и P2X<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора. По сути, устанавливался контроль за механизмами сигнализации, обеспечивающими повышение уровня внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>; (б) положительную корреляцию между активностью P2X<sub>1</sub>-рецептора и TP-рецептора ( $r_{\alpha_2AP-TP} = 0,442$ ,  $p < 0,05$ ). При наличии гипореактивности данных рецепторов, появление такой корреляции отражает возможность взаимодействие двух путей сигнализации, связанных с АТФ-зависимым катионным каналом (P2X<sub>1</sub>-рецептор) и белками Gq- G<sub>13</sub> (TP-рецептор), которые пересекаются на участке SFK-ФИ-3K. Данный факт может трактоваться как механизм стабилизирующий содержание внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> на оптимальной уровне, позволяющем ГМК перемещать конкременты размерами ≥7 мм в верхней трети мочеточника. При НЭК, по сравнению предыдущим сроком наблюдения, активность A2A-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора не изменилась, тогда как активность α<sub>2</sub>-адренорецептора даже увеличилась на 12,4% ( $P < 0,001$ ) и TP-рецептора – на 4,6% ( $P = 0,003$ ). Следовательно, через 7 суток ЛКТ неэффективная моторика МВП, по-прежнему, связана с гиперреактивностью P2X<sub>1</sub>-рецептора, α<sub>2</sub>-адренорецептора, TP-рецептора и гипореактивностью аденозинового A2A-

рецептора. Через 10 суток ЛКТ у пациентов данной группы сохранялась гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора и TR-рецептора, однако, восстанавливалась нормореактивность пуриновых P2X<sub>1</sub>-рецептора и A2A-рецептора (Таблица 5.8).

Таблица 5.8.

**Кластер активности рецепторов Tц через 10 суток не эффективной ЛКТ при локализации конкрементов в верхней трети мочеточника.**

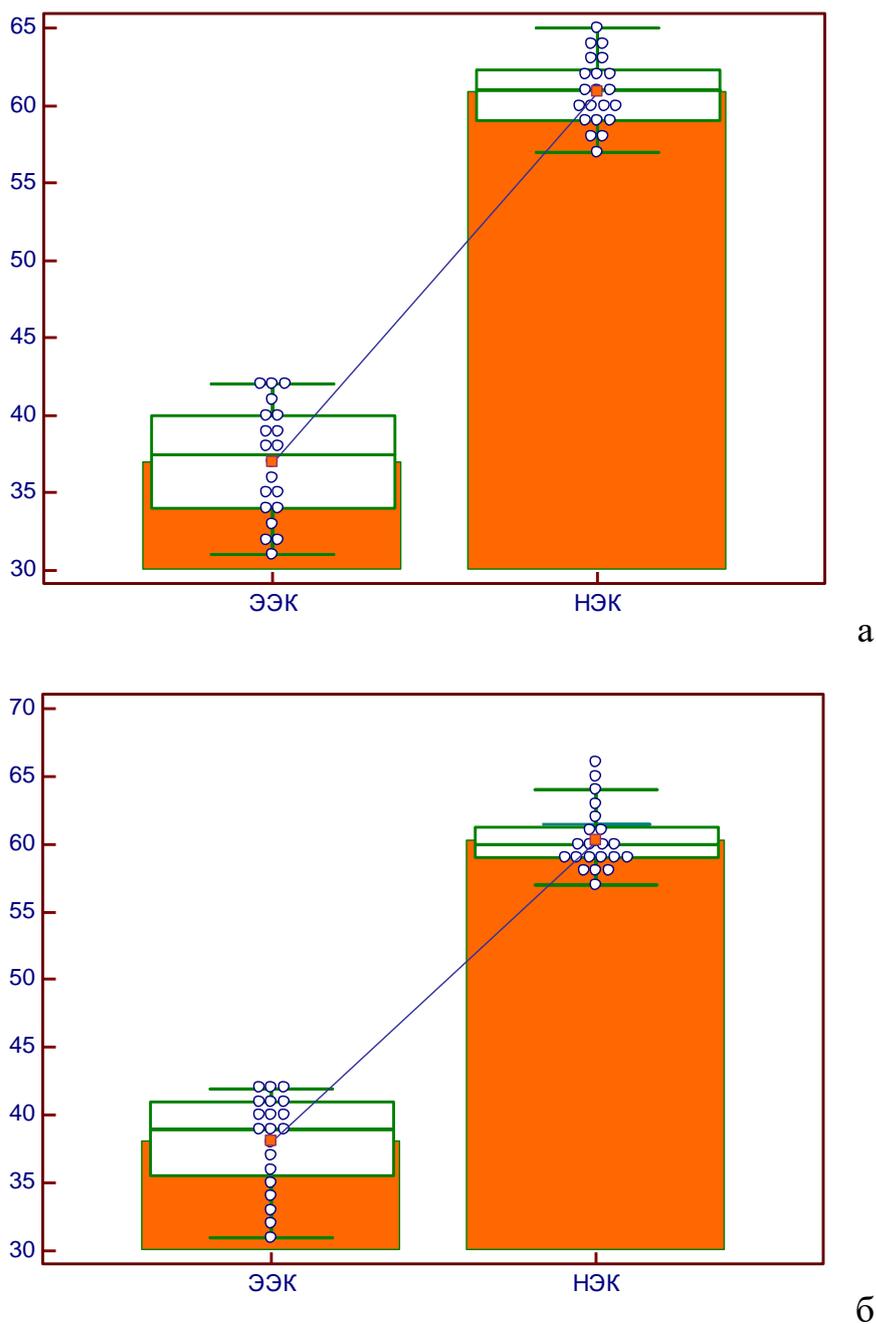
Вид рецептора	Среднее значение активности рецептора (%), $\bar{X} \pm SD$	Min –Max	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
10 суток				
$\alpha_2$ -адренорецептор	60,9±0,5 P<0,001	57,0-65,0	59,9	61,8
P2X <sub>1</sub> -рецептор	52,9±1,8 P<0,001	41,0-64,0	49,1	56,6
TR-рецептор	60,3±0,5 P<0,001	57,0-66,0	59,2	61,4
A2A-рецептор	44,3±1,4 P<0,001	35,0-53,0	41,4	47,2

Примечание. P– достоверность различий активности рецептора относительно таковой предшествующего рецептора

Тем не менее, не наблюдалось ни одного случая перемещения конкрементов в среднюю или нижнюю треть мочеточника. Активность  $\alpha_2$ -адренорецептора снизилась на 7,9% (P<0,001), P2X<sub>1</sub>-рецептора – на 15,6% (P<0,001), A2A- рецептора –повысилась на 10,5% (P=0,012) и TR-рецептора не изменилась. Следовательно, через 10 суток ЛКТ нарушение моторики МВП характеризовалось усилением релаксации (A2A-рецептор) и снижением сократительной активности MOM (P2X<sub>1</sub>-рецептор и  $\alpha_2$ -адренорецептор).

Понимание причин НЭК приходит при сопоставлении значений активности исследованных рецепторов с таковыми при ЭЭК, состоявшейся через 5 суток ЛКТ. Оказалось, что в процессе ЛКТ при НЭК метаболизм пуринов интенсифицировался и активность P2X<sub>1</sub>-рецептора, A2A-рецептора была сопоставимой с таковой при ЭЭК. Однако, активность  $\alpha_2$ -адренорецептора и TP-рецептора была выше, соответственно, на 64,6% и 21,3% ( $P < 0,001$ ), чем при ЭЭК (Рисунок. 5.1). В сущности, при НЭК включается аденозинергическая сигнализация, обеспечивающая снижение внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>; иное дело, что эффективность данной адаптационной реакции оказывается недостаточной, чтобы ограничить избыточную контрактильность ГМК. Последняя может быть обусловлена активацией САС вследствие недостаточного анальгетического эффекта НПВП при механическом раздражении слизистой оболочки МВП; косвенным подтверждением этой гипотезы может быть высокая активность фермента ЦОГ обеспечивающего синтез ТхА<sub>2</sub>.

Анализ множественной корреляции позволил выявить: (а) положительную корреляцию между активностью  $\alpha_2$ -адренорецептора и TP-рецептора ( $r_{\alpha_2AP-TP} = 0,556$ ,  $p < 0,05$ ); при гиперреактивности этих рецепторов наличие положительной корреляции отражает возможность ко-активации двух путей сигнализации, связанных с Gi-белком ( $\alpha_2$ -адренорецептора) и белками Gq- G<sub>13</sub> (TP-рецептор), следствием чего может быть критическое повышение уровня внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> и развитие контрактуры МОМ; (б) отрицательную связь между активностью  $\alpha_2$ -адренорецептора и A2A-рецептора ( $r_{TxA_2-A2A} = -0,333$ ,  $p < 0,05$ ), что может быть следствием конкуренции сигнальных путей, связанных с Gi-белком ( $\alpha_2$ -адренорецептор) и Gs-белком (A2A-рецептор) [40].



**Рис. 5.1. Реактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора (а) и TR-рецептора (б) Тц при ЭЭК (5 суток) и НЭК (10 суток) на фоне стандартной ЛКТ при локализации конкрементов в верхней трети мочеточника.**

По оси ординат – индуцированная агрегация Тц (%); по оси абсцисс – эффективность ЛКТ.

#### **5.4. Трансформация и взаимодействие путей сигнализации $\alpha_2$ -адренорецептора, $P2X_1$ -рецептора и TR-рецептора, регулирующих сократимость мышечной оболочки мочеточника при эффективной и неэффективной ЛКТ.**

Необходимость дополнительного анализа внутриклеточной сигнализации при НЭК продиктована желанием выяснить сроки и степень изменения сигнализации при стандартной ЛКТ, что позволит установить причины дисфункции мочеточника, критические интервалы времени и резистентные к фармакологической коррекции пути сигнализации. В перспективе знание таргетных рецепторов и фармакокинетики будут способствовать коррекции состава ЛКТ при отсутствии перемещения конкрементов в верхней трети мочеточника [12]. Исследование активности  $\alpha_2$ -адренорецептора показало, что при наличии конкрементов средних размеров в верхней трети мочеточника (до ЛКТ) имела место гиперреактивность в обеих группах (Таблица 5.9), что может рассматриваться как механизм регуляции спонтанной элиминации конкрементов, связанный с активацией САС при нефролитолизе. Через 24ч в 1-й группе активность рецептора снизилась на 17,0% ( $P < 0,001$ ) при этом устанавливалась его нормореактивность (физиологический уровень сигнализации) (Рисунок 5.2а). Во 2-й группе выявлено уменьшение активности  $\alpha_2$ -адренорецептора на 6,0% ( $P < 0,001$ ) сохранялась гиперреактивность рецептора (Рисунок 5.2б). Приведенная динамика активности рецептора может трактоваться как (а) успешная фармакологическая коррекция способная изменить внутриклеточную сигнализацию в клетках-мишенях; (б) наличие индивидуальной реактивности организма, проявляющейся более быстрым достижением лечебного эффекта в 1-группе, что может быть связано с особенностями фармакокинетики.

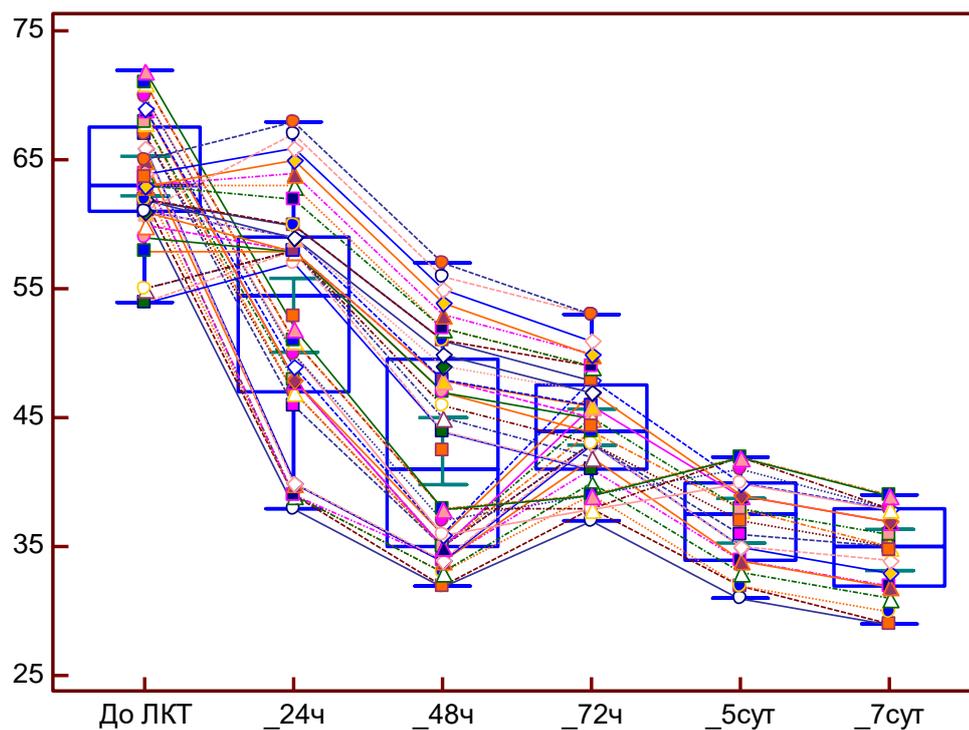
Таблица 5.9

**Кинетика активности  $\alpha_2$ -адренорецептора при стандартной ЛКТ конкрементов, расположенных в верхней трети мочеточника.**

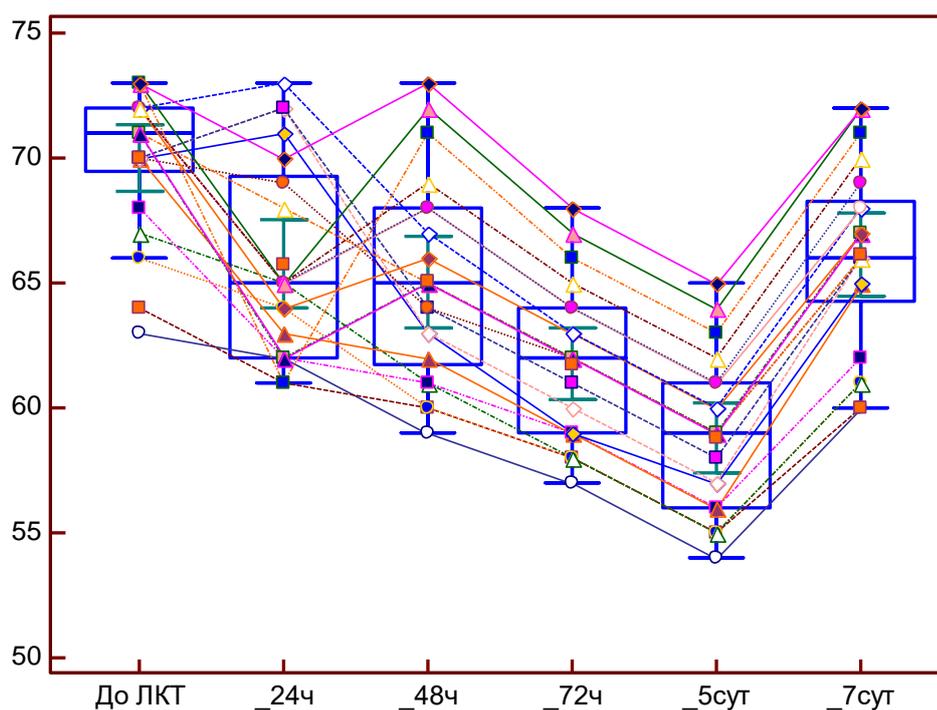
Срок наблюдения	Активность $\alpha_2$ -адренорецептора			
	1-я группа (n=40)		2-я группа (n=21)	
	$\bar{x} \pm m$	Min–Max	$\bar{x} \pm m$	Min–Max
До ЛКТ	63,7±0,7 (n=40)	55,0-71,0	70,0±0,6 P <sub>1-2</sub> <0,001	63,0-73,0
24 ч	52,9±1,4*** (n=40)	38,0-68,0	65,8±0,9*** P <sub>1-2</sub> <0,01	61,0,0-73,0
48 ч	43,8±1,3* (n=35)	34,0-57,0	65,0±0,9 P <sub>1-2</sub> <0,01	59,0-72,0
72 ч	44,0±0,8 (n=20)	38,0-49,0	61,8±0,7** P <sub>1-2</sub> <0,001	57,0-68,0
5 суток	37,0±0,8***	31,0-42,0	58,8±0,7**	54,0-65,0
7 суток	34,8±0,8*** (n=20)	29,0-40,0	66,1±0,8*** P <sub>1-2</sub> <0,001	60,0-72,0

Примечание: \* - достоверность различий показателя относительно предыдущего срока наблюдения на уровне  $p < 0,05$ ; \*\* - на уровне  $p < 0,01$ ; \*\*\* - на уровне  $p < 0,001$ . P<sub>1-2</sub> - достоверность различий показателя между 1-й и 2-й группой.

Через 48ч в 1-й группе активность  $\alpha_2$ -адренорецептора снизилась на 27,2% ( $p < 0,05$ ) и оставалась в диапазоне нормореактивности; во 2-й группе – активность рецептора не изменилась и соответствовала гиперреактивности. Межгрупповая разница активности рецептора составила 38,9% ( $p < 0,01$ ), что отражает лабильность адренергической сигнализации в клетках у пациентов 1-й группы и резистентность больных к ЛКТ во 2-й группе. Через 72ч в 1-й группе активность  $\alpha_2$ -адренорецептора не изменилась т.е. достигался стационарный уровень сигнализации. Во 2-й группе активность рецептора снизилась на 4,3% ( $p < 0,05$ ), т.е. эффект ЛКТ проявлялся только через 72ч, а его выраженность, судя по данным I и III квартилей, может варьировать.



а



б

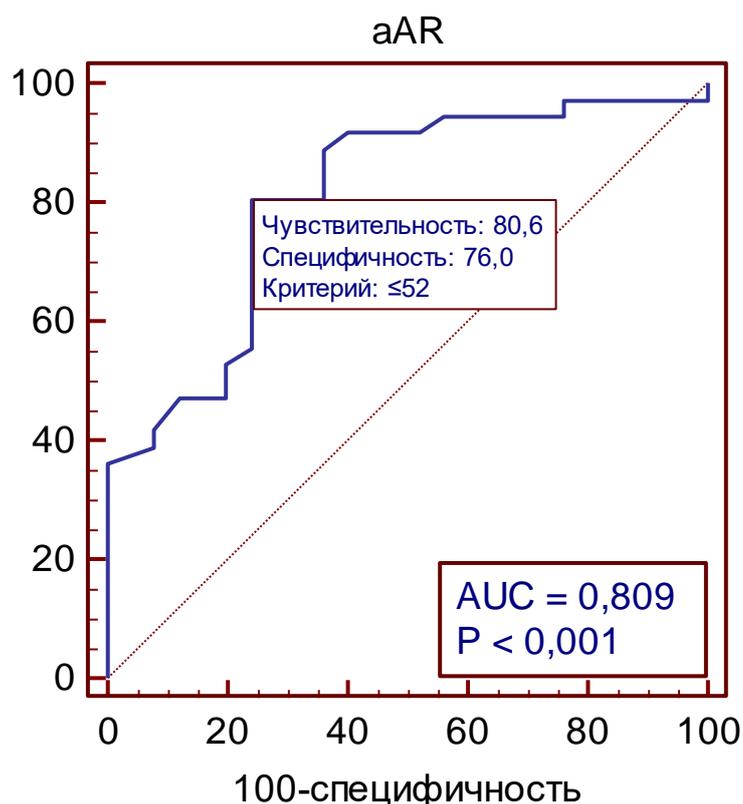
**Рис. 5.2. Динамика активности  $\alpha_2$ -адренорецептора в 1-й (а) и 2-й (б) группах при ЛКТ у пациентов с локализацией конкрементов средних размеров в верхней трети мочеточника.**

По оси ординат – значения адреналин-индуцированной агрегации Тц (%);) по оси абсцисс – срок наблюдения.

Через 5 суток активность  $\alpha_2$ -адренорецептора снизилась на 15,9% ( $p < 0,001$ ), во 2-й группе – на 4,9% ( $p < 0,01$ ). В последующем, в 1-й группе активность  $\alpha_2$ -адренорецептора уменьшилась на 20,1% ( $p < 0,001$ ) и соответствовала гипореактивности; во 2-й группе – увеличилась на 7,0% ( $p < 0,001$ ) и оставалась в диапазоне гиперреактивности. Межгрупповая разница активности рецептора составила 90,0% ( $p < 0,001$ ). Следовательно, (а) в 1-й группе к концу 7 суток достигалась торможение адренергической сигнализации, т.е. проявлялся неспецифический эффект ЛКТ, что могло способствовать снижению уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$ , (б) во 2-й группе усиливалась внутриклеточная сигнализация, связанная с  $\alpha_2$ -адренорецептором, которая не модулировалась при стандартной ЛКТ. Причины этого явления остаются не известными, однако данный срок наблюдения должен рассматриваться как критический для изменения состава ЛКТ, в течение которого может потребоваться специфическая коррекция адренергической сигнализации (например, путем стимуляции  $\beta_2$ -адренорецептора).

Однофакторный логистический анализ активности  $\alpha_2$ -адренорецептора в различные сроки после начала ЛТК, использованный для прогнозирования риска НЭК из верхней трети мочеточника, оказался наиболее информативным через 48ч наблюдения. При выборе оптимального порога принятия решения (по Youden Index) установлен критический порог активности  $\alpha_2$ -адренорецептора ( $\alpha_2AR$  -R crit) на уровне  $\leq 52\%$  (Рисунок 5.3). Значимость данного индикатора для оценки эффективности элиминации конкрементов из верхней трети мочеточника, вероятно, определяется степенью сокращения мышечной оболочки, что влияет на трафик средних конкрементов. Оказалось, что при значении показателя  $\alpha_2AR$ -crit  $> 52\%$  у пациента имела место НЭК из верхней трети мочеточника, а при значении показателя  $\alpha_2AR$ -crit  $\leq 52\%$  – эффективная элиминация конкрементов. Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста составляла 80,6% (95% ДИ 64,0%-91,8%) и специфичность – 76,0% (95% ДИ 54,9%-90,6%);

AUC= 0,809 (95% ДИ 0,689 –0,899). Поскольку значение активности  $\alpha 2$ -адренорецептора на уровне 52% соответствует нормореактивности, то логично предположить, что превышение данного значения показателя, связанное с активацией САС, будет провоцировать усиление сокращения ГМК и, как следствие, возможно нарушение графика средних конкрементов.



**Рис. 5.3. Кривые операционных характеристик (ROC) определения риска неэффективной элиминации конкрементов из верхней трети мочеточника по активности  $\alpha 2$ -адренорецептора (aAR) через 48ч ЛКТ.**

В обеих группах до ЛКТ имела место гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора (Таблица 5.10), что свидетельствует об участии пуринергической сигнализации в спонтанной элиминации конкрементов средних размеров. Триггерами повышения внеклеточного уровня АТФ может быть ишемия и альтерация тканей МВП при длительном пребывании конкрементов в просвете мочеточника.

Таблица 5.10

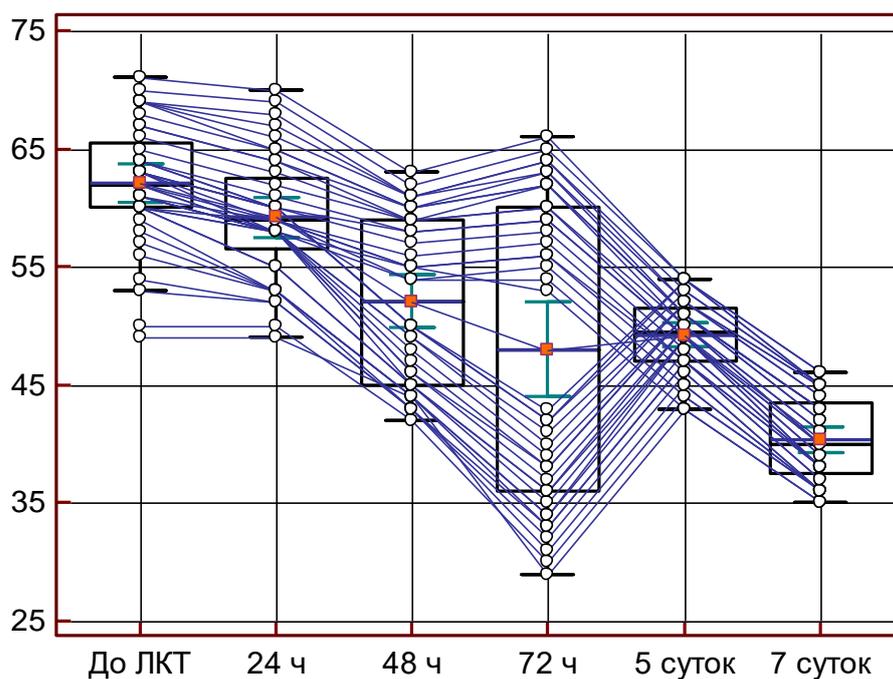
**Кинетика сигнализации P2X<sub>1</sub>-рецептора у пациентов при стандартной ЛКТ конкрементов, расположенных в верхней трети мочеточника.**

Срок наблюдения	Функциональная активность P2X <sub>1</sub> -рецептора			
	ЭЭК (n=40)		НЭК (n=21)	
	$\bar{x} \pm m$	Min–Max	$\bar{x} \pm m$	Min–Max
До ЛКТ	62,1±0,8 (n=40)	49,0-71,0	69,3±0,8 P <sub>1-2</sub> <0,001	63,0-76,0
24 ч	59,2±0,8* (n=40)	49,0-70,0	61,7±0,7*** P <sub>1-2</sub> =0,028	57,0-68,0
48 ч	53,4±1,1*** (n=35)	44,0-63,0	59,1±0,9* P <sub>1-2</sub> <0,001	55,0-69,0
72 ч	59,9±0,9*** (n=20)	53,0-66,0	65,8±0,9*** P<0,001	59,0-71,0
5 суток	56,9±0,8* (n=20)	50,0-62,0-	62,5±0,9* P <sub>1-2</sub> <0,001	53,0-65,0
7 суток	40,3±0,8*** (n=20)	35,0-46,0	62,7±0,9 P <sub>1-2</sub> <0,001	56,0-69,0

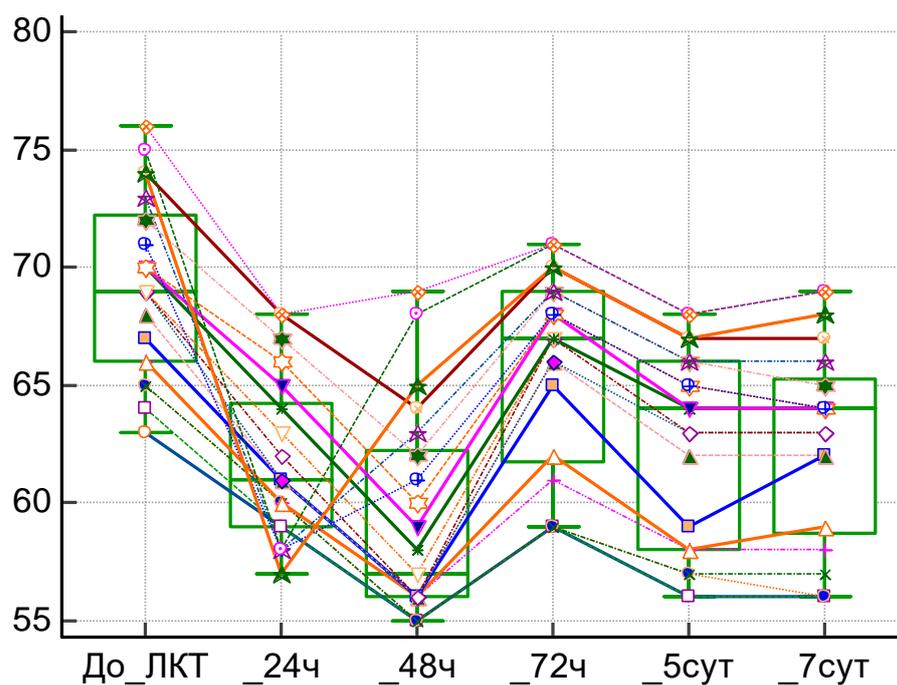
Примечание: \* - достоверность различий показателя относительно предыдущего срока наблюдения на уровне  $p < 0,05$ ; \*\* - на уровне  $p < 0,01$ ; \*\*\* - на уровне  $p < 0,001$ . P<sub>1-2</sub> - достоверность различий показателя между 1-й и 2-й группой.

Через 24ч в 1-й группе активность рецептора снизилась на 4,7% ( $p < 0,05$ ) и во 2-й группе – на 11,0% ( $p < 0,001$ ), при этом в обеих группах сохранялась гиперреактивность рецептора. Приведенная динамика активности рецептора может трактоваться как неспецифическое влияние ЛКТ на пуринергическую сигнализацию, вследствие восстановления микроциркуляции. Через 48ч в 1-й группе активность P2X<sub>1</sub>-рецептора снизилась на 9,8% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с предыдущим сроком наблюдения и достигала уровня нормореактивности; во

2-й группе – уменьшилась на 4,2% ( $p < 0,05$ ) и оставалась в диапазоне гиперреактивности. Межгрупповая разница активности P2X<sub>1</sub>-рецептора составила 10,7% ( $p < 0,01$ ). Умеренная скорость снижения активности рецептора за 48ч ЛКТ подтверждает влияние ЛКТ на микроциркуляцию в тканях МВП, следствием чего может быть уменьшение ишемии и снижение уровня внеклеточного АТФ. Через 72ч в 1-й группе активность P2X<sub>1</sub>-рецептора повысилась на 12,2% ( $p < 0,001$ ), во 2-й группе – на 11,3% ( $p < 0,001$ ); в обеих группах восстанавливалась гиперреактивность рецептора. Межгрупповая разница активности P2X<sub>1</sub>-рецептора составила 9,8% ( $p < 0,001$ ). Таким образом, в раннем периоде ЛКТ проявлялась фазность изменения активности P2X<sub>1</sub>-рецептора – снижение в течение 48ч и повышение через 72ч фармакологической коррекции моторики MOM. Через 5 суток активность P2X<sub>1</sub>-рецептора снизилась в обеих группах на 5,0% ( $p < 0,05$ ), при этом восстанавливалась гиперреактивность рецептора. Через 7 суток активность P2X<sub>1</sub>-рецептора в 1-й группе вновь понижалась на 29,2% ( $p < 0,001$ ) и соответствовала гипореактивности; во 2-й группе – активность рецептора не изменилась и оставалась в диапазоне гиперреактивности. Межгрупповая разница активности рецептора составила 55,6% ( $p < 0,001$ ). Следовательно, в 1-й группе воспроизводилось две волны снижения активности P2X<sub>1</sub>-рецептора (через 48ч и 7 суток ЛКТ) и пик гиперреактивности рецептора (через 72ч ЛКТ) (Рисунок 5.4а). Данная кинетика активности рецептора, модулирующего повышение уровня внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>, свидетельствует о (а) чередовании процессов релаксации и сокращения MOM, которое воспроизводится при обструктивной нефропатии; (б) необходимости большей продолжительности релаксации MOM (не менее 48ч) по сравнению с длительностью сокращения (24ч ЛКТ) что, вероятно, является необходимым условием успешной элиминации конкрементов средних размеров.



а



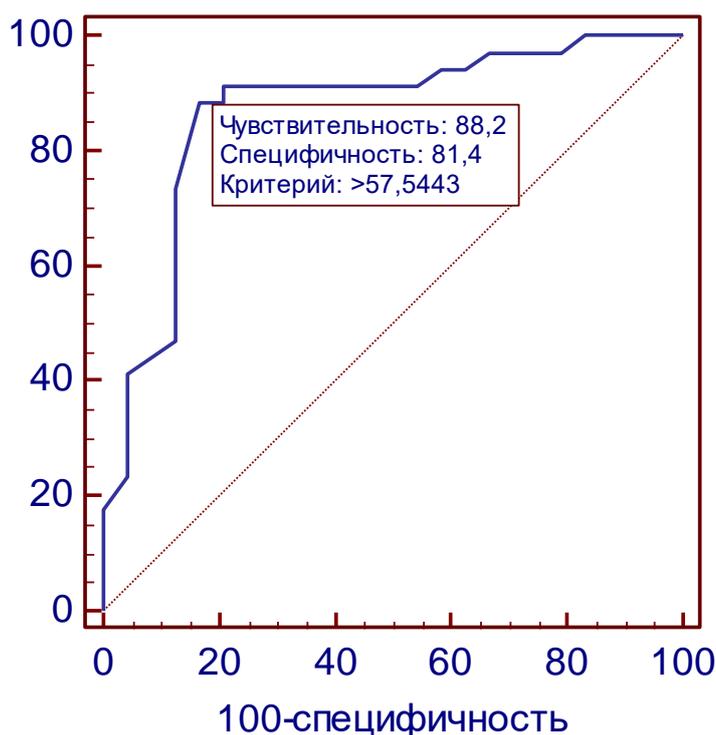
б

**Рис. 5.4. Динамика активности P2X<sub>1</sub>-рецептора в 1-й (а) и 2-й (б) группах при ЛКТ у пациентов с локализацией конкрементов средних размеров в верхней трети мочеточника.**

По оси ординат – значения АДФ-индуцированной агрегации Тц (%);) по оси абсцисс – срок наблюдения.

Во 2-й группе на протяжении 7 суток ЛКТ воспроизводилось два временных промежутка снижения реактивности P2X<sub>1</sub>-рецептора (Рисунок 5.4б), которые, однако, не сопровождались выходом из диапазона гиперреактивности рецептора. Данный факт может свидетельствовать о «поломке» механизмов, ограничивающих силу сократительной активности ГМК, что предопределяет сохранение гипертонуса МОМ.

Однофакторная модель логистической регрессии, использованная для прогнозирования риска неэффективной элиминации конкрементов из верхней трети мочеточника, оказалась наиболее информативной через 72ч ЛКТ. При выборе оптимального порога принятия решения (по Youden Index) установлен критический порог активности P2X<sub>1</sub>-рецептора (P2X-Rcrit) на уровне 58% (Рисунок 5.5).



**Рис. 5.5. Кривые операционных характеристик (ROC) определения риска неэффективной элиминации конкрементов из верхней трети мочеточника по активности P2X<sub>1</sub>-рецептора (%) через 72ч ЛКТ.**

При значении показателя  $P2X-R_{crit} > 58\%$  у пациента имела место неэффективная элиминация конкрементов из верхней трети мочеточника, при значении показателя  $P2X-R_{crit} < 58\%$  – эффективная элиминация. Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста составляла 88,2% (95% ДИ 72,5%-96,7%) и специфичность – 83,3% (95% ДИ 62,3%-95,3%);  $AUC=0,866$  (95% ДИ 0,751 – 0,941).

В обеих группах до ЛКТ имела место гиперреактивность ТР-рецептора (Таблица 5.11), что свидетельствует об участии сигнализации, связанной с участком ЦОГ-ТхА2 в спонтанной элиминации конкрементов при НЛТ.

Таблица 5.11

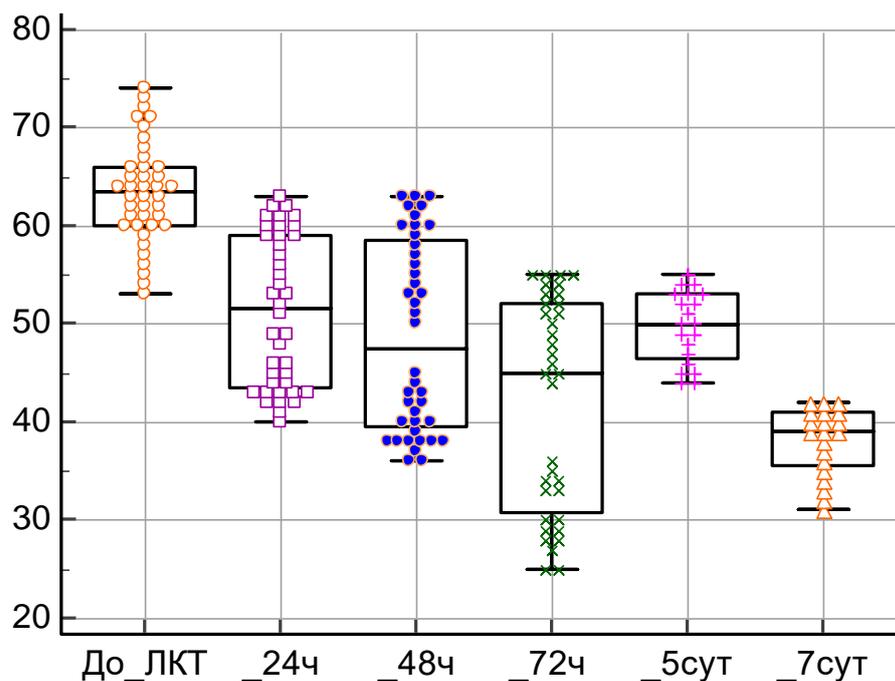
**Кинетика сигнализации связанной с ТР-рецептором при стандартной ЛКТ конкрементов, расположенных в верхней трети мочеточника.**

Срок наблюдения	Активность ТР-рецептора (%)			
	1-я группа (n=40)		2-я группа (n=21)	
	$\bar{X} \pm m$	Min–Max	$\bar{X} \pm m$	Min–Max
Исходный	63,4±0,8 (n=40)	53,0-74,0	68,9±0,9 $P_{1-2} < 0,001$	62,0-75,0
24 ч	51,3±1,2*** (n=40)	40,0-63,0	63,1±0,8*** $P_{1-2} < 0,01$	59,0-71,0
48 ч	50,4±1,5 (n=35)	38,0-63,0	61,9,0±0,6 $P_{1-2} < 0,001$	56,0-67,0
72 ч	50,7±0,8 (n=20)	44,0-55,0	59,7±0,5** $P_{1-2} < 0,001$	57,0-65,0
5 суток	49,7±0,8	44,0-55,0	58,2±0,6	55,0-64,0
7 суток	38,1±0,8*** (n=20)	31,0-42,0	60,9±0,6 $P_{1-2} < 0,001$	57,0-67,0

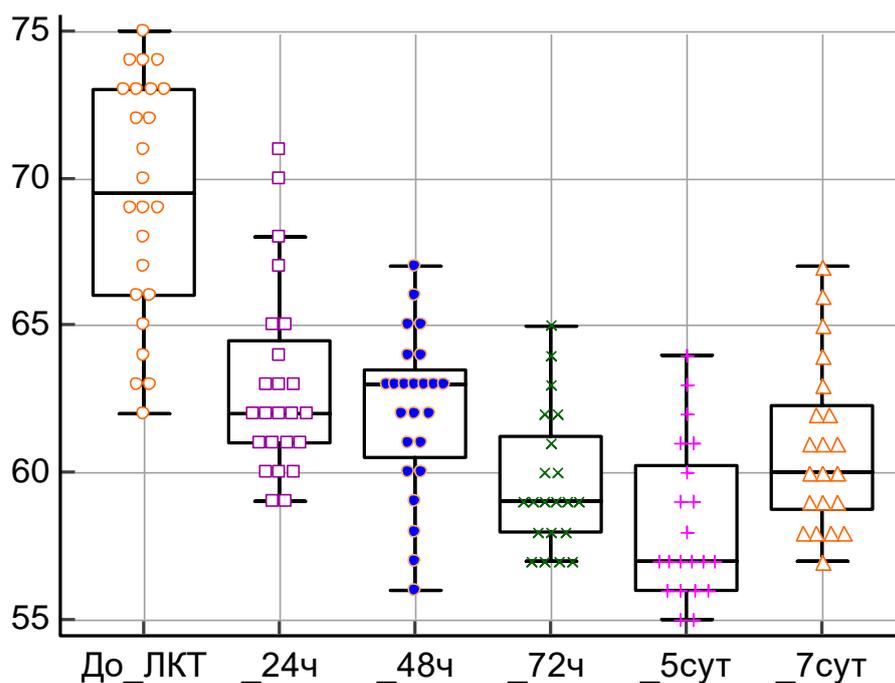
Примечание: \*\* - достоверность различий показателя относительно предыдущего срока наблюдения на уровне  $p < 0,01$ ; \*\*\*- на уровне  $p < 0,001$ .  $P_{1-2}$  - достоверность различий показателя между 1-й и 2-й группой.

Триггером повышения активности ЦОГ может быть воспалительная реакция в стенке МВП (пиелонефрит). Через 24ч в 1-й группе активность рецептора снизилась на 19,1% ( $p < 0,001$ ), тогда как во 2-й группе – на 8,4% ( $p < 0,001$ ) по сравнению со значениями до ЛКТ. В 1-й группе устанавливалась нормореактивность ТР-рецептора, во 2-й группе сохранялась гиперреактивность рецептора. Приведенная динамика активности рецептора может трактоваться как проявление специфического влияния ЛКТ (НПВП) на сигнализацию, связанную с действием метаболитов арахидоновой кислоты

В 1-й группе активность ТР-рецептора поддерживалась на стационарном уровне в промежутке между 2 и 5 сутками, после чего наблюдалась вторая волна снижения активности рецептора (на 23,3%;  $p < 0,001$ ) с установлением его гипореактивности. Во 2-й группе выявлена тенденция к постепенному снижению активности ТР-рецептора, которая через 7 суток оказалась на 11,6% ( $p < 0,001$ ) ниже, чем до ЛКТ. На протяжении всего периода исследования активность ТР-рецептора сохранялась в диапазоне гиперреактивности. Через 7 суток ЛКТ активность ТР-рецептора во 2-й группе была на 59,8% ( $p < 0,001$ ) выше, чем в 1-й группе. Таким образом, в 1-й группе при ЛКТ регистрировались две волны снижения активности ТР-рецептора (через 24ч и 7 суток), причем гипореактивность рецептора достигалась лишь через 7 суток медикаментозной терапии (Рисунок 5.6а). Данная динамика активности рецептора, модулирующего повышение уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$ , свидетельствует о двухэтапном ингибировании ЦОГ, следствием чего может быть релаксация МОМ. Во 2-й группе на протяжении 7 суток ЛКТ воспроизводилось постепенное снижение реактивности ТР-рецептора, которое не сопровождалось его десенситизацией (Рисунок 5.6б). Данный факт может свидетельствовать об особенностях фармакокинетики НПВП у больных с НЛТ, что может проявляться резистентностью организма к ЛКТ. В этом контексте степень ингибирования ЦОГ может рассматриваться как аддитивный механизм релаксации МОМ, который определяется особенностями фармакодинамики ЛКТ.



а

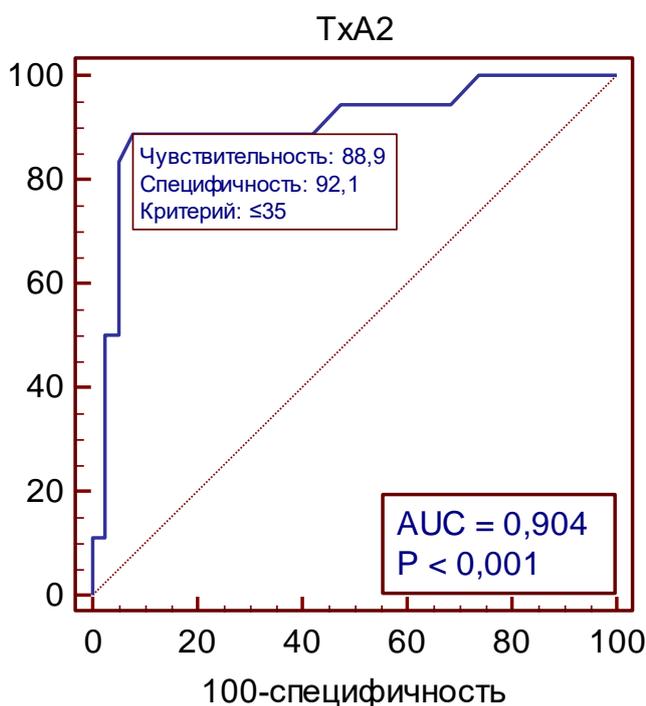


б

**Рис. 5.6. Динамика активности ТхА2-рецептора в 1-й (а) и 2-й (б) группах при ЛКТ у пациентов с локализацией конкрементов средних размеров в верхней трети мочеточника.**

По оси ординат – значения агрегации Тц индуцированной арахидоновой кислотой (%);) по оси абсцисс – срок наблюдения.

Однофакторная модель логистической регрессии, использованная для прогнозирования риска неэффективной элиминации средних конкрементов из верхней трети мочеточника, оказалась наиболее информативной через 7 суток ЛКТ в случае мониторинга активности ТР-рецептора. При выборе оптимального порога принятия решения (по Youden Index) установлен критический порог активности ТР-рецептора (ТхА2-R crit) на уровне  $\leq 35\%$  (Рисунок 5.7).



**Рис. 5.7. Кривые операционных характеристик (ROC) определения риска резистентности ЦОГ к НПВП по активности ТР-рецептора к ТхА2 через 7 суток ЛКТ.**

При значении показателя ТхА2 crit > 35% у пациента имела место НЭЖ из верхней трети мочеточника, тогда как при значении показателя ТхА2-R crit  $\leq 35\%$  – эффективная элиминация. Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста составляла 88,9% (95% ДИ 65,3%-98,6%) и специфичность – 92,1% (95% ДИ 78,6%-98,3%); AUC = 0,904 (95% ДИ 0,796 – 0,967).

### **5.5. Трансформация и взаимодействие путей сигнализации аденозинового A2A-рецептора, регулирующего релаксацию мышечной оболочки мочеточника при эффективной и неэффективной ЛКТ**

Аденозиновый A2A-рецептор, связан с G-белком, передает сигнализацию через стимулирующий G-белок (Gs-), что приводит к активации аденилатциклазы и повышению уровня циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), следствием чего может быть снижение уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$  в клетках. Учитывая роль аденозина в релаксации ГМК [439] нельзя исключить роль нарушения моторики мочеточника при снижении активности A2A-рецепторов. Можно предположить, что при наличии в просвете конкрементов средних размеров усиление перистальтики мочеточника при отсутствии аденозинергической релаксации является недостаточным для элиминации конкремента из верхней трети мочеточника.

Исследование активности аденозинового A2A-рецептора показало, что при наличии конкрементов средних размеров в верхней трети мочеточника (до ЛКТ) имела место гипореактивность в обеих группах (Таблица 5.12), что может рассматриваться как патогенетический механизм дисрегуляции МОМ при спонтанной элиминации конкрементов у пациентов с НЛТ. Причины этого явления видятся в снижении активности эктонуклеозидтрифосфатдефосфорилазы (CD39) и экто-5'-нуклеотидазы (CD73), участвующих в образовании аденозина. Подтверждением данной концепции может быть наличие градиента между уровнем внеклеточного АТФ (который является прекурсором в реакции трансформации пуриновых нуклеотидов) и аденозина. Через 24ч в 1-й группе активность рецептора повысилась на 11,9% ( $p < 0,01$ ), во 2-й группе – на 8,2,0% ( $p < 0,01$ ) при этом в обеих группах сохранялась гипореактивность рецептора. Приведенная динамика активности рецептора может трактоваться как ранее неспецифическое проявление ЛКТ на пуринергическую сигнализацию, вероятно, вследствие восстановления микроциркуляции.

**Кинетика аденозинергической сигнализации у пациентов при стандартной ЛКТ средних конкрементов, расположенных в верхней трети мочеточника.**

Срок наблюдения	Функциональная активность А2А-рецептора			
	1-я группа (n=40)		2-я группа (n=21)	
	$\bar{x} \pm m$	Min–Max	$\bar{x} \pm m$	Min–Max
До ЛКТ	36,2±0,7 (n=40)	28,0-46,0	28,1±0,7 P <sub>1-2</sub> <0,001	25,0-34,0
24 ч	40,5±1,0** (n=40)	32,0-53,0	30,4±0,5** P <sub>1-2</sub> <0,001	27,0-34,0
48 ч	45,3±1,1** (n=35)	37,0-55,0	37,5±0,8*** P <sub>1-2</sub> <0,001	32,0-44,0
72 ч	50,1±2,1* (n=35)	35,0-68,0	37,7±0,8 P <sub>1-2</sub> <0,001	32,0-44,0
5 суток	45,2±0,7* (n=35)	40,0-51,0	40,7±0,8* P <sub>1-2</sub> <0,001	34,0-45,0
7 суток	58,2±0,7*** (n=20)	53,0-64,0	40,1±0,7* P <sub>1-2</sub> <0,001	35,0-47,0

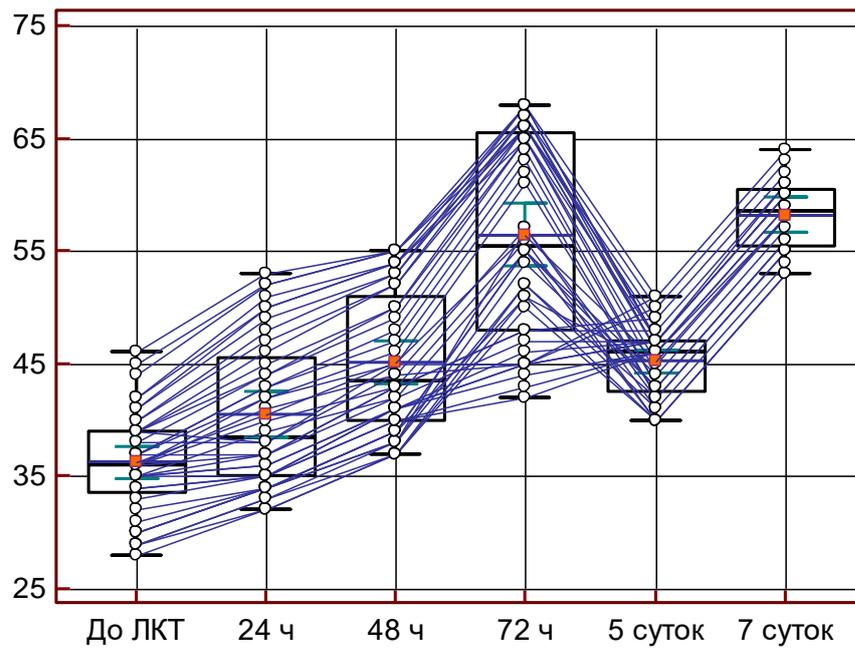
Примечание: \* - достоверность различий показателя относительно предыдущего срока наблюдения на уровне  $p < 0,05$ ; \*\* - на уровне  $p < 0,01$ ; \*\*\* - на уровне  $p < 0,001$ . P<sub>1-2</sub> - достоверность различий показателя между 1-й и 2-й группой.

Через 48ч в 1-й группе активность А2А-рецептора повысилась на 9,8% ( $p < 0,01$ ) по сравнению с предыдущим сроком наблюдения и достигала уровня нормореактивности; во 2-й группе прирост активности рецептора составил 23,3% ( $p < 0,001$ ), тем не менее, сохранялась его гиперреактивность. Межгрупповая разница активности А2А-рецептора составила 20,8% ( $p < 0,001$ ). Вероятно, в данный срок наблюдения имеет место интенсификация метаболизма пуринов, что сопровождается повышением продукции аденозина, который может усилить релаксацию ГМК [121].

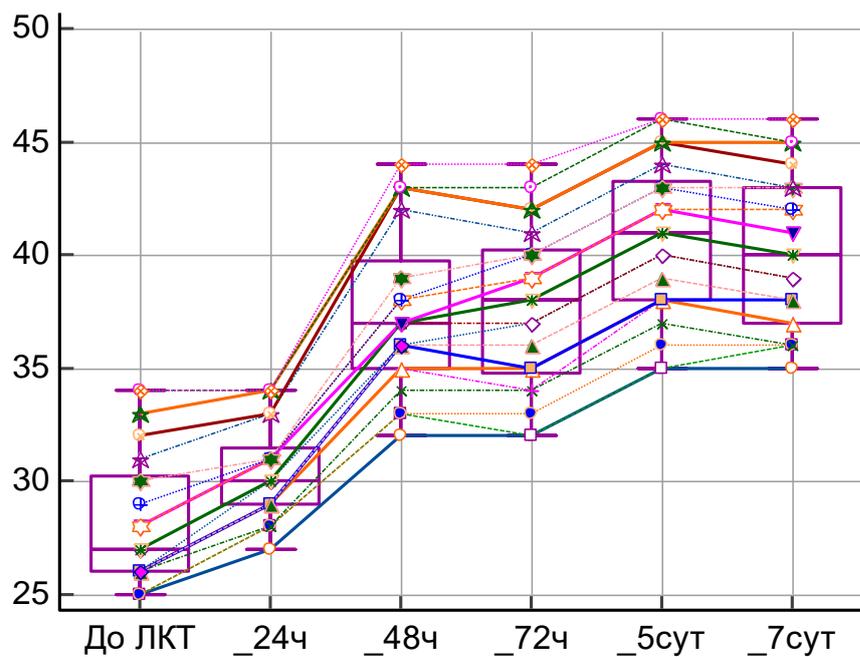
Выявленная отрицательная корреляционная связь между активностью A2A-рецептора и  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора (соответственно,  $r_{A2A-\alpha_2AP} = -0,574$ ,  $p < 0,05$  и  $r_{A2A-P2X} = -0,537$ ,  $p < 0,05$ ), отражает установление обратной связи между сигнализацией, обеспечивающей сокращение и расслабление ГМК. Такая взаимосвязь рецепторов свидетельствует о восстановлении координации механизмов, регулирующих компенсаторные реакции МОМ, что необходимо для перемещения в просвете мочеточника конкрементов средних размеров. Тем не менее, снижение силы отрицательной корреляционной связи между активностью A2A-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора ( $r_{A2A-P2X} = -0,322$ ,  $p < 0,05$ ) подтверждает сохранение доминирования процессов сокращения ГМК над их релаксацией. Через 72ч– в 1-й группе активность A2A-рецептора возросла на 10,6% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с предыдущим сроком наблюдения, во 2-й группе – не изменилась. Учитывая сохранение гипореактивности рецептора у пациентов 2-й группы через 72ч можно констатировать отсутствие какого-либо влияния ЛКТ на аденозинергическую сигнализацию. Наличие отрицательной корреляционной связи между активностью A2A-рецептора и  $\alpha_2$ -адренорецептора ( $r_{\alpha_2AP-P2X} = -0,669$ ,  $p < 0,05$ ), P2X<sub>1</sub>-рецептора ( $r_{A2A-P2X} = -0,480$ ,  $p < 0,05$ ) в 1-й группе и отсутствие таковой во 2-й группе объясняет принципиальную разницу в регуляции компенсаторной реакции МОМ, что может быть основанием для корректировки состава ЛКТ при НЭК. Через 5 суток активность A2A-рецептора снизилась на 9,8% ( $p < 0,05$ ), во 2-й группе увеличилась – на 8,0% ( $p < 0,05$ ). Через 7 суток, в 1-й группе активность рецептора увеличилась на 28,8% ( $p < 0,001$ ) и достигала уровня гиперреактивности; во 2-й группе – активность A2A-рецептора не изменилась и оставалась в диапазоне гипореактивности; межгрупповая разница активности рецептора составила 45,1% ( $p < 0,001$ ). В 1-й группе выявлена отрицательная корреляционная связь между активностью A2A-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора ( $r_{A2A-P2X} = -0,504$ ,  $p < 0,05$ ), TxA<sub>2</sub>-рецептора ( $r_{A2A-TxA_2} = -0,610$ ,  $p < 0,05$ ).

Следовательно, формирование гиперреактивности A2A-рецептора через 7 суток ЛКТ сопровождалось десенситизацией рецепторов, модулирующих повышение уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$ , хотя основным механизмом релаксации ГМК является снижение его содержания вследствие повышения активности протенкиназы А [305]. Во 2-й группе отмечена отрицательная связь между активностью A2A-рецептора  $\alpha_2$ -адренорецептора и ( $r_{A2A-TxA2} = -0,333, p < 0,05$ ), т.е. в сущности, включается аденозинергическая сигнализация, однако, ее эффективность остается недостаточной, чтобы ограничить избыточную контрактильность ГМК.

Таким образом, в 1-й группе воспроизводилось две волны повышения активности A2A-рецептора: первая – в течении 72ч и вторая на 7 сутки ЛКТ (Рисунок 5.8а). Выявленная кинетика активности рецептора, регулирующего снижение уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$ , свидетельствует о значимости аденозинергической регуляции для успешной элиминации конкрементов размерами  $\geq 7$  мм из верхней трети мочеточника. Снижение эффективности аденозинергической сигнализации на 3-5 сутки ЛКТ требует дополнительного анализа причин этого феномена. Во 2-й группе на протяжении 5 суток ЛКТ воспроизводилось постепенное повышение активности A2A-рецептора (Рисунок 5.8б). Тем не менее, данный процесс не сопровождался критическим снижением содержания внутриклеточного  $Ca^{2+}$ , следствием чего была недостаточная релаксация МОМ и нарушение перемещение конкремента средних размеров. На 5- 7 сутки ЛКТ активность A2A-рецептора не изменяется и остается на уровне гипореактивности, что является основанием для разработки методов повышения эффективности ЛКТ путем усиления аденозинергической сигнализации в ГМК. Анализ *in vitro* реактивности A2A-рецептора через 72ч ЛКТ позволит прогнозировать степень релаксации МОМ при локализации конкрементов размером  $\geq 7$ мм в верхней трети мочеточника.



а



б

**Рис. 5.8. Динамика активности A2A-рецептора в 1-й (а) и 2-й (б) группах при ЛКТ у пациентов с локализацией конкрементов средних размеров в верхней трети мочеточника.**

По оси ординат – значения агрегации Тц индуцированной аденозином (%); по оси абсцисс – срок наблюдения.

## ГЛАВА 6

### МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ БЫСТРОЙ И МЕДЛЕННОЙ ЭЛИМИНАЦИИ КОНКРЕМЕНТОВ СРЕДНИХ РАЗМЕРОВ ИЗ ВЕРХНЕЙ ТРЕТИ МОЧЕТОЧНИКА ПРИ ЛКТ

#### **6.1. Анализ *in vitro* внутриклеточной сигнализации, связанной с $\alpha_2$ -адренорецептором, при быстрой и медленной элиминации конкрементов на фоне ЛКТ.**

Актуальным остается вопрос о причинах разной скорости элиминации конкрементов из верхней трети мочеточника. Ответ на данный вопрос позволил бы прогнозировать длительность ЛКТ, а, следовательно, планировать расходы на приобретение лекарственных препаратов и проведение профилактических мероприятий, связанных с развитием инфекции МВП; определять сроки проведения и методы литотрипсии в зависимости от траффика конкрементов. В тоже время, выяснение механизмов, влияющих на скорость перистальтики дилатированного мочеточника, будет способствовать разработке новых фармакологических препаратов и расширению спектра препаратов, из числа зарекомендовавших себя модуляторов тонуса ГМК, что позволит повысить эффективность ЛКТ при нефролитолазе. Ключевую роль в современных стандартах и протоколах лечения МКБ отводят  $\alpha_{1A}$ -АБ, которые должны обеспечить релаксацию ГМК, дилатацию просвета мочеточника и элиминацию конкрементов. Однако, целесообразность назначения селективных  $\alpha_{1A}$ -АБ считается доказанной только в случаях, когда размер конкремента в МВП превышал 5 мм [67]. Эффективность и скорость элиминации конкрементов при назначении  $\alpha_{1A}$ -АБ может зависеть от стимуляции  $\alpha_1$ - и  $\alpha_2$ -адренорецепторов ГМК [55], что обосновывает целесообразность исследования чувствительности разных типов адренорецепторов при проведении ЛКТ.

*Цель исследования* – оценить активность  $\alpha_2$ -адренорецептора на фоне блокады  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора в процессе ЛКТ у пациентов с локализацией конкрементов средних размеров в верхней трети мочеточника.

Анализ сроков выведения конкрементов из верхней трети мочеточника в 1-й группе позволил выделить две подгруппы пациентов: с быстрой (в течении 72ч) – подгруппа А и медленной – подгруппа Б (в течении 7 суток) элиминацией конкрементов. В обеих подгруппах до назначения ЛКТ выявлена гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора (Таблица 6.1).

Таблица 6.1

**Кинетика реактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора при быстрой и медленной элиминации конкрементов из верхней трети мочеточника на фоне ЛКТ**

Срок наблюдения	Активность $\alpha_2$ -адренорецептора			
	Подгруппа А		Подгруппа Б	
	$\bar{x} \pm m$	Min–Max	$\bar{x} \pm m$	Min–Max
Исходный	67,1±3,1 (n=20)	61,0-72,0	60,3±0,7 (n=20) $P_{A-B} < 0,001$	54,0-65,0
24 ч	45,0±1,1*** (n=20)	38,0-52,0	60,7±0,8 (n=20) $P_{A-B} < 0,001$	57,0-68,0
48 ч	35,7±0,4*** (n=15)	34,0-38,0	49,8±0,8*** (n=20) $P_{A-B} < 0,001$	44,0-57,0
72ч	40,1±0,4*** (n=15)	37,0-43,0	45,8±0,5*** (n=20) $P_{A-B} < 0,001$	43,0-49,0
5 суток	–		37,0±0,8*** (n=20)	31,0-42,0
7 суток	–		34,8±0,8* (n=20)	29,0-48,0

Примечание: \*\*\*- достоверность различий показателя относительно предыдущего срока наблюдения на уровне  $p < 0,001$ .  $P_{A-B}$  - достоверность различий показателя между подгруппами А и Б.

В подгруппе А через 24ч после начала ЛКТ активность адrenoрецептора понизилась на 32,9% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с исходным уровнем и находилась в диапазоне нормореактивности (первая фаза десенситизации адrenoрецептора). Через 48ч у 5 (12,5%) пациентов на фоне ЛКТ развивалась гипореактивность  $\alpha_2$ -адrenoрецептора ( $32,8 \pm 0,4\%$ ; 95% ДИ 31,8-33,8%) и происходила элиминация конкрементов из верхней трети мочеточника. У оставшихся 15 пациентов подгруппы А локализация конкрементов в МВП не изменилась, хотя активность данного рецептора также находилась в диапазоне гипореактивности. Следовательно, гипореактивность  $\alpha_2$ -адrenoрецептора не у всех пациентов соответствовала быстрой элиминации конкрементов из верхней трети мочеточника. Причины этого явления следует искать в чрезмерной активации других рецепторов, способных поддерживать тонус мышечной оболочки мочеточника. В этом контексте особый интерес представляет пуринергический P2X<sub>1</sub>-рецептор, поскольку его стимуляция сопровождается деполяризацией и сокращением ГМК; в тоже время молекула АТФ имеет решающее значение для инициации потенциалов действия в афферентных нервах [292]; (б) пуриновые нуклеотиды секретируются из эфферентных нервных окончаний вместе с норадреналином и могут модулировать сократительную активность мочеточника независимо от стимуляции  $\alpha_1$ -адrenoрецептора [140]. Через 72ч после начала ЛКТ у 15 пациентов конкременты перемещались из верхнего отдела в средний и нижний отделы мочеточника; процесс траффика происходил на фоне гипореактивности  $\alpha_2$ -адrenoрецептора; при этом активность данного рецептора увеличилась на 12,3% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с предыдущим сроком исследования, однако, была на 40,0% ( $p < 0,001$ ) ниже по сравнению с исходным значением. Таким образом, быстрая элиминация конкрементов характеризовалась достижением уровня гипореактивности  $\alpha_2$ -адrenoрецептора через 48ч ЛКТ. Следовательно, быстрое снижение уровня катехоламинов в циркулирующей крови является благоприятным фактором траффика конкрементов размерами  $\geq 7$ мм, поскольку ограничивается

повышение внутриклеточного уровня  $\text{Ca}^{2+}$  в ГМК. Выведение конкрементов зарегистрировано через 72ч ЛКТ на фоне сохраняющейся гипореактивности адренорецептора. Отсроченная элиминация конкрементов может быть связана с включением дополнительного механизма, обеспечивающего релаксацию ГМК; триггером такой компенсаторной реакции может быть аденозин [161].

В подгруппе Б через 24ч ЛКТ активность  $\alpha_2$ -адренорецептора сохранялась в диапазоне гиперреактивности. Через 48ч после начала ЛКТ (первая фаза десенситизации рецептора) активность адренорецептора снижалась на 18,0% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с исходным значением и сохранялась на уровне нормореактивности на 3 и 4 сутки. Вторая фаза десенситизации рецептора начиналась проявлялась через 5 суток, когда активность рецептора снижалась на 19,2% и 38,6% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с предыдущим и исходным значениями активности  $\alpha_2$ -адренорецептора, при этом достигался уровень гипореактивности рецептора. Через 5 суток после начала ЛКТ элиминация конкрементов не выявлена ни в одном случае. Через 7 суток на фоне гипореактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора у всех пациентов наблюдалось выведение средних конкрементов из верхней трети мочеточника.

Следовательно, для быстрой и медленной элиминации конкрементов характерно достижение гипореактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора. При быстрой элиминации снижение стимуляции и поддержание гипореактивности указанного рецептора достигалось в течении 48ч ЛКТ. При медленной элиминации конкрементов средних размеров – выявлены две фазы десенситизации адренорецептора. Первая фаза – когда восстанавливалась и поддерживалась нормореактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора (2 - 3 сутки ЛКТ); вторая фаза – достижение уровня гипореактивности (5 сутки ЛКТ). Таким образом, при медленном трафике конкрементов, по сравнению с быстрой элиминацией, принципиальное отличие касается длительности фаз нормореактивности (48ч) и гипореактивности (48ч)  $\alpha_2$ -адренорецептора. От момента достижения гипореактивности (5 сутки) до выведения конкрементов (7 сутки) проходит 48ч, в течение которых включались механизмы,

обеспечивающие траффик конкрементов. Вероятно, на протяжении этого срока к десенситизации  $\alpha_2$ -адренорецептора дополнительно подключались другие механизмы релаксации ГМК, которые связаны с воздействием фармакологических препаратов, входящих в состав ЛКТ. В этой связи возникает главный вопрос – может ли снижение активности  $\alpha_2$ -адренорецептора повлиять на миогенный эффект блокаторов  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов? Поскольку при десенситизации  $\alpha_2$ -адренорецептора повышается секреция НА и усиливается стимуляция постсинаптических  $\alpha_1$ -адренорецепторов на ГМК, то можно ожидать повышение эффективности воздействия  $\alpha_{1A}$ -АБ на ГМК. В этом контексте начало траффика крупных конкрементов только через 48ч после достижения гипореактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора, может отражать особенности фармакокинетики блокаторов  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов при нарушении взаимодействия разных типов адренорецепторов в процессе ЛКТ. Одной из таких особенностей является интервал времени необходимый для достижения стационарного уровня блокады  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов, обеспечивающего максимальную релаксацию мышечной оболочки мочеточника.

Элиминация конкрементов из верхней трети мочеточника наблюдалась только у пациентов с гипореактивностью  $\alpha_2$ -адренорецептора. Снижение активности данного рецептора, при отсутствии в схеме ЛКТ фармакологических препаратов, способных блокировать  $\alpha_2$ -адренорецепторы, приводит к заключению о неспецифическом влиянии консервативной терапии на активацию САС. Таким «вмешивающимся» фактором может быть назначение пациентам НПВП с целью анальгезии при «почечной колике». Связь между снижением активности  $\alpha_2$ -адренорецептора и релаксацией ГМК, лежащей в основе дилатации просвета мочеточника и траффика крупных конкрементов, видится в снижении внутриклеточного уровня  $Ca^{2+}$ . Обращает на себя внимание, что траффик средних конкрементов в мочеточнике происходит при достижении гипореактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора в диапазоне  $\leq 40\%$ , а не нормореактивности ( $50,0 \pm 5,0\%$ ), характерной для

физиологической регуляции перистальтики мочеточника. При данном уровне гипореактивности рецептора, вероятно: (а) достигается субпороговый уровень  $Ca^{2+}$ , при котором обеспечивается оптимальная релаксация ГМК; (б) нивелируется потенцирование эффектов адреналина с другими агонистами (норадреналином, АТФ) способными повысить содержание внутриклеточного  $Ca^{2+}$  в ГМК мочеточника. Данная гипотеза требует проверки в контексте совершенствования схемы ЛКТ, учитывая возможность взаимодействия разных типов адренорецепторов ( $\alpha_1, \alpha_2, \beta_{1,3}$ ) в регуляции перистальтики мочеточника [362]. В процессе ЛКТ средние конкременты не выводились из верхней трети мочеточника при наличии у пациента гиперреактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора, что, вероятно, связано с вовлечением адреналина в нейрогенные и миогенные механизмы сокращения мышечной оболочки мочеточника [273]. Доказано, что усиление сократительной функции с помощью норадреналина опосредуется механизмами, зависящими как от  $\alpha_1$ -, так и от  $\alpha_2$ -адренорецепторов; в тоже время высвобождение норадреналина из симпатических нервных окончаний почки регулируется пре-синаптическим  $\alpha_{2A}$ -адренорецептором [159].

Таким образом, реактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора модулирует активность  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора, что может влиять на фармакодинамику и фармакокинетику блокаторов  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов. Элиминация средних конкрементов из верхней трети мочеточника при стандартной ЛКТ воспроизводится на фоне гипореактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора. Причиной десенситизации  $\alpha_2$ -адренорецептора может быть снижение активации САС и уровня катехоламинов в крови при достижении адекватной анальгезии высокими дозами НПВП. Отсроченная элиминация конкрементов (через 7 суток ЛКТ) может быть связана с продолжительностью включения компенсаторных механизмов, обеспечивающих релаксацию МОМ.

## **6.2. Анализ *in vitro* внутриклеточной сигнализации, связанной с пуриновым P2X<sub>1</sub>-рецептором, при быстрой и медленной элиминации конкрементов на фоне ЛКТ.**

До настоящего времени причины низкой эффективности назначения  $\alpha_{1A}$ -АБ в схеме ЛКТ остаются не выясненными. Логично было ожидать, что блокада  $\alpha_1$ -адренорецептора обеспечит релаксацию ГМК, дилатацию просвета мочеточника и элиминацию конкрементов. Однако, желаемое функциональное состояние мочеточника достигается не у всех пациентов. Возникает вопрос – в каких случаях введение  $\alpha_{1A}$ -АБ пациентам может оказаться малоэффективным для элиминации конкрементов из верхней трети мочеточника? Доказано, что сократительная активность мочеточника регулируется пуринергическими P2X-рецепторами. При НЛТ может изменяться как секреция АТФ в нейромышечном синапсе (нейрогенная модуляция мышечного тонуса), так и содержание внеклеточного АТФ вследствие гипоксии/ ишемии тканей МВП, связанной с элиминацией конкремента. В этой связи можно предположить, что анализ активности P2X-рецепторов позволит, во-первых, приблизиться к пониманию механизмов низкой эффективности назначения  $\alpha_{1A}$ -АБ в схеме ЛКТ; во-вторых, разработать информативные индикаторы оценки неадренергической регуляции сокращения ГМК *in vitro*, которые позволят мониторить, изменяющуюся картину регуляции перистальтики мочеточника при движении конкремента на фоне назначения ЛКТ.

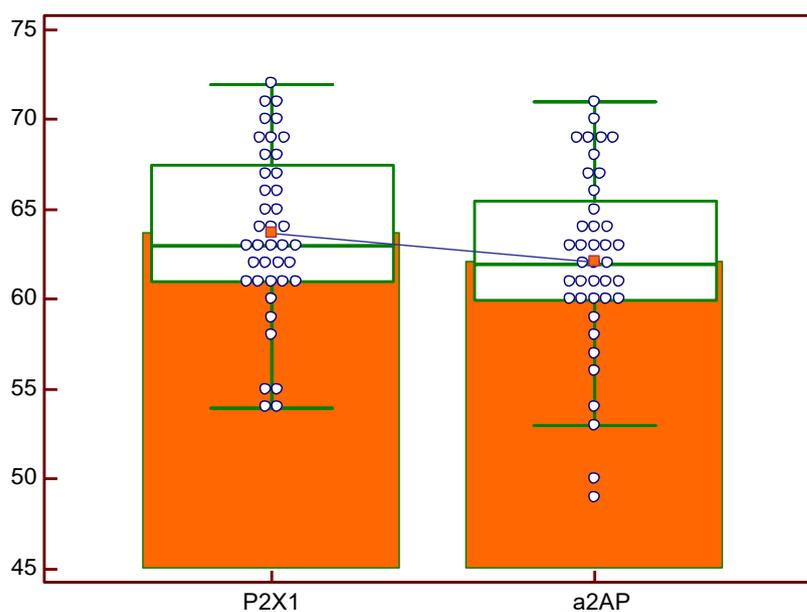
*Цель исследования* – оценить активность пуринового P2X<sub>1</sub>-рецептора на фоне блокады  $\alpha_1$ -адренорецептора в процессе ЛКТ у пациентов с локализацией средних конкрементов в верхней трети мочеточника.

*Гипотеза* – если при эффективной и неэффективной элиминации конкремента выявлены различия активности P2X<sub>1</sub>-рецептора, отражающие участие АТФ в сокращении стенки мочеточника, то логично предположить зависимость скорости перемещения конкрементов в верхней трети мочеточника от пуринергической стимуляции рецептора. Такое

предположение связано с зависимостью траффика средних конкрементов ( $>10$  мм) в этом отделе МВП от степени релаксации ГМК в стенке мочеточника. При достижении максимальной релаксации мышечной оболочки создаются условия для перемещения конкремента под влиянием градиента гидростатического давления между участками мочеточника выше и ниже участка обструкции.

Возникает вопрос- зависит ли скорость траффика конкрементов размером  $\geq 7$ мм в верхней трети мочеточника от активности P2X<sub>1</sub>-рецептора, если таковая модулирует степень сокращения стенки мочеточника?

До назначения ЛКТ выявлена гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора, сопоставимая с таковой  $\alpha_2$ -адренорецептора (Рисунок. 6.1), что подтверждает участие пуринаргической сигнализации в сокращении ГМК.



**Рис. 6.1. Реактивность пуринового P2X<sub>1</sub>-рецептора и  $\alpha_2$ -адренорецептора до ЛКТ конкрементов размерами  $\geq 7$ мм, расположенных в верхней трети мочеточника.**

По оси ординат – индуцированная агрегация Тц (%); по оси абсцисс – вид рецептора.

В анализ включены две подгруппы пациентов: с быстрой (в течении 72ч) – подгруппа А и медленной – подгруппа Б (в течении 7 суток) элиминацией конкрементов. В обеих подгруппах до назначения ЛКТ выявлена гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора (Таблица 6.2).

Таблица 6.2

**Кинетика реактивности P2X<sub>1</sub>-рецептора при быстрой и медленной элиминации конкрементов из верхней трети мочеточника при ЛКТ**

Срок наблюдения	Функциональная активность P2X <sub>1</sub> -рецептора			
	Подгруппа А (n=20)		Подгруппа Б (n=20)	
	$\bar{x} \pm m$	Min–Max	$\bar{x} \pm m$	Min–Max
До ЛКТ	58,9±1,0	49,0-64,0	65,3±0,8 P <sub>А-Б</sub> <0,001	60,0-71,0
24 ч	53,5±0,8*	49,0-60,0	62,8±0,9* P <sub>А-Б</sub> <0,001	58,0-70,0
48 ч	46,8±0,6***	44,0-50,0	58,3±0,6*** P <sub>А-Б</sub> <0,001	54,0-63,0
72 ч	34,3±0,8***	29,0-39,0	60,0±0,9 P <sub>А-Б</sub> <0,001	53,0-66,0
5 суток			49,2±0,7***	43,0-54,0
7 суток			40,7±0,8***	35,0-46,0

Примечание: \*- достоверность различий показателя относительно предыдущего срока наблюдения на уровне  $p < 0,05$ ; \*\*\*- на уровне  $p < 0,001$ .

P<sub>А-Б</sub> - достоверность различий показателя между подгруппами А и Б.

В подгруппе А через 24ч после начала ЛКТ активность P2X<sub>1</sub>-рецептора снижалась на 9,2% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с исходным уровнем и находилась в диапазоне нормореактивности. Через 48ч у 5 (12,5%) пациентов отмечена элиминация конкрементов из МВП; при этом активность P2X<sub>1</sub>-рецептора соответствовала гипореактивности. У оставшихся 15 пациентов локализация конкрементов не изменилась, хотя активность данного рецептора уменьшилась на 20,5% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с исходным значением и достигала уровня нормореактивности. Следовательно, достижение нормореактивности P2X<sub>1</sub>-рецептора в процессе ЛКТ не гарантировало быстрой элиминации конкрементов. Через 72ч после начала ЛКТ у 15 пациентов конкременты перемещались из верхнего отдела в средний и нижний отделы мочеточника; процесс траффика происходил на фоне гипореактивности P2X<sub>1</sub>-рецептора. Логично, что при наличии дозозависимого эффекта стимуляции P2X<sub>1</sub>-рецептора, спастический эффект в мышечной оболочке мочеточника будет тем меньше, чем ниже активность данного рецептора. Таким образом, одним из условий быстрой элиминации конкрементов являлось достижение уровня гипореактивности P2X<sub>1</sub>-рецептора. Судя по градиенту снижения активности рецептора через 24ч–48ч–72ч относительно исходного значения, соответственно – на 9,2% –20,5% –41,8%, ингибирование развивалось прогрессивно и могло быть следствием неселективной коррекции пуринергической сигнализации вследствие модификации путей внутриклеточной сигнализации при действии фармакологических препаратов входящих в состав ЛКТ.

В подгруппе Б через 24ч ЛКТ активность P2X<sub>1</sub>-рецептора сохранялась в диапазоне гиперреактивности, хотя и уменьшалась на 3,8% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с исходным уровнем. В течение 48ч после начала ЛКТ активность рецептора снижалась на 7,2% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с исходным уровнем и сохранялась на стационарном уровне в течении 72ч. Следовательно, у данного контингента больных на протяжении трех суток поддерживалась гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора, при этом ни в одном случае не

наблюдалось элиминации конкрементов из верхней трети мочеточника. Вторая фаза снижения пуринергической сигнализации проявлялась через 5 суток, когда активность рецептора уменьшалась на 18,0% и 24,7% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с предыдущим и исходным сроками наблюдения; при этом достигался диапазон нормореактивности рецептора. Элиминация конкрементов не выявлена ни в одном случае. Третья фаза – воспроизводилась через 7 суток, в течении которых наблюдалось выведение конкрементов из верхней трети мочеточника у всех пациентов. Активность  $P2X_1$ -рецептора уменьшалась на 17,3% и 37,7% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с предыдущим и исходным сроками наблюдения; при этом достигался диапазон гипореактивности. Несмотря на некоторое различие пороговых значений гипореактивности данного рецептора при быстрой и медленной элиминации конкрементов, соответственно  $34,3 \pm 0,8\%$  и  $40,7 \pm 0,8\%$  ( $p < 0,001$ ), можно констатировать, что низкая активность  $P2X_1$ -рецептора является одним из условий элиминации конкрементов при ЛКТ. Необходимо отметить, что через 24ч после начала ЛКТ активность рецептора в подгруппе А была на 14,8% ( $p < 0,001$ ), через 48ч – на 19,7% ( $p < 0,001$ ), через 72 ч – на 42,8% ( $p < 0,001$ ) меньше, чем в подгруппе Б. Таким образом, разница активности  $P2X_1$ -рецептора между подгруппами возрастала каждые последующие 24ч исследования; причем наиболее значимые различия проявлялись через 72ч. Данный факт отражает различия в кинетике торможения пуринергической сигнализации при быстрой и медленной элиминации средних конкрементов, вызванной введением препаратов входящих в состав ЛКТ.

Ключевой вопрос – может ли влиять блокада  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов на пуринергическую сигнализацию в процессе сокращения ГМК? Ответ на данный вопрос в литературе – отсутствует. Вероятно, ответ может быть положительным, учитывая, что при симпатической стимуляции ГМК происходит одновременная активация  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов и  $P2X_1$ -рецепторов. В этом случае возможно потенцирование сократительных эффектов инициированных обоими рецепторами, поскольку открытие канала

паннексин-1 (Panx1) обеспечивает транспорт молекул АТФ во внеклеточное пространство. Предположение укладывается в концепцию об участии АТФ в норадренергических ответах ГМК [52]. В этом контексте блокада  $\alpha_1$ -адренорецепторов приводит к нарушению синергизма с P2X<sub>1</sub>-рецептором, следствием чего будет снижение мышечного тонуса МВП. Следовательно, при блокаде  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов скорость элиминации конкремента может зависеть от активности P2X<sub>1</sub>-рецепторов.

Привлекает внимание синергизм P2X<sub>1</sub>-рецепторов с TR-рецептором. Так, выявлена связь между активностью P2X<sub>1</sub>-рецептора и TR-рецептора, которая через 24ч ЭЭК составила  $r_{P2X-TR} = 0,358$  ( $p < 0,05$ ); через 48ч  $r_{P2X-TR} = 0,314$  ( $p < 0,05$ ); через 7 суток  $r_{P2X-TR} = 0,442$  ( $p < 0,05$ ). Данная взаимосвязь обусловлена тем, что сокращение ГМК, зависящее от активации TR, требует ко-активации P2X<sub>1</sub>-рецептора [457]; стимуляция P2X<sub>1</sub>-рецептора необходима для фосфорилирования белка p38, модулирующего сигнализацию индуцированную TxA<sub>2</sub> [176]; АТФ может увеличивать экспрессию фермента ЦОГ-2 и синтез простаноидов [29]. Возникает второй не менее важный вопрос – почему может снижаться активность P2X<sub>1</sub>-рецепторов при отсутствии соответствующих блокаторов в схеме ЛКТ? Объяснение этому феномену может быть найдено путем исследования внутриклеточной сигнализации ГМК при обструкции мочеточника и оценки влияния фармакологических препаратов ЛКТ на внутриклеточные сигнальные пути. При наличии конвергенции сигнальных путей, участвующих в электромеханическом и фармакомеханическом взаимодействии при сокращении ГМК блокада  $\alpha$ -адренорецепторов, ингибирование ЦОГ, выключение Ca<sup>2+</sup>-каналов в процессе ЛКТ может повлечь за собой дисфункцию молекулярных механизмов связанных с транспортом ионов Ca<sup>+2</sup>. Так, известно, что АТФ стимулирует образование инозитол-1,4,5-трифосфата, высвобождение Ca<sup>2+</sup> и сокращение ГМК. Вероятно, ингибирование синтеза данного метаболита будет снижать активность P2X-рецептора [316]. Причинами десенситизации P2X-рецептора

может быть высокий уровень внеклеточного АТФ и наличие воспалительного процесса в МВП [314].

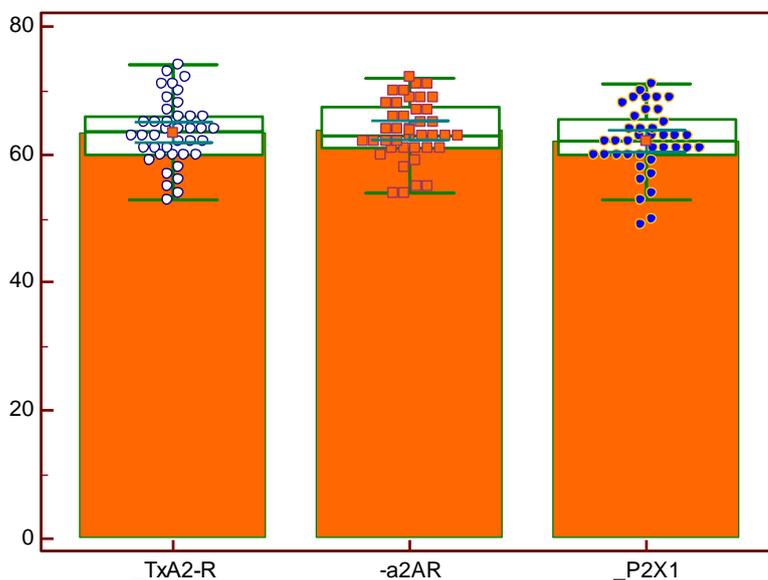
Таким образом, эффективность ЛКТ зависит от активности P2X<sub>1</sub>-рецептора, который модулирует сокращение ГМК мочеточника. Если в процессе ЛКТ у пациента достигается уровень гипореактивности P2X<sub>1</sub>-рецептора, то воспроизводится необходимый уровень релаксации мышечной оболочки и конкременты могут перемещаться из верхнего отдела мочеточника. При наличии гипер- или нормореактивности P2X<sub>1</sub>-рецептора элиминация конкрементов не происходит, вероятно, вследствие потенцирования эффектов разных рецепторов, участвующих в регуляции сокращения мышечной оболочки МВП.

### **6.3. Анализ *in vitro* внутриклеточной сигнализации, связанной с TR-рецептором, при быстрой и медленной элиминации конкрементов на фоне ЛКТ.**

Включение НПВП в схему ЛКТ рассчитано на двойной эффект – системную анальгезию и релаксацию мочеточника при почечной или мочеточниковой «колике». Нельзя исключить, что назначение пациентам НПВП с целью анальгезии самого процесса спонтанного продвижения конкремента в разной степени модулирует релаксацию стенки мочеточника. Такая ситуация возможна в случае повышенной экспрессии разных типов ET-рецепторов к простагландинам и/или индивидуальной резистентности ЦОГ к НПВП. Справедливость данной гипотезы базируется на следующих фактах [75]: (а) ферменты ЦОГ-1 и ЦОГ-2 представлены в проксимальном и дистальном отделах мочеточника человека, причем ингибиторы ЦОГ-2 снижают его сократительную способность в большей степени при полной обструкции мочеточника [291]; (б) синтез ЦОГ-2 увеличивается в проксимальном отделе мочеточника при его дилатации, по сравнению с дистальным неизменным отделом; (в) EP1-рецептор к ПГЕ2 и рецептор к тромбоксану (TR) экспрессируются в ГМК мочеточника, что подтверждает

участие простаноидов в сокращении мочеточника; (г) ингибитор ЦОГ снижает сократимость мочеточника человека, эффект может быть связан с уменьшением тонического и фазового сокращения вследствие ингибирования потенциал-зависимых  $Ca^{2+}$ -каналов [219]. *Гипотеза.* Если предположить, что в когорте больных с нефролитиазом имеется индивидуальная резистентность к НПВП, то при прочих равных условиях (прежде всего сходной чувствительности  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора) будут различаться параметры элиминации конкрементов из МВП (эффективность элиминации и скорость выведения).

*Исследовательский вопрос* – зависит ли скорость траффика среднего конкремента в верхней трети мочеточника от активности ТР-рецептора, если таковая модулирует степень сокращения стенки мочеточника? До назначения ЛКТ выявлена гиперреактивность ТР-рецептора к ТхА2 сопоставимая с таковой  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора (Рисунок. 6.2), что подтверждает участие сигнализации связанной с ТхА2 в сокращении ГМК.



**Рис. 6.2. Реактивность ТР-рецептора к ТхА2,  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора до ЛКТ при наличии средних конкрементов в верхней трети мочеточника.**

По оси ординат – индуцированная агрегация Тц (%); по оси абсцисс – вид рецептора.

Исходная активность ТР-рецептора при медленной элиминации конкрементов (подгруппа Б) превышала таковую при быстрой элиминации (подгруппа А) на 10,6% ( $p < 0,001$ ). (Таблица 6.3).

Таблица 6.3

**Кинетика реактивности ТР-рецептора при быстрой и медленной элиминации средних конкрементов из верхней трети мочеточника на фоне стандартной ЛКТ**

Срок наблюдения	Активность ТР-рецептора			
	Подгруппа А (n=20)		Подгруппа Б (n=20)	
	$\bar{x} \pm m$	Min–Max	$\bar{x} \pm m$	Min–Max
До ЛКТ	60,2±0,8 (n=20)	53,0-66,0	66,6±0,9 (n=20) $P_{A-B} < 0,001$	61,0-74,0
24 ч	44,4±0,6*** (n=20)	40,0-51,0	58,2±0,8*** (n=20) $P_{A-B} < 0,001$	52,0-63,0
48 ч	40,7±0,6*** (n=15)	38,0-45,0	57,6±1,0 (n=20) $P_{A-B} < 0,001$	50,0-63,0
72 ч	30,4±0,9*** (n=15)	25,0-36,0	50,7±0,8*** (n=20) $P_{A-B} < 0,001$	44,0-55,0
5 суток	–		49,7±0,8 (n=20)	43,0-55,0
7 суток	–		38,5±0,8*** (n=20)	31,0-42,0

Примечание: \*- достоверность различий показателя относительно предыдущего срока наблюдения на уровне  $p < 0,05$ ; \*\*\*- на уровне  $p < 0,001$ .

$P_{A-B}$  - достоверность различий показателя между подгруппами А и Б.

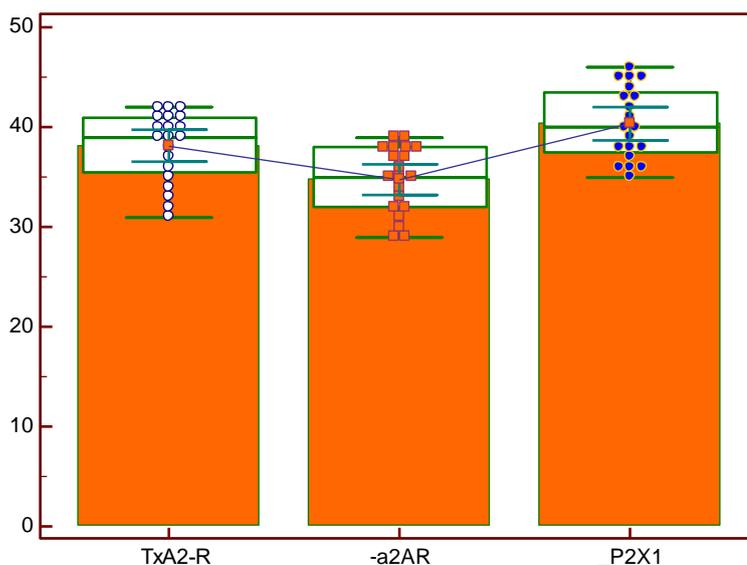
Таким образом, у пациентов с медленной элиминацией конкрементов возможно более высокое повышение тонического сокращения ГМК мочеточника, связанное с усилением синтеза ТхА2 при нефролитиазе. Через 24ч после начала ЛКТ в подгруппе А активность рецептора снизилась на 26,3% по сравнению с исходным уровнем ( $p < 0,001$ ) и достигала уровня

нормореактивности. В подгруппе Б активность ТР- рецептора уменьшилась на 12,6% по сравнению с исходным уровнем ( $p < 0,001$ ) и оставалась в диапазоне гиперреактивности. Через 48ч у 5 (25,0%) у пациентов подгруппы А с завершённой элиминацией конкрементов активность ТР-рецептора уменьшилась на 38,5% по сравнению с исходным уровнем ( $p < 0,001$ ). У оставшихся пациентов подгруппы А активность ТР-рецептора понижалась на 32,4% по сравнению с исходным уровнем и – на 8,3% ( $p < 0,001$ ) относительно предыдущего срока наблюдения. Элиминация конкрементов происходила при достижении уровня гипореактивности рецептора. В этот же срок наблюдения в подгруппе Б активность ТР-рецептора уменьшилась на 13,5% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с исходным уровнем и не изменилась относительно предыдущего срока наблюдения; при этом сохранялась гиперреактивность рецептора. Таким образом, если через 24ч после начала ЛКТ проявлялась первая волна снижения активности ЦОГ, причем более выраженная в подгруппе А, которая сопровождалась установлением нормореактивности ТР-рецептора.

Через 72ч после начала ЛКТ элиминация конкрементов из верхней трети мочеточника подтверждена у 15 пациентов подгруппы А (75,0% от общей когорты данной подгруппы); при этом активность ТР-рецептора снизилась на 49,5% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с исходным уровнем и на – на 25,3% относительно предыдущего срока наблюдения ( $p < 0,001$ ). В сущности, достигался новый порог гипореактивности рецептора, который отражает уровень остаточной активности ЦОГ. В подгруппе Б через 72ч активность ТР-рецептора снизилась значительно меньше – на 23,9% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с исходным уровнем и на 12,0% в сравнении с предыдущим сроком наблюдения ( $p < 0,001$ ). При этом достигался уровень нормореактивности рецептора. Динамика снижения активности рецептора в обеих подгруппах свидетельствует, что через 24ч, 48ч и 72ч после ЛКТ активность ТР-рецептора в подгруппе Б была выше, соответственно, на 31,1%, 41,5% и 66,8% ( $p < 0,001$ ), чем в подгруппе А. Следовательно, при медленной элиминации конкремента степень ингибирования ЦОГ значительно ниже в подгруппе Б.

Снижение активности TR-рецептора возобновилось через 7 суток – третья волна ингибирования ЦОГ, в процессе которой активность рецептора снизилась на 42,2% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с исходным уровнем и на 22,5% относительно предыдущего срока наблюдения ( $p < 0,001$ ); при этом достигалась гипореактивность рецептора. Следовательно, фармакокинетика НПВП при медленной элиминации конкрементов характеризовалась торможением ингибирования фермента в двух временных промежутках – между 24ч и 48ч, а также между 3- и 5- сутками после назначения НПВП. При прочих равных условиях (размер конкремента, отсутствие возрастных и гендерных различий, одинаковая доза НПВП) наличие таких промежутков можно объяснить установлением динамического равновесия между сигнальными механизмами, ограничивающими и повышающими уровень внутриклеточного  $Ca^{2+}$  в ГМК. В этом контексте, особое значение приобретает сопряженность сигнальных путей, связанных с TR-рецептором,  $\alpha_2$ -адренорецептором и  $P2X_1$ -рецептором. Установлено, что на 7 сутки ЛКТ активность указанных рецепторов находилась в диапазоне гипореактивности (Рисунок 6.3). Поддержание уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$  необходимого для оптимального сокращения МОМ при спонтанной элиминации средних конкрементов может достигаться при одновременной стимуляции (взаимодействии)  $\alpha_2$ -адренорецептора сопряженного с Gi-белком;  $P2X_1$ -рецептора, открывающего АТФ-зависимый катионный канал; TR-рецептора, связанного с Gq-G<sub>13</sub> белками.

Таким образом, при проведении ЛКТ выявлены различия фармакодинамики НПВП, назначение которых предусмотрено протоколами медикаментозного лечения пациентов с НЛТ. Во-первых, установлено, что при быстрой элиминации конкрементов, процесс ингибирования ЦОГ включал две волны. Первая волна состояла из двух фаз – более выраженной фазы, проявляющейся в первые 24ч, и меньшей по степени снижения активности TR-рецептора во второй фазе, которая продолжалась в течение последующих 24ч ЛКТ.



**Рис. 6.3. Реактивность TR-рецептора к TxA<sub>2</sub>, α<sub>2</sub>-адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора через 7 суток ЛКТ при наличии конкрементов средних размеров в верхней трети мочеточника.**

По оси ординат – индуцированная агрегация Тц (%); по оси абсцисс – вид рецептора.

С точки зрения совершенствования схемы консервативного лечения нефролитиаза, целесообразно выяснить причины, ограничивающие ингибирование ЦОГ и при необходимости разработать альтернативные механизмы релаксации ГМК мочеточника уже через 48ч после начала ЛКТ. Быстрая элиминация конкрементов из верхней трети мочеточника завершилась через 72ч на фоне заметного снижения активности TxA<sub>2</sub>-рецептора (вторая волна десенситизации). Степень ингибирования ЦОГ при второй волне превосходила значения таковой при первой волне, если сравнивать амплитуду активности рецептора с исходным значением. Складывается впечатление, что у части больных происходит усиление ингибирующего эффекта НПВП за счет влияния других фармакологических препаратов, входящих в состав ЛКТ. Проведенный многофакторный анализ взаимосвязи рецепторов выявил через 24ч положительную связь между

активностью  $\alpha_2$ -адренорецептора и ТР-рецептора ( $r_{\alpha_2AP-TP} = 0,601$ ,  $p < 0,05$ ), а также связь между активностью P2X<sub>1</sub>-рецептора и ТР-рецептора ( $r_{P2X-TP} = 0,358$ ;  $p < 0,05$ ). Через 48ч уменьшалась взаимосвязь между активностью  $\alpha_2$ -адренорецептора и ТР-рецептора ( $r_{\alpha_2AP-TP} = 0,406$ ,  $p < 0,05$ ) и сохранялась связь между активностью P2X<sub>1</sub>-рецептора и ТР-рецептора ( $r_{P2X-TP} = 0,314$ ;  $p < 0,05$ ). Через 7 суток сохранялась только положительная корреляция между активностью ТхА2-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора ( $r_{TP-\alpha_2AP} = 0,442$ ,  $p < 0,05$ ). Поскольку стимуляция  $\alpha_1$ -адренорецептора и ТР-рецептора сопровождается повышением внутриклеточного содержания  $Ca^{2+}$ , то можно предположить потенцирование эффектов норадреналина и ТР на ГМК. В этом случае, блокада  $\alpha_1$ -адренорецептора может проявляться снижением эффекта стимуляции ТР-рецептора. Во-вторых, при медленной элиминации конкрементов, процесс ингибирования ЦОГ включал три волны. Первая волна снижения активности ЦОГ и, соответственно, активности ТР-рецептора (менее выраженная, чем в подгруппе А) возникала через 24ч с переходом на плато в течение следующих 24ч. Вторая волна ингибирования ЦОГ проявлялась через 72ч ЛКТ, в результате чего снижение амплитуды активности рецептора было сопоставимым с таковым при первой волне; более того степень ингибирования была аналогичной таковой при первой волне в подгруппе А, соответственно 23,9% и 26,3%. Достигнутое ингибирование ЦОГ сохранялось у пациентов в течении 48ч (до 5 суток включительно); при этом устанавливалась нормореактивность ТР-рецептора.

Исследование *in vitro* степени ингибирования ЦОГ при назначении НПВП позволит оптимизировать схему ЛКТ за счет включения фармакологических препаратов, обеспечивающих усиление релаксации мышечной оболочки мочевыводящих путей. К таковым можно отнести регуляторы активности аденилатциклазы.

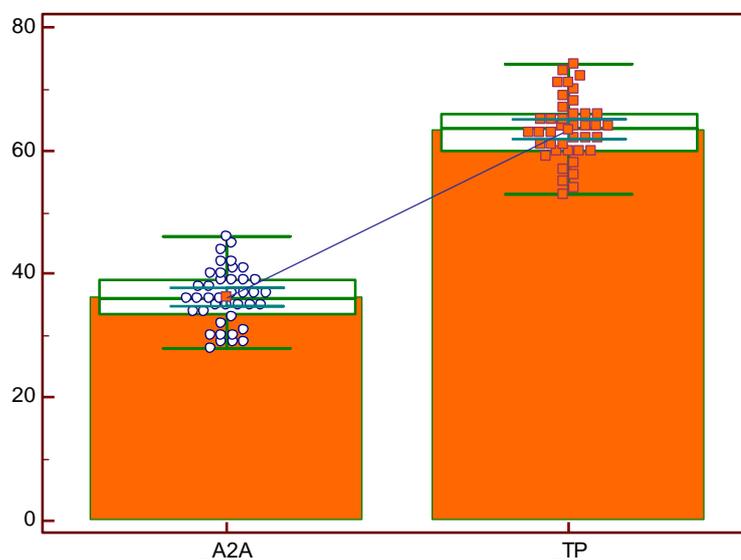
#### **6.4. Анализ *in vitro* внутриклеточной сигнализации, связанной с аденозиновым A2A-рецептором, при быстрой и медленной элиминации конкрементов на фоне ЛКТ.**

Установлено, что аддитивный релаксирующий эффект на ГМК мочеточника воспроизводят НПВП, поскольку ингибирование ЦОГ сопровождается снижением уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$ . Недостаточная эффективность ЛКТ, используемой при НЛТ, побуждает к поиску новых перспективных мишеней для разработки фармакологических препаратов способных индуцировать и поддерживать механизмы релаксации ГМК. Потенциальным кандидатом для включения в схему ЛКТ может считаться аденозин, однако в литературе отсутствует информация, касающаяся состояния аденозиновых рецепторов при НЛТ и в процессе траффика конкрементов.

*Цель исследования* – оценить активность аденозинового A2A-рецептора в процессе ЛКТ у пациентов с локализацией средних конкрементов (10,0-20,0мм) в верхней трети мочеточника.

*Исследовательский вопрос* – отличается ли активность аденозинового A2A-рецептора и TR-рецептора, модулирующих релаксацию МОМ, на фоне стандартной ЛКТ при элиминации средних конкрементов размерами из верхней трети мочеточника? До назначения ЛКТ выявлена гипореактивность A2A-рецептора и гиперреактивность TR-рецептора, что предопределяет высокое содержание внутриклеточного  $Ca^{2+}$  и контрактуру МОМ (Рисунок 6.4). Данное сочетание активности рецепторов является прогностически неблагоприятным фоном для спонтанной элиминации конкрементов средних размеров, поскольку нарушается регуляция фазы расслабления ГМК. При назначении ЛКТ элиминация конкрементов из верхней трети мочеточника имела место только у пациентов с гиперреактивностью A2A-рецептора. Повышение активности данного рецептора, при отсутствии фармакологических препаратов, способных стимулировать аденозиновые A2-

рецепторы, приводит к заключению о неспецифическом влиянии ЛКТ на микроциркуляцию и метаболизм пуриновых нуклеотидов, в результате чего повышается уровень аденозина.



**Рис. 6.4. Реактивность А2А-рецептора и ТР-рецептора к ТхА2 до ЛКТ при наличии средних конкрементов в верхней трети мочеточника.**

По оси ординат – индуцированная агрегация Тц (%); по оси абсцисс – вид рецептора.

Нельзя исключить, что ишемическое preconditionирование тканей мочеточника, связанное с длительным пребыванием конкрементов МВП, приводит к повышению экспрессии аденозиновых А2-рецепторов, увеличению активности эктоферментов (CD73) и нуклеотидаз (экто-5'-нуклеотидазы), участвующих в образовании аденозина при гипоксии, или снижению активности аденозиндезаминазы. Средние конкременты не выводились из верхней трети мочеточника при наличии у пациента гипореактивности А2А-рецептора, что, вероятно, связано с перманентным нарушением кровотока в тканях МВП при НЛТ. Как следствие гипоксии/ишемии тканей мочеточника, устанавливается низкий синтез АТФ в митохондриях и лимитируется образование внеклеточного аденозина в ГМК, или возникает дисфункция активности CD73.

*Исследовательский вопрос* – зависит ли скорость траффика конкремента средних размеров из верхней трети мочеточника от активности А2А-рецептора, если таковая модулирует степень сокращения стенки мочеточника? Анализ сроков выведения конкрементов проведен у пациентов 1-й группы, отличающихся скоростью траффика конкрементов. В подгруппах А и Б до назначения ЛКТ выявлена гипореактивность А2А-рецептора (Таблица 6.4).

Таблица 6.4

**Кинетика реактивности А2А-рецептора при быстрой (подгруппа А) и медленной (подгруппа Б) элиминации средних конкрементов из верхней трети мочеточника на фоне стандартной ЛКТ**

Срок наблюдения	Активность А2А-рецептора			
	Подгруппа А (n=20)		Подгруппа Б (n=20)	
	$\bar{x} \pm m$	Min–Max	$\bar{x} \pm m$	Min–Max
До ЛКТ	39,5±0,7	35,0-46,0	32,9±0,7 P <sub>А-Б</sub> <0,001	28,0-39,0
24 ч	46,1±1,0***	39,0-53,0	35,0±0,4* P <sub>А-Б</sub> <0,001	32,0-38,0
48 ч	52,1±0,7*** n=15	42,0-55,0	40,1±0,5*** P <sub>А-Б</sub> <0,001	37,0-45,0
72 ч	63,3±1,1*** n=15	55,0-68,0	40,2±0,7 P <sub>А-Б</sub> <0,001	35,0-45,0
5 суток	–		45,2±0,7***	40,0-51,0
6 суток	–		46,2±0,7***	42,0-54,0
7 суток	–		58,2±0,7***	53,0-64,0

Примечание: \*- достоверность различий показателя относительно предыдущего срока наблюдения на уровне  $p < 0,05$ ; \*\*\*- на уровне  $p < 0,001$ .

P<sub>А-Б</sub> - достоверность различий показателя между подгруппами А и Б.

В подгруппе А через 24ч после начала ЛКТ активность аденозинового рецептора повышалась на 16,7% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с исходным уровнем и находилась в диапазоне нормореактивности (первая фаза активации). Через 48ч у 5 (12,5%) пациентов на фоне нормореактивности А2А-рецептора ( $44,0 \pm 0,7\%$ ; 95% ДИ 42,0-46,0%) подтверждена элиминация конкрементов из верхней трети мочеточника, при этом активность рецептора превышала исходные значения на 11,4% ( $p < 0,001$ ). У оставшихся 15 пациентов локализация конкрементов не изменилась, хотя активность данного рецептора увеличилась на 13,0% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с предыдущим исследованием и возросла на 31,9% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с исходным значением. Отмеченный уровень активности А2А-рецептора соответствовал диапазону нормореактивности. Следовательно, достижение нормореактивности А2А-рецептора в процессе ЛКТ не во всех случаях соответствовало быстрой элиминации конкрементов из верхней трети мочеточника. Вероятно, достижение нормореактивности А2А-рецептора в процессе ЛКТ не является пороговым значением для реализации траффика конкрементов у всех пациентов данной когорты, поскольку (а) не достигается оптимальный эффект блокады  $\alpha_{1A}$ -АБ на ГМК и/или (б) доминируют патогенетические факторы, поддерживающие сокращение мышечной оболочки мочеточника; к таковым можно отнести САС, усиление синтеза ТхА2, повышение уровня внеклеточного АТФ. Через 72ч после начала ЛКТ у 15 пациентов конкременты перемещались из верхнего отдела в средний или нижний отделы мочеточника; процесс траффика происходил на фоне гиперреактивности А2А-рецептора; активность данного рецептора увеличилась на 21,5% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с исходным значением и – на 60,2% ( $p < 0,001$ ) относительно исходных значений (вторая фаза активации рецептора). Таким образом, одним из условий быстрой элиминации конкрементов являлось достижение уровня гиперреактивности А2А-рецептора. Судя по приросту активности рецептора через 24ч–48ч–72ч относительно исходных значений, соответственно, на 16,7% – 31,9% – 60,2%, аденозин воспроизводил усиление внутриклеточной

сигнализации в ГМК; вероятно, при достижении гиперреактивности достигалась максимальная релаксация мышечной оболочки МВП, что способствовало трафику средних конкрементов.

В подгруппе Б через 24ч ЛКТ активность А2А-рецептора сохранялась в диапазоне гипореактивности. В течение 48ч (первая фаза) после начала ЛКТ активность рецептора возрастала на 14,6% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с исходными значениями и сохранялась на стационарном уровне в течение 72ч. Следовательно, у данного контингента больных на протяжении трех суток поддерживалась гипореактивность А2А-рецептора, при этом ни в одном случае не наблюдалось элиминации конкрементов. Вторая фаза усиления аденозиновой сигнализации проявлялась через 5 суток, когда активность рецептора повысилась на 12,4% и 37,4% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с предыдущей и исходной точкой наблюдения; при этом достигалась нижняя граница нормореактивности рецептора. На достигнутом уровне нормореактивности А2А-рецептора сохранялась в течение 6 суток ЛКТ. Через 5-6 суток после начала ЛКТ элиминация конкрементов не выявлена ни в одном случае. Третья фаза активации А2А-рецептора – воспроизводилась через 7 суток, в течение которых наблюдалось выведение конкрементов из верхней трети мочеточника у всех пациентов. Активность А2А-рецептора увеличилась на 28,8% и 76,9% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с предыдущим и исходным сроками наблюдения; при этом достигался диапазон гиперреактивности. Следовательно, при быстрой и медленной элиминации конкрементов развивается стереотипная компенсаторная реакция, направленная на релаксацию ГМК, для которой характерно достижение гиперреактивности А2А-рецептора. При быстрой элиминации реактивность аденозиновой сигнализации характеризовалась двумя фазами: восстановлением и поддержанием нормореактивности А2А-рецептора на протяжении первых 48ч ЛКТ и возникновением гиперреактивности рецептора в течение последующих 24ч.

При медленной элиминации конкрементов – проявлялись три фазы реактивности аденозиновой сигнализации. Первая фаза длительностью 48ч, когда сохранялась гипореактивность A<sub>2A</sub>-рецептора, несмотря на проведение ЛКТ; вторая – продолжительностью 96ч (с 3 по 6 сутки), когда восстанавливалась и поддерживалась нормореактивность рецептора; третья фаза – достижение уровня гиперреактивности A<sub>2A</sub>-рецептора в течении 24 часов (7 сутки ЛКТ). Таким образом, при медленном трафике конкрементов по сравнению с быстрой элиминацией, принципиальное отличие касается длительности фаз гипореактивности (двое суток) и нормореактивности (четыре суток) A<sub>2A</sub>-рецептора. Установление кинетики активности A<sub>2A</sub>-рецептора и временных промежутков дисфункции аденозиновой внутриклеточной сигнализации обосновывает необходимость разработки агонистов аденозиновых рецепторов в качестве нового терапевтического подхода при консервативном лечении нефролитиаза.

Таким образом, стандартная ЛКТ при нефролитиазе может влиять на активность аденозинового A<sub>2A</sub>-рецептора, который модулирует релаксацию ГМК мочеточника. Анализ трансформации пуриновых нуклеотидов в стенке мочевыводящих путей при их обструкции конкрементом, а также исследование влияния аденозина на мышечный тонус ГМК при длительной дилатации мочеточника позволит оценить перспективу использования агонистов A<sub>2</sub>-рецепторов для совершенствования тактики медикаментозного лечения нефролитиаза.

## ГЛАВА 7

### СИГНАЛЬНАЯ ТРАНСДУКЦИЯ ЭЛИМИНАЦИИ МЕЛКИХ КОНКРЕМЕНТОВ ИЗ СРЕДНЕЙ ТРЕТИ МОЧЕТОЧНИКА ПРИ ЛКТ

#### 7.1. Сигнальная трансдукция при неэффективной элиминации мелких конкрементов из средней трети мочеточника

Целесообразность назначения селективных  $\alpha_{1A}$ -адреноблокаторов остается дискуссионной в случаях, когда размер конкремента в МВП менее 5 мм [67]. До настоящего времени отсутствует понимание тактики совершенствования ЛКТ применительно к размеру конкремента. В частности, требует изучения внутриклеточная сигнализация, обеспечивающая включение компенсаторной реакции гладкой мышечной ткани, направленной на выведение из просвета мелких конкрементов. Необходимо выяснить – остается ли сигнальная трансдукция в ГМК на протяжении всего периода консервативной терапии неизменной, или претерпевает изменения? При НЛТ перистальтика мочеточника регулируется гуморальными механизмами, посредством САС и РАС [166], а также паракринными механизмами (АТФ, АДФ, аденозином, NO, секретлируемые уротелием, ГМК), в которых участвуют Тц и лейкоциты [144].

*Гипотеза.* Если при обструктивной нефропатии функционирует системная и локальная регуляция перистальтики мочеточника, а ЛКТ модулирует релаксацию гладкой мышечной ткани, то при неэффективной элиминации мелких конкрементов (<6мм) устанавливается сигнальная трансдукция, негативно влияющая на функцию ГМК. В этом контексте исследование сигнализации, участвующей в процессах сокращения и расслабления ГМК, позволит приблизиться к пониманию механизмов ответственных за нарушение выведения мелких конкрементов из мочеточника при ЛКТ.

*Цель исследования* – оценить активность рецепторов, контролирующих сокращение ( $\alpha_2$ -адренорецептора, пуриновых P2X<sub>1</sub>- и P2Y-рецепторов,

ангиотензинового АТ<sub>1</sub>-рецептора, ТР-рецептора) и релаксацию ГМК (аденозинового А<sub>2</sub>-рецептора) при неэффективной элиминации мелких (4,20±1,2 мм; min-max 1,0-6,0мм) конкрементов из средней трети мочеточника в процессе стандартной ЛКТ (3 группа).

До начала ЛКТ при анализе рецепторного аппарата Тц у всей когорты больных обнаружена гиперреактивность α<sub>2</sub>-адренорецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора, нормореактивность Р<sub>2</sub>Х<sub>1</sub>-рецептора, Р<sub>2</sub>У-рецепторов и А<sub>2</sub>А-рецептора, а также гипореактивность ТР-рецептора (Таблица 7.1).

Таблица 7.1.

**Кластер активности рецепторов до ЛКТ мелких конкрементов, расположенных в средней трети мочеточника.**

Вид рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{x} \pm SD$	Размах (Min –Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
α <sub>2</sub> -адренорецептор	64,8±0,5	56,0-69,0	63,8-	65,8
АТ <sub>1</sub> -рецептор	58,5±0,8*** P <sub>α2AP</sub> <0,001	50,0-68,0	57,0	60,1
Р <sub>2</sub> У-рецептор	54,5±0,5*** P <sub>АТ1</sub> <0,001	50,0-62,0	53,5	55,6
А <sub>2</sub> А-рецептор	52,8±0,5*** P <sub>Р2У</sub> <0,05	48,0-60,0	51,7	54,0
Р <sub>2</sub> Х <sub>1</sub> -рецептор	51,9±1,0***	45,0-66,0	49,8	54,0
ТР-рецептор	40,0±1,8*** P <sub>Р2Х</sub> <0,001	31,0-65,0	36,4	43,7

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности α<sub>2</sub>-адренорецептора на уровне p<0,001. P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора.

Активность α<sub>2</sub>-адренорецептора превышала таковую АТ<sub>1</sub>-рецептора на 10,8% (P<0,001). Кластер функциональной активности рецепторов может быть представлен следующим образом: активность α<sub>2</sub>-адренорецептора > активности АТ<sub>1</sub>-рецептора > активности Р<sub>2</sub>У-рецепторов > активности А<sub>2</sub>А-рецептора > активности Р<sub>2</sub>Х<sub>1</sub>-рецептора > ТР-рецептора. Следовательно, компенсаторные механизмы, направленные на спонтанную элиминацию

конкрементов мелких размеров из средней трети мочеточника, характеризуются усилением сократительной активности ГМК (отражением чего является гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора и  $AT_1$ -рецептора). Включение данных компенсаторных механизмов может быть обусловлено активацией САС и РАС (результат ноцицепции при «почечной колике»). Поскольку стандартная ЛКТ не во всех случаях сопровождалась перемещением мелких конкрементов из средней трети мочеточника, то логично предположить наличие различий в регуляции компенсаторных механизмов моторики мочеточника.

*Исследовательский вопрос* – отличается ли внутриклеточная сигнализация, модулирующая функциональную активность ГМК при эффективной и неэффективной ЛКТ? Проведенный анализ показал, что НЭК проявлялась гиперреактивностью  $AT_1$ -рецептора,  $P2X_1$ -рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора,  $TR$ -рецептора,  $P2Y$ -рецепторов, аденозинового  $A2A$ -рецептора (Таблица 7.2). Активность  $AT_1$ -рецептора была доминирующей, поскольку превышала таковую  $P2X_1$ -рецептора на 3,4% ( $p < 0,05$ ),  $\alpha_2$ -адренорецептора на 5,1% ( $p < 0,05$ ),  $TxA_2$ -рецептора на 9,1% ( $p < 0,01$ ),  $P2Y$ -рецептора на 9,7% ( $P < 0,001$ ) и  $A2A$ -рецептора – на 12,8% ( $P < 0,001$ ). Повышение функциональной активности  $AT_1$ -рецептора при НЛТ может обсуждаться как фактор усиления моторики мочеточника. Впервые [339] продемонстрировали, что ангиотензин-2 модулирует сократительную функцию гладкой мускулатуры мочеточника человека. Гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора при локализации мелких конкрементов в средней трети мочеточника подтверждает участие САС в усилении перистальтики МВП. Известно, что катехоламины провоцируют нарушение микроциркуляции и развитие гипоксии/ишемии тканей МВП, индикатором которой считается увеличение содержания внеклеточного АТФ [435].

Таблица 7.2

**Активность рецепторов Тц при не эффективной и эффективной ЛКТ у  
пациентов с локализацией мелких конкрементов  
в средней трети мочеточника**

Вид рецептора	Среднее значение активности рецептора (%), $\bar{X} \pm SD$	Min –Max	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
<b>Не эффективная ЛКТ (n=17)</b>				
AT <sub>1</sub> -рецептор	64,7±0,6	62,0-68,0	63,3	66,0
P2X <sub>1</sub> -рецептор	62,5±0,8 p<0,05	58,0-66,0	60,7	64,3
α <sub>2</sub> -адренорецептор	61,4±1,1*	56,0-65,0	59,0	63,8
TR-рецептор	58,8±1,6***	51,0-65,0	55,2	62,4
P2Y-рецепторы	58,4±0,7***	54,0-62,0	56,7	60,1
A2A-рецептор	56,4±0,8***	52,0-60,0	54,6	58,2
<b>Эффективная ЛКТ (n=48)</b>				
AT <sub>1</sub> -рецептор	56,5±0,7 P<0,001	50,0-62,0	55,1	57,8
P2X <sub>1</sub> -рецептор	48,3±0,3 P<0,001	45,0-52,0	47,6	49,0
α <sub>2</sub> -адренорецептор	65,9±0,3 P<0,01	63,0-69,0	65,2	66,6
TR-рецептор	33,8±0,3 P<0,001	31,0-37,0	33,1	34,5
P2Y-рецепторы	53,2±0,4 P<0,001	50,0-58,0	52,3	54,2
A2A-рецептор	51,7±0,5 P<0,001	48,0-58,0	50,6	52,8

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности AT<sub>1</sub>-адренорецептора. P– достоверность различий активности рецептора при неэффективной ЛКТ уровне p<0,001 по сравнению с значениями при эффективной ЛКТ.

Увеличение продукции аденозина и стимуляция A2A-рецептора является защитной реакцией, призванной обеспечить вазодилатацию и ограничение ишемии при НЛТ; при этом аденозинергическая сигнализация воспроизводит релаксацию ГМК. Повышение синтеза ТхА2, связанного с активацией ЦОГ, отражает наличие пиелонефрита; стимуляция TP-рецептора может рассматриваться как триггер сокращения ГМК. Таким образом, нефролитиаз сопровождается фоновой сигнальной трансдукцией способной модулировать перистальтику мочеточника.

При ЭЭК имела место гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора, нормореактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов и A2A-рецептора, а также гипореактивность TP-рецептора. Следовательно, стереотипными механизмами регуляции компенсаторных реакций моторики мочеточника, независимо от исхода элиминации, являлись чрезмерная стимуляция  $\alpha_2$ -адренорецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора. Поскольку  $\alpha_2$ -адренорецептор сопряжен с Gi-белком, а АТ<sub>1</sub>-рецептор – с Gq белком, то можно ожидать повышение содержания внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> с целью усиления сокращения ГМК. На этом фоне перемещение конкремента можно трактовать, как поддержание баланса механизмов, регулирующих сокращение-расслабление МОМ; при этом физиологическая активность звена цАМФ-протеинкиназаА обеспечивает снижение содержания внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> с целью расслабления ГМК.

При НЭК до начала ЛКТ активность АТ<sub>1</sub>-рецептора была больше на 14,5% (p<0,001), P2X<sub>1</sub>-рецептора – на 29,4% (p<0,001), TP-рецептора – на 74,0% (p<0,001), P2Y-рецепторов – на 9,8% (p<0,001), A2A-рецептора – на 9,1% (p<0,001); тогда как активность –  $\alpha_2$ -адренорецептора – меньше на 6,8% (p<0,001), чем при ЭЭК. Нарушение моторики мочеточника, несмотря на повышение активности A2A-рецептора, вероятно, связано с накоплением избытка ионов Ca<sup>2+</sup> в цитоплазме ГМК при одновременной чрезмерной стимуляции рецепторов, обеспечивающих повышение внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>.

*Исследовательский вопрос* – сопровождается ли стандартная ЛКТ изменением активности рецепторов, модулирующих перистальтику в средней трети мочеточника у пациентов при неэффективной элиминации мелких конкрементов? Установлено, что через 3 суток ЛКТ сохранялась гиперреактивность АТ<sub>1</sub>-рецептора, хотя его активность и снизилась на 10,2% (P<0,001) по сравнению с исходными значениями (Таблица 7.3).

Таблица 7.3

**Активность рецепторов Тц (%) при неэффективной элиминации мелких конкрементов из средней трети мочеточника на фоне стандартной ЛКТ.**

Агонист	Сроки наблюдения					
	3 суток		6 суток		9 суток	
	$\bar{x} \pm m$	Min– Max	$\bar{x} \pm m$	Min– Max	$\bar{x} \pm m$	Min– Max
Ан-2	58,1±0,5	45,0- 52,0	61,3±1,0 P <sub>3-6</sub> =0,029	56,0- 66,0	66,9±0,9 P <sub>6-9</sub> <0,001	60,0- 70,0
АА	54,0±0,8	50,0- 58,0	60,6±0,9 P <sub>3-6</sub> <0,001	55,0- 64,0	63,5±0,9 P <sub>6-9</sub> =0,030	58,0- 67,0
АТФ	53,5±0,9	47,0- 57,0	58,6±0,9 P <sub>3-6</sub> =0,001	54,0- 63,0	40,7±1,1 P <sub>6-9</sub> <0,001	36,0- 46,0
Адреналин	51,3±1,0	46,0- 56,0	47,8±0,9 P <sub>3-6</sub> =0,021	44,0- 53,0	42,5±0,6 P <sub>6-9</sub> <0,001	38,0- 45,0
АДФ	49,5±0,8	47,0- 57,0	62,7±0,9 P <sub>3-6</sub> <0,001	56,0- 66,0	69,3±0,8 P <sub>6-9</sub> <0,001	64,0- 73,0
Аденозин	48,4±1,0	45,0- 54,0	59,7±1,1 P <sub>3-6</sub> <0,001	56,0- 68,0	68,8±1,1 P <sub>6-9</sub> <0,001	63,0- 74,0

Примечание: P<sub>3-6</sub>- достоверность различий показателя между сроком наблюдения 3 суток и 6 суток литокинетической терапии; P<sub>9-6</sub>- достоверность различий показателя между сроком наблюдения 6 суток и 9 суток литокинетической терапии. АА- арахидоновая кислота.

Активность других рецепторов соответствовала диапазону нормореактивности, при этом отмечено статистически значимое снижение активности α<sub>2</sub>-адренорецептора – на 16,5%, P2Y-рецепторов – на 15,2%, P2X<sub>1</sub>-

рецептора – на 14,4%, A2A-рецептора – на 14,2% и TP-рецептора – на 8,2% по сравнению с исходными значениями. Анализ множественной корреляции выявил связь между активностью АТ<sub>1</sub>-рецептора и α<sub>2</sub>-адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, соответственно,  $r_{AT_1-\alpha_2AP}=0,366$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{AT_1-P2X}=0,482$  ( $p<0,05$ ), что подтверждает слабый синергизм этих рецепторов в плане возможности усиления сократительной активности ГМК. Стимуляции АТ<sub>1</sub>-рецептора могла быть связана с необходимостью усиления спонтанной сократительной активности в гладкомышечной ткани на фоне использования блокатора α<sub>1A</sub>-адренорецептора. При этом усиление перистальтики мочеточника может достигаться путем как прямой стимуляции ГМК, так и опосредованно – вследствие усиления синтеза норадреналина в вегетативных ганглиях и активации α<sub>1</sub>-адренорецептора [39]. Тем не менее, сохраняющаяся активность РАС не обеспечивала усиления перистальтики мочеточника необходимого для удаления конкрементов. Таким образом, одной из причин нарушения элиминации мелких конкрементов в течение 3 суток ЛКТ могла быть недостаточная сократительная активность МОМ, связанная с перестройкой сигнальной трансдукции на фоне медикаментозной терапии. Вероятно, ограничение активности α<sub>2</sub>-адренорецептора, пуриновых P2Y-рецепторов и P2X<sub>1</sub>-рецепторов не позволяет достигнуть необходимой силы сокращения ГМК. Сохраняющаяся активность РАС не обеспечивала включение аддитивных компенсаторных механизмов усиления перистальтики вследствие слабого синергизма АТ<sub>1</sub>-рецептора с другими рецепторами.

Через 6 суток ЛКТ активность АТ<sub>1</sub>-рецептора повысилась на 5,5%, P2X<sub>1</sub>-рецептора – на 9,5%, ТХА2-рецептора – на 12,2%, A2A-рецептора – на 23,3% и P2Y-рецепторов – на 17,4%, по сравнению с предыдущим сроком наблюдения ( $p<0,05$ ). Активность α<sub>2</sub>-адренорецептора сохранялась на уровне нормореактивности. Поддержание высокой активности АТ<sub>1</sub>-рецептора и восстановление гиперреактивности TP-рецептора, пуриновых P2 рецепторов и A2A-рецептора свидетельствует, что стандартная ЛКТ не оказывала существенного влияния на активность РАС, ЦОГ, и не обеспечивала

профилактику ишемии тканей МВП. Можно было ожидать, что увеличение активности P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y рецепторов и АТ<sub>1</sub>-рецептора повысит силу сокращения МОМ и обеспечит выведение мелких конкрементов. Тем не менее, элиминация мелких конкрементов в течение 6 суток ЛКТ не происходила. Объяснение этому факту можно найти в существующей сигнальной трансдукции ГМК. Во-первых, анализ множественной корреляции выявил отрицательную корреляционную связь между активностью А2А-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, α<sub>2</sub>-адренорецептора, соответственно  $r_{A2A-P2X} = -0,333$  ( $p < 0,05$ ) и  $r_{A2A-\alpha2AP} = -0,578$  ( $p < 0,05$ ). Данные факты могут трактоваться как проявление защитного антигипоксического механизма аденозина, направленного на устранение вазоконстрикции путем снижения чувствительности рецепторов, модулирующих сокращение ГМК. «Побочным» эффектом воздействия аденозина являлось снижение силы перистальтики мочеточника. Во-вторых, обнаруженная корреляционная связь между активностью АТ<sub>1</sub>-рецептора и P2Y-рецептора ( $r_{AT1-2Y} = 0,313$ ;  $p < 0,05$ ), а также между активностью P2X<sub>1</sub>-рецептора и α<sub>2</sub>-адренорецептора ( $r_{P2X-\alpha2AP} = 0,388$ ;  $p < 0,05$ ) отражает слабую взаимосвязь рецепторов, способных повысить силу сокращения ГМК. Следовательно, несмотря на увеличение активности P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y рецепторов и о АТ<sub>1</sub>-рецептора, элиминация мелких конкрементов не достигалась. Одной из причин этого явления может быть снижение силы сокращения ГМК при включении сигнализации опосредованной аденозином и А2Арецептором. Данный защитный механизм включается при ишемии тканей и направлен на устранение вазоконстрикции посредством усиления продукции цАМФ в эндотелии и ГМК [126]. Проявлением системного влияния стимуляции А2А-рецептора может быть снижение сократимости гладкой мышечной ткани [141]. Более того установлено, что взаимодействие А2А-рецептора и пуринового P2Y<sub>12</sub> имеет место в модуляции уровня внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> в ГМК [150]. Еще одной причиной нарушения траффика мелких конкрементов может быть недостаточный синергизм при стимуляции P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y рецепторов и

АТ<sub>1</sub>-рецептора, способных повысить содержание внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>. Даже при наличии гиперреактивности данных рецепторов, их взаимодействие оказалось малоэффективным в плане увеличения силы сокращения ГМК. Вероятно, открытие катионного канала (P2X<sub>1</sub>-рецептор) и активация сигнальных путей, связанных с G<sub>q</sub>-белком (P2Y<sub>1</sub>- и АТ<sub>1</sub>-рецепторы), не оптимизируют процесс взаимодействия актиновых и миозиновых филаментов. Сигнальная трансдукция в ГМК могла бы существенно измениться в случае взаимодействия адреналина (α<sub>2</sub>-адренорецептор–G<sub>i</sub>-белок) и АДФ (P2Y<sub>12</sub>-рецептор–G<sub>i</sub>-белок и P2Y<sub>1</sub>-рецептор–G<sub>q</sub>-белок), поскольку доказано достижение синергизма рецепторов в случае ко-активации внутриклеточных сигнальных систем ассоциированных с G<sub>i</sub> - и G<sub>q</sub> - белками. Считается, что α<sub>2</sub>-адренергические рецепторы имеют общие перекрестные механизмы с G<sub>q</sub>-сигнальным путем, опосредованные ФИЗ-киназами/Akt [235]. При реализации эффекта синергизма адреналин дополнительно вызывает секрецию плотных гранул, фосфорилирование белка плекстрина протеинкиназы С и усиливает сигнализацию от P2X<sub>1</sub>-рецептора. Добавление адреналина к Тц также может стимулировать активацию Rap-1b. Однако, при нормореактивности α<sub>2</sub>-адренорецептора данный механизм, вероятно, не воспроизводится.

Через 9 суток ЛКТ активность А2А-рецептора повысилась на 15,2%, P2Y-рецептора – на 10,5%, АТ<sub>1</sub>-рецептора – на 9,1% и ТХА2-рецептора – на 5,8%, по сравнению со сроком наблюдения 6 суток (p<0,05). Реактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора и α<sub>2</sub>-адренорецептора снизилась, соответственно, на 30,6% и 11,1% (p<0,05), и находилась в диапазоне гипореактивности. В данный срок наблюдения только АТ<sub>1</sub>-рецептор и P2Y-рецепторы могли повысить моторику МОМ. Причины нарушения элиминации мелких конкрементов следует искать в изменениях сигнальной трансдукции, модулирующей перистальтику мочеточника. Следует признать, что стандартная ЛКТ в течение 9 суток не обеспечивала профилактику гипоксии/ишемии МВП, активации РАС и пиелонефрита, влияние которых на сигнализацию в ГМК являлось

критическим. Подтверждением этой гипотезы может быть факт усиления пуринергической сигнализации, направленной на ограничение гипоксии/ишемии МВП. Наличие положительной корреляционной связи между активностью P2Y-рецепторов, A2A-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, соответственно,  $r_{P2Y-A2A}=0,540$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{P2Y-P2X}=0,322$  ( $p<0,05$ ) подтверждает интенсификацию пуринового метаболизма. По сравнению с предыдущим сроком наблюдения, увеличивалась сила отрицательной корреляционной связи между активностью A2A-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора, соответственно  $r_{A2A-P2X}=-0,704$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{A2A-\alpha_2AP}=-0,690$  ( $p<0,05$ ). В тоже время, не проявлялась связь между активностью A2A-рецептора и P2Y-рецепторов. Аденозин селективно снижал активность P2X<sub>1</sub>-рецептора и  $\alpha_2$ -адренорецептора, но не влиял на P2Y-рецепторы. Такая ситуация обсуждалась в литературе в связи с десенситизацией P2X<sub>1</sub>-рецептора при чрезмерной стимуляции A2A-рецептора [199].

Наличие положительной корреляционной связи высокой силы между активностью P2Y-рецепторов и AТ<sub>1</sub>-рецептора ( $r_{P2Y-AT1}=0,767$ ;  $p<0,05$ ), вероятно, отражает возможность ко-активации Gq-белка и повышения осцилляции внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> посредством сигнального пути ассоциированного с фосфолипазой C $\beta$ . Взаимосвязь указанных рецепторов была значительно сильнее по сравнению с предыдущим сроком наблюдения, что может быть фактором риска гипертонуса гладкой мышечной ткани и, как следствие, нарушения моторики мочеточника. Объяснение этого феномена можно найти у [360]. Установлено, что в случае стимуляции рецепторов, связанных с Gq-белком (такowymi являются P2Y-рецепторы и AТ<sub>1</sub>-рецептор) развивается чрезмерное сокращение гладких мышц вследствие одновременной стимуляции двух независимых сигнальных путей с участием фосфолипазы C $\beta$  и тирозиновой киназы SFK. С нашей точки зрения, повышение внеклеточного АДФ является ключевым механизмом нарушения траффика мелких конкрементов, поскольку стимуляции P2Y<sub>12</sub>-рецептора

может вызывать длительное сокращение гладкой мышечной ткани, вследствие медленной десенситизации данного рецептора [37].

Таким образом, факторы патогенеза НЛТ, а также фармакологические препараты, входящие в состав стандартной ЛКТ, модулируют сигнальную трансдукцию в клетках-мишенях, что предопределяет нарушение элиминации мелких конкрементов из среднего отдела мочеточника. Через 3 суток ЛКТ внутриклеточная сигнализация характеризуется гиперреактивностью  $AT_1$ -рецептора и нормореактивностью  $\alpha_2$ -адренорецептора,  $P2X_1$ -рецептора,  $P2Y$ -рецепторов, модулирующих сокращение гладкомышечных клеток; слабый синергизм  $AT_1$ -рецептора с  $\alpha_2$ -адренорецептором и  $P2X_1$ -рецепторами лимитирует возможности усиления сокращения гладкой мышечной ткани мочеточника. Через 6 суток ЛКТ недостаточная сократительная активность ГМК может быть связана с ограничением активации  $\alpha_2$ -адренорецептора, а также слабым взаимодействием  $AT_1$ -рецептора с пуриновыми  $P2X_1$ - и  $P2Y$ -рецепторами. Через 9 суток ЛКТ нарушение траффика мелких конкрементов в мочеточнике связано с десенситизацией  $\alpha_2$ -адренорецептора и  $P2X_1$ -рецептора, а также гиперреактивностью и взаимодействием  $AT_1$ -рецептора и  $P2Y$ -рецепторов.

## **7.2. Сигнальная трансдукция при эффективной элиминации мелких конкрементов из средней трети мочеточника**

*Цель исследования* – установить роль пуриновых  $P2X_1$ -,  $P2Y$ -рецепторов и аденозинового  $A_2A$ -рецептора в патогенезе дисфункции мышечной оболочки и становлении компенсаторных механизмов, обеспечивающих эффективную элиминацию мелких ( $4,65 \pm 1,0$  мм; min-max 2,0-6,0мм) конкрементов из средней трети мочеточника в процессе ЛКТ (4-я группа).

*Исследовательский вопрос* – отличается ли активность  $P2X_1$ -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 P2X<sub>1</sub>-рецептора, тогда как во 2-й группе – его гипореактивность (Таблица 7.4).

Таблица 7.4

**Активность пуринового P2X<sub>1</sub>-рецептора при эффективной (1-я группа) и неэффективной (2-я группа) элиминации мелких конкрементов из средней трети мочеточника на фоне стандартной ЛКТ.**

Точка исследования	Функциональная активность P2X <sub>1</sub> -рецептора			
	1-я группа (n=48)		2-я группа (n=17)	
	$\bar{X} \pm m$	Min–Max	$\bar{X} \pm m$	Min–Max
До ЛКТ	48,3±0,3	45,0-52,0	42,3±1,3 P <sub>1-2</sub> <0,001	31,0-45,0
1-3 суток ЛКТ	54,5±0,5*** (n=48)	46,0-60,0	52,1±0,7*** P <sub>1-2</sub> <0,001	57,0-68,0
4-6 суток ЛКТ	59,3±0,4*** (n=43)	55,0-66,0	53,3±0,7 P <sub>1-2</sub> <0,001	51,0-56,0
7-9 суток ЛКТ	64,5±0,6*** (n=30)	58,0-69,0	48,4±0,7*** P<0,001	45,0-52,0

Примечание: \*\*\* - достоверность различий показателя относительно предыдущего срока наблюдения на уровне p<0,001. P<sub>1-2</sub> - достоверность различий показателя между 1-й и 2-й группой.

В процессе ЛКТ у пациентов 1-й группы отмечено постепенное повышение функциональной активности P2X<sub>1</sub>-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 суток 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 суток также имела место гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора (62,5±0,6%; 95%ДИ 61,1-63,8%). Данный факт позволяет рассматривать повышение активности P2X<sub>1</sub>-рецептора как стереотипную реакцию, обеспечивающую усиление

сократительной активности мышечной оболочки в средней трети мочеточника.

Во 2-й группе максимальное повышение активности P2X<sub>1</sub>-рецептора (на 23,2%; p<0,001 по сравнению с исходными данными) имело место в интервале 1-3 сутки ЛКТ. Установившийся диапазон нормореактивности данного рецептора сохранялся на протяжении всего периода наблюдения. На 7-9 сутки активность P2X<sub>1</sub>-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 пуринаргическая сигнализация, посредством стимуляции P2X<sub>1</sub>-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 МВП сопровождается высвобождением АТФ из клеток и повышением экспрессии P2X-рецепторов на ГМК [316]. Молекулы АТФ секретируются из эфферентных нервных окончаний вместе с норадреналином и могут усиливать сократительную активность мочеточника независимо от стимуляции  $\alpha_1$ -адренорецептора [140]. Во-вторых, стимуляция P2X-рецептора сопровождается деполяризацией и сокращением ГМК; в тоже время АТФ имеет решающее значение для инициации потенциалов действия в афферентных нервах [292]. В третьих, АТФ-чувствительные каналы (KIR6.2) могут модулировать релаксацию ГМК [375], 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 [111]. Применительно к анализу пуринаргической регуляции перистальтики мочеточника при НЛТ, важным представляется сопоставить активность P2X<sub>1</sub>-рецептора и P2Y-рецепторов, учитывая

возможность их взаимодействия при повышении сократительной активности ГМК [320].

*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 (Таблица 7.5).

Таблица 7.5

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

Точка исследования	Функциональная активность P2Y-рецепторов			
	1-я группа (n=48)		2-я группа (n=17)	
	$\bar{X} \pm m$	Min–Max	$\bar{X} \pm m$	Min–Max
До ЛКТ	53,2±0,4	50,0-58,0	48,5±0,3 P <sub>1-2</sub> <0,001	47,0-50,0
1-3 суток ЛКТ	51,7±0,5* (n=48)	45,0-59,0	59,1±0,7*** P <sub>1-2</sub> <0,001	57,0-63,0
4-6 суток ЛКТ	58,5±0,7*** (n=43)	50,0-66,0	69,4±0,5*** P <sub>1-2</sub> <0,001	67,0-71,0
7-9 суток ЛКТ	59,0±0,8 (n=30)	51,0-67,0	69,4±0,4 P<0,001	68,0-70,0

Примечание: \* - достоверность различий показателя относительно предыдущего срока наблюдения на уровне  $p < 0,05$ ; \*\*\*- на уровне  $p < 0,001$ . P<sub>1-2</sub> - достоверность различий показателя между 1-й и 2-й группой.

В 1-й группе нормореактивность P2Y-рецепторов сохранялась в раннем периоде (1-3 сутки) ЛКТ и сменялась их гиперреактивностью, начиная с 4-х суток медикаментозного лечения. Прирост активности через 4-6 суток ЛКТ составил 10,0% и через 7-9 суток–10,9% ( $p < 0,001$ ), что отражает достижение стационарного уровня пуринового метаболизма. Во 2-й группе через 1-3 суток 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 суток и 7-9 суток, 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 сутки ЛКТ. Остается вопрос – имеется ли связь между повышением активности P2Y-рецепторов и траффиком мелких конкрементов в мочеточнике, тем более, что гиперреактивность P2Y-рецепторов выявлена в обеих группах, начиная с 4 суток? В определенной степени ответом на этот вопрос могут быть результаты анализа взаимосвязи между активностью пуриновых P2X<sub>1</sub>- и P2Y-рецепторов. Установлено, что через 7-9 суток в 1-й и 2-й группах сила корреляционной связи отличалась, соответственно,  $r_{P2X-P2Y} = 0,375$  и  $r_{P2X-P2Y} = 0,611$  ( $p < 0,05$ ). Можно предположить, что при НЭК взаимодействие пуринергических рецепторов способствовало критическому повышению уровня внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> для которого характерно усиление базального тонуса (гипертонус) MOM [448]. При ЭЭК слабая сила связи между активностью P2X<sub>1</sub>- 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 антигипоксантичным и противовоспалительным эффектом [414]. В этом случае повышение активности аденозиновых A<sub>2</sub>-рецепторов могло бы рассматриваться как компенсаторный механизм, направленный на снижение негативного влияния гипоксии/ишемии на MOM и ингибирование воспаления в МВП при нефролитиазе. Изменяется ли при этом перистальтика мочеточника и влияет ли стимуляция A<sub>2A</sub>-рецепторов на траффик мелких конкрементов – не известно.

*Исследовательский вопрос* – отличается ли активность аденозинового A<sub>2A</sub>-рецептора при эффективной и неэффективной элиминации мелких конкрементов из средней трети мочеточника? До начала ЛКТ у пациентов 1-

й группы с ЭЭК выявлена нормореактивность A2A-рецептора, которая сохранялась в этом диапазоне на протяжении 9 суток ЛКТ (Таблица 7.6).

Таблица 7.6

**Активность аденозинового A2A-рецептора при эффективной (1-я группа) и неэффективной элиминации (2-я группа) мелких конкрементов из средней трети мочеточника на фоне стандартной ЛКТ.**

Точка исследования	Функциональная активность A2A-рецептора			
	1-я группа (n=48)		2-я группа (n=17)	
	$\bar{X} \pm m$	Min–Max	$\bar{X} \pm m$	Min–Max
До ЛКТ	51,7±0,5 (n=48)	48,0-58,0	46,6±0,3 P <sub>1-2</sub> <0,001	45,0-48,0
1-3 суток ЛКТ	49,0±0,2*** (n=48)	45,0-52,0	58,8±1,1*** P <sub>1-2</sub> <0,001	55,0-64,0
4-6 суток ЛКТ	45,4±0,7*** (n=43)	35,0-55,0	68,2±0,6*** P <sub>1-2</sub> <0,001	65,0-70,0
7-9 суток ЛКТ	49,5±0,7*** (n=30)	41,0-56,0	69,3±0,8 P <sub>1-2</sub> <0,001	66,0-73,0

Примечание: \*\*\* - достоверность различий показателя относительно предыдущего срока наблюдения на уровне  $p < 0,001$ . P<sub>1-2</sub> - достоверность различий показателя между 1-й и 2-й группой.

Известно, что при стимуляции A2A-рецепторов развивается релаксация ГМК, связанная с активацией K<sup>+</sup>-каналов [201]. Считается, что внеклеточный аденозин противодействует эффектам активации пуриновых P2-рецепторов; баланс между внеклеточным АТФ и аденозином регулируется главным образом активностью нуклеотидаз CD39 и CD73, которые формируют аденозинэргическую ось [199]. В этой связи сохранение нормореактивности P2X<sub>1</sub>-, P2Y-рецепторов и A2A-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 суток ЛКТ.

Через 4-6 суток ЛКТ обнаружено повышение активности P2X<sub>1</sub>-, P2Y-рецепторов и сохранение нормореактивности A2A-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 суток синхронно повышалась активность A2A-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, соответственно, на 9,0% и 8,8% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. При этом стимуляция A2A-рецептора оставалась в диапазоне нормореактивности; тогда как – P2X<sub>1</sub>-рецептора достигала максимального значения гиперреактивности. Применительно к случаям с доказанной элиминацией конкрементов, выявленные особенности пуринергической сигнализации могут трактоваться как свидетельство оптимальной модуляции внутриклеточного уровня Ca<sup>2+</sup> в ГМК, позволяющей координировать процесс сокращения и расслабления мышечной оболочки мочеточника.

У пациентов 2-й группы на этапе госпитализации выявлена нормореактивность A2A-рецептора, которая через 1-3 суток 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 суток прирост составил 46,3% и через 7-9 суток – 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 сутки и оставалась на стабильном уровне гиперреактивности в течение 9 суток. Необходимо отметить, что у пациентов 2-й группы активность A2A-рецептора была выше, чем в 1-й группе: через 1-3 суток – на 20,0%, 4-6 суток – на 50,2% и 7-9 суток – 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 суток сменялась гиперреактивностью P2X<sub>1</sub>-рецептора и P2Y-рецепторов при сохранении нормореактивности A2A-рецептора. При неэффективной элиминации в первые трое суток ЛКТ возникала гиперреактивность P2Y-рецепторов, A2A-рецептора и поддерживалась нормативность P2X<sub>1</sub>-рецептора; в дальнейшем активность P2Y-рецепторов и A2A-рецептора возрастала, а нормореактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора сохранялась.

Таким образом, при траффике мелких конкрементов в средней трети мочеточника изменяется активность пуриновых P1 и P2 рецепторов, способных модулировать содержание ионов Ca<sup>2+</sup> в ГМК, что подтверждает участие пуринергической сигнализации в регуляции перистальтики мочевыводящих путей при НЛТ. Эффективная элиминация мелких конкрементов воспроизводится на фоне гиперреактивности P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов и нормореактивности аденозинового A2A-рецептора. Данный кластер активности пуриновых рецепторов может обеспечить усиление сократительной активности ГМК при сохранении их базальной релаксации, что, вероятно, является оптимальным для траффика мелких конкрементов в средней трети мочеточника. Нарушение элиминации мелких конкрементов возникало у пациентов с нормореактивностью P2X<sub>1</sub>-рецептора, гиперреактивностью P2Y-рецепторов и A2A-рецептора. Ключевым фактором патогенеза дисфункции мочеточника может быть повышение содержания аденозина, снижающего уровень внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> в ГМК; при этом возникающее нарушение взаимодействия актиновых и миозиновых филаментов ограничивает сократительную активность МОМ, обеспечивающей траффик мелких конкрементов.

### **7.3. Анализ *in vitro* активности рецепторов, модулирующих моторику МВП при различной скорости траффика мелких конкрементов, через 3 суток ЛКТ.**

Ситуация с разработкой способов повышения эффективности ЛКТ при нефролитиазе может оказаться более сложной, чем представляется в настоящее время. Это связано с тем, что отсутствует понимание почему на фоне стандартной ЛКТ возможна разная скорость траффика конкрементов, или даже отсутствует их элиминации на протяжении нескольких недель. В этой связи следует учитывать несколько причин. Во-первых, нервная регуляция моторики мочеточника под влиянием вегетативной нервной системы, характеризуется индивидуальными особенностями пациентов, которые определяются полом, возрастом, выраженностью экспрессии разных типов  $\alpha$ -,  $\beta$ -адренорецепторов и М-холинорецепторов [226; 274]. Во-вторых, при нефролитиазе может существенно изменяться ауторегуляция мышечного тонуса мочеточника, связанная как с растяжением ГМК при прохождении конкрементов, так и спектром метаболитов, воздействующих на актомиозиновый комплекс [300]. В-третьих, логично предположить, что эффективность элиминации конкрементов зависит от особенностей регуляции перистальтики мочевыводящих путей (МВП) при траффике конкрементов разных размеров. Так, при наличии средних (10-20мм) и крупных (>20мм) конкрементов, когда воспроизводится полная обтурация просвета мочеточника, необходимо достигать максимальной релаксации мышечной оболочки мочеточника, тогда как траффик мелких конкрементов ( $\leq 6$ мм) требует фазного усиления сократительной активности гладкой мышечной ткани МВП. В-четвертых, элиминация конкрементов зависит от эффективности компенсаторных механизмов, направленных на усиление сократительной активности или релаксации мышечной оболочки мочеточника [253].

*Гипотеза.* Если элиминация мелких конкрементов связана с нервной и миогенной регуляцией ГМК, то компенсаторные реакции гладкой мышечной

ткани мочеточника контролируются сигнальными путями тех рецепторов, на которые воздействуют агонисты, представляющие регуляторные системы. В этом случае исследование активности рецепторов, участвующих в процессах сокращения и расслабления ГМК, позволит приблизиться к пониманию механизмов обеспечивающих разную скорость траффика конкрементов в мочевыводящих путях при ЛКТ.

*Цель исследования* – установить молекулярные механизмы, модулирующие траффик мелких конкрементов в средней трети мочеточника через 1-3 суток ЛКТ.

ЭЭК признавали состоявшейся, если по данным визуализационного контроля произошло перемещение конкремента из средней трети мочеточника в его нижнюю треть, интрамуральный отдел или просвет мочевого пузыря. Когорта больных 4-й группы была распределена на три подгруппы в зависимости от скорости траффика конкрементов, т.е. интервала времени в течении которого завершалось выведение конкремента из средней трети мочеточника. В подгруппе А с быстрой элиминацией конкрементов, траффик занимал от 1 до 3 суток; в подгруппе Б этот срок составил 4-6 суток (промежуточная элиминации); в подгруппе С имела место медленная элиминация – в течение 7-9 суток ЛКТ. Можно предположить, что при НЛТ компенсаторные механизмы, направленные на усиление моторики мочеточника, формируются под влиянием патогенетических факторов заболевания и детерминированы индивидуальной реактивностью организма. В этом случае, до начала ЛКТ в когорте больных имеются различия внутриклеточной сигнализации, предопределяющие качество компенсаторных реакций в гладкой мышечной ткани МВП.

*Исследовательский вопрос*- отличается ли сигнальная трансдукция до начала ЛКТ при быстром траффике (подгруппа А) и неэффективной элиминации мелких конкрементов (3 группа)? Быстрой элиминации предшествовала гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, нормореактивность пуриновых P2X<sub>1</sub>- и P2Y-рецепторов, аденозинового A<sub>2</sub>-рецептора и

ангиотензинового АТ<sub>1</sub>-рецептора, а также гипореактивность ТР-рецептора. У пациентов с НЭК выявлена гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, пуриновых Р2X<sub>1</sub>- и Р2Y-рецепторов, АТ<sub>1</sub>-рецептора, А2А-рецептора и ТР-рецептора (Таблица 7.7).

Таблица 7.7

**Активность рецепторов, модулирующих перистальтику мочеточника, на этапе госпитализации при наличии мелких конкрементов в средней трети мочеточника**

Агонисты	ЭЭК (подгруппа А) (n=10)		НЭК (n=17)	
	$\bar{x} \pm m$	Min–Max	$\bar{x} \pm m$	Min–Max
Адреналин	63,8±0,2	63,0-65,0	61,4±1,1	56,0-65,0
Ан-2	52,1±0,6	50,0-56,0	64,7±0,6 P <sub>1-2</sub> <0,001	62,0-68,0
АДФ	50,5±0,2	50,0-51,0	58,4±0,7 P <sub>1-2</sub> <0,001	54,0-62,0
Аденозин	48,8±0,2	48,00-50,0	56,4±0,8 P <sub>1-2</sub> <0,001	52,0-60,0
АТФ	46,4±0,2	45,0-47,0	62,5±0,8 P <sub>1-2</sub> <0,001	58,0-66,0
ТxA2	31,8±0,3	31,0-33,0	58,8±1,6 P <sub>1-2</sub> <0,001	51,0-65,0

Примечание: P<sub>1-2</sub>- достоверность межгрупповых различий значения показателя при эффективной быстрой (1-я группа, подгруппа А) и неэффективной (3-я группа) элиминации конкрементов.

Следовательно, различия в патогенезе дисфункции мочеточника могли быть связаны с предшествующей активацией РАС, тяжестью гипоксии/ишемии и пиелонефрита. Активация САС присутствовала во всей когорте больных и, следовательно, может рассматриваться как стереотипный механизм поддержания моторики мочеточника. Побочным эффектом данного механизма является вазоконстрикция почки и МВП. Судя по данным корреляционного анализа у пациентов с неэффективной элиминацией, нарушение органной микроциркуляции и развитие ишемии мышечной

оболочки мочеточника может быть связано с взаимодействием САС и РАС ( $r_{\alpha_2AP-AT_1}=0,404$ ;  $p<0,05$ ). У пациентов с быстрой элиминацией конкрементов коррелятивных связей активности  $\alpha_2$ -адренорецептора не выявлено, т.е. потенцирование вазотропного эффекта САС не воспроизводилось и можно было ожидать снижение тяжести гипоксии/ишемии тканей. Индикатором гипоксии/ишемии является уровень внеклеточного АТФ и АДФ [435]. В этой связи более высокая активность пуриновых P2X<sub>1</sub>- и P2Y-рецепторов (соответственно, на 34,7% и 15,6%;  $P<0,001$ ) у пациентов с неэффективной элиминацией подтверждает наличие микроциркуляторных нарушений и развитие гипоксии/ишемии в МВП. В этом контексте особый интерес представляет пуринергический P2X<sub>1</sub>-рецептор, поскольку (а) стимуляция данного рецептора сопровождается деполяризацией и сокращением ГМК; молекула АТФ имеет решающее значение для инициации потенциалов действия в афферентных нервах [293]. Выявленное увеличение внеклеточного содержания аденозина не обеспечивало устранение вазоконстрикции и ликвидацию гипоксии/ишемии тканей. Подтверждением этой гипотезы может быть наличие связи между активностью A2A-рецептора и P2Y-рецепторов ( $r_{A2A-P2Y}=0,559$ ;  $p<0,05$ ), и отсутствие таковой между активностью A2A-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора. В этом контексте, положительная корреляционная связь отражает зависимость продукции аденозина от содержания АДФ; в тоже время стимуляция A2A-рецептора не сопровождалась снижением активности рецепторов, модулирующих повышение тонуса ГМК. Обнаруженная корреляционная связь между активностью АТ<sub>1</sub>-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2Y-рецепторов, соответственно,  $r_{AT_1-\alpha_2AP}=0,606$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{AT_1-P2Y}=0,589$  ( $p<0,05$ ) отражает взаимосвязь рецепторов, способных повысить содержание внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> вследствие ко-активации сигнальных путей ассоциированных с Gq-, Gi-белками. Модулирующее влияние ангиотензина-2 на физиологическую и патофизиологическую регуляцию перистальтики мочеполовых путей доказано [85].

С нашей точки зрения, более значимой особенностью модуляции моторики мочеточника является накопление внеклеточного АДФ, который может вызывать длительное сокращение гладкой мышечной ткани посредством стимуляции P2Y<sub>12</sub>-рецепторов. Причиной этого феномена является медленная десенситизация данного рецептора [446]. Передача сигнала АДФ-P2Y<sub>12</sub>-рецептор жестко регулируется активностью эктонуклеотидаз и рецепторами аденозина [199]. В этой связи отсутствие элиминации мелких конкрементов может объясняться «чрезмерной» стимуляцией ГМК и развитием спастического состояния гладкой мышечной ткани, что нарушает трафик мелких конкрементов.

У пациентов с быстрой элиминацией мелких конкрементов выявленная нормореактивность пуриновых P2- и P1-рецепторов, свидетельствует о балансе механизмов сокращения и релаксации ГМК, позволяющем поддерживать микроциркуляцию в стенке мочеточника и сократительную функцию МОМ на физиологическом уровне. Одним из защитных механизмов, ограничивающих сокращение ГМК, нарушение микроциркуляции, развитие ишемии и воспаления, является аденозинергическая сигнализация. Выявленная отрицательная корреляционная связь между активностью A2A-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора и P2Y-рецепторов, соответственно,  $r_{A2A-P2X} = -0,622$  ( $p < 0,05$ ) и  $r_{A2A-P2Y} = -0,550$  ( $p < 0,05$ ), свидетельствует, что у данного контингента больных функционирует защитный антигипоксический механизм аденозина, обеспечивающий десенситизацию рецепторов, модулирующих сокращение ГМК. Данный механизм включается при ишемии тканей и направлен на устранение вазоконстрикции посредством усиления продукции цАМФ в эндотелии и ГМК [126]. Проявлением системного влияния стимуляции A2A-рецептора может быть снижение сократимости гладкой мышечной ткани [141]. Таким образом, вариабельность скорости трафика мелких конкрементов из средней трети мочеточника при ЛКТ определяется индивидуальными особенностями формирования и регуляции

компенсаторных механизмов при НЛТ, целью которых является оптимизация процессов сокращения и расслабления гладкой мышечной ткани МВП. Различия сигнальной трансдукции, связанные с индивидуальной реактивностью организма при НЛТ, обосновывают необходимость коррекции состава ЛКТ при локализации мелких конкрементов в средней трети мочеточника

Через 3 суток ЛКТ в подгруппе А быстрая элиминация конкрементов происходила на фоне гиперреактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2Y-рецепторов, AT<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора и – нормореактивности A2A-рецептора (Таблица 7.8). В подгруппе Б (промежуточная скорость траффика) через 3 суток ЛКТ выявлена гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2Y-рецепторов и AT<sub>1</sub>-рецептора, а также нормореактивность TP-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора и аденозинового A2A-рецептора. Кластер активности рецепторов может быть представлен следующим образом: активность  $\alpha_2$ -адренорецептора= активности AT<sub>1</sub>-рецептора =активности P2X<sub>1</sub>-рецептора> активности P2Y-рецепторов > активности A2A= активности TP-рецептора. В процессе ЛКТ повысилась активность P2X<sub>1</sub>-рецептора – на 16,5% (p<0,001) и TP-рецептора– на 37,9% (p<0,001); снизилась активность  $\alpha_2$ -адренорецептора на 12,9% (p<0,001) и P2Y-рецепторов на 14,8% (p<0,001); активность AT<sub>1</sub>-рецептора и A2A-рецептора не изменилась по сравнению с исходным уровнем.

Таким образом, стереотипным механизмом усиления траффика мелких конкрементов, оставалась стимуляция P2X<sub>1</sub>-рецептора. Новым аддитивным механизмом являлась восстановление до нормореактивности TP-рецептора. Факт повышения активности TxA<sub>2</sub>-рецептора при разных сроках элиминации мелких конкрементов свидетельствует о необходимости восстановления тонуса ГМК, нарушенного ингибированием ЦОГ.

Таблица 7.8.

**Кластер активности рецепторов Тц через 3 суток ЛКТ.**

Вид рецептора	Среднее значение активности рецептора (%), $\bar{X} \pm SD$	Min –Max	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
Подгруппа А (n=10)				
$\alpha_2$ -адренорецептор	65,4±0,7	62,0-68,0	63,9	66,9
P2Y-рецепторы	60,0±0,8***	56,0-64,0	58,1	61,8
AT <sub>1</sub> -рецептор	59,7±0,9	56,0-64,0	57,7	61,7
TxA <sub>2</sub> -рецептор	57,3±1,3	52,0-62,0	54,4	60,2
P2X <sub>1</sub> -рецептор	56,6±0,9	54,0-60,0	54,6	58,6
A <sub>2A</sub> -рецептор	48,7±0,8***	46,0-52,0	46,8	50,6
Подгруппа Б (n=18)				
$\alpha_2$ -адренорецептор	57,4±0,62 P <sub>Б-А</sub> <0,001	56,0-59,0	57	57,8
AT <sub>1</sub> -рецептор	57,3±0,6 P <sub>Б-А</sub> <0,05	53,0-62,0	56,1	58,5
P2X <sub>1</sub> -рецептор	56,3±0,3	55,0-58,0	55,8	56,8
P2Y-рецепторы	51,1±0,5*** P <sub>Б-А</sub> <0,001	47,0-54,0	50,0	52,1
A <sub>2A</sub> -рецептор	48,8±0,2*	47,0-51,0	48,3	49,3
TR-рецептор	46,6±1,0 P <sub>Б-А</sub> <0,001	40,0-53,0	44,5	48,7
Подгруппа С (n=20)				
AT <sub>1</sub> -рецептор	54,8±0,7 P <sub>С-А</sub> <0,001 P <sub>С-Б</sub> <0,01	48,0-59,0	53,2	56,4
P2X <sub>1</sub> -рецептор	52,2±0,7***7 P <sub>С-А</sub> <0,001 P <sub>С-Б</sub> <0,001	46,0-57,0	50,7	53,8
P2Y-рецепторы	52,0±0,7 P <sub>С-А</sub> <0,001	46,0-56,0	50,6	53,4
$\alpha_2$ -адренорецептор	51,4±0,6 P <sub>С-А</sub> <0,001 P <sub>С-Б</sub> <0,001	47,0-56,0	50,2	52,7
A <sub>2A</sub> -рецептор	49,2±0,4**	45,0-51,0	48,4	50,0
TR-рецептор	40,4±0,4*** P <sub>С-А</sub> <0,001 P <sub>С-Б</sub> <0,001	37,0-44,0	39,4	41,2

Примечание. \* – вероятность различий активности рецептора относительно активности предшествующего рецептора на уровне  $p < 0,05$ ; \*\*\* – на уровне  $p < 0,001$ ; P<sub>Б-А</sub>, P<sub>С-Б</sub> и P<sub>С-А</sub> – достоверность различий показателя между подгруппами, соответственно, Б-А, С-Б и С-А.

Остается вопрос – с чем связано снижение скорости траффика конкрементов в подгруппе Б по сравнению с таковой в подгруппе А? Анализ реактивности рецепторов показал, что в обеих подгруппах активность P2X<sub>1</sub>-рецептора и A2A-рецептора сопоставима; однако, в подгруппе Б активность TP-рецептора меньше на 18,7% (p<0,001), α<sub>2</sub>-адренорецептора – на 12,2% (p<0,001); P2Y-рецепторов – 14,8% (p<0,001) и AT<sub>1</sub>-рецептора на 4,0% (p<0,001), чем в подгруппе А. Таким образом, в подгруппе Б низкий диапазон гиперреактивности α<sub>2</sub>-адренорецептора, P2Y-рецепторов и AT<sub>1</sub>-рецептора, а также наличие нормореактивности P2X<sub>1</sub>-рецептора и TP-рецептора являлись факторами лимитирующим скорость траффика конкрементов по сравнению с подгруппой А.

В подгруппе С через 3 суток ЛКТ выявлена нормореактивность AT<sub>1</sub>-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов, α<sub>2</sub>-адренорецептора, аденозинового A2A-рецептора и гипореактивность TP-рецептора. Представленный кластер функциональной активности рецепторов обеспечивает физиологическую регуляцию моторики МОМ, при которой не достигалась сократительная активность ГМК позволяющая выводить мелкие конкременты из просвета. Можно констатировать, что в процессе ЛКТ повысилась активность P2X<sub>1</sub>-рецептора – на 8,1% (p<0,00) и TP-рецептора – на 19,5% (p<0,001), однако, снизилась активность α<sub>2</sub>-адренорецептора на 22,0% (p<0,001), P2Y-рецепторов на 13,3% (p<0,001) и A2A-рецептора на 3,7% (p<0,05); активность AT<sub>1</sub>-рецептора не изменилась по сравнению с исходным уровнем. Таким образом, стереотипным механизмом усиления траффика мелких конкрементов в подгруппе С, оставалась стимуляция P2X<sub>1</sub>-рецептора.

*Исследовательский вопрос* – отличается ли активность рецепторов, модулирующих перистальтику мочеточника при медленном траффике (подгруппа С) от таковой при быстрой (подгруппа А) и промежуточной (подгруппа Б) скорости траффика мелких конкрементов? Анализ реактивности рецепторов показал, что в подгруппе С активность AT<sub>1</sub>-рецептора меньше на 8,2% и 4,5% (p<0,001), чем, соответственно, в

подгруппах А и Б. Активность P2X<sub>1</sub>-рецептра – на 7,8% и 7,3% (p<0,001), α<sub>2</sub>-адренорецептора – на 21,4% и 10,5% (p<0,001), TP-рецептора на 29,5% и 13,3% ниже, чем в подгруппах А и Б. Кроме того, реактивность P2Y-рецепторов в подгруппе С была 13,3% (p<0,001) меньше, чем в подгруппе А; активность A2A-рецептора была одинаковой во всех трех подгруппах. Таким образом, отсутствие траффика конкрементов в подгруппе С через 3 суток ЛКТ связано с нормореактивностью α<sub>2</sub>-адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептра, P2Y-рецепторов, АТ<sub>1</sub>-рецептора и гипореактивностью TP-рецептора, сигнализация которых не обеспечивает достаточной сократительной активности МОМ. Логично, что в подгруппе С скорость траффика конкрементов меньше, чем в подгруппе Б.

#### **7.4. Анализ in vitro активности рецепторов, модулирующих моторику МВП при различной скорости траффика мелких конкрементов через 6 суток ЛКТ.**

В течение 4-6 суток ЛКТ у 18 (37,5%) пациентов (подгруппа Б) подтверждено выведение конкрементов из средней трети мочеточника; у 20 (41,7%) пациентов (подгруппа С) локализация конкрементов не изменилась.

*Исследовательский вопрос* – отличается ли регуляция компенсаторных реакций ГМК при промежуточной и медленной скорости элиминации мелких конкрементов. В подгруппе Б промежуточная скорость траффика конкрементов происходила на фоне гиперреактивности АТ<sub>1</sub>-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора α<sub>2</sub>-адренорецептора и – нормореактивности P2Y-рецепторов, A2A-рецептора, TP-рецептора (Таблица 7.9). Кластер функциональной активности рецепторов может быть представлен следующим образом: активность АТ<sub>1</sub>= активности P2X<sub>1</sub>-рецептора > активности α<sub>2</sub>-адренорецептора > активности P2Y-рецепторов > активности аденозинового A2A= активности TP-рецептора.

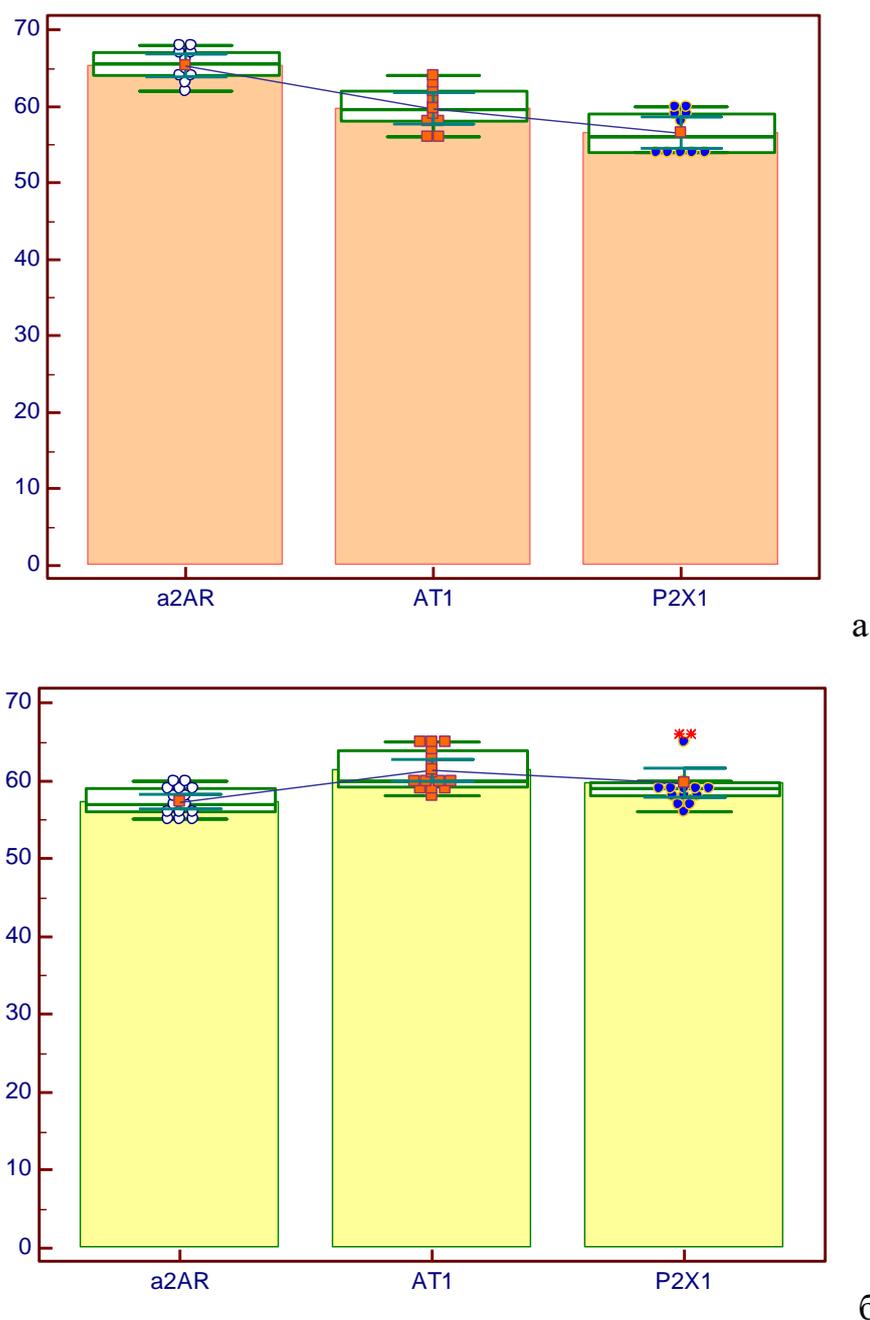
Таблица 7.9.

**Кластер активности рецепторов тромбоцитов через 6 суток ЛКТ.**

Вид рецептора	Среднее значение активности рецептора (%), $\bar{X} \pm SD$	Min – Max	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
Подгруппа А				
$\alpha_2$ -адренорецептор	65,4±0,7	62,0-68,0	63,9	66,9
P2Y-рецепторы	60,0±0,8***	56,0-64,0	58,1	61,8
AT <sub>1</sub> -рецептор	59,7±0,9	56,0-64,0	57,7	61,7
TP-рецептор	57,3±1,3	52,0-62,0	54,4	60,2
P2X <sub>1</sub> -рецептор	56,6±0,9	54,0-60,0	54,6	58,6
A2A-рецептор	48,7±0,8***	46,0-52,0	46,8	50,6
Подгруппа Б				
AT <sub>1</sub> -рецептор	61,3±0,6	58,0-65,0	60,0	62,7
P2X <sub>1</sub> -рецептор	59,7±0,8 P <sub>Б-А</sub> =0,020	56,0-66,0	57,9	61,5
$\alpha_2$ -адрено-рецептор	57,3±0,4* P <sub>Б-А</sub> <0,001	55,0-60,0	56,3	58,3
P2Y-рецепторы	54,7±1,0* P <sub>Б-А</sub> <0,001	49,0-60,0	52,6	56,9
A2A-рецептор	45,8±1,3***	40,0-55,0	42,9	48,7
TP-рецептор	45,8±0,6 P <sub>Б-А</sub> <0,001	42,0-50,0	44,5	47,1
Подгруппа С				
P2Y-рецепторы	59,8±0,9 P <sub>С-Б</sub> <0,001	54,0-66,0	57,9	61,8
P2X <sub>1</sub> -рецептор	57,5±0,3* P <sub>С-Б</sub> <0,001	55,0-60,0	56,8	58,2
A2A-рецептор	57,3±0,9 P <sub>С-Б</sub> <0,001	50,0-63,0	55,3	59,3
AT <sub>1</sub> -рецептор	57,2±0,5 P <sub>С-Б</sub> <0,001	54,0-63,0	56,1	58,3
$\alpha_2$ -адрено-рецептор	54,1±0,4** P <sub>С-Б</sub> <0,01	51,0-57,0	53,2	55,0
TP-рецептор	41,7±0,5*** P <sub>С-Б</sub> <0,001	38,0-46,0	40,6	42,73

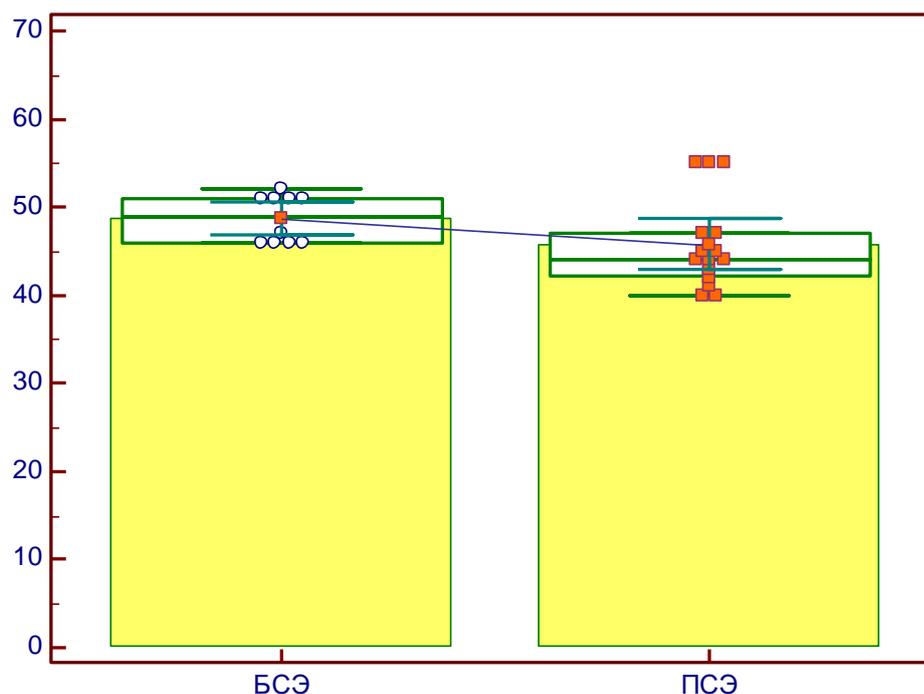
Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности предшествующего рецептора. P – достоверность различий активности рецептора при неэффективной ЛКТ уровне  $p < 0,001$  по сравнению с значениями при эффективной ЛКТ.

По сравнению со сроком наблюдения 1-3 суток ЛКТ, в подгруппе Б активность АТ<sub>1</sub>-рецептора повысилась на 7,0% ( $p < 0,05$ ), P2X<sub>1</sub>-рецептора – на 6,0% ( $P = 0,001$ ), P2Y-рецепторов – на 7,0% ( $P = 0,004$ ); активность А2А-рецептора снизилась на 6,2% ( $P = 0,042$ ), тогда как активность  $\alpha_2$ -адренорецептора и TR-рецептора не изменилась. Поскольку на протяжении 6-ти суток ЛКТ сохранялась гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, то сигнализация связанная с Gi-белком может рассматриваться как базовый механизм поддержания сократительной активности ГМК при промежуточной скорости элиминации конкрементов. Наличие гиперреактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора предполагает увеличение частоты фазовых сократительных ответов в перистальтике мочеточника [273]. При сопоставлении активности рецепторного аппарата на момент элиминации конкрементов в подгруппе Б, по сравнению с подгруппой А, активность P2X<sub>1</sub>-рецептора – была выше на 5,5% ( $P = 0,020$ ); P2Y-рецепторов и А2А-рецептора ниже, соответственно, на 8,8% ( $P = 0,001$ ) и 6,2% ( $P = 0,042$ ); активность АТ<sub>1</sub>-рецептора  $\alpha_2$ -адренорецептора и TR-рецептора была сопоставимой. Можно констатировать, что в подгруппе Б через 6 суток ЛКТ по сравнению со сроком наблюдения 3 суток формируется более эффективный компенсаторный механизм перистальтики мочеточника, основанный на повышении реактивности АТ<sub>1</sub>-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора и P2Y-рецепторов. Таким образом, что в подгруппе Б (а) функционирует стереотипный механизм усиления сократительной активности ГМК связанный с гиперреактивностью  $\alpha_2$ -адренорецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора (Рисунок 7.1) Эффект может быть обусловлен одновременным функционированием трех независимых внутриклеточных сигнальных путей, связанных с Gi-белком ( $\alpha_2$ -адренорецептор), Gq-белком (АТ<sub>1</sub>-рецептор и открытием управляемого АТФ катионного канала (P2X<sub>1</sub>-рецептор); (б) скорость траффика не зависит от расслабления ГМК, модулируемого аденозином, поскольку воспроизводится на фоне нормореактивности А2А-рецептора как в подгруппе Б, так и А (Рисунок 7.2);



**Рис. 7.1. Реактивность рецепторов, модулирующих усиление сократительной активности ГМК при быстрой (а) и промежуточной (б) скорости элиминации мелких конкрементов из средней трети мочеточника.**

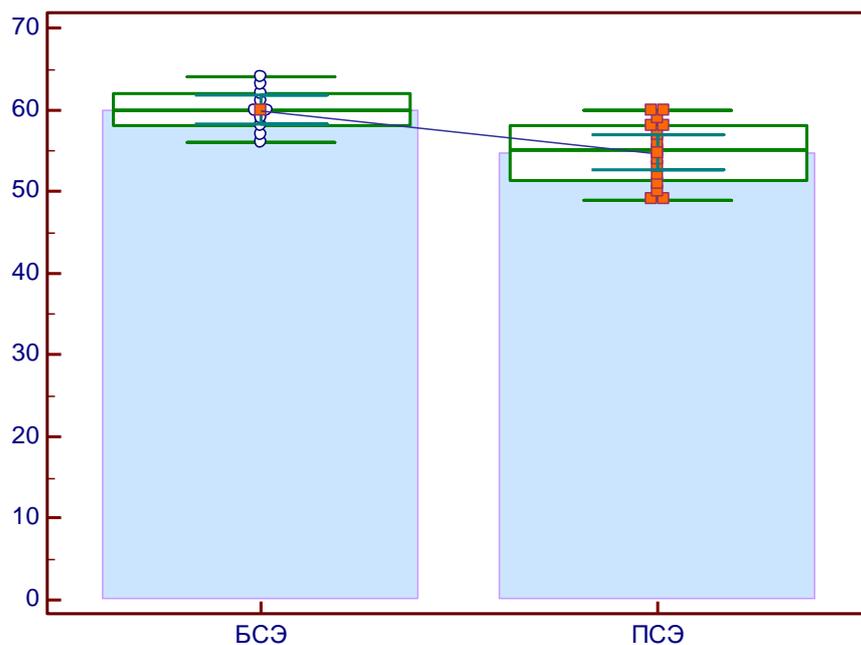
По оси ординат – значения АТц (%) индуцированной эпинефрином, ангиотензином-2 и АТФ; по оси абсцисс – название соответствующего рецептора.



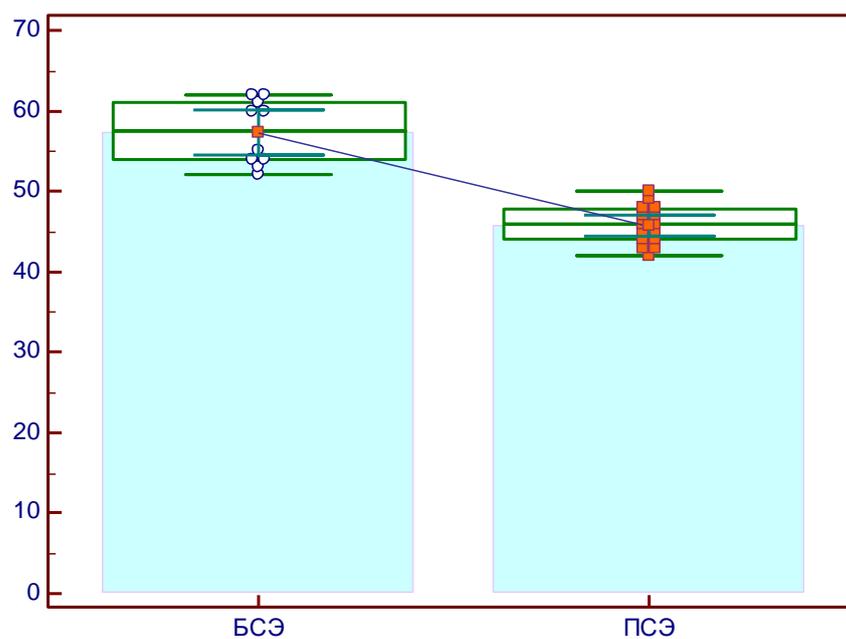
**Рис. 7.2. Реактивность аденозинового A2A-рецептора при разной скорости элиминации мелких конкрементов из средней трети мочеточника.**

По оси ординат – значения АТц (%) индуцированной аденозином; по оси абсцисс – БСЭ-быстрая скорость элиминации, ПСЭ-промежуточная скорость элиминации.

(в) промежуточная скорость траффика обусловлена низким приростом гиперреактивности P2Y-рецепторов и TP-рецептора в процессе ЛКТ по сравнению с быстрым траффиком конкрементов (Рисунок 7.3), что обусловлено значимостью соответствующих сигнальных систем в повышении уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$ . Пластичность пуринергической сигнализации, которая обеспечивает возможность селективной стимуляции P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y<sub>12</sub>-рецептор и A2A-рецепторов в зависимости от ишемии тканей МВП, позволяет рассматривать данную систему внутриклеточной сигнализации как высокоэффективный механизм координации процессов сокращения и расслабления гладкой мышечной ткани мочеточника при траффике мелких конкрементов.



а



б

**Рис. 7.3. Реактивность P2Y – рецепторов (а) и TP-рецептора (б) при разной скорости элиминации мелких конкрементов из средней трети мочеточника.**

По оси ординат – значения АТц (%) индуцированной АДФ и ТхА2; по оси абсцисс – BCЭ-быстрая скорость элиминации, ПСЭ-промежуточная скорость элиминации.

### 7.5. Анализ *in vitro* активности рецепторов, модулирующих моторику МВП через 7-9 суток ЛКТ.

В течение 7-9 суток ЛКТ у 20 (41,7%) пациентов (подгруппа С) подтверждено выведение мелких конкрементов из средней трети мочеточника. *Исследовательский вопрос* – отличается ли регуляция компенсаторных реакций ГМК при медленной, промежуточной и быстрой элиминации конкрементов на фоне ЛКТ. В подгруппе С медленная скорость элиминации конкрементов происходила на фоне гиперреактивности P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов, АТ<sub>1</sub>-рецептора и – нормореактивности, α<sub>2</sub>-адренорецептора, TP-рецептора, A2A-рецептора (Таблица 7.10).

Таблица 7.10

#### Кластер активности рецепторов Тц при медленной скорости траффика мелких конкрементов в средней трети мочеточника на фоне ЛКТ.

Вид рецептора	Среднее значение активности рецептора (%), $\bar{X} \pm SD$	Min – Max	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
P2X <sub>1</sub> -рецептор	63,7±0,6 P <sub>С-Б</sub> <0,001 P <sub>С-А</sub> <0,001	58,0-67,0	62,5	65,0
P2Y-рецепторы	59,3±0,7*** P <sub>С-Б</sub> <0,001	55,0-67,0	57,9	60,8
АТ <sub>1</sub> -рецептор	57,0±1,0 P <sub>С-Б</sub> <0,001	52,0-66,0	55,0	59,5
α <sub>2</sub> - адренорецептор	54,9±1,1 P <sub>С-А</sub> <0,01	47,0-63,0	52,5	57,3
TP-рецептор	52,7±0,65 P <sub>С-Б</sub> <0,001 P <sub>С-А</sub> =0,006	49,0-57,0	51,6	53,9
A2A-рецептор	46,9±1,2***	38,0-53,0	44,3	49,5

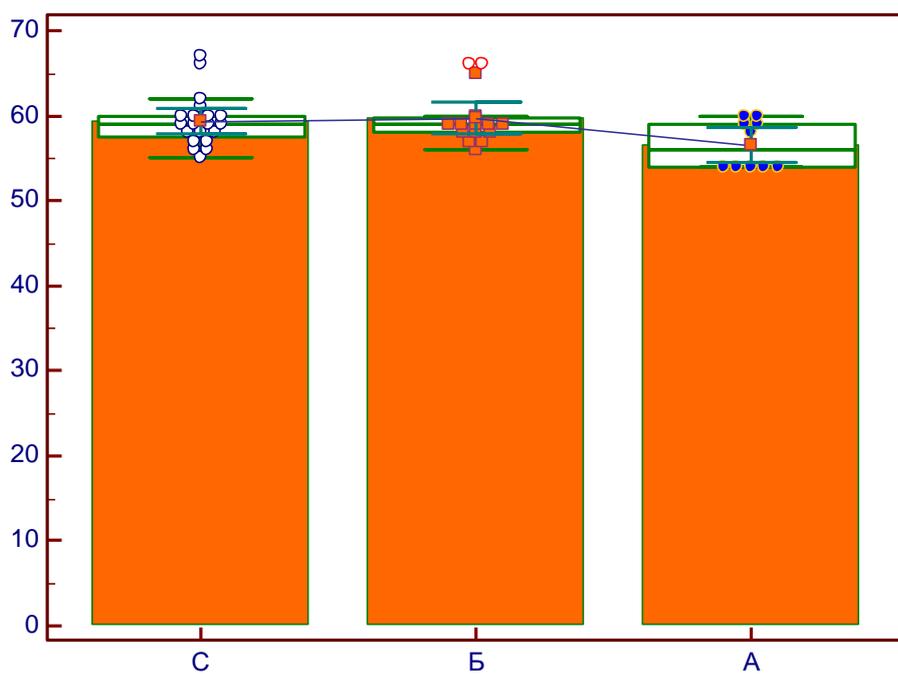
Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предшествующего рецептора. P – достоверность различий активности рецептора при неэффективной ЛКТ уровне p<0,001 по сравнению с значениями в подгруппах Б и А.

Кластер функциональной активности рецепторов может быть представлен следующим образом: активность P2X<sub>1</sub>-рецептора > активности P2Y-рецепторов = активности АТ<sub>1</sub> > активности α<sub>2</sub>-адренорецептора = активности TP-рецептора > активности аденозинового А2А. По сравнению со сроком наблюдения 6 суток ЛКТ, в подгруппе С активность P2X<sub>1</sub>-рецептора возросла на 10,8% (P<0,001) и TP-рецептора – на 26,4% (P<0,001). Активность А2А-рецептора снизилась на 18,2% (P<0,001), тогда как реактивность α<sub>2</sub>-адренорецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора и P2Y-рецепторов – не изменилась.

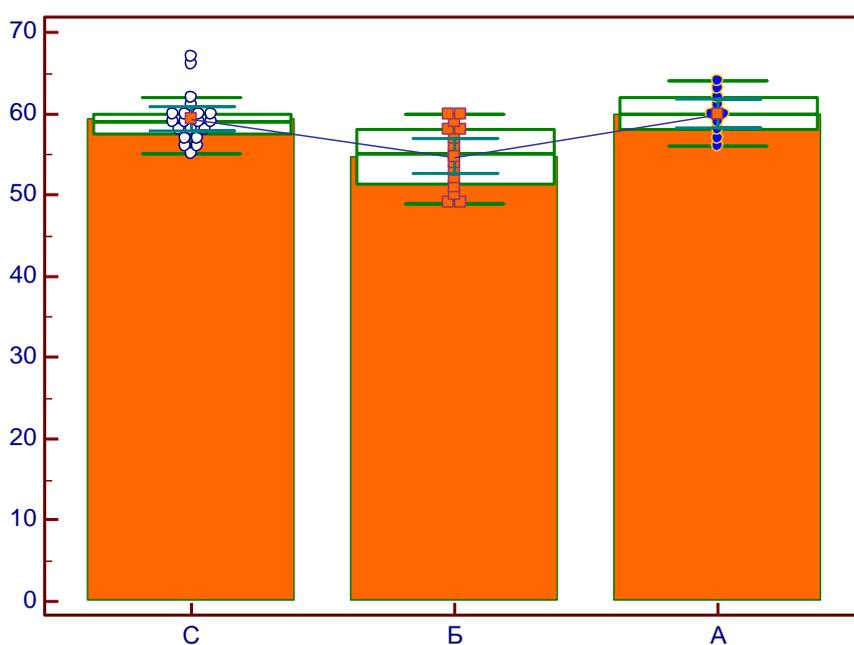
Поскольку в течение 9 суток ЛКТ сохранялась гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов и АТ<sub>1</sub>-рецептора, то сигнализация связанная с открытием АТФ-зависимого катионного канала, а также опосредованная Gi-, Gq-белком может рассматриваться как базовый механизм поддержания сократительной активности ГМК при медленной скорости элиминации конкрементов. Для сравнения, при промежуточной скорости траффика таким механизмом была гиперреактивность α<sub>2</sub>-адренорецептора, а при быстрой – одновременная стимуляция α<sub>2</sub>-адренорецептора, P2Y-рецепторов, АТ<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора. Выявленное повышение активности P2X<sub>1</sub>-рецептора может рассматриваться как триггер усиления сократительной активности МОМ, обусловленного достижением пика внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>. В роли аддитивного механизма усиления сократительной активности МОМ может выступать аденозинергическая сигнализация, поскольку снижение активности А2А-рецептора (до уровня нормореактивности) будет сопровождаться ограничением влияния цАМФ – протеинкиназы А на транспорт внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>. Как следствие, не только усиливается модулирующее влияние P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов и АТ<sub>1</sub>-рецептора на сократительную активность ГМК, но и, что не менее важно для траффика мелких конкрементов, лимитируется релаксация стенки мочеточника.

При сопоставлении активности рецепторного аппарата на момент элиминации конкрементов в подгруппе С, по сравнению с подгруппами А и Б, обращают на себя внимание следующие особенности регуляции гладких миоцитов при медленной элиминации конкрементов. Так, активность P2X<sub>1</sub>-рецептора была выше на 6,7% (P<0,001) и 12,5% (P<0,001), чем соответственно, в подгруппе Б и А. (Рисунок 7.4а); при этом во всех подгруппах регистрировалась гиперреактивность рецептора. Реактивность P2Y-рецепторов в подгруппе С на 8,4% (P<0,001) больше, чем в подгруппе Б и соответствовала таковой в подгруппе А (Рисунок 7.4б); для подгрупп С и А характерна гиперреактивность, а для подгруппы Б нормореактивность P2Y-рецепторов. В подгруппе С активность АТ<sub>1</sub>-рецептора ниже на 7,0%, чем в подгруппе Б, и соответствует таковой в подгруппе А (Рисунок 7.5а); при этом во всех подгруппах имела место гиперреактивность рецептора. Активность α<sub>2</sub>-адренорецептора сопоставимая с таковой в подгруппе Б, но ниже чем в подгруппе А на 16,0% (P<0,001) (Рисунок 7.5б); в подгруппе С выявлена нормореактивность α<sub>2</sub>-адренорецептора, тогда как в подгруппах А и Б – его гиперреактивность. В подгруппе С активность ТР-рецептора оказалась больше, чем в подгруппе Б на 15,1% (P<0,001), но меньше на 8,0% (P<0,01), чем в подгруппе А (Рисунок 7.5в); при этом в подгруппах С и Б выявлена нормореактивность рецептора, а в подгруппе А – гиперреактивность. Что касается аденозинового А<sub>2</sub>А-рецептора, то во всех подгруппах его реактивность была сопоставимая и находилась в диапазоне нормореактивности (Рисунок 7.6).

В свете полученных фактов, можно констатировать, что: (а) достижение пороговых значений P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов и АТ<sub>1</sub>-рецептора является необходимым условием медленной элиминации мелких конкрементов; возникающая при этом гиперреактивность рецепторов, вызывает повышение внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> до уровня позволяющего увеличить силу и тонус МОМ.



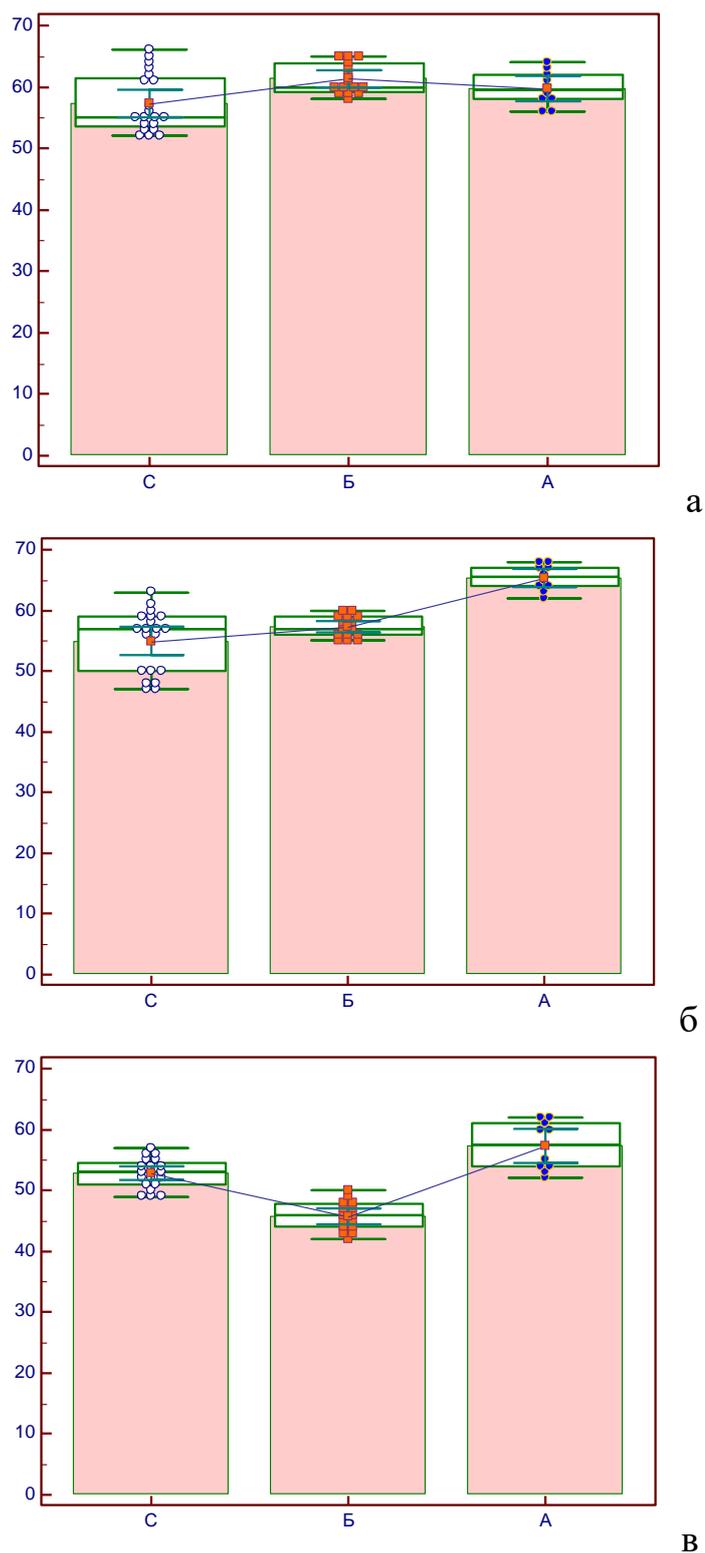
а



б

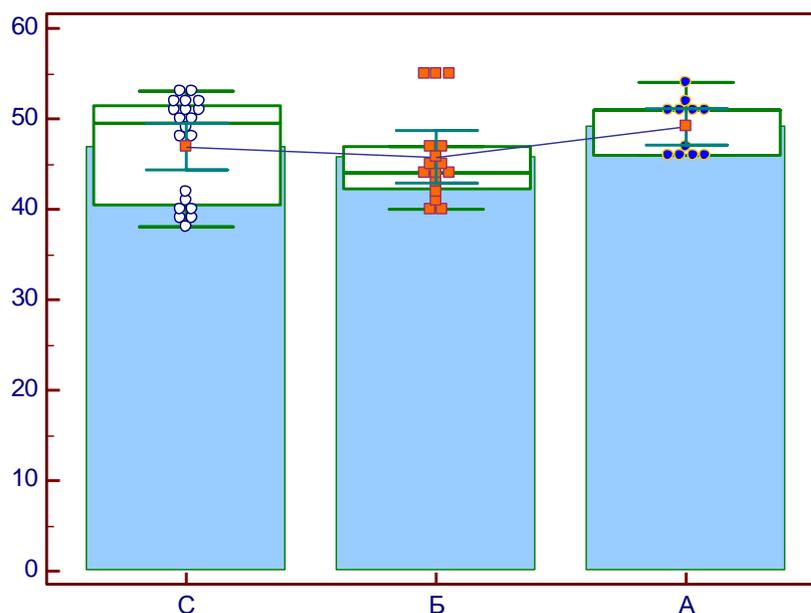
**Рис. 7.4. Реактивность пуриновых рецепторов при разной скорости элиминации мелких конкрементов из средней трети мочеточника.**

По оси ординат – активность P2X<sub>1</sub>-рецептора (а), P2Y-рецептора (б); по оси абсцисс С- подгруппа С, Б-подгруппа Б, А-подгруппа А.-



**Рис. 7.5. Реактивность рецепторов при разной скорости элиминации мелких конкрементов из средней трети мочеточника.**

По оси ординат активность – (а) АТ<sub>1</sub>-рецептора; (б) α<sub>2</sub>-адренорецептора; (в) ТР-рецептора; по оси абсцисс С- подгруппа С, Б-подгруппа Б, А - подгруппа А.



**Рис. 7.6. Реактивность аденозинового A2A-рецептора при разной скорости элиминации мелких конкрементов из средней трети мочеточника.**

По оси ординат – значения активности рецептора; по оси абсцисс С- подгруппа С, Б-подгруппа Б, А-подгруппа А.

Длительность этого процесса, связанная с индивидуальными особенностями регуляции компенсаторной реакции ГМК, определяет медленную скорость траффика конкрементов. Что касается специфичности механизмов регуляции МОМ, то, вероятно, гиперреактивность P2Y-рецепторов является основным механизмом поддержания взаимодействия актиновых и миозиновых филаментов. Гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора, обеспечивает поддержание стабильной сократительной активности ГМК, а в случае существенного повышения активности рецептора, возникающий пик повышения уровня внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> вызывает усиление сокращения гладкой мышечной ткани, которое необходимо для траффика конкремента по мочеточнику. Снижение активности AT<sub>1</sub>-рецептора через 9 суток ЛКТ при медленной элиминации до порогового уровня, который воспроизводился при

быстрой элиминации, свидетельствует о значимости данной сигнализации в регуляции силы сокращения МОМ. (б) нормореактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора и TR-рецептора является критическим звеном регуляции компенсаторной реакции МОМ при медленном и промежуточном траффике конкрементов, лимитирующим силу сокращения ГМК. По сути, при медленном траффике не используется потенциальная возможность усиления силы сокращения, значение которой проявляется в случае гиперреактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора и TR-рецептора при быстрой элиминации конкрементов; (е) нормореактивность A2A-рецептора представляется стереотипным механизмом релаксации ГМК, который находится на физиологическом уровне регуляции, позволяющем поддерживать дилатацию на стационарном уровне при транспорте мелких конкрементов.

Таким образом, разная скорость траффика конкрементов в мочевыводящих путях при ЛКТ обусловлена компенсаторными реакциями гладкой мышечной ткани мочеточника, которые регулируются рецепторами, участвующих в процессах сокращения и расслабления ГМК. Дальнейшее исследование активности P2Y-рецепторов, P2X<sub>1</sub>-рецептора, AT<sub>1</sub>-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора, TR-рецептора и аденозинового A2A-рецептора позволит приблизиться совершенствованию тактики ЛКТ при локализации мелких конкрементов в средней трети мочеточника.

## ГЛАВА 8

### ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭЛИМИНАЦИИ КОНКРЕМЕНТОВ ИЗ СРЕДНЕЙ И НИЖНЕЙ ТРЕТИ МОЧЕТОЧНИКА ПРИ МОДУЛЯЦИИ ФУНКЦИИ $\alpha_{1A}$ -АДРЕНОРЕЦЕПТОРА В НЕЙРО-МЫШЕЧНОМ СИНАПСЕ

#### 8.1. Влияние блокады $\alpha_{1A}$ -адренорецептора на механизмы эффективной элиминации мелких конкрементов из мочеточника .

До настоящего времени механизмы траффика конкрементов в различных отделах мочеточника остаются не выясненными, хотя особенности строения стенки и сокращения ГМК обсуждаются в литературе [377; 311]. В этом контексте представляет интерес влияние  $\alpha_{1A}$ -АБ на элиминацию конкрементов из средней и нижней трети мочеточника в мочевой пузырь (наиболее протяженной части МВП).

*Цель исследования* – оценить активность рецепторов, контролирующих сокращение ( $\alpha_2$ -адренорецептора, пуриновых P2X<sub>1</sub>- и P2Y-рецепторов, АТ<sub>1</sub>-рецептора, TR-рецептора) и релаксацию ГМК (аденозинового А2-рецептора) на фоне блокады  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора в процессе ЛКТ у пациентов при траффике мелких (4,5±0,3 мм; min-max 1,0-7,0мм) конкрементов в средней и нижней трети мочеточника (5-я группа). Эффективную элиминацию конкремента признавали состоявшейся, если по данным визуализационного контроля в течении 9 суток произошло перемещение конкремента из средней и нижней трети мочеточника в интрамуральный отдел или просвет мочевого пузыря. Группа сравнения представлена пациентами 4-й группы, у которых подтверждена ЭЭ конкрементов мелких размеров (4,65±1,0 мм) из средней в нижнюю треть мочеточника при стандартной ЛКТ.

Проведенное исследование на этапе госпитализации пациентов до начала ЛКТ выявило гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, нормореактивность (50,0±5,0%) АТ<sub>1</sub>-рецептора, пуриновых P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов, аденозинового А2-рецептора и гипореактивность TR-рецептора (Таблица 8.1).

Таблица 8.1

**Реактивность рецепторов Тц на этапе госпитализации при локализации мелких конкрементов в средней и нижней трети мочеточника .**

Вид рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{X} \pm SD$	Размах (Min –Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
$\alpha_2$ -адренорецептор	64,7±0,6	61,0-68,0	63,3	66,1
АТ <sub>1</sub> -рецептор	54,6±1,2*** P<0,001	49,0-62,0	52,0	57,2
P2Y-рецептор	52,1±0,7***	48,0-55,0	50,7	53,5
A2A-рецептор	50,9±0,7***	47,0-55,0	49,4	52,4
P2X <sub>1</sub> -рецептор	47,8±0,7*** P=0,004	44,0-52,0	46,3	49,3
TR-рецептор	33,2±0,6*** P<0,001	30,0-37,0	31,9	34,5

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности  $\alpha_2$ -адренорецептора на уровне  $p<0,001$ . P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

Кластер функциональной активности рецепторов может быть представлен следующим образом: активность  $\alpha_2$ -адренорецептора >активности АТ<sub>1</sub>-рецептора= активности P2Y-рецепторов= активности A2A-рецептора= активности P2X<sub>1</sub>-рецептора > активности TR-рецептора. Приведенные данные подтверждают участие САС при нефролитиазе в регуляции компенсаторных механизмов, способных повысить сократительную активность мышечной оболочки мочеточника при траффике мелких конкрементов из мочеточника. Можно также констатировать наличие релаксации ГМК вследствие ингибирования активности ЦОГ и синтеза ТхА<sub>2</sub>, вероятно, обусловленной назначением НПВП на этапе предшествующем госпитализации пациентов.

*Исследовательский вопрос* – изменяется ли активность рецепторов Тц при эффективной элиминации мелких конкрементов из средней и нижней трети мочеточника на фоне ЛКТ, включающей  $\alpha_{1A}$ -АБ? Установлено, что

через 1-3 суток ЛКТ имела место нормореактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора, α<sub>2</sub>-адренорецептора P2Y-рецепторов,, аденозинового А2А-рецептора, и гипореактивность TP-рецептора (Таблица 8.2).

Таблица 8.2.

**Реактивность рецепторов Тц через 3 суток ЛКТ, включающей α<sub>1А</sub>-АБ при локализации мелких конкрементов в средней и нижней трети мочеточнике.**

Вид рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{X} \pm SD$	Размах (Min –Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
P2X <sub>1</sub> -рецептор	55,3±0,8	50,0-61,0	53,5	57,1
АТ <sub>1</sub> -рецептор	55,1±1,1	48,0-62,0	52,7	57,5
α <sub>2</sub> -адренорецептор	55,1±0,8	51,0-62,0	53,3	56,8
P2Y-рецептор	54,4±1,6	45,0-63,0	51,0	57,8
А2А-рецептор	48,3±0,7*** P<0,001	45,0-53,0	46,9	49,7
TP-рецептор	41,2±0,9*** P<0,001	35,0-46,0	39,3	43,2

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности P2X<sub>1</sub>-рецептор на уровне p<0,001. P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

По сравнению с 4-й группой (группа сравнения) активность P2Y-рецепторов была меньше на 4,6% (P=0,015), АТ<sub>1</sub>-рецептора –на 6,7% (P=0,010), P2X<sub>1</sub>- рецептора– на 7,9% (P=0,002) и TP-рецептора – на 17,0% (P<0,001); активность α<sub>2</sub>-адренорецептора и А2А-рецептора была сопоставимой в обеих группах. Таким образом, в ранние сроки ЛКТ перемещение мелких конкрементов в средней и нижней трети мочеточника сопровождается включением механизмов, обеспечивающих усиление компенсаторных реакций МОМ.

Через 6 суток имела место нормореактивность P2Y-рецепторов, АТ<sub>1</sub>-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, α<sub>2</sub>-адренорецептора, гипореактивность А2А-

рецептора и TP-рецептора (Таблица 8.3). По сравнению с предыдущим сроком наблюдения активность  $\alpha_2$ -адренорецептора снизилась на 16,3% ( $P < 0,001$ ), A2A-рецептора – на 17,4% ( $P < 0,001$ ) и TP-рецептора – на 19,7% ( $P < 0,001$ ). Несмотря на ведение блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора, элиминация мелких конкрементов их средней-нижней трети не воспроизводилась, вероятно, вследствие недостаточной силы сокращения ГМК.

Таблица 8.3

**Реактивность рецепторов Тц через 6 суток ЛКТ, включающей  $\alpha_{1A}$ -АБ, при траффике мелких конкрементов в средней–нижней третимочеточника.**

Вид рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{X} \pm SD$	Размах (Min –Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
P2Y-рецептор	55,1±1,2	50,0-64,0	52,4	57,7
AT <sub>1</sub> -рецептор	54,8±0,5	51,0-58,0	53,6	56,0
P2X <sub>1</sub> -рецептор	54,5±0,6	51,0-57,0	53,1	55,8
$\alpha_2$ -адренорецептор	46,1±0,6*** P<0,001	42,0-50,0	44,76	47,5
A2A-рецептор	39,9±0,8***	35,0-45,0	38,1	41,7
TP-рецептор	33,1±0,6*** P<0,001	30,0-36,0	31,7	34,4

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности  $\alpha_2$ -адренорецептора на уровне  $p < 0,001$ . P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

Активность P2Y-рецепторов и P2X<sub>1</sub>- рецептора и A2A-рецептора была меньше таковой, соответственно, на 4,6%, 5,2% на 12,1% ( $p < 0,05$ ) у пациентов с траффиком конкрементов в средней трети мочеточника (4-я группа). Таким образом, через 6 суток ЛКТ при увеличении расстояния, на которое перемещается мелкий конкремент, снижаются потенциальные возможности компенсаторных реакций МОМ, что может быть связано со снижением

реактивности P2Y-рецепторов и P2X<sub>1</sub>-рецептора. Подтверждением этой гипотезы может быть наличие: (а) нормореактивности P2Y-рецепторов и P2X<sub>1</sub>-рецептора, в 4-й группе имела место их гиперреактивность; (б) гипореактивности A2A-рецептора, в 4-й группе выявлена его нормореактивность.

Через 7-9 суток ЛКТ элиминация конкрементов воспроизводилась на фоне гиперреактивности P2X<sub>1</sub>-рецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора, нормореактивности P2Y-рецептора, A2A-рецептора, α<sub>2</sub>-адренорецептора и гипореактивности TP-рецептора (Таблица 8.4). Причем, судя по данным III квартиля, у части пациентов имела место гиперреактивность P2Y-рецептора.

*Таблица 8.4.*

**Реактивность рецепторов Тц через 7-9 суток ЛКТ, включающей α<sub>1A</sub>-АБ, при элиминации мелких конкрементов из средней–нижней трети мочеточника.**

Вид рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{X} \pm SD$	Размах (Min – Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
P2X <sub>1</sub> -рецептор	64,3±1,3	59,0-70,0	61,3	67,2
АТ <sub>1</sub> -рецептор	63,9±1,1	60,0-70,0	61,5	66,3
P2Y-рецептор	55,0±3,2*** P<0,005	41,0-69,0	47,7	62,3
α <sub>2</sub> -адренорецептор	51,8±1,8***	45,0-62,0	47,8	55,9
A2A-рецептор	46,1±3,0***	35,0-59,0	39,5	52,7
TP-рецептор	43,7±0,7***	39,0-47,0	42,2	45,3

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности P2X<sub>1</sub>-рецептор на уровне p<0,001. P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора.

Обнаружено усиление корреляционной связи между активностью P2X<sub>1</sub>-рецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора ( $r_{P2X-AT}=0,433$ ; p<0,05), а также наличие взаимосвязи между активностью пуриновых рецепторов ( $r_{P2X-АдФ}=0,543$ ;

$p < 0,05$ ). Выявлена отрицательная корреляция между активностью A2A-рецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора ( $r_{A2A-AT} = -0,507$ ;  $r_{A2A-P2X} = -0,418$   $p < 0,05$ ). Логично предположить, что повышение сокращения ГМК является определяющим фактором для элиминации мелких конкрементов из средней и нижней трети мочеточника. В этой связи, перспективным представляется исследование пуриновых P2-рецепторов, позволяющих при необходимости усилить сократительную активность мочеточника.

В 5-й группе активность P2X<sub>1</sub>-рецептора и A2A-рецептора совпадала с таковой в 4-й группе; при этом имела место гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора и нормореактивность A2A-рецептора. Следовательно, независимо от расстояния на которое перемещается конкремент, функционирует стереотипный регуляторный механизм, направленный на усиление сократительной активности ГМК при сохранении физиологического уровня аденозинергической регуляции. Отличие касалось активности P2Y-рецепторов, которая в 5-й группе была на 6,8% ( $p < 0,05$ ) меньше, чем в 4-й группе; при этом в 5-й группе имела место нормореактивность, а в 4-й группе гиперреактивность этого рецептора. Таким образом, при увеличении расстояния движения мелкого конкремента снижается эффективность внутриклеточной сигнализации, связанной с P2Y-рецепторами. Поскольку активность данного рецептора не изменилась по сравнению со сроком наблюдения 6 суток, то можно констатировать отсутствие влияния ЛКТ на трансформацию пуриновых нуклеотидов.

## **8.2. Компенсаторные механизмы траффика мелких конкрементов в мочеточнике при сохранении функции $\alpha_{1A}$ -адренорецептора.**

*Исследовательский вопрос* – влияет ли ЛКТ, при отсутствии  $\alpha_{1A}$ -АБ (т.е. при сохранении функции  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора в нейро-мышечном синапсе) на активность рецепторов, модулирующих траффик мелких конкрементов в мочеточнике? Исследование включало 25 пациентов с визуализационными признаками наличия конкрементов в средней и нижней трети мочеточника у

которых в схеме ЛКТ отсутствовал блокатор  $\alpha_{1A}$ —адренорецептора (6 –я группа). Средний размер конкремента составил ( $4,4 \pm 0,9$  мм; min-max 2,0-7,0мм); различий размера по сравнению с таковым у пациентов 5-й группы не выявлено ( $p > 0,05$ ).

Анализ рецепторного аппарата на этапе госпитализации пациентов (до начала ЛКТ) выявил гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора; нормореактивность ангиотензинового  $AT_1$ -рецептора, пуриновых  $P2X_1$ -рецептора,  $P2Y$ -рецепторов,  $A2A$ -рецептора; гипореактивность  $TP$ -рецептора (Таблица 8.5).

Таблица 8.5

**Реактивность рецепторов Тц на этапе госпитализации пациентов 6-й группы при локализации мелких конкрементов в средней и нижней трети мочеточника.**

Вид рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{X} \pm SD$	Размах (Min –Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
$\alpha_2$ -адренорецептор	$64,9 \pm 0,5$	60,0-69,0	63,8	66,0
$AT_1$ -рецептор	$54,7 \pm 0,9^{***}$	48,0-62,0	52,9	56,6
$P2Y$ -рецептор	$51,9 \pm 0,7^{***}$ $P=0,016$	47,0-58,0	50,5	53,3
$A2A$ -рецептор	$50,1 \pm 0,8^{***}$	45,0-58,0	48,5	51,7
$P2X_1$ -рецептор	$46,7 \pm 0,5^{***}$ $P < 0,001$	42,0-50,0	45,5	47,8
$TP$ -рецептор	$32,8 \pm 0,4^{***}$ $P < 0,001$	30,0-37,0	31,8	33,7

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности  $\alpha_2$ -адренорецептора на уровне  $p < 0,001$ . P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

Представленный кластер рецепторов характеризуется усилением сигнализации, связанной с Gi-белком, обеспечивающей поддержание повышенной сократительной активности ГМК. При этом нормореактивность

А2А-рецептора при гипореактивности ТР-рецептора к ТхА2 (результат ингибирования активности ЦОГ посредством НПВП) предусматривала физиологический уровень релаксации ГМК.

*Исследовательский вопрос* – изменяется ли активность рецепторов, регулирующих траффик мелких конкрементов у пациентов с эффективной элиминацией при ЛКТ, не включающей  $\alpha_{1A}$ -АБ? Через 3 суток ЛКТ снизилась активность  $\alpha_2$ -адренорецептора на 10,5% ( $P<0,001$ ) и А2А-рецептора на 5,0% ( $P=0,009$ ); увеличилась активность P2X<sub>1</sub>-рецептора на 18,2% ( $P<0,001$ ) и ТР-рецептора на 20,4% ( $P<0,05$ ); активность P2Y-рецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора не изменилась относительно исходных значений (Таблица 8.6).

Таблица 8.6.

**Реактивность рецепторов Тц при траффике мелких конкрементов в средней-нижней трети мочеточника через 3 суток ЛКТ при сохранении активности  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора в нейро-мышечном синапсе ГМК.**

Вид рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{X} \pm SD$	Размах (Min –Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
$\alpha_2$ -адренорецептор	58,1±0,3	55,0-61,0	57,4	58,8
P2X <sub>1</sub> -рецептор	55,2±0,3*** P<0,001	52,0-58,0	54,4	55,9
АТ <sub>1</sub> -рецептор	53,4±0,6*** P=0,023	41,0-57,0	52,1	54,8
P2Y-рецептор	53,1±0,7***	46,0-59,0	51,6	54,6
А2А-рецептор	47,6±0,5*** P<0,001	43,0-51,0	46,5	48,7
ТР-рецептор кТхА2	39,5±0,5*** P<0,001	35,0-44,0	38,5	40,6

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности  $\alpha_2$ -адренорецептора на уровне  $p<0,001$ . P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

Кластер активности рецепторов может быть представлен следующим образом: активность  $\alpha_2$ -адренорецептора > активности АТ<sub>1</sub>-рецептора >

активности P2Y-рецепторов= активности A2A-рецептора> активности P2X<sub>1</sub>-рецептора>активности TP-рецептора. Значимым, с точки зрения изменений регуляции компенсаторных реакций ГМК при сохранении их иннервации, представляется повышение активности P2X<sub>1</sub>-рецептора, а также снижение активности  $\alpha_2$ -адренорецептора. Возникающие при этом осцилляции ионов Ca<sup>2+</sup>, вероятно, нивелируют эффекты друг друга, что не сопровождается усилением сокращения ГМК.

Через 6 суток медикаментозной терапии проявлялась гиперреактивность, P2Y-рецепторов, P2X<sub>1</sub>-рецептора, AT<sub>1</sub>-рецептора; активность  $\alpha_2$ -адренорецептора и A2A-рецептора находилась в диапазоне нормореактивности; сохранялась гипореактивность TP-рецептора (Таблица 8.7).

Таблица 8.7.

**Реактивность рецепторов Tц при траффике мелких конкрементов в средней-нижней трети мочеточника через 6 суток ЛКТ при сохранении активности  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора в нейро-мышечном синапсе ГМК.**

Вид рецептора	Среднее значение ATц (%), $\bar{X} \pm SD$	Размах (Min –Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
P2Y-рецептор	60,8±1,7	50,0-71,0	57,32	64,28
P2X <sub>1</sub> -рецептор	60,2±0,7	56,0-66,0	58,7	61,7
AT <sub>1</sub> -рецептор	59,9±0,8	51,0-65,0	58,3	61,6
$\alpha_2$ -адренорецептор	53,3±0,5*** P<0,001	49,0-57,0	52,2	54,5
A2A-рецептор	45,6±1,2*** P<0,001	38,0-55,0	43,1	48,1
TP-рецептор	36,4±0,8*** P<0,001	30,0-42,0	34,8	38,0

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности  $\alpha_2$ -адренорецептора на уровне p<0,001. P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

Обнаружено повышение активности P2Y-рецепторов на 14,5% ( $P<0,001$ ), P2X<sub>1</sub>-рецептора – на 9,1% ( $p<0,05$ ), АТ<sub>1</sub>-рецептора на 12,2% ( $P<0,001$ ); снижение активности  $\alpha_2$ -адренорецептора и TR-рецептора, соответственно, на 8,3% ( $P<0,01$ ) и 7,9% ( $P<0,05$ ); активность А2А-рецептора не изменилась по сравнению со сроком наблюдения 3 суток ЛКТ. Кластер активности рецепторов может быть представлен следующим образом: активность P2Y-рецепторов = активности P2X<sub>1</sub>-рецептора = активности АТ<sub>1</sub>-рецептора > активности  $\alpha_2$ -адренорецептора > активности А2А-рецептора > активности TR-рецептора. Данный кластер рецепторов отражает тенденцию к усилению компенсаторных реакций ГМК при сохранении функционирования  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора в нейро-мышечном синапсе.

Через 9 суток ЛКТ сохранялась гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов; активность  $\alpha_2$ -адренорецептора и А2А-рецептора TR-рецептора соответствовала диапазону нормореактивности (Таблица 8.8). Активность P2X<sub>1</sub>-рецептора повысилась на 7,3% ( $p<0,01$ ), АТ<sub>1</sub>-рецептора – на 6,3% ( $P<0,001$ ); А2А-рецептора на 12,7% ( $P<0,001$ ), TR-рецептора –22,2% ( $P<0,001$ ); активность  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2Y-рецепторов не изменилась по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. Кластер активности рецепторов может быть представлен следующим образом: активность P2X<sub>1</sub>-рецептора = активности АТ<sub>1</sub>-рецептора = активность P2Y-рецепторов > активности  $\alpha_2$ -адренорецептора = активности А2А-рецептора > активности TR-рецептора. Выявлена корреляционная связь между активностью P2X<sub>1</sub>-рецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора ( $r_{P2X-AT}=0,649$ ;  $p<0,05$ ), а также между активностью P2Y-рецептора и  $\alpha_2$ -адренорецептора ( $r_{\alpha_2-P2Y}=0,335$ ;  $p<0,05$ ). Активность А2А-рецепторов находилась на уровне нормореактивности и соответствовала таковой при госпитализации пациентов; установлена отрицательная корреляция между активностью А2А-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора ( $r_{A2A-P2X}=-0,580$  и  $r_{A2A-AT}=-0,478$ ;  $p<0,05$ ).

**Реактивность рецепторов Тц при траффике мелких конкрементов в средней-нижней трети мочеточника через 9 суток ЛКТ при сохранении активности  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора в нейро-мышечном синапсе**

Вид рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{x} \pm SD$	Размах (Min –Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
P2X <sub>1</sub> -рецептор	64,6±1,0	58,0-71,0	62,54	66,73
AT <sub>1</sub> -рецептор	63,7±0,8	59,0-70,0	62,0	65,5
P2Y-рецептор	61,2±2,2	46,0-71,0	62,5	66,7
$\alpha_2$ -адренорецептор	54,7±0,7*** P=0,010	48,0-58,0	53,1	56,3
A2A-рецептор	51,4±2,1***	39,0-64,0	47,0	55,8
TR-рецептор	44,5±0,3*** P=0,004	43,0-57,0	44,0	45,1

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности P2X<sub>1</sub>-рецептор на уровне  $p < 0,001$ . P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

В контексте анализа механизмов релаксации мышечной оболочки мочеточника следует отметить нормореактивность TR-рецептора. Поскольку в составе ЛКТ не предусмотрены фармакологические препараты, специфически стимулирующие P2X<sub>1</sub>-рецептор, P2Y-рецептора и AT<sub>1</sub>-рецептор, то, элиминация конкрементов являлась следствием включения компенсаторных механизмов, направленных на усиление сократительной активности ГМК. Следствием процессов образования аденозина и ингибирования ЦОГ может быть физиологический уровень релаксации ГМК. Таким образом, при ЛКТ не включающей  $\alpha_{1A}$ -АБ, триггером развития компенсаторных механизмов в мочеточнике может быть активация РАС, которая сопровождается нарушением микроциркуляции, развитием гипоксии/ишемии в стенке МВП, усилением пуринового метаболизма и

стимуляцией P2-рецепторов. Проведенный анализ не выявил значимых различий частоты и скорости элиминации мелких конкрементов из средней–нижней трети мочеточника при наличии и отсутствии  $\alpha$ -адреноблокаторов в составе ЛКТ. Следовательно, релаксация ГМК вследствие воздействия  $\alpha_{1A}$ -АБ не является определяющим фактором при элиминации мелких конкрементов. Можно предположить, что при прочих равных условиях (размер конкремент и его локализация, назначение стандартной ЛКТ) траффик конкремента определяется функционированием компенсаторных механизмов, обеспечивающих перистальтику мочеточника. Для проверки этой гипотезы проанализировали активность аденозинового A2A-рецептора и TP-рецептора, которые могут участвовать в компенсаторных реакциях, обеспечивающих релаксацию ГМК. Оказалось, что в 5-й и 6-й группах на момент элиминации конкрементов активность A2A-рецептора и TP-рецептора соответствовала диапазону нормореактивности. Таким образом, можно констатировать, что (а) назначение  $\alpha_{1A}$ -АБ в составе ЛКТ не влияло на компенсаторные механизмы релаксации гладкой мышечной ткани мочеточника; (б) частота выведения мелких конкрементов из средней и нижней трети мочеточника не зависела от назначения блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора; достигнутый эффект элиминации может быть связан с функционированием компенсаторных механизмов, обеспечивающих траффик мелких конкрементов, и воздействием фармакологических препаратов, входящих в состав ЛКТ.

На этапе госпитализации пациентов, выявленная гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, может отражать участие САС в поддержании сократительной активности МОМ; при этом миорелаксация обеспечивалась нормореактивностью аденозинового A2A-рецептора и ингибированием ЦОГ. При ЛКТ одним из триггеров компенсаторных механизмов в мочеточнике является активация РАС, которая сопровождается нарушением микроциркуляции, развитием гипоксии/ишемии в стенке МВП, усилением пуринового обмена и стимуляцией P2X<sub>1</sub>-рецептора. Наличие при этом гипер- или нормореактивности пуринового P2Y-рецептора может рассматриваться

как аддитивный механизм усиления сократительной активности ГМК. Нормореактивность A2A-рецептора может трактоваться как сохранение механизма релаксации мышечной оболочки в процессе трафика мелких конкрементов независимо от назначения блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора.

### **8.3. Влияние блокады $\alpha_{1A}$ -адренорецептора на механизмы эффективной элиминации средних конкрементов из мочеточника**

При НЛТ ключевым фармакологическим препаратом, обеспечивающим дилатацию просвета мочеточника и элиминацию конкрементов, является  $\alpha_{1A}$ -адреноблокатор ( $\alpha_{1A}$ -АБ). Механизм действия данного препарата связан с селективной блокадой постсинаптического  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора, связанного с Gq-белком, следствием чего является снижение содержания ионов  $Ca^{2+}$  в ГМК. Считается, что эффект  $\alpha_{1A}$ -АБ связан с модуляцией функции  $Ca^{2+}$ -каналов L-типа [265]. Для корректной оценки эффективности назначения  $\alpha_{1A}$ -АБ при наличии в просвете мочеточника конкрементов, размер которых находится в диапазоне 10,0-20,0мм необходимо учитывать влияние «вмешивающихся» факторов, способных влиять на релаксацию гладкой мышечной ткани. К таковым можно отнести: (а) воздействие НПВП, входящих в состав ЛКТ, поскольку ингибирование ЦОГ сопровождается снижением уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$  [219]; (б) детерминированные компенсаторные механизмы, обеспечивающие расслабление ГМК. В этом контексте, особый интерес представляет аденозинергическая сигнализация, модулирующая гиперполяризацию мембраны ГМК посредством  $K^+$ -каналов [141].

*Гипотеза.* Основными регуляторами сокращения гладкой мышечной ткани в МВП считаются адрен- и холинергический отделы вегетативной нервной системы, а также пуриновые нуклеотиды (АТФ и АДФ), ангиотензин-2, метаболиты арахидоновой кислоты, которые используют несколько различных рецепторов, связанных с G-белком, находящихся на клеточной мембране гладкомышечной клетки (ГМК) [122]. Логично предположить, что при нефролитиазе в случае стимуляции  $\alpha_2$ -адренорецептора и

ангиотензинового  $AT_1$ -рецептора (вследствие активации САС и РАС), а также – пуриновых  $P2X_1$ - и  $P2Y$ -рецепторов (при перманентной ишемии тканей мочеточника и пиелонефрите), нивелируется эффект  $\alpha_{1A}$ -адреноблокатора. Причиной такого феномена может быть *crosstalk* (появление «перекрестных помех» в сигнализации) при одновременной стимуляции нескольких рецепторов.

*Цель исследования* – проанализировать зависимость эффективности назначения блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора от внутриклеточной сигнализации рецепторов, сопряженных с G-белками (GPCRs) при элиминации из мочеточника конкрементов средних размеров.

Когорта больных распределена на две группы: с эффективной элиминацией конкремента – (7-я группа), у которых по данным визуализационного контроля в течение 7-9 суток стандартной ЛКТ произошло перемещение конкремента из мочеточника (среднего–нижнего отделов) в интрамуральный отдел или просвет мочевого пузыря; а также с неэффективной элиминацией конкремента – (8-я группа), у которых локализация конкремента в МВП в течении 9 суток стандартной ЛКТ не изменилась. Средний размер конкремента составил в 1-й группе  $12,1 \pm 0,2$  мм (min-max 11,0-13,0мм), во 2-й группе –  $11,7 \pm 0,2$  мм (min-max 11,0-13,0мм); межгрупповых различий не выявлено ( $p > 0,05$ ).

*Исследовательский вопрос* – влияет ли нефролитиаз на активность основных рецепторов, модулирующих сокращение и расслабление ГМК, у пациентов с эффективной элиминацией конкрементов средних размеров из мочеточника?

Исследование на этапе госпитализации пациентов (до начала ЛКТ) выявило сопоставимую гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора,  $AT_1$ -рецептора и TR-рецептора; активность пуринового  $P2X_1$ -рецептора соответствовала уровню нормореактивности, тогда как –пуриновых  $P2Y$ -рецепторов и аденозинового  $A_2$ -рецептора находилась в диапазоне гипореактивности (Таблица 8.9).

Таблица 8.9.

**Реактивность рецепторов Тц на этапе госпитализации при локализации конкрементов в средней и нижней трети мочеточника (7-я группа).**

Вид рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{x} \pm SD$	Размах (Min –Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
$\alpha_2$ -адренорецептор	60,4±1,0	54,0-66,0	58,2	62,5
АТ <sub>1</sub> -рецептор	59,1±0,9	53,0-64,0	57,1	61,0
ТР-рецептор	57,3±1,0	52,0-63,0	55,1	59,4
P2X <sub>1</sub> -рецептор	49,3±1,0*** P<0,001	43,0-55,0	47,1	51,6
A2A-рецептор	40,8±1,0*** P<0,001	36,0 49,0	38,6	43,0
P2Y-рецептор	40,3±0,9***	35,0-46,0	38,3	42,3

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности  $\alpha_2$ -адренорецептора на уровне  $p<0,001$ . P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

Кластер функциональной активности рецепторов может быть представлен следующим образом: активность  $\alpha_2$ -адренорецептора = активности АТ<sub>1</sub>-рецептора = активности ТР-рецептора > активности P2X<sub>1</sub>-рецептора > активности A2A-рецептора = активности P2Y-рецепторов. Повышенная стимуляция  $\alpha_2$ -адренорецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора отражает активацию симпато-адреналовой (САС) и ренин-ангиотензиновой (РАС) систем при нефролитолизе, что может быть направлено на удаление конкрементов средних размеров посредством усиления моторики мочеточника. В этом контексте может обсуждаться и повышение синтеза ТхА<sub>2</sub>, способного модулировать уровень внутриклеточного  $Ca^{+2}$  в ГМК

Логично было ожидать, что при наличии в просвете мочеточника конкремента, размер которого превышает диаметр мочеточника, запускаются компенсаторные механизмы, обеспечивающие релаксацию гладкой мышечной ткани МВП. Однако, судя по гипореактивности А2А-рецептора, имеет место низкая продукция аденозина, способного обеспечить релаксацию ГМК. Таким образом, у данного контингента больных не функционирует защитный аденозинергический механизм релаксации ГМК, что обосновывает необходимость назначения  $\alpha_{1A}$ -АБ.

*Исследовательский вопрос* – изменяется ли активность рецепторов, модулирующих траффик конкрементов у пациентов с эффективной элиминацией при назначении ЛКТ, включающей  $\alpha_{1A}$ -АБ? Установлено, что через 1-3 суток ЛКТ имела место гиперреактивность аденозинового А2А-рецептора, P2Y-рецепторов, АТ<sub>1</sub>-рецептора и нормореактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора (Таблица 8.10).

Таблица 8.10

**Активность рецепторов Тц (%) в 7-й группе при элиминации конкрементов (12,1±0,2 мм) из средней и нижней трети мочеточника через 1-3 суток стандартной ЛКТ.**

Вид рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{x} \pm SD$	Размах (Min – Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
А2А-рецептор	58,8±0,9	52,0-63,0	56,8	60,8
P2Y-рецептор	58,6±0,9	53,0-63,0	56,7	60,5
АТ <sub>1</sub> -рецептор	56,1±0,9	49,0-61,0	54,0	58,2
$\alpha_2$ -адренорецептор	48,4±0,7*** p<0,001	44,0-54,0	46,9	49,9
P2X <sub>1</sub> -рецептор	47,3±0,9***	42,0-52,0	45,2	49,3
TP-рецептор	46,6±1,0***	41,0-53,0	44,5	48,7

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности А2А-рецептора на уровне p<0,001. P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

Кластер функциональной активности рецепторов может быть представлен следующим образом: активность A2A-рецептора = активности P2Y-рецепторов= активности AT<sub>1</sub>-рецептора > активности α<sub>2</sub>-адренорецептора = активности P2X<sub>1</sub>- рецептора= активности TP-рецептора. Следовательно, в процессе ЛКТ снизилась активность α<sub>2</sub>-адренорецептора и TP-рецептора, соответственно, на 19,9% (P<0,001) и 18,7% (P<0,001) по сравнению с их активностью до начала ЛКТ. Активность A2A-рецептора и P2Y-рецепторов увеличилась, соответственно, на 44,1% (P<0,001) и 45,4% (P<0,001), тогда как активность P2X<sub>1</sub>-рецептора и AT<sub>1</sub>-рецептора не изменилась относительно исходных значений.

Через 4-6 суток активность α<sub>2</sub>-адренорецептора и AT<sub>1</sub>-рецептора снизилась, соответственно, на 8,5% и 15,2% (P<0,001) по сравнению с исходными значениями и достигала уровня нормореактивности (Таблица 8.11).

Таблица 8.11

**Активность рецепторов Tц (%) в 7-й группе при элиминации конкрементов (12,1±0,2мм) из средней и нижней трети мочеточника через 4-6 суток стандартной ЛКТ.**

Вид рецептора	Среднее значение ATц (%), $\bar{x} \pm SD$	Размах (Min –Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
A2A-рецептор	56,9±1,0	51,0-62,0	54,8	59,1
P2X <sub>1</sub> -рецептор	56,4±1,0	51,0-63,0	54,3	58,5
TP-рецептор	56,3±1,0	50,0-63,0	54,1	58,6
α <sub>2</sub> -адренорецептор	55,3±0,7	50,0-61,0	53,8	56,9
P2Y-рецептор	53,7±0,9*	49,0-59,0	51,7	55,7
AT <sub>1</sub> -рецептор	51,0±1,0* P<0,001	43,0-54,0	48,0	52,3

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности A2A-рецептора на уровне p<0,001. P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

Активность пуриновых P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов и аденозинового A<sub>2</sub>-рецептора повышалась, соответственно, на 14,4%, 31,8% и 39,5% (P<0,001), по сравнению с исходными значениями, и соответствовала уровню гиперреактивности. Вероятно, более высокие значения внеклеточного уровня аденозина по сравнению с таковыми АТФ и АДФ являются отражением повышения активности экто-5-нуклеотидазы (CD73), обеспечивающей усиление трансформации пуриновых нуклеотидов до аденозина [345]. Увеличение продукции аденозина и активация A<sub>2A</sub>-рецептора может рассматриваться как защитная реакция организма, призванная обеспечить не только устранение вазоконстрикции, связанной со стимуляцией α<sub>2</sub>-адренорецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора, но и поддерживать релаксацию ГМК в стенке мочеточника. Анализ множественной корреляции, выявил: во-первых, связь между активностью P2X<sub>1</sub>-рецептора и α<sub>2</sub>-адренорецептора –  $r_{P2X-\alpha2AP}=0,415$  (p<0,05), что подтверждает возможность синергизма P2X<sub>1</sub>-рецептора и α<sub>2</sub>-адренорецептора в плане усиления сократительной активности ГМК; во-вторых, отрицательную корреляционную связь между активностью A<sub>2A</sub>-рецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора  $r_{A2A-AT1}=-0,580$  (p<0,05), смыслом которой, вероятно, являлось ограничение силы сокращения гладкой мышечной ткани. Отсутствие корреляционной связи между активностью A<sub>2A</sub>-рецептора и другими рецепторами способными повысить сократительную активность ГМК позволяет предположить, что в указанный срок наблюдения аденозинергическая сигнализация оказывала защитный эффект только в отношении чрезмерной стимуляции АТ<sub>1</sub>-рецептора. Приведенные факты могут трактоваться как пластичность внутриклеточной сигнализации рецепторов клетки, целью которой являлось установление некоего баланса между механизма сокращения и расслабления мышечной оболочки мочеточника необходимого для траффика конкрементов >10 мм.

Таким образом, одной из причин отсутствия элиминации конкрементов в течение 4-6 суток ЛКТ могло быть сохранение гипертонуса ГМК, связанного с поддержанием высокого уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$  [448], который недостаточно ограничивался блокатором  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора и компенсаторным усилением аденозинергической сигнализации

Через 7-9 суток ЛКТ элиминация конкрементов происходила на фоне изменения активности рецепторов, сопряженных с G-белками (Таблица 8.12)

Таблица 8.12

**Активность рецепторов Тц (%) в 7-й группе при элиминации конкрементов ( $12,1 \pm 0,2$  мм) из средней и нижней трети мочеточника через 7-9 суток стандартной ЛКТ.**

Вид рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{x} \pm SD$	Размах (Min – Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
A2A-рецептор	$59,9 \pm 1,0$	55,0-65,0	57,8	61,9
$\alpha_2$ -адренорецептор	$59,7 \pm 0,8$	54,0-65,0	57,8	61,5
P2Y-рецептор	$47,6 \pm 0,8^{***}$ P<0,001	43,0-53,0	45,9	49,3
P2X <sub>1</sub> -рецептор	$46,3 \pm 1,0^{***}$	40,0-52,0	44,2	48,4
TP-рецептор	$44,4 \pm 1,0^{***}$	39,0-51,0	41,7	45,9
AT <sub>1</sub> -рецептор	$43,7 \pm 0,9^{***}$	38,0-49,0	41,8	45,5

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности A2A- на уровне  $p < 0,001$ . P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

Так, реактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора и P2Y-рецепторов снизилась, соответственно, на 17,9% и 11,4% ( $P < 0,001$ ) и достигала уровня нормореактивности. Активность  $\alpha_2$ -адренорецептора повысилась на 7,9% ( $P < 0,001$ ) и возвращалась до уровня гиперреактивности на этапе предшествующем ЛКТ. Реактивность AT<sub>1</sub>-рецептора уменьшилась на 12,8% и ТХА2-рецептора – на 11,1% ( $P < 0,001$ ), т.е. достигалась десенситизация

рецепторов. Активность A2A-рецептора увеличилась на 5,3% по сравнению с предыдущим сроком наблюдения ( $p < 0,05$ ), что позволило достигнуть нового уровня гиперреактивности. Корреляционный анализ выявил, во-первых, отрицательную связь между активностью A2A-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов, АТ<sub>1</sub>-рецептора, соответственно,  $r_{A2A-P2X} = -0,588$  ( $p < 0,05$ ),  $r_{A2A-P2Y} = -0,607$  ( $p < 0,05$ ) и  $r_{A2A-AT1} = -0,555$  ( $p < 0,05$ ). Данный факт может рассматриваться как проявление защитного антигипоксического механизма аденозина, направленного на устранение вазоконстрикции путем снижения чувствительности рецепторов, модулирующих сокращение ГМК в стенке артерий мышечного типа. В результате ЛКТ достигался необходимый уровень релаксации МОМ, позволяющий обеспечить трафик средних конкрементов. Выявленная взаимосвязь  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора означает, что, наряду с индуцированной ЛКТ релаксацией ГМК функционируют механизмы, обеспечивающие активную моторику мочеточника необходимую для трафика конкрементов средних размеров.

Таким образом, через 7-9 суток ЛКТ эффективная элиминация конкрементов средних размеров могла быть следствием: (а) гиперреактивности A2A-рецептора, обеспечивающего гиперполяризацию мембраны ГМК и удаление ионов Ca<sup>2+</sup> из клетки. Аденозинергическая сигнализация регулирует релаксацию гладкой мышечной ткани и может усиливать эффект блокады  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора; (б) гиперреактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора, связанного с Gi-белком, позволяющей увеличить силу сокращения мышечной оболочки мочеточника. При необходимости возможно потенцирование эффектов  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, открывающего Ca-канал; (в) гипореактивности рецепторов, связанных с Gq-сигнализацией (P2Y-рецепторы, АТ<sub>1</sub>-рецептор и ТхА<sub>2</sub>-рецептор), обеспечивающей ограничение «чрезмерного» сокращения гладкой мышечной ткани путем лимитирования содержания внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>.

#### 8.4. Влияние блокады $\alpha_{1A}$ -адренорецептора на механизмы неэффективной элиминации средних конкрементов из мочеточника.

*Исследовательский вопрос* – влияет ли НЛТ на активность основных рецепторов, модулирующих сокращение и расслабление ГМК, у пациентов с неэффективной элиминацией конкрементов средних размеров из мочеточника? На этапе госпитализации обнаружена гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора и TP-рецептора; активность пуриновых P2Y-рецепторов соответствовала уровню нормореактивности, тогда как – аденозинового A2-рецептора находилась в диапазоне гипореактивности (Таблица 8.13). Кластер функциональной активности рецепторов может быть представлен следующим образом: активность  $\alpha_2$ -адренорецептора > активности АТ<sub>1</sub>-рецептора = активности P2X<sub>1</sub>-рецептора = активности TxA2-рецептора > активности P2Y-рецепторов = активности A2A-рецептора.

Таблица 8.13.

#### Реактивность рецепторов Тц на этапе госпитализации при локализации конкрементов (11,7±0,2 мм) в средней и нижней трети мочеточника (8-я группа).

Вид рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{X} \pm SD$	Размах (Min –Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
$\alpha_2$ -адренорецептор	64,0±0,9	55,0-69,0	62,1	65,9
АТ <sub>1</sub> -рецептор	59,9±0,8*** P<0,001	54,0-64,0	58,1	61,6
P2X <sub>1</sub> -рецептор	59,7±1,0***	54,0-65,0	57,5	61,8
TP-рецептор	59,3±0,3***	53,0-64,0	57,3	61,4
P2Y-рецептор	45,1±1,0*** P<0,001	39,0-51,0	42,9	47,2
A2A-рецептор	43,1±1,0***	39,0-51,0	40,8	45,3

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности  $\alpha_2$ -адренорецептора на уровне p<0,001. P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

По сравнению с 7-й группой, имела место более высокая активность  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, соответственно, на 6,0% (P=0,013) и 21,1% (P<0,001), что отражает наличие более высокой реактивности САС и ишемии тканей МВП у пациентов 8-й группы. Можно констатировать, что при НЭК средних конкрементов активность двух рецепторов, способных регулировать сокращение ГМК, была значимо выше, чем при ЭЭК из средней-нижней трети мочеточника. В 8-й группе активность A2-рецептора, модулирующего релаксацию ГМК, была низкой и не отличалась от таковой в 7-й группе. Следовательно, у пациентов с локализацией средних конкрементов в мочеточнике активация САС, нарушение микроциркуляции и ишемия тканей являются факторами риска дисфункции мочеточника, вследствие усиления внутриклеточной сигнализации обеспечивающей повышение уровня внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>.

*Исследовательский вопрос* – изменяется ли активность рецепторов, регулирующих функцию ГМК, в случае неэффективной элиминации средних конкрементов из средней-нижней трети мочеточника при выполнении стандартной ЛКТ? Установлено, что через 1-3 суток ЛКТ имела место гиперреактивность аденозинового TP-рецептора, AT<sub>1</sub>-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, нормореактивность P2Y-рецепторов и A2A-рецептора (Таблица 8.14). Кластер функциональной активности рецепторов может быть представлен следующим образом: активность TP-рецептора= активности AT<sub>1</sub>-рецептора= активности  $\alpha_2$ -адренорецептора= активности P2X<sub>1</sub>-рецептора > активности P2Y-рецепторов > активности A2A-рецептора. Следовательно, в процессе ЛКТ активность TP-рецептора увеличилась на 6,0% (P<0,05) и P2Y-рецепторов – на 6,6% (P<0,01) по сравнению с исходной активностью; снизилась активность  $\alpha_2$ -адренорецептора на 8,0% (P<0,01). Активность P2X<sub>1</sub>-рецептора, AT<sub>1</sub>-рецептора и A2A-рецептора не изменилась относительно таковой до начала ЛКТ.

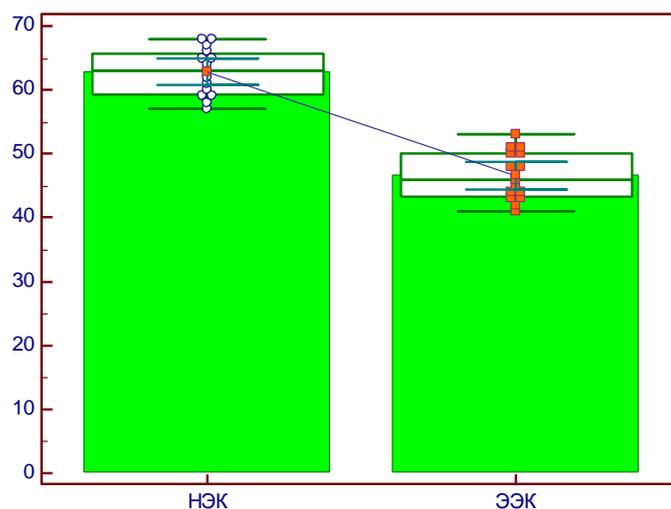
Таблица 8.14.

**Реактивность рецепторов на Тц в через 1-3 суток стандартной ЛКТ при локализации конкрементов ( $12,1 \pm 0,2$  мм) в средней и нижней трети мочеточника (8-я группа).**

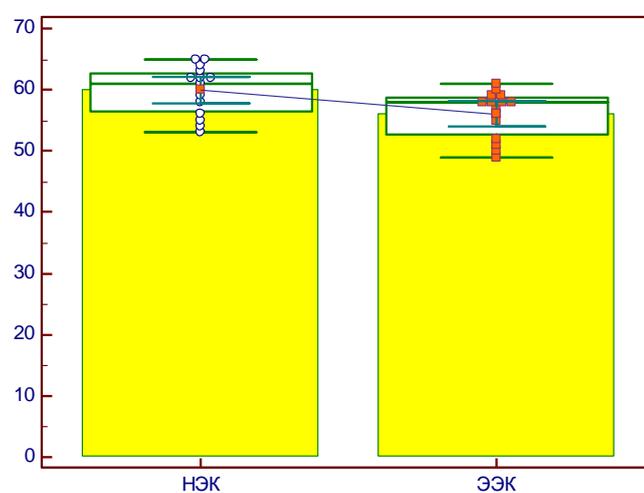
Вид рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{x} \pm SD$	Размах (Min –Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
ТР-рецептор	$62,8 \pm 0,9$	57,0-68,0	60,8	64,8
АТ <sub>1</sub> -рецептор	$59,9 \pm 1,0^*$	53,0-65,0	57,7	62,1
$\alpha_2$ -адренорецептор	$58,9 \pm 0,7^{**}$	54,0-64,0	57,3	60,4
P2X <sub>1</sub> -рецептор	$58,2 \pm 0,9^{**}$	53,0-65,0	56,2	60,2
P2Y-рецептор	$48,1 \pm 0,9^{***}$ P<0,001	44,0-54,0	46,2	50,0
A2A-рецептор	$44,4 \pm 1,0^{***}$ P<0,05	40,0-52,0	42,2	46,6

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности ТР-рецептора на уровне  $p < 0,001$ . P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

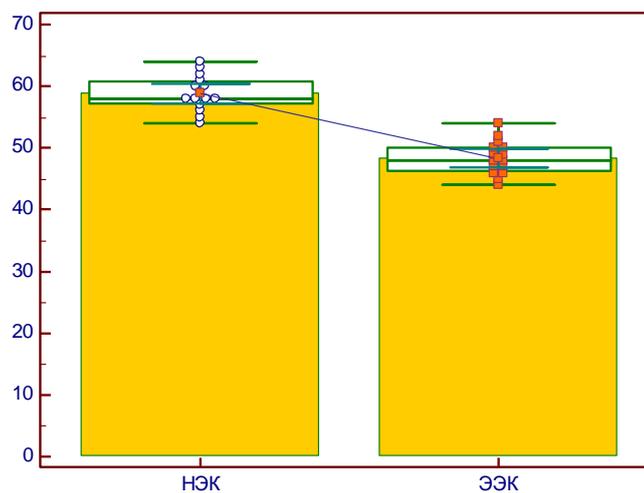
В контексте изменения внутриклеточной сигнализации на фоне назначения  $\alpha_{1A}$ -АБ представляют интерес различия активности рецепторов в ранние сроки ЛКТ при различной эффективности элиминации конкрементов. При неэффективной элиминации активность трех рецепторов была выше: ТР-рецептора на 34,8% ( $P < 0,01$ ) АТ<sub>1</sub>-рецептора на 6,8% ( $P < 0,05$ )  $\alpha_2$ -адренорецептора на 21,7% ( $P < 0,001$ ), чем при эффективной элиминации (Рисунок 8.1). Активность двух рецепторов была ниже: P2Y-рецепторов и А2А-рецептора, соответственно, на 17,9% ( $P < 0,01$ ) на 24,5% ( $P < 0,001$ ) (Рисунок 8.2); активность P2X<sub>1</sub>-рецептора не различалась ( $p > 0,05$ ).



а



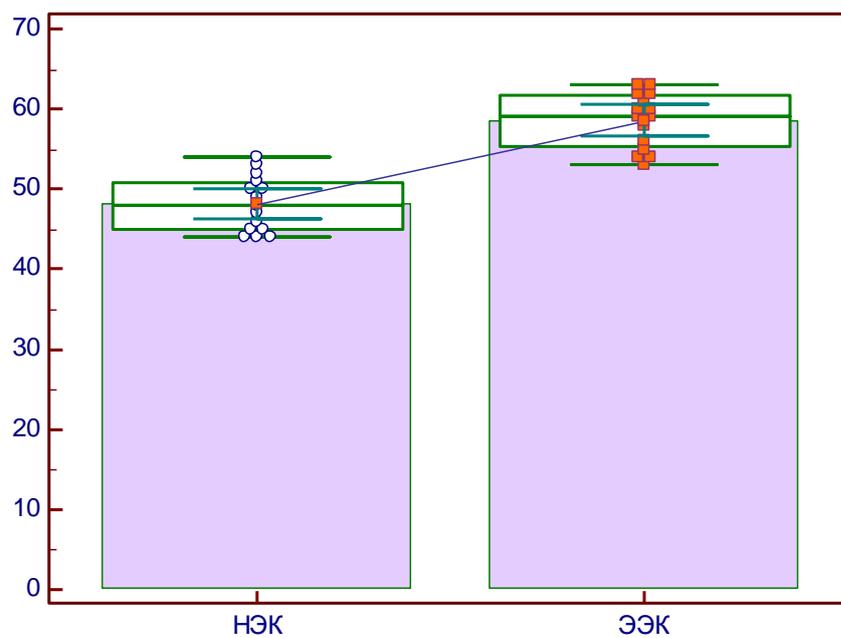
б



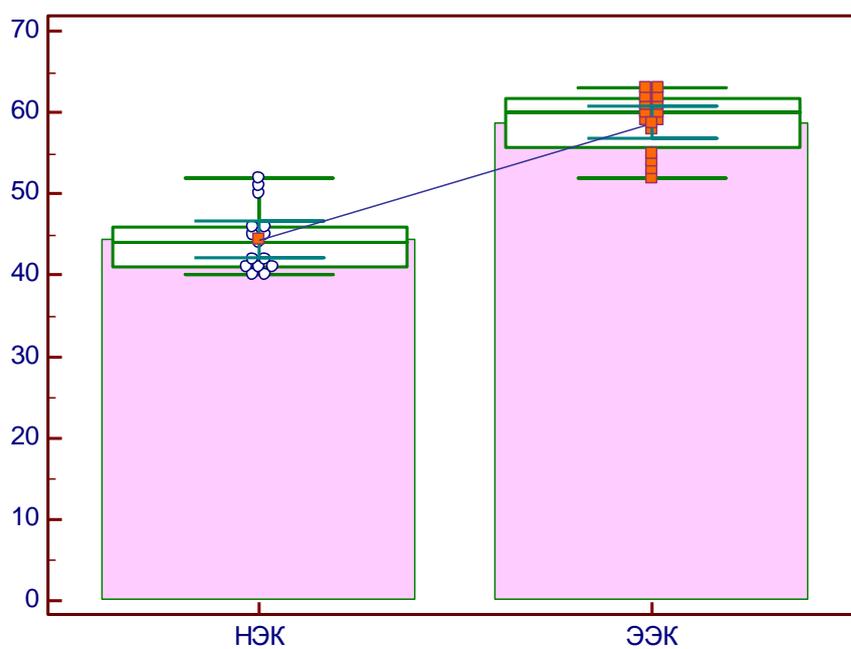
в

**Рис. 8.1. Реактивность ТР-рецептора (а), АТ<sub>1</sub>рецептора (б),  $\alpha_2$ -адренорецептора (в) при назначении  $\alpha_{1A}$ -адреноблокатора**

По оси ординат – значения АТц (%) индуцированной арахидоновой кислотой, ангиотензином-2, эпинефрином; по оси абсцисс – НЭК и ЭЭК, соответственно, неэффективная и эффективная элиминация средних конкрементов из мочеточника.



а



б

**Рис. 8.2. Реактивность P2Y-рецепторов (а), A2A-рецептора (б,) при назначении  $\alpha_{1A}$ -адреноблокатора.**

По оси ординат – значения АТц (%) индуцированной АДФ и аденозином; по оси абсцисс – НЭК и ЭЭК, соответственно, неэффективная и эффективная элиминация средних конкрементов из мочеточника.

Таким образом, (а) в ранние сроки ЛКТ стереотипным механизмом усиления моторики средней-нижней трети мочеточника, обтурированного конкрементами >10мм является стимуляция P2X<sub>1</sub>-рецептора АТ-рецептора; (б) неэффективная элиминация предопределяется усилением реактивности TP-рецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора и α<sub>2</sub>-адренорецептора, сигнальные пути которых могут поддерживать пиковые значения содержания Са<sup>2+</sup> в ГМК. Для сравнения, назначение α<sub>1А</sub>-АБ пациентам в случае эффективной элиминации сопровождается одновременным повышением активности А2А-рецептора, P2Y-рецепторов, АТ<sub>1</sub>-рецептора, сигнальные системы которых оказывают противоположное воздействие на содержание внутриклеточного Са<sup>2+</sup>, тем самым воспроизводится оптимальное сокращение-расслабление ГМК.

Через 4-6 суток назначения α<sub>1А</sub>-АБ активность α<sub>2</sub>-адренорецептора снизилась на 5,9% (P<0,05) и TP-рецептора на 10,8% (P<0,05) по сравнению со сроком наблюдения 1-3 суток, причем активность АТ<sub>1</sub>-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора оставалась на уровне нижней границы гиперреактивности (56,0%) (Таблица 8.15). Активность пуриновых P2Y-рецепторов и аденозинового А2-рецептора сохранялась на уровне исходных значений и соответствовала уровню нормореактивности. Следовательно, стандартная ЛКТ сопровождалась ограничением активности рецептора, сопряженного с Gi-белком (α<sub>2</sub>-адренорецептор), Gq-белком (АТ<sub>1</sub>-рецептор и ТхА2-рецептор), а также – рецептора, являющегося лиганд-зависимым Са<sup>2+</sup>-каналом (P2X<sub>1</sub>-рецептор). На фоне достигнутой сигнализации можно было ожидать положительную динамику траффика конкрементов, которую, однако, не удалось подтвердить результатами визуализационного контроля. Причины этого явления можно уточнить при сопоставлении показателей активности рецепторов у пациентов 7-й и 8-й групп, т.е когда имела место эффективная и неэффективная элиминация конкрементов. Так, в 8-й группе по сравнению с 7-й группой имело место повышение активности АТ<sub>1</sub>-рецептора (на 15,0%; P<0,001) и снижение активности P2Y-рецепторов, аденозинового А2-рецептора, соответственно на 11,6% и 20,6% (P<0,001).

Таблица 8.15.

**Реактивность рецепторов на Тц через 4-6 суток стандартной ЛКТ при локализации конкрементов ( $12,1\pm 0,2$  мм) в средней и нижней трети мочеточника (8-я группа).**

Вид Рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{x}\pm SD$	Размах (Min –Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
АТ <sub>1</sub> -рецептор	57,7±0,6	53,0-62,0	56,3	59,0
Р2X <sub>1</sub> -рецептор	56,3±0,8	50,0-61,0	54,6	57,9
ТР-рецептор	56,0±0,6	52,0-59,0	54,7	57,3
α <sub>2</sub> -адренорецептор	55,4±0,6*	50,0-60,0	54,11	56,69
Р2Y-рецептор	47,5±0,9*** P<0,001	43,0-53,0	45,4	49,5
А2А-рецептор	45,2±0,9***	40,0-52,0	43,2	47,21

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности АТ<sub>1</sub>-рецептора на уровне  $p<0,001$ . P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

Наличие связи между активностью АТ<sub>1</sub>-рецептора и α<sub>2</sub>-адренорецептора ( $r_{AT_1-\alpha_2AP}=0,330$ ;  $p<0,05$ ), свидетельствует о появлении в этот срок наблюдения новой причинно-следственной связи способной усиливать сократительную активность ГМК. Обнаруженная корреляционная связь между активностью Р2Y-рецепторов и АТ<sub>1</sub>-рецептора, ТР-рецептора, соответственно,  $r_{P2Y-AT_1}=0,475$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{P2Y-TP}=0,483$  ( $p<0,05$ ) может трактоваться как проявление взаимодействия рецепторов, связанных с Gq-белком, результатом которого может быть поддержание гипертонуса МОМ. В тоже время, отсутствие корреляционной связи между активностью А2А-рецептора и рецепторов, способных повысить содержание внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>, позволяет констатировать низкую эффективность аденозинергической сигнализации, позволяющей нивелировать данный патохимический процесс.

Таким образом, нарушение траффика конкрементов средних размеров может через 4-6 суток ЛКТ может быть связано с (а) гиперреактивностью  $\alpha_2$ -адренорецептора (сопряженного с Gi-белком), АТ<sub>1</sub>-рецептора и ТхА2 рецептора (сопряженных с Gq-белком) и P2X<sub>1</sub>-рецептора, являющегося лиганд-зависимым Ca<sup>2+</sup>-каналом; данные рецепторные системы способны поддерживать высокий уровень внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>; (б) нормореактивностью аденозинового А2А-рецептора, не позволяющей в должной мере «откачивать» избыток ионов Ca<sup>2+</sup> из клетки.

Через 7-9 суток ЛКТ система GPCR видоизменялась (Таблица 8.16). Так, реактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора возросла на 12,3%, АТ<sub>1</sub>-рецептора – на 14,2%, P2X<sub>1</sub>-рецептора – на 8,9%, TP рецептора – на 15,2% и P2Y-рецепторов – на 36,2% (P<0,001) по сравнению с предыдущим сроком наблюдения; при этом достигался новый уровень гиперреактивности рецепторов. Активность А2А-рецептора снизилась на 7,7% (p<0,05), по сравнению со сроком наблюдения 4-6 суток, и возвращалась к уровню гипореактивности.

Таблица 8.16.

**Реактивность рецепторов Тц через 7-9 суток стандартной ЛКТ при локализации конкрементов (12,1±0,2 мм) в средней и нижней трети мочеточника (8-я группа).**

Вид рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{x} \pm SD$	Размах (Min –Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
АТ <sub>1</sub> -рецептор	65,9±0,6	63,0-70,0	64,5	67,2
P2Y-рецептор	64,7±0,7	60,0-70,0	63,1	66,3
TP-рецептор	64,5±0,9	58,0=70,0	62,3	66,6
$\alpha_2$ -адренорецептор	62,2±0,8**	57,0-67,0	60,5	63,9
P2X <sub>1</sub> -рецептор	61,3±0,7***	58,0-65,0	59,8	62,8
А2А-рецептор	41,7±0,9*** P<0,001	37,0-49,0	39,7	43,8

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности АТ<sub>1</sub>-рецептора на уровне p<0,001. P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

Анализ множественной корреляции выявил, усиление связи между активностью АТ<sub>1</sub>-рецептора и α<sub>2</sub>-адренорецептора ( $r_{\text{AT}_1-\alpha_2\text{AP}}=0,522$ ;  $p<0,05$ ), а также между активностью P2Y-рецепторов и АТ<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора, соответственно,  $r_{\text{P2Y-AT}_1}=0,619$  ( $p<0,05$ ) и  $r_{\text{P2Y-TP}}=0,507$  ( $p<0,05$ ). В контексте нарушения элиминации конкрементов, наличие данных причинно-следственных связей позволяет считать, что длительная ЛКТ, включающая α<sub>1A</sub>-АБ, не устраняет нарушение внутриклеточной сигнализации, результатом которой является увеличения содержания ионов Ca<sup>2+</sup>. На этом фоне низкая активность А2А-рецептора исключала возможность достижения необходимого уровня релаксации гладкой мышечной ткани в стенке мочеточника.

Возникает вопрос – почему введение блокатора α<sub>1A</sub>-адренорецептора не обеспечивало релаксацию гладкой мышечной ткани мочеточника, которая позволила бы обеспечить трафик конкрементов средних размеров? В этой связи хотелось бы вернуться к концепции *crosstalk* («перекрестных помех») в сигнальной трансдукции [258]. Известно, что α<sub>1</sub>-адренергический рецептор связан с α-субъединицей G<sub>q</sub>-белка; стимуляция данного типа адренорецептора приводит к повышению внутриклеточной концентрации ионов Ca<sup>2+</sup>, следствием чего может быть сокращение гладкой мышечной ткани. Вероятно, эффект α<sub>1A</sub>-АБ может нивелироваться или даже отменяться если параллельно поддерживается стимуляция G<sub>q</sub>-белка, т.е. существует конкурентная сигнализация, например, с P2Y-рецепторов, АТ<sub>1</sub>-рецептора и TP-рецептора. Косвенным подтверждением данной гипотезы может быть факт эффективной элиминации конкрементов у пациентов 7-й группы при введении α<sub>1A</sub>-АБ и наличии гипореактивности рецепторов, связанных с G<sub>q</sub>-сигнализацией. При низкой эффективности α<sub>1A</sub>-АБ уменьшить содержание Ca<sup>2+</sup> в ГМК могло бы компенсаторное усиление аденозинергической сигнализации, однако, при стандартной ЛКТ не достигалась необходимая стимуляция А2А-рецептора.

Таким образом, отсутствие траффика средних конкрементов из средней-нижней трети мочеточника через 7-9 суток стандартной ЛКТ может быть связано с чрезмерной активацией системы рецепторов, повышающих уровень внутриклеточного  $Ca^{2+}$  ( $\alpha_2$ -адренорецептор,  $P2X_1$ -рецептор,  $P2Y$ -рецепторы,  $AT_1$ -рецептор,  $TR$ -рецептор) и десенситизацией  $A2A$ -рецептора, призванного удалять избыток ионов  $Ca^{2+}$  из клетки. Возникающая гиперреактивность системы рецепторов, связанных с Gq-белком, может нивелировать эффект введения блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора, поскольку воспроизводятся «перекрестные помехи» внутриклеточной сигнализации, следствием чего является сохранение избыточного уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$ .

#### **8.5. Компенсаторные механизмы траффика средних конкрементов в мочеточнике при сохранении функции $\alpha_{1A}$ -адренорецептора.**

*Гипотеза.* Траффик конкрементов, диаметр которых превышает просвет мочеточника, вероятно, обеспечивается как гидродинамическим градиентом, так и компенсаторными механизмами, регулирующими релаксацию и сокращение гладкой мышечной ткани при обструкции мочеточника. Отсутствие знаний патохимической кинетики, лежащей в основе развития компенсаторных механизмов в гладкой мышечной ткани при обструкции мочеточника, затрудняет прогноз эффективности элиминации конкрементов средних размеров из средней-нижней трети мочеточника. Можно предположить, что: эффективная элиминация воспроизводится при функционировании  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора на ГМК, если «работают» компенсаторные механизмы, оптимизирующие фазы перистальтики мочеточника.

*Исследовательский вопрос* – влияет ли нефролитиаз на активность основных рецепторов, модулирующих сокращение и расслабление ГМК, у пациентов 9-й группы с эффективной элиминацией конкрементов ( $12,3 \pm 0,8$  мм; min-max 7,0-10,0мм) из средней-нижней трети мочеточнике при сохранении функции  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора? Исследование проведенное на

этапе госпитализации пациентов выявило гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, TP-рецептора, пуриновых P2X<sub>1</sub>- и P2Y-рецепторов; нормореактивность A2-рецептора и AT<sub>1</sub>-рецептора (Таблица 8.17). Кластер активности рецепторов может быть представлен следующим образом: активность  $\alpha_2$ -адренорецептора > активности P2Y-рецепторов = активности TP-рецептора = активности P2X<sub>1</sub>-рецептора > активности A2A-рецептора = активности AT<sub>1</sub>-рецептора.

Таблица 8.17

**Реактивность рецепторов Тц на этапе госпитализации при локализации конкрементов (12,3±0,8 мм) в средней и нижней трети мочеточника (9-я группа).**

Вид рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{x} \pm SD$	Размах (Min – Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
$\alpha_2$ -адренорецептор	63,4±0,8	58,0-69,0	61,7	65,0
P2Y-рецептор	60,7±0,7* P<0,05	54,0-65,0	59,3	62,1
TP-рецептор	60,4±0,6*	52,0-64,0	59,2	61,6
P2X <sub>1</sub> -рецептор	59,2±0,5***	54,0-63,0	58,2	60,3
A2A-рецептор	54,8±0,8*** P<0,001	49,0-60,0	53,0	56,5
AT <sub>1</sub> -рецептор	53,3±0,8***	48,0-59,0	53,0	56,5

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности  $\alpha_2$ -адренорецептора на уровне p<0,001. P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

Представленный кластер рецепторов отражает преобладание механизмов, повышающих сократительную активность МОМ. Известно, что стимуляция рецепторов связанных с G-белком – система GPCR передает и усиливает клеточные сигналы к внутриклеточным эффекторам [306], причем большинство GPCR вовлечено в мобилизацию ионов Ca<sup>2+</sup>, а также в

функционирование  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов [424], следствием чего может быть усиление тонуса ГМК. Таким образом, сформировавшиеся в процессе образования конкремента средних размеров, компенсаторные механизмы направлены на его выведение, однако при этом, вероятно, развивается гипертонус МОМ, что не предрасполагает к спонтанному выведению конкрементов.

*Исследовательский вопрос* – изменяется ли активность рецепторов, модулирующих трафик средних конкрементов при сохранении функции  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора в нейро-мышечном синапсе? Установлено, что через 1-3 суток медикаментозной терапии, в схеме которой отсутствовал  $\alpha_{1A}$ АБ, имела место гиперреактивность ТР-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2Y-рецепторов, A2A-рецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора (Таблица 8.18). Кластер активности рецепторов может быть представлен следующим образом: активность ТР-рецептора > активности P2X<sub>1</sub>-рецептора = активности  $\alpha_2$ -адренорецептора = активности P2Y-рецепторов = активности A2A-рецептора = активности АТ<sub>1</sub>-рецептора.

Таблица 8.18

**Реактивность рецепторов Тц при трафике конкрементов  
(12,3±0,8мм) в средней – нижней трети мочеточника через 1-3 суток  
медикаментозной терапии, в схеме которой отсутствовал  $\alpha_{1A}$ АБ.**

Вид рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{x} \pm SD$	Размах (Min –Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
ТР-рецептор	62,4±0,7	56,0-68,0	60,9	63,9
P2X <sub>1</sub> -рецептор	59,8±0,6* P<0,05	55,0-65,0	58,6	61,0
$\alpha_2$ -адренорецептор	59,3±0,7*	53,0-65,0	57,9	60,7
P2Y-рецептор	58,7±0,8**	52,0-63,0	57,1	60,3
A2A-рецептор	58,2±0,8**	52,0-63,0	56,4	59,9
АТ <sub>1</sub> -рецептор	58,2±0,9**	52,0-65,0	56,4	60,1

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности ТР-рецептора на уровне  $p < 0,001$ . P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

В процессе медикаментозной терапии снизилась активность  $\alpha_2$ -адренорецептора на 6,5% ( $P<0,05$ ); увеличилась активность TP-рецептора на 3,3% ( $P<0,05$ ), A2A-рецептора на 6,6% ( $P<0,01$ ) и AT<sub>1</sub>-рецептора на 9,2% ( $P<0,001$ ); активность и P2X<sub>1</sub>-рецептор P2Y-рецептор не изменилась относительно исходных значений.

Через 4-6 суток консервативной терапии сохранялась гиперреактивность TP-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2Y-рецепторов, A2A-рецептора; активность AT<sub>1</sub>-рецептора находилась в диапазоне нормореактивности (Таблица 8.19).

Таблица 8.19

**Реактивность рецепторов Тц при граффике конкрементов (12,3±0,8мм) в средней – нижней трети мочеточника через 4-6 суток медикаментозной терапии, в схеме которой отсутствовал  $\alpha_{1A}$ АБ.**

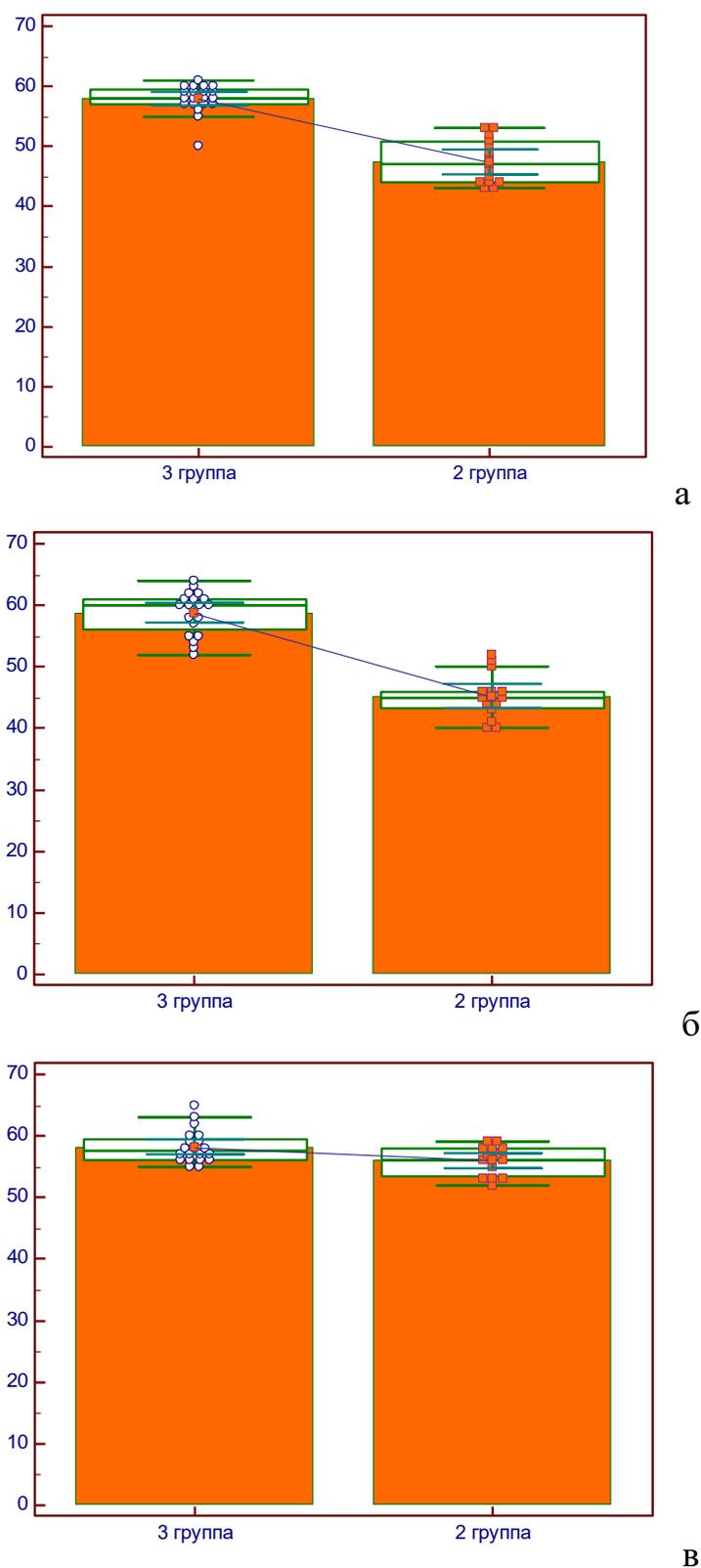
Вид рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{x} \pm SD$	Размах (Min –Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
A2A-рецептор	58,7±0,8	52,0-64,0	57,1	60,3
TP-рецептор	58,2±0,6	55,0-65,0	56,9	59,5
P2Y-рецептор	57,9±0,5	50,0-61,0	56,8	59,0
$\alpha_2$ -адренорецептор	56,3±0,8*	50,0-62,0	54,5	58,1
P2X <sub>1</sub> -рецептор	56,0±0,7*	50,0-61,0	54,6	57,4
AT <sub>1</sub> -рецептор	55,4±0,6***	50,0-60,0	54,3	56,5

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности A2A-рецептора на уровне  $p<0,001$ . P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

Кластер рецепторов характеризуется сходной реактивностью, по сути, любой из представленных рецепторов может модулировать функцию ГМК. Изменение регуляции компенсаторной реакции МОМ при сохранении активности  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора проявляется снижением стимуляции TP-рецептора на 6,7% ( $P<0,05$ ),  $\alpha_2$ -адренорецептора – на 5,1% ( $P=0,009$ ), P2X<sub>1</sub>-рецептора – на 6,4% ( $P<0,001$ ) и AT<sub>1</sub>-рецептора – на 4,8% ( $P=0,010$ ), по

сравнению со сроком наблюдения 1-3 суток медикаментозной терапии. Активность P2Y-рецепторов и A2A-рецептора не претерпевала существенных изменений. Сохраняющееся усиление продукции аденозина, вероятно, происходит вследствие неспецифического влияния медикаментозной терапии и может рассматриваться как защитная компенсаторная реакция организма. Последняя, как уже отмечалось, способствует не только устранению вазоконстрикции, связанной со стимуляцией  $\alpha_2$ -адренорецептора и AT<sub>1</sub>-рецептора, но и поддерживает релаксацию ГМК в стенке мочеточника. Анализ множественной корреляции, выявил отрицательную связь между активностью A2A-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора и AT<sub>1</sub>-рецептора, соответственно,  $r_{A2A-\alpha_2AP} = -0,511$  ( $p < 0,05$ ) и  $r_{A2A-AT1} = -0,400$  ( $p < 0,05$ ), смыслом которой является ограничение силы сокращения гладкой мышечной ткани. Таким образом, причинами отсутствия элиминации средних конкрементов из средней–нижней трети мочеточника в течение 4-6 суток медикаментозной терапии, несмотря изменение спектра механизмов регуляции компенсаторной реакции МОМ, могло быть сохранение гипертонуса ГМК, связанного с поддержанием высокого уровня внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> при чрезмерной стимуляции TP-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2Y-рецепторов, а также – недостаточным усилением аденозинергической сигнализации.

В связи с отсутствием элиминации конкрементов из мочеточника через 4-6 суток медикаментозной терапии, в 8-й группе, включающей блокатор  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора и 9-й группе, не предусматривающей его использование, возникает предположение, что кластер и активность рецепторов, регулирующих функцию ГМК, должны совпадать. Однако, в 9-й группе выявлено повышение активности P2Y-рецепторов, A2-рецептора и TP-рецептора, соответственно, на 21,9%, 29,9% ( $P < 0,001$ ) и 3,9% ( $P = 0,016$ ) по сравнению с 8-й группой (Рисунок 8.3), тогда как активность  $\alpha_2$ -адренорецептора снизилась на 4,0% ( $P = 0,009$ ).



**Рис. 8.3. Реактивность P2Y-рецепторов (а), A2A-рецептора (б), TP-рецептора (в) при отсутствии и наличии  $\alpha_{1A}$ -адреноблокатора в схеме медикаментозной терапии.**

По оси ординат – значения АТц (%) индуцированной АДФ, аденозином и арахидоновой кислотой; по оси абсцисс – исследованные группы.

Обнаруженная корреляционная связь между активностью P2Y-рецепторов и AT<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора, соответственно,  $r_{P2Y-AT1} = 0,475$  ( $p < 0,05$ ) и  $r_{P2Y-TP} = 0,483$  ( $p < 0,05$ ) может трактоваться как проявление взаимодействия рецепторов, связанных с Gq-белком, результатом которого может быть поддержание гипертонуса MOM [447]. В тоже время, отсутствие корреляционной связи между активностью A2A-рецептора и рецепторов, способных повысить содержание внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>, позволяет свидетельствовать о недостаточной эффективности аденозинергической сигнализации, позволяющей нивелировать данный патохимический процесс. Следовательно, через 4-6 суток при функционировании  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора в нейро-мышечном синапсе реализация компенсаторных реакций MOM обусловлена (а) гиперреактивностью TP-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2Y-рецепторов (сопряженных с G-белком) и P2X<sub>1</sub>-рецептора, являющегося лиганд-зависимым Ca<sup>2+</sup>-каналом; данные рецепторные системы способны поддерживать высокий уровень внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>; (б) гиперреактивностью аденозинового A2A-рецептора, обеспечивающего релаксацию ГМК. Для сравнения, через 4-6 суток стандартной ЛКТ, блокирующей  $\alpha_{1A}$ -адренорецептор, регуляция компенсаторной реакции ГМК связана с: (а) гиперреактивностью  $\alpha_2$ -адренорецептора, AT<sub>1</sub>-рецептора и TP-рецептора (сопряженных с G-белком) и P2X<sub>1</sub>-рецептора; (б) нормореактивностью аденозинового A2A-рецептора. Таким образом, стереотипным механизмом усиления сократительной активности ГМК при обструкции МВП является стимуляция TP-рецептора и  $\alpha_2$ -адренорецептора. При функционировании  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора специфическое влияние на перистальтику MOM оказывали P2Y-рецепторы, при блокаде  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора – проявляется эффект AT<sub>1</sub>-рецептора. Отличия в регуляции расслабления ГМК касались наличия гиперреактивности A2A-рецептора в 9-й группе и нормореактивности – в 8-й группе.

Через 7-9 суток медикаментозной терапии у пациентов 9-й группы сохранялась гиперреактивность А2А-рецептора и Р2У-рецепторов. Активность ТР-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора находилась в диапазоне нормореактивности и Р2Х<sub>1</sub>-рецептора – гипореактивности (Таблица 8.20).

Таблица 8.20

**Реактивность рецепторов Тц при при траффике конкрементов (12,3±0,8мм) в средней – нижней трети мочеточника через 7-9 суток медикаментозной терапии, в схеме которой отсутствовал  $\alpha_{1A}AB$ .**

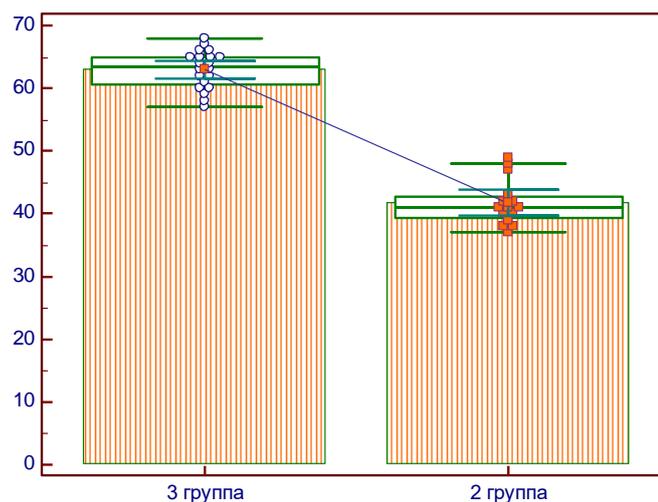
Вид рецептора	Среднее значение АТц (%), $\bar{x} \pm SD$	Размах (Min –Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
А2А-рецептор	63,0±0,7	57,0-68,0	61,6	64,4
Р2У-рецептор	60,0±0,6** P<0,01	53,0-64,0	58,6	61,4
ТР-рецептор	53,1±0,6*** P<0,001	49,0-60,0	51,8	54,5
$\alpha_2$ -дренорецептор	52,7±0,7***	46,0-57,0	51,3	54,2
АТ <sub>1</sub> -рецептор	46,8±0,7*** P<0,001	41,0-52,0	45,4	48,2
Р2Х <sub>1</sub> -рецептор	41,0±0,8*** P<0,001	36,0-48,0	39,2	42,7

Примечание. \*\*\* – вероятность различий активности рецептора относительно активности А2А-рецептора на уровне p<0,001. P – вероятность различий активности рецептора относительно таковой предыдущего рецептора

Кластер активности рецепторов может быть представлен следующим образом: активность А2А-рецептора > активности Р2У-рецепторов > активности ТР-рецептора = активности  $\alpha_2$ -адренорецептора > активности АТ<sub>1</sub>-рецептора > активности Р2Х<sub>1</sub>-рецептора. В процессе медикаментозной терапии увеличилась активность А2А-рецептора на 39,4% (P<0,001) и Р2У-рецепторов – на 26,3% (P<0,001); снизилась активность ТР-рецептора на 8,8%

( $P < 0,001$ ),  $\alpha_2$ -адренорецептора – на 6,4% ( $P < 0,001$ ),  $AT_1$ -рецептора – на 15,5% ( $P < 0,001$ ) и  $P2X_1$ -рецептора – на 26,8% ( $P < 0,001$ ). Корреляционный анализ выявил отрицательную связь между активностью  $A2A$ -рецептора и  $\alpha_2$ -адренорецептора,  $AT_1$ -рецептора, соответственно,  $r_{A2A-\alpha_2AP} = -0,730$  ( $p < 0,05$ ) и  $r_{A2A-AT_1} = -0,517$  ( $p < 0,05$ ). Применительно к факту элиминации конкремента средних размеров из мочеточника, можно констатировать достижение критического значения внеклеточного содержания аденозина, что обеспечивало необходимый уровень релаксации гладкой мышечной ткани в стенке МВП, позволяющий обеспечить условия для траффика таких конкрементов.

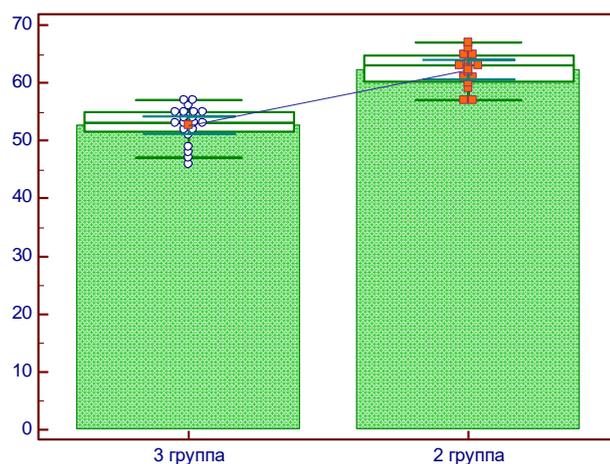
Таким образом, через 7-9 суток при сохранении активности  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора нейро-мышечного синапса эффективная элиминация конкрементов средних размеров из средней–нижней трети мочеточника могла быть следствием: (а) гиперреактивности  $A2A$ -рецептора, обеспечивающего оптимальную релаксацию ГМК; (б) гиперреактивности  $P2Y$ -рецепторов, поддерживающих силу сокращения МОМ, необходимую для траффика конкрементов; (в) нормореактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора,  $TR$ -рецептора и гипореактивности  $P2X_1$ -рецептора, ограничивающих их участие в аддитивных механизмах усиления сокращения МОМ. Для сравнения, через 7-9 суток стандартной ЛКТ, включающей  $\alpha_{1A}$ -АБ регуляция компенсаторной реакции ГМК связана с: (а) гиперреактивностью  $AT_1$ -рецептора,  $TR$ -рецептора,  $P2Y$ -рецепторов,  $\alpha_2$ -адренорецептора и  $P2X_1$ -рецептора; (б) гипореактивностью аденозинового  $A2A$ -рецептора. Таким образом, при функционировании  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора специфическое влияние на перистальтику МОМ оказывали  $A2A$  и  $P2Y$ -рецепторы, тогда как при блокаде  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора – проявляется эффект рецепторов, сопряженных с G-белками. Наиболее значимые различия кластера при сохранении иннервации и фармакологической «денервации» гладкой мышечной ткани мочеточника касались активности аденозинового  $A2$ -рецептора (Рисунок 8.4);  $\alpha_2$ -адренорецептора,  $AT_1$ -рецептора и  $P2X_1$ -рецептора (Рисунок 8.5).



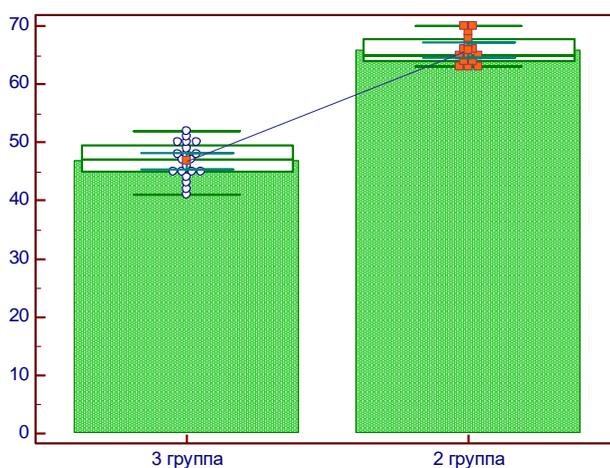
**Рис. 8.4. Реактивность A2A-рецептора при иннервации и фармакологической «денервации» гладкой мышечной ткани мочеточника.**

По оси ординат – значения АТц (%) индуцированной аденозином; по оси абсцисс – группы пациентов с отсутствием и наличием  $\alpha_{1A}$ -адреноблокатора в схеме медикаментозной терапии.

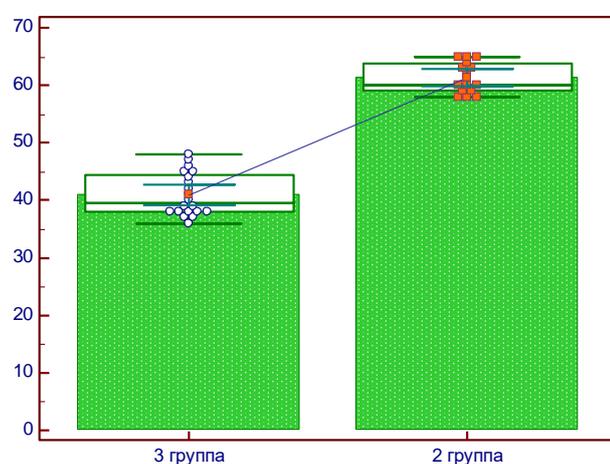
Так, 9-й группе, по сравнению с 8-й группой, имело место повышение активности аденозинового A2-рецептора на 51,1% ( $P < 0,001$ ); снижение активности P2Y-рецепторов на 7,3% ( $P = 0,047$ ), TP-рецептора – на 17,7% ( $P < 0,001$ ),  $\alpha_2$ -адренорецептора – на 15,3% ( $P < 0,001$ ); AT<sub>1</sub>-рецептора – на 29,0% ( $P < 0,001$ ), P2X<sub>1</sub>- рецептора – на 33,1% ( $P < 0,001$ ). Приведенные изменения кластера рецепторов отражают процессы совершенствования механизмов регуляции компенсаторных реакций ГМК при сохранении их иннервации. Функциональная «денервация» MOM сопровождается дисрегуляцией моторики МВП, вызванной чрезмерной активацией  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов, AT<sub>1</sub>-рецептора, TxA<sub>2</sub>-рецептора, и десенситизацией аденозинового A2A-рецептора. Гиперреактивность системы рецепторов, связанных с Gq-белком (система GPCR) может нивелировать эффект введения блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора, поскольку воспроизводится «crosstalk» внутриклеточной сигнализации, следствием чего является сохранение избыточного уровня внутриклеточного Ca<sup>2</sup> в ГМК.



а



б



в

**Рис. 8.5. Реактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора (а),  $AT_1$ -рецептора (б),  $P2X_1$ - рецептора (в) при иннервации и фармакологической «денервации» гладкой мышечной ткани мочеточника.**

По оси ординат – значения АТц (%) индуцированной эпинефрином, ангиотензином-2, АТФ; по оси абсцисс – группы пациентов с отсутствием и наличием  $\alpha_{1A}$ -адреноблокатора в схеме медикаментозной терапии.

## АНАЛИЗ И ОБОБЩЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Регуляция гладкой мышечной ткани мочеточника при траффике конкрементов различных размеров остается малоизученной проблемой урологии и патофизиологии. В физиологических условиях перистальтика мочеточника обусловлена индивидуальной реактивностью организма, которая определяется полом, возрастом, экспрессией разных типов  $\alpha$ -,  $\beta$ -адренорецепторов и М-холинорецепторов [187, 274]. При обструкции просвета мочевыводящих путей (МВП) траффик конкрементов зависит от эффективности компенсаторных механизмов, направленных на усиление сократительной активности и/или релаксации ГМК мочеточника [300; 253; 399]. Становление и функционирование компенсаторных механизмов мочеточника обеспечивается как локальной (ауто-, паракринная), так и системной регуляцией [117]. К наиболее значимым регуляторам перистальтики мочеточника при обструктивной нефропатии следует отнести биологически активные вещества (пуриновые нуклеотиды, NO, метаболиты арахидоновой кислоты), которые могут секретироваться уротелием, ГМК, тромбоцитами и лейкоцитами [144; 362], а также катехоламины и ангиотензин-2, выделяемые в сосудистое русло при активации САС и РАС почек [166; 39].

Анализ литературных данных позволил сформулировать актуальную научную проблему – выявить факторы риска, изучить патогенез дисфункции мочеточника при нефролитиазе; установить молекулярные механизмы регуляции моторики мочеточника при литокинетической терапии конкрементов мелких и средних размеров; повысить эффективность диагностики и прогнозирования элиминации конкрементов из мочеточника при назначении блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора; обосновать подходы к совершенствованию консервативной терапии у пациентов с локализацией конкрементов в разных отделах мочевыводящих путей

По результатам клинико-инструментального обследования НЛТ выявлен у 196 пациентов, средний возраст –  $57,3 \pm 1,0$  года. Размер конкремента может рассматриваться как фактор риска осложнений нефролитиаза, поскольку выявлена корреляционная связь с выраженностью гематурии и тяжестью воспаления в МВП. Наличие гематурии сопровождается компенсаторными реакциями Тц, направленными на поддержание гемостаза, которые регулируются гуморальными (адреналин, ангиотензин-2) и паракринными факторами (АДФ, АТФ, ТхА<sub>2</sub>, ФАТ, аденозин) [46; 420]. В этом контексте системная стимуляция  $\alpha_2$ -адренорецептора, пуриновых P2X<sub>1</sub>- и P2Y-рецепторов, аденозинового A<sub>2</sub>-рецептора, ангиотензинового AT<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора на ГМК может модулировать моторику мочеточника.

Инфекция МВП выявлена у 81 (41,3%) пациентов, из которых у 73 (93,1%) человек обнаружена гематурия. Рекрутирование лейкоцитов к участкам повреждения тканей и / или инфекции в мочеточнике контролируется множеством сигнальных процессов, влияющих на межклеточные взаимодействия между эндотелием сосудов и циркулирующими лейкоцитами. Полученные данные демонстрируют критическую роль катехоламинов в стимуляции  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренорецепторов клеток крови при развитии воспалительной реакции, и подтверждают, что использование антагонистов  $\alpha_2$ -адренорецептора и/или агонистов  $\beta_2$ -адренорецептора представляет собой перспективный метод лечения пациентов с острым или хроническим воспалительным процессом [45]. Влияние катехоламинов на выработку цитокинов и экспрессию молекул адгезии нейтрофилами человека критически оценивается [411]. В последние годы обсуждается участие P2Y-пуринергических рецепторов в активации эндотелиальных клеток при воспалении. [230] представили данные, что АТФ-пропускающий -канал паннексин-1 (Pannexin-1) открывается посредством ФНО- $\alpha$ . Во время острого системного воспаления эндотелиальные клетки секретируют АТФ и, тем самым, могут стимулировать адгезию и миграцию

лейкоцитов через венозную стенку. Подтверждение этого факта можно найти в работе [71], которые показали, что агонист P2Y<sub>1</sub>-рецепторов (2MeSATP) увеличивал адгезию лейкоцитов к эндотелиальным клеткам и продукцию ФНО- $\alpha$ . Результаты исследований Amison R.T. et al. [19] подтверждают возможность модуляции эндотелиальных клеток через P2Y<sub>1</sub>-пуриnergический рецептор. В литературе имеются указания на связь ИМП с гематурией [418]. Вероятно, в остром иммунном ответе на бактериальные инфекции важную роль играет экспрессия P2X<sub>1</sub>-рецепторов на иммунных клетках и Тц [364]. Установлено, что уропатогенная *E. coli* часто продуцирует порообразующий фактор вирулентности –  $\alpha$ -гемолизин (HlyA), биологические эффекты которого опосредуются высвобождением АТФ и последующей активацией рецепторов P2 [239]. Ингибирование рецепторов тромбоцитов P2Y позволяет подавлять септический ответ организма на HlyA-продуцирующую *E. coli*. [83].

До настоящего времени нет ясности в патогенезе коморбидности НЛТ, что ограничивает возможности эффективного лечения данного контингента пациентов [282]. Гипертония, диабет и ожирение считаются факторами риска образования камней в почках [358]. В наших исследованиях установлено, что у мужчин с НЛТ пожилой возраст, наличие инфекции в МВП и коморбидность с АГ являются значимыми факторами риска микрогематурии. У женщин с НЛТ при наличии ИМП чаще выявляется гематурия ( $p < 0,001$ ) по сравнению со случаями отсутствия инфекции в МВП. Активность  $\alpha_2$ -адренорецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора на Тц была выше ( $p < 0,05$ ), чем таковая у пациентов при отсутствии коморбидности НЛТ. При коморбидности НЛТ с АГ активность  $\alpha_2$ -адренорецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора у мужчин выше ( $p < 0,05$ ), чем у женщин, что отражает гендерные различия реактивности САС и РАС. Можно предположить, что механическая стимуляция афферентных нервных окончаний в МВП провоцирует активацию САС и РАС следствием чего является повышение АД [211]. Роль ренальных рефлексов в повышении АД не вызывает сомнения, при этом ключевую роль может играть симпатическая иннервация почек [343]. При наличии конкрементов одним из механизмов

нейрогенной гипертензии может быть сенсорная афферентная дисфункция [145]. Установлено, что при высвобождении норадреналина из нервных терминалей почки стимулируются  $\alpha_2$ -адренорецепторы, которые модулируют высвобождение ренина, сопротивление почечных сосудов, реабсорбцию ионов и воды [159]. Повышение уровня катехоламинов в плазме считается классическим механизмом патогенеза АГ [135]. Большую склонность к гипертензии проявляют мужчины, поскольку у них обнаружена более высокая концентрация адреналина при данной патологии [49]. Доказательства наличия половых различий в активности САС приведены в популяционном исследовании [173]. Существуют определенные различия трактовки роли РАС в патогенезе АГ у мужчин и женщин [267]. Объяснение этому можно найти у [336], которые выявили более высокую активность АПФ-2 у мужчин, а также у [132], выявивших защитный сосудистый эффект у эстрогенов.

Сахарный диабет считается фактором риска НЛТ [224], однако причины этого явления не выяснены. Проведенное исследование выявило влияние СД 2 типа на патогенез НЛТ, которое проявлялось гиперреактивностью P2Y-рецепторов, ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора ( $p < 0,001$ ). Ранее [365] сообщили о повышении активности рецепторов Тц у пациентов с диабетом, что сопровождалось тромбогенезом. Механизмы гиперреактивности Тц при СД связаны с: модуляцией пуринергической передачи сигналов [309]; повышением экспрессии P2Y<sub>12</sub>-рецептора [172]; стимуляцией фермента Ras1 и нарушением продукции NO [349]; снижением в Тц уровня глутатиона, экспрессии глутатион-пероксидазы и супероксид дисмутазы вследствие высокого уровня метилглиоксана [413]. Установлено, что (а) коморбидность НЛТ с СД 2 типа у мужчин и женщин является сопоставимой, при этом увеличивается риск ИМП; (б) у мужчин и женщин при присоединении ИМП выраженность микрогематурии возрастает ( $p < 0,001$ ). Доказательства зависимости гематурии от АГ и СД приводят [376]. Признание значимости СД и АГ в качестве факторов риска гематурии позволило [89; 195] создать модели прогнозирования выраженности микрогематурии, в которой отношение

шансов (ОШ) развития микрогематурии в зависимости от уровня гипергликемии составило 2,8 (95% ДИ 1,3-5,8), тогда как при наличии АГ – 4,37 (95% ДИ 2,15-9,01,  $P < 0,001$ ).]. Таким образом, результаты проведенных исследований влияния факторов риска на развитие осложнений НЛТ у мужчин и женщин обосновывают необходимость дальнейшего изучения механизмов, лежащих в основе развития ИМП и прогрессирования гематурии, что позволит в перспективе наметить пути повышения эффективности консервативной терапии с учетом гендерных особенностей реактивности организма.

Традиционно, оценка тяжести лейкоцитурии базируется на рутинном определении количества лейкоцитов в моче и отражает тяжесть воспаления в слизистой оболочке. Установлено, что при стимуляции клеток крови агонистами формируются тромбоцитарно-лейкоцитарные агрегаты (ТЛА) [321]. Такое взаимодействие обеспечивает рекрутирование лейкоцитов в ткани органов, регулирует автономные функции лейкоцитов, включая образование и освобождение внеклеточных ловушек нейтрофилов, а также поддерживают обратную связь, позволяющую ограничить распространение воспаления и защитить орган от побочного повреждения, вызванного чрезмерной активацией иммунной системы [331]. Востребованность в изучении механизмов, предопределяющих тяжесть лейкоцитурии при НЛТ, связана со необходимостью прогнозирования развития острого пиелонефрита и недостаточной эффективностью предлагаемой медикаментозной терапии.

У 118 (60,2%) пациентов диагностирована фаза рецидива ХОПН, для которой характерна острая воспалительная реакция в слизистой оболочке МВП; у 78 (39,8%) – диагностирована фаза ремиссии ХОПН, при которой в МВП имеет место хроническое воспаление. Дисфункция Тц является и фактором риска инициации и поддержания воспалительной реакции, поскольку Тц контролируют миграцию лейкоцитов из сосудистого русла в периваскулярную соединительную ткань. Наличие взаимосвязи между количеством Тц в крови и содержанием лейкоцитов в моче ( $r = 0,600$ ), а также

между количеством Тц и уровнем СРБ ( $r=0,646$ ;  $p<0,05$ ) подтверждает такую возможность. Просматривается участие Тц в лейкоцитурии, причем таковое сохраняется независимо от тяжести гематурии связанной с нефролитиазом. Формирование ТЛА и рекрутирование лейкоцитов крови из циркулирующей крови в очаг воспаления достигается посредством включения системного (влияние адреналина) и паракринных механизмов (секреция АТФ, АДФ и ФАТ). Достижимый эффект зависит от активности  $\alpha_2$ -,  $\beta_2$ -адренорецепторов, Р2У-пуриновых и ФАТ-рецепторов Тц и лейкоцитов. По сути данных фактов, можно констатировать преимущественное воздействие адреналина на лейкоциты, которые могут стимулировать Тц. В свою очередь, активированные Тц секретируют АДФ, и стимулируют пуриновые рецепторы лейкоцитов, тем самым усиливается влияние адреналина на лейкоциты (амплификация сигнала с  $\alpha_2$ -адренорецептора). В этом контексте, можно предположить, что системные и паракринные регуляторы компенсаторных реакций клеток крови при гематурии и пиелонефрите модулируют моторику мочеточника.

В современных схемах ЛКТ, направленных на регуляцию моторики МВП при нефролитиазе, рекомендуется использование селективных  $\alpha_{1A}$ -АБ, НПВП, спазмолитиков, блокаторов  $Ca^{2+}$ -каналов, а также средств для профилактики и лечения инфекций МВП [374; 23]. Причем ключевую роль в протоколах лечения МКБ отводят  $\alpha_{1A}$ -АБ, которые призваны обеспечить релаксацию ГМК, дилатацию просвета мочеточника и элиминацию конкрементов [153]. Однако, целесообразность назначения  $\alpha_{1A}$ -АБ считается доказанной только в случаях, когда размер конкремента в МВП превышал 5 мм [67; 142]. Нарушение траффика мелких и средних конкрементов при стандартной ЛКТ может быть связано с низкой чувствительностью  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора [140]; повышением активности  $\alpha_2$ -адренорецептора, провоцирующего контрактуру гладкой мышечной ткани [273]; пластичностью пуринергической сигнализации, координирующей процессы сокращения-

расслабления ГМК [141]; резистентностью организма к фармакологическим препаратам [17].

Анализ внутриклеточной сигнализации при системной стимуляции рецепторных систем на модели изолированных Тц позволило выяснить регуляцию компенсаторных реакций ГМК при НЛТ. До начала ЛКТ компенсаторные механизмы, направленные на спонтанную элиминацию конкрементов мелких и средних размеров из верхней трети мочеточника, характеризуются усилением сократительной активности ГМК (отражением чего является активация  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора и TP-рецептора). Поскольку  $\alpha_2$ -адренорецептор сопряжен с Gi-белком, TP-рецептор – с Gq-, G<sub>13</sub>-белками, а P2X<sub>1</sub>-рецептор открывает управляемый АТФ катионный канал, то можно ожидать существенное повышение содержания внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> с целью усиления сокращения ГМК. Через 24ч после начала ЛКТ при ЭЭК активность P2X<sub>1</sub>-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора и TP-рецептора была меньше (P<0,001), чем при НЭК. Обращает на себя внимание снижение до физиологического уровня активности  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора (нормореактивность) при ЭЭК, тогда как при НЭК сохранялась гиперреактивность данных рецепторов. Активность аденозинового A2A-рецептора в обеих группах сохранялась в диапазоне гипореактивности, хотя при ЭЭК была больше (P<0,001), чем при НЭК. Через 48ч после начала ЛКТ при ЭЭК активность изученных рецепторов соответствовала уровню нормореактивности, тогда как при НЭК сохранялась гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора и TP-рецептора, а также гипореактивность A2A-рецептора. Выявлена отрицательная корреляционная связь между активностью A2A-рецептора и  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, что объясняет причину десенситизации рецепторов регулирующих сократительную активность ГМК. Через 72ч при ЭЭК активность пуриновых A2A-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора соответствовала уровню нормореактивности,  $\alpha_2$ -адренорецептора и TP-рецептора – гипореактивности. При НЭК в этот срок наблюдения сохранялась

гиперреактивность  $P2X_1$ -рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора и  $TP$ -рецептора, а также гипореактивность  $A2A$ -рецептора. Через 5 суток ЛКТ перемещение конкремента происходило на фоне снижения активности  $\alpha_2$ -адренорецептора, повышения активности  $TP$ -рецептора и сохранения активности  $P2X_1$ -рецептора по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. При НЭК в этот же срок наблюдения сохранялась гиперреактивность  $P2X_1$ -рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора и  $TP$ -рецептора, а также гипореактивность  $A2A$ -рецептора. Таким образом, через 7 суток ЛКТ завершение перемещения средних конкрементов из верхней трети мочеточника происходило на фоне двух процессов – усиления релаксации ( $A2A$ -рецептор) и снижения сократительной активности ГМК ( $P2X_1$ -рецептор,  $TP$ -рецептор и  $\alpha_2$ -адренорецептор). Неэффективная моторика МВП связана с гиперреактивностью  $P2X_1$ -рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора,  $TxA_2$ -рецептора и гипореактивностью аденозинового  $A2A$ -рецептора, следствием чего может быть дискоординация моторики МОМ.

Известно, что усиление секреции норадреналина из нервных окончаний симпатического отдела вегетативной нервной системы (пресинаптическая часть) сопровождается стимуляцией  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов на ГМК [276]. В этом контексте, назначение пациентам  $\alpha_{1A}$ -адреноблокатора ( $\alpha$ АБ) представляется более оправданным для элиминации средних конкрементов из верхней трети мочеточника, когда требуется максимальная релаксация стенки мочеточника. В связи с возможной активацией САС при нефролитиазе особый интерес представляет система адреналин-адренорецепторы, регулирующая сократительную активность мочеточника. Кроме этого, наличие гиперреактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора при назначении ЛКТ у пациентов с неэффективной элиминацией конкрементов свидетельствует, что защитные реакции, связанные с повышением уровня адреналина в циркулирующей крови (ингибирование  $\alpha_1$ -адренорецептора, стимуляция  $\beta_{1,3}$ -адренорецепторов), не являются достаточно надежными чтобы вызвать необходимую релаксацию мышечной оболочки мочеточника. Более того,

контрактильность ГМК, связанная с прямым эффектом стимуляции  $\alpha_2$ -адренорецептора, может преобладать над опосредованными эффектами адреналина, обеспечивающими релаксацию мышечной оболочки мочеточника. Таким образом, при назначении блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора в схеме ЛКТ у пациентов с НЛТ может поддерживаться гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, что является фактором риска неэффективной элиминации конкрементов из верхней трети мочеточника.

Ключевой вопрос – может ли влиять блокада  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов на пуринаргическую сигнализацию в процессе сокращения ГМК? Ответ на данный вопрос в литературе – отсутствует. Вероятно, ответ может быть положительным, учитывая, что при симпатической стимуляции ГМК происходит одновременная активация  $\alpha_1$ -адренорецепторов и  $P2X_1$ -рецепторов. В этом случае возможно потенцирование сократительных эффектов инициированных обоими рецепторами [52]. В этом контексте блокада  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов приводит к нарушению синергизма с  $P2X_1$ -рецептором, следствием чего будет снижение мышечного тонуса МВП. Следовательно, при блокаде  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов элиминация конкремента может зависеть и от активности  $P2X_1$ -рецепторов. Привлекает внимание еще одна сторона синергизма  $P2X_1$ -рецепторов, в частности с  $TR$ -рецептором к  $TxA_2$ . Известно, что сокращение ГМК, зависящее от активации  $TR$ , требует ко-активации  $P2X_1$ -рецептора [457]. Экзогенный АТФ может увеличивать экспрессию фермента ЦОГ-2 и синтез простаноидов [29]. Приведенные факты позволяют рассматривать синергизм  $P2X_1$ -рецептора и  $TR$ -рецептором как возможную причину резистентности к НПВП. Остается еще один не менее важный вопрос – почему может снижаться активность  $P2X_1$ -рецепторов при отсутствии соответствующих блокаторов в схеме ЛКТ? Одной из причин данного явления может быть уменьшение вазоконстрикции в стенке МВП при назначении НПВП, спазмолитиков, блокаторов  $Ca^{2+}$ -каналов, водно-электролитных растворов, входящих в состав ЛКТ. Логично, что устранение гипоксии/ишемии мышечной ткани будет сопровождаться снижением

внеклеточного содержания АТФ и стимуляции P2X<sub>1</sub>-рецепторов [316]. Использование средств для профилактики и лечения инфекций МВП также может ограничивать высвобождения внеклеточного АТФ и активацию пуринергических рецепторов P2 [314]. Еще одной причиной снижения активности P2X<sub>1</sub>-рецепторов может быть модулирующее влияние фармакологических препаратов ЛКТ на внутриклеточные сигнальные пути ГМК. При наличии crosstalk сигнальных путей, участвующих в электромеханическом и фармакомеханическом взаимодействии при сокращении ГМК [313], блокада  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов, ингибирование ЦОГ, выключение Ca<sup>2+</sup>-каналов в процессе ЛКТ может повлечь за собой дисфункцию молекулярных механизмов связанных с транспортом ионов Ca<sup>2+</sup>. Известно, что АТФ стимулирует образование инозитол-1,4,5-трифосфата, высвобождение Ca<sup>2+</sup> и сокращение ГМК [130]. Логично было предположить, что ингибирование синтеза данного агониста будет снижать активность P2X-рецептора. Такую возможность подтверждают [283]. Причинами десенситизации P2X-рецептора может быть высокий уровень внеклеточного АТФ [266]. Развитие гипореактивности рецепторов на клетках-мишенях у некоторых пациентов при использовании стандартной схемы ЛКТ может зависеть и от индивидуальной реактивности организма. Наличие генетического полиморфизма аллеля P<sub>anx1</sub>-400A>C, отвечающего за функционирование каналов транспорта АТФ, может проявляться индивидуальной чувствительностью P2X-рецептора [272]. Таким образом, при ЛКТ релаксация мышечной оболочки и траффик конкрементов средних размеров из верхней трети мочеточника зависит не только от специфического воздействия блокаторов  $\alpha_{1A}$ -адреноблокаторов на ГМК, но и неспецифического влияния  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, модулирующих внутриклеточную концентрацию ионов Ca<sup>2+</sup>. Эффективная элиминация конкрементов воспроизводится при достижении гипореактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора.

Известно, что адреналин и норадреналин индуцируют зависимое от дозы повышение как фазовой активности, так и базального тонуса мочеточника [37]. В этом контексте проверена концепция, что скорость элиминации конкрементов при назначении  $\alpha_{1A}$ -АБ может зависеть от активности  $\alpha_1$ - и  $\alpha_2$ -адренорецепторов ГМК. Установлено, что для быстрой и медленной элиминации конкрементов характерно достижение гипореактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора. Связь между снижением активности  $\alpha_2$ -адренорецептора и релаксацией ГМК видится в снижении внутриклеточного уровня  $Ca^{2+}$  [102]. Обращает на себя внимание, что траффик средних конкрементов в мочеточнике происходит при гипореактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора в диапазоне  $\leq 40\%$ . Вероятно, при данном уровне гипореактивности рецептора: (а) достигается субпороговый уровень  $Ca^{2+}$ , при котором обеспечивается оптимальная релаксация ГМК; (б) нивелируется потенцирование эффектов адреналина с другими агонистами (норадреналином, АТФ) способными повысить содержание внутриклеточного  $Ca^{2+}$  в ГМК мочеточника. Данная гипотеза требует проверки в контексте совершенствования схемы ЛКТ, учитывая возможность взаимодействия разных типов адренорецепторов ( $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\beta_{1,3}$ ) в регуляции перистальтики мочеточника [362].

При быстрой элиминации снижение стимуляции и поддержание гипореактивности достигалось в течении 48ч ЛКТ. При медленной элиминации конкрементов – выявлены две фазы десенситизации адренорецептора. Первая фаза – когда восстанавливалась и поддерживалась нормореактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора (2 и 3 сутки ЛКТ); вторая фаза – достижение уровня гипореактивности (4 и 5 сутки ЛКТ). Таким образом, при медленном трафике конкрементов по сравнению с быстрой элиминацией, принципиальное отличие касается длительности фаз нормореактивности (48ч) и гипореактивности (48ч)  $\alpha_2$ -адренорецептора. В этой связи возникает главный вопрос – может ли снижение активности  $\alpha_2$ -адренорецептора повлиять на миогенный эффект блокаторов  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов? Поскольку при десенситизации  $\alpha_2$ -адренорецептора повышается секреция НА и усиливается

стимуляция постсинаптических  $\alpha_1$ -адренорецепторов на ГМК, то можно ожидать повышение эффективности воздействия  $\alpha_{1A}$ -АБ на ГМК. В этом контексте начало траффика средних конкрементов только через 48ч после достижения гипореактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора, может отражать особенности фармакокинетики блокаторов  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов при нарушении взаимодействия разных типов адренорецепторов в процессе ЛКТ. Одной из таких особенностей является интервал времени необходимый для достижения стационарного уровня блокады  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов, обеспечивающего максимальную релаксацию мышечной оболочки мочеточника.

Необходимо было ответить на вопрос— зависит ли скорость траффика конкрементов средних размером в верхней трети мочеточника от активности рецепторов, модулирующих сокращение стенки мочеточника? В этой связи представляет интерес пуриnergический P2X<sub>1</sub>-рецептор, стимуляция которого может регулировать сократительную активность мочеточника независимо от стимуляции  $\alpha_1$ -адренорецептора [140]. До назначения ЛКТ выявлена гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора, сопоставимая с таковой  $\alpha_2$ -адренорецептора, что подтверждает участие пуриnergической сигнализации в сокращении ГМК. При быстрой и медленной элиминации конкрементов средних размеров из верхней трети мочеточника имела место низкая активность P2X<sub>1</sub>-рецептора. Причинами десенситизации P2X-рецептора может быть наличие воспалительного процесса в МВП [54], а также генетического полиморфизма аллеля P<sub>anx1</sub>-400A>C, отвечающего за функционирование каналов транспорта АТФ [272].

Интерес к TR-рецептору продиктован двумя обстоятельствами: во-первых, наличием НПВП в схеме ЛКТ, поскольку ингибирование ЦОГ сопровождается релаксацией стенки мочеточника, вследствие снижения внутриклеточного содержания ионов Ca<sup>2+</sup> в ГМК [417]; во-вторых, у ряда пациентов имеется резистентность к НПВП [176], а следовательно, не во всех случаях в равной степени можно добиться дилатации стенки мочеточника.

До назначения ЛКТ выявлена гиперреактивность TR-рецептора к TxA<sub>2</sub> сопоставимая с таковой  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, что подтверждает участие сигнализации связанной с TxA<sub>2</sub> в сокращении ГМК.

Исходная активность TR-рецептора при медленной элиминации конкрементов превышала таковую при быстрой элиминации ( $p < 0,001$ ). Через 72ч ЛКТ элиминация конкрементов из верхней трети мочеточника подтверждена у пациентов подгруппы А; при этом достигался новый порог гипореактивности TR-рецептора. В подгруппе Б через 72ч активность TR-рецептора также снижалась ( $p < 0,001$ ) в сравнении с предыдущим сроком наблюдения; при этом достигался уровень нормореактивности рецептора. Снижение активности TR-рецептора в подгруппе Б возобновлялось через 7 суток, при этом достигалась гипореактивность рецептора. Следовательно, при медленной элиминации степень ингибирования ЦОГ в клетках – ниже, чем при быстром траффике конкремента. Известно, что наличие пиелонефрита и обструкция мочеточника сопровождаются повышением синтеза TxA<sub>2</sub> и усилением сократимости мочеточника [291; 169]. В этой связи зависимость скорости элиминации конкрементов от гипореактивности TR-рецептора подтверждает значимость релаксации гладкой мышечной ткани [219] для траффика конкрементов средних размеров из верхней трети мочеточника.

С точки зрения необходимости достижения максимальной дилатации мочеточника при наличии в просвете конкрементов средних размера важным представляется анализ аденозинергической сигнализации, обеспечивающей релаксацию ГМК [439]. До назначения ЛКТ выявлена гипореактивность A<sub>2</sub>A-рецептора, что, вероятно, предопределяет высокое содержание внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> и контрактуру МОМ. При быстрой и медленной элиминации конкрементов развивалась стереотипная компенсаторная реакция, направленная на релаксацию ГМК, для которой характерно достижение гиперреактивности A<sub>2</sub>A-рецептора. Эффект аденозина может быть связан с влиянием на взаимодействие актина и миозина в ГМК (вследствие снижения уровня внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>) [126]. Установление

кинетики активности A2A-рецептора и временных промежутков дисфункции аденозиновой внутриклеточной сигнализации обосновывает необходимость разработки агонистов аденозиновых рецепторов в качестве нового терапевтического подхода при консервативном лечении нефролитиаза.

До настоящего времени отсутствует понимание тактики совершенствования ЛКТ применительно к пациентам с локализацией мелких конкрементов в средней трети мочеточника. Логично предположить, что траффик конкрементов мелких размеров ( $\leq 6$ мм) требует усиления сократительной активности мышечной оболочки МВП. Установлено, что до начала ЛКТ при НЭК имела место гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора, нормореактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов и A2A-рецептора, а также гипореактивность TP-рецептора. Следовательно, компенсаторные механизмы MOM, направленные на спонтанную элиминацию конкрементов мелких размеров, характеризуются усилением сократительной активности ГМК (отражением чего является гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора).

Нарушение элиминации мелких конкрементов на фоне стандартной ЛКТ связано с дисрегуляцией моторики MOM, обусловленной сигнальной трансдукцией, модулирующей сокращение (гиперреактивность P2Y-рецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора; гипореактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора) и расслабление ГМК (гиперреактивность A2A-рецептора). Можно предположить, что пуринергическая сигнализация играет ключевую роль в элиминации мелких конкрементов, поскольку модулируется сокращение-расслабление ГМК [37; 446; 250]. В процессе ЛКТ при ЭЭК отмечено постепенное повышение функциональной активности P2X<sub>1</sub>-рецептора. Максимальный прирост активности рецептора ( $p < 0,001$ ) по сравнению с исходными данными отмечен во временном интервале 7-9 суток ЛКТ. При НЭК максимальное повышение активности P2X<sub>1</sub>-рецептора имело место в интервале 1-3 сутки ЛКТ. Установившийся диапазон нормореактивности данного рецептора сохранялся на протяжении всего

периода наблюдения. На 7-9 сутки активность P2X<sub>1</sub>-рецептора была меньше ( $p < 0,001$ ), чем при ЭЭК. До начала ЛКТ у пациентов обеих групп выявлена нормореактивность P2Y-рецепторов. Известно, что при повышении уровня внеклеточного АТФ усиливается процесс гидролиза пуриновых нуклеотидов посредством эктонуклеотидазы (CD39), в результате чего образуется АДФ [111]. Применительно к анализу пуринергической регуляции перистальтики мочеточника при НЛТ важным представляется сопоставить активность P2X<sub>1</sub>-рецептора и P2Y-рецептора, учитывая возможность их взаимодействия при повышении сократительной активности ГМК [320]. При ЭЭК нормореактивность P2Y-рецепторов сохранялась в раннем периоде (1-3 суток) ЛКТ и сменялась их гиперреактивностью, начиная с 4 суток. При НЭК через 1-3 суток ЛКТ обнаружена гиперреактивность P2Y-рецепторов, причем их активность превышала таковую при ЭЭК ( $p < 0,001$ ). Более высокий уровень активности P2Y-рецепторов имел место через 4-6 суток и 7-9 суток, когда межгрупповая разница достигала, соответственно, 18,6% и 17,6% ( $p < 0,001$ ). Вероятно, что при неэффективной элиминации мелких конкрементов взаимодействие пуринергических рецепторов способствовало критическому повышению уровня внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> для которого характерно усиление базального тонуса (гипертонус) мышечной оболочки мочеточника. На возможность синергии пуриновых P2-рецепторов указывают [447], причем следствием такого взаимодействия было длительное повышение тонуса гладкомышечной ткани мочевого пузыря.

Можно было предположить, что трансформация пуриновых нуклеотидов в стенке МВП имеет конечной целью образование аденозина, который модулирует перистальтику мочеточника при наличии мелких конкрементов в средней трети мочеточника [201]. До начала ЛКТ у пациентов с ЭЭК имела место нормореактивность аденозинового A<sub>2A</sub>-рецептора, которая сохранялась в этом диапазоне на протяжении 9 суток ЛКТ. Считается, что внеклеточный аденозин противодействует эффектам активации пуриновых P2-рецепторов; баланс между внеклеточным АТФ и аденозином

регулируется главным образом активностью нуклеотидаз CD39 и CD73, которые формируют аденозинэргическую ось [150]. В этой связи сохранение нормореактивности P2X<sub>1</sub>-, P2Y-рецепторов и A2A-рецепторов, отражает поддержание физиологического уровня пуринергической модуляции перистальтики при локализации мелких конкрементов в средней трети мочеточника. Через 4-6 суток ЛКТ обнаружено повышение активности P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов и сохранение нормореактивности A2A-рецептора. На этапе выведения конкрементов через 7-9 суток синхронно повышалась активность A2A-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора ( $p < 0,001$ ) по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. При этом стимуляция A2A-рецептора оставалась в диапазоне нормореактивности; тогда как – P2X<sub>1</sub>-рецептора достигала максимального значения гиперреактивности. Применительно к случаям с доказанной элиминацией конкрементов, выявленные особенности пуринергической сигнализации могут трактоваться как свидетельство оптимальной модуляции внутриклеточного уровня Ca<sup>2+</sup> в ГМК, позволяющей координировать процесс сокращения и расслабления мышечной оболочки мочеточника. В литературе приводятся доказательства такой модуляции путем взаимодействия P2Y<sub>12</sub>-рецептора и аденозинового A2A-рецептора; при этом ограничение сократимости стенки мочевого пузыря вызванное АТФ и АДФ обеспечивалось аденозином посредством аденилатциклазы-цАМФ [150]. Таким образом, при траффике мелких конкрементов в средней трети мочеточника изменяется активность пуриновых P1 и P2 рецепторов, способных модулировать содержание ионов Ca<sup>2+</sup> в ГМК, что подтверждает участие пуринергической сигнализации в регуляции перистальтики МВП при нефролитолизе. Эффективная элиминация мелких конкрементов воспроизводится на фоне гиперреактивности P2X<sub>1</sub>-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.

При неэффективной элиминации мелких конкрементов активность аденозинового рецептора повышалась с момента начала ЛКТ, достигала «плато» на 4 сутки и оставалась на стабильном уровне гиперреактивности в течение 9 суток. Необходимо отметить, что у пациентов при НЭК активность А2А-рецептора была выше, чем при ЭЭК ( $p < 0,001$ ). Интегрируя полученные данные можно сформулировать основные закономерности пуринергической модуляции перистальтики при траффике мелких конкрементов в средней трети мочеточника: (а) основной причиной нарушения транспорта мелких конкрементов в интервале 4-9 суток является усиление пуринергической релаксации ГМК, вызванной стимуляцией А2А-рецепторов; (б) нормореактивность P2X<sub>1</sub>-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 наличия инфекции в МВП. При этом запускается защитная реакция организма связанная с интенсификацией метаболизма пуринов, конечной целью которой может быть повышение продукции аденозина и стимуляция А2-рецепторов. Одним из биологических эффектов данного типа рецепторов является уменьшение уровня Ca<sup>2+</sup> в ГМК и снижение тонуса мышечной оболочки МВП. При длительном поддержании гиперреактивности А2А-рецептора включается петля отрицательной обратной связи, направленная на снижение метаболизма пуринов и ограничение активности P2X<sub>1</sub>-рецептора. Подтверждением этого положения может быть наличие отрицательной корреляционной связи между

активностью A2A-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора ( $r_{A2A-P2X} = -0,601$ ;  $p < 0,05$ ) 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 [121]. 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 P2X<sub>1</sub>-и P2Y-рецепторов вызывают повышение уровня Ca<sup>2+</sup> 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.

Ситуация с разработкой способов повышения эффективности ЛКТ при нефролитиазе может оказаться более сложной, чем представляется в настоящее время. Это связано с отсутствием понимания – почему на фоне стандартной ЛКТ возможна разная скорость траффика конкрементов, или даже отсутствует их элиминация на протяжении нескольких недель. В этой связи проведено исследование активности рецепторов в трех подгруппах: А с

быстрой элиминацией конкрементов (траффик занимал от 1 до 3 суток); Б – с промежуточной скоростью элиминации (4-6 суток); С – с медленной элиминацией (в течение 7-9 суток ЛКТ). Через 3 суток ЛКТ в подгруппе А элиминация мелких конкрементов происходила на фоне гиперреактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2Y-рецепторов, AT<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора и – нормореактивности A2A-рецептора. В подгруппе Б выявлена гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2Y-рецепторов и AT<sub>1</sub>-рецептора, а также нормореактивность TP-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора и аденозинового A2A-рецептора. В процессе ЛКТ повысилась активность P2X<sub>1</sub>-рецептора и TP-рецептора ( $p < 0,001$ ); снизилась активность  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2Y-рецепторов ( $p < 0,001$ ); активность AT<sub>1</sub>-рецептора и A2A-рецептора не изменилась по сравнению с исходным уровнем. В подгруппе С через 3 суток ЛКТ выявлена нормореактивность AT<sub>1</sub>-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов,  $\alpha_2$ -адренорецептора, A2A-рецептора и гипореактивность TP-рецептора; при этом повысилась активность P2X<sub>1</sub>-рецептора и TP-рецептора ( $p < 0,001$ ), снизилась активность  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2Y-рецепторов и A2A-рецептора ( $p < 0,05$ ), активность AT<sub>1</sub>-рецептора не изменилась по сравнению с исходным уровнем. В течение 4-6 суток ЛКТ у 18 пациентов (подгруппа Б) подтверждено выведение конкрементов из средней трети мочеточника; у 20 пациентов (подгруппа С) локализация конкрементов не изменилась. В подгруппе Б траффик конкрементов происходил на фоне гиперреактивности AT<sub>1</sub>-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора  $\alpha_2$ -адренорецептора и – нормореактивности P2Y-рецепторов, A2A-рецептора, TP-рецептора. По сравнению с предыдущим сроком наблюдения, повысилась активность AT<sub>1</sub>-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов ( $p < 0,05$ ); активность A2A-рецептора снизилась ( $P = 0,042$ ), тогда как активность  $\alpha_2$ -адренорецептора и TP-рецептора не изменилась. В течение 7-9 суток ЛКТ у пациентов подгруппы С подтверждено выведение мелких конкрементов из средней трети мочеточника. Медленная скорость элиминации конкрементов происходила на фоне гиперреактивности P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов, AT<sub>1</sub>-рецептора и – нормореактивности  $\alpha_2$ -

адренорецептора, TP-рецептора, A2A-рецептора. По сравнению со сроком наблюдения 6 суток ЛКТ возросла активность P2X<sub>1</sub>-рецептора и TP-рецептора (P<0,001). Активность A2A-рецептора снизилась (P<0,001), тогда как реактивность α<sub>2</sub>-адренорецептора, AT<sub>1</sub>-рецептора и P2Y-рецепторов не изменилась. Поскольку в течение 9 суток ЛКТ сохранялась гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов и AT<sub>1</sub>-рецептора, то сигнализация, связанная с открытием АТФ катионного канала, а также опосредованная Gi-, Gq-белком может рассматриваться как базовый механизм поддержания сократительной активности ГМК при медленной скорости элиминации конкрементов.

Факт наличия пациентов с разной скоростью элиминации мелких конкрементов (при сходных размерах и локализации), отражает индивидуальную скорость формирования и эффективность компенсаторных механизмов, обеспечивающих трафик конкрементов. Наличие гиперреактивности α<sub>2</sub>-адренорецептора предполагает увеличение частоты фазовых сократительных ответов в перистальтике мочеточника [273]. Аддитивным механизмом усиления сократительной активности МОМ являлась стимуляция AT<sub>1</sub>-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, которые могут повышать уровень внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> в результате сопряженности сигнальных путей, связанных с Gq-белком и открытием управляемого АТФ катионного канала [150]. Модулирующее влияние ангиотензина-2 на физиологическую и патофизиологическую регуляцию перистальтики мочеполовых путей доказано [85]. Эффект стимуляции AT<sub>1</sub>-рецептора связывают с усилением спонтанной сократительной активности в гладкомышечной ткани [251], вероятно, вследствие усиления синтеза норадреналина в вегетативных ганглиях и стимуляцией α<sub>1</sub>-адренорецептора [39]. Более значимой особенностью модуляции моторики мочеточника является стимуляция пуриновых P2X<sub>1</sub>-рецептора и P2Y<sub>12</sub>-рецепторов, сигнализация которых может вызывать повышение уровня внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> сокращение гладкой мышечной ткани [150]. Увеличение внеклеточного АДФ при сохранении уровня аденозина, вероятно,

обеспечивает оптимальную пуринергическую модуляцию перистальтики мочеточника при траффике мелких конкрементов в средней трети мочеточника.

Таким образом, вариабельность траффика мелких конкрементов ( $\leq 6$ мм) при ЛКТ определяется индивидуальными особенностями формирования и регуляции компенсаторных механизмов при нефролитиазе, целью которых является оптимизация процессов сокращения и расслабления гладкой мышечной ткани мочевыводящих путей. В основе формирования этих механизмов лежат как системные, так и органные патогенетические факторы, появление которых связано с наличием конкремента в просвете мочеточника, нарушением пассажа мочи и повышением внутрилюминального давления. При этом возможно повышение активности САС и РАС, инициирующих стресс-реакцию, которая сопровождается стимуляцией  $\alpha$ -адренорецепторов и АТ<sub>1</sub>-рецепторов. Нельзя исключить, что назначение пациентам НПВП с целью анальгезии процесса спонтанного продвижения конкремента в разной степени модулирует релаксацию стенки мочеточника [291].

Особый интерес вызывают механизмы траффика мелких конкрементов в наиболее протяженном участке мочеточника, включающем средний и нижний отделы. Установлено, что при ЛКТ, несмотря на блокаду  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов, перемещение мелких конкрементов в средней и нижней трети мочеточника обеспечивается компенсаторными реакциями МОМ. Впервые обнаружено, что при увеличении расстояния, на которое перемещается мелкий конкремент (сопоставлялся траффик в среднем–нижнем отделах мочеточника и только в среднем отделе) снижаются потенциальные возможности компенсаторных реакций МОМ, что может быть связано со снижением реактивности Р2У-рецепторов и Р2Х<sub>1</sub>-рецептора, поскольку поддерживается недостаточный уровень сокращения ГМК [161; 69].

Необходимо было ответить на вопрос – влияет ли медикаментозная терапия в случае отсутствия  $\alpha_{1A}$ -АБ на активность рецепторов, модулирующих траффик мелких конкрементов в средней–нижней трети мочеточника? Через

9 суток при ЭЭК выявлена гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов; активность α<sub>2</sub>-адренорецептора и А2А-рецептора TP-рецептора соответствовала диапазону нормореактивности. Наличие корреляционной связи между активностью P2X<sub>1</sub>-рецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора, а также – P2Y-рецептора и α<sub>2</sub>-адренорецептора проливает свет на механизмы усиления сократительной активности мышечной оболочки МВП при сохранении функции нейро-мышечного синапса МОМ. Нормореактивность А2А-рецептора может трактоваться как сохранение физиологического механизма расслабления ГМК в процессе траффика мелких конкрементов [141]. Проведенный анализ не выявил значимой разницы активности рецепторов, модулирующих сокращение и расслабление ГМК при разных схемах медикаментозной терапии; следовательно, выраженность компенсаторных механизмов в мочеточнике при траффике мелких конкрементов не зависит от назначения α<sub>1А</sub>-АБ, целью которого является релаксация мышечной оболочки МВП. Стереотипным механизмом усиления сократительной активности ГМК, независимо от функции нейро-мышечного синапса ГМК, является стимуляция P2X<sub>1</sub>-рецепторов и АТ<sub>1</sub>-рецепторов [182; 121; 359]. Доказано, что нейрогенная регуляция мышечного тонуса МВП связана с двойной активацией α<sub>1</sub>-адренорецепторов и P2X<sub>1</sub>-рецептора [140]. Установлено, что пуринергическая передача сигналов посредством АТФ и норадренергической сигнализации регулируют функцию ГМК [52]. При этом паннексин-1 (Panx1), который образует крупнопористые каналы для экзоцитоза АТФ, присутствует в ГМК и обеспечивает синергизм при стимуляции α<sub>1</sub>-адренорецептора. Нуклеотидные рецепторы P2X и P2Y, аденозиновые рецепторы P1 и несколько эктонуклеотидаз являются важными компонентами пути пуринергической передачи сигналов в ГМК [446]. P2X-рецепторы экспрессируются на ГМК мочевыводящих путей, причем P2X<sub>1</sub>-рецептор считается основным в генерации сокращения мышечной ткани. Стимуляция пуринергического P2X<sub>1</sub>-рецептора сопровождается деполяризацией и сокращением ГМК. Молекула АТФ вызывает особый

интерес в связи с возможностью регуляции обеих фаз перистальтики сокращение-расслабление ГМК [37]. Приводятся данные, что пуринергические сократительные ответы ГМК поддерживаются холинергической нервной системой [383]. Приведенные факты подтверждают, что пуринергическая сигнализация может способствовать элиминации мелких конкрементов, в частности, участвуя в компенсаторных реакциях МВП.

Является ли случайной гиперреактивность АТ<sub>1</sub>-рецептора при успешной элиминации конкрементов? При обсуждении этого вопроса необходимо учитывать следующие факты. (а) АТ<sub>1</sub>-рецепторы представлены на клеточной мембране ГМК и при обструкции МВП их экспрессия повышается [82] (б) ангиотензин II участвует в регуляции перистальтики мочеточника посредством модуляции содержания Ca<sup>2+</sup> в атипичных ГМК через потенциал-зависимые кальциевые каналы L-типа [287]; (в) АТ<sub>1</sub>-рецептор участвует в потенцировании эффектов P2X-рецептора на ГМК [208]. В этой связи отмеченная нами гиперреактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора, а также наличие корреляционной связи между активностью данных рецепторов отражает возможность усиления сократительной активности мышечной оболочки МВП при «торможении» траффика конкрементов. Что касается гиперреактивности пуринергических P2Y-рецепторов. Установлено, что стимуляция данного типа рецепторов вызывает стойкое повышение тонуса гладкомышечной ткани мочевого пузыря, в том числе вследствие синергичного взаимодействия с P2X-рецептором [447]; потенцирование эффектов P2X- и P2Y-рецепторов обеспечивается за счет активации сигнального пути фосфолипаза Cβ<sub>1,3</sub> - инозитолтрифосфат (IP3). Таким образом, функционирование компенсаторных механизмов, влияющих на перистальтику МВП, может зависеть от типа и количества высвобождаемых нуклеотидов, а также их модификации эктонуклеотидазами.

Для корректной оценки эффективности назначения α<sub>1A</sub>-АБ при наличии в просвете мочеточника конкрементов, размер которых превышает диаметр просвета необходимо учитывать влияние «вмешивающихся» факторов,

способных влиять на релаксацию гладкой мышечной ткани [377; 444]. Нельзя исключить, что при НЛТ имеет место стимуляция нескольких рецепторов, связанных с G-белком (GPCR); при этом *crosstalk* (появление «перекрестных помех» в сигнализации) [306; 269] может нивелировать эффект  $\alpha_{1A}$ -аАБ. В этой связи необходимо было проанализировать зависимость эффективности назначения блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора от внутриклеточной сигнализации рецепторов, сопряженных с G-белками при спонтанной и индуцированной элиминации конкрементов средних размеров из среднего-нижнего отделов мочеточника. Исследование проведено в двух группах: с эффективной и не эффективной элиминацией конкремента. На этапе госпитализации пациентов имела место сопоставимая гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора и ТР-рецептора; активность пуринового Р2X<sub>1</sub>-рецептора соответствовала уровню нормореактивности, тогда как –пуриновых Р2Y-рецепторов и А2-рецептора находилась в диапазоне гипореактивности. Логично было ожидать, что при наличии в просвете мочеточника конкремента, размер которого превышает диаметр мочеточника, запускаются компенсаторные механизмы, обеспечивающие релаксацию МОМ. Однако, судя по гипореактивности А2А-рецептора, имела место низкая продукция аденозина, способного обеспечить релаксацию ГМК. Таким образом, у данного контингента больных не функционирует защитный аденозинергический механизм релаксации ГМК, что обосновывает необходимость назначения  $\alpha_{1A}$ -АБ.

Через 1-3 суток ЛКТ имела место гиперреактивность аденозинового А2А-рецептора, Р2Y-рецепторов, АТ<sub>1</sub>-рецептора и нормореактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, Р2X<sub>1</sub>-рецептора, ТхА2-рецептора. Через 4-6 суток активность  $\alpha_2$ -адренорецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора снизилась ( $P < 0,001$ ) по сравнению с исходными значениями и достигала уровня нормореактивности. Активность пуриновых Р2X<sub>1</sub>-рецептора, Р2Y-рецепторов и аденозинового А2-рецептора повышалась, и соответствовала уровню гиперреактивности. Анализ множественной корреляции, выявил: (а) связь между активностью Р2X<sub>1</sub>-

рецептора и  $\alpha_2$ -адренорецептора, что подтверждает возможность синергизма P2X<sub>1</sub>-рецептора и  $\alpha_2$ -адренорецептора в плане усиления сократительной активности ГМК; (б) отрицательную корреляционную связь между активностью A2A-рецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора, смыслом которой, вероятно, являлось ограничение силы сокращения гладкой мышечной ткани. Возникает вопрос – почему через 4-6 суток ЛКТ не воспроизводилась элиминация конкрементов, несмотря на изменения в системе GPCR? Причин может быть несколько, однако, следствием взаимодействия рецепторов, сопряженных с G-белками, вероятно, является сохраняющийся высоким уровень внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>, что предопределяет развитие гипертонуса гладкой мышечной ткани вследствие незавершенного разъединения актиновых и миозиновых филаментов в ГМК [242]. Поддержание высокого уровня внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> может быть связано с (а) гиперреактивностью ТхA2-рецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора, обеспечивающих поступление ионов Ca<sup>2+</sup> в клетку; (б) возможностью взаимодействия рецепторов, связанных с Gq-белком (P2Y-рецепторы и АТ<sub>1</sub>-рецептор) и Gi-белком ( $\alpha_2$ -адренорецептор), поскольку сохраняется их нормореактивность; (в) недостаточной компенсаторной возможностью системы A2A-рецептор – аденилатциклаза – цАМФ – протенкиназа А, позволяющей «откачивать» избыток ионов Ca<sup>2+</sup> из клетки [304]. Таким образом, одной из причин отсутствия элиминации конкрементов средних размеров в течение 4-6 суток ЛКТ могло быть сохранение гипертонуса ГМК, связанного с поддержанием высокого уровня внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> [446], который недостаточно ограничивался блокатором  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора и компенсаторным усилением аденозинергической сигнализации.

Через 7-9 суток ЛКТ реактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора и P2Y-рецепторов, АТ<sub>1</sub>-рецептора и TP-рецептора снижалась, при этом активность  $\alpha_2$ -адренорецептора возвращалась до уровня гиперреактивности. Активность A2A-рецептора увеличилась по сравнению с предыдущим сроком наблюдения ( $p < 0,05$ ), что позволило достигнуть нового уровня гиперреактивности.

Корреляционный анализ выявил отрицательную связь между активностью A<sub>2A</sub>-рецептора и P<sub>2X</sub><sub>1</sub>-рецептора, P<sub>2Y</sub>-рецепторов, A<sub>T</sub><sub>1</sub>-рецептора, что может рассматриваться как проявление защитного антигипоксического механизма аденозина, направленного на устранение вазоконстрикции путем снижения чувствительности рецепторов, модулирующих сокращение ГМК в стенке артерий мышечного типа. Применительно к НЛТ, не менее значимым эффектом воздействия аденозина является усиление релаксации гладкой мышечной ткани в стенке мочеточника по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. Вероятно, достижение критического значения внеклеточного содержания аденозина обеспечивало потенцирование эффектов стимуляции A<sub>2A</sub>-рецептора и блокады  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора [150; 199]. Усиление связи между активностью  $\alpha_2$ -адренорецептора и P<sub>2X</sub><sub>1</sub>-рецептора означает, что наряду с индуцированной ЛКТ релаксацией ГМК функционируют механизмы, обеспечивающие активную моторику мочеточника необходимую для траффика конкрементов размерами более 10мм [382].

Возможно ли ограничение гипертонуса мышечной оболочки при траффике конкрементов, размер которых превышает диаметр просвета мочеточника? В этой связи хотелось бы обратить внимание на гипореактивность рецепторов, связанных с Gq-сигнализацией (P<sub>2Y</sub>-рецепторы, A<sub>T</sub><sub>1</sub>-рецептор и TP-рецептор). Ранее [360] обратили внимание на то, что семейство Gq рецепторов отвечает за гипертонус гладких мышц; эффект опосредован фосфолипазой C и сопровождается генерацией инозитолтрифосфата и диацилглицерола. Прикладная значимость данного факта представляется настолько важной, что фармакологическое ингибирование Gq-белка стали рассматривать как основной механизм достижения эффективной терапевтической релаксации гладкой мышечной ткани [254]. В физиологических условиях диацилглицеролкиназа катализирует превращение диацилглицерола в фосфатидную кислоту, тем самым прерывая DAG-опосредованную передачу сигналов с помощью Gq-связанных рецепторов [431]. Таким образом, через 7-9 суток ЛКТ эффективная

элиминация конкрементов средних размеров могла быть следствием: гиперреактивности как A2A-рецептора, обеспечивающего гиперполяризацию мембраны ГМК и удаление ионов  $Ca^{2+}$  из клетки, так и  $\alpha_2$ -адренорецептора, позволяющего увеличить силу сокращения мышечной оболочки мочеточника. Гипореактивность рецепторов, связанных с Gq-сигнализацией (P2Y-рецепторы, AT<sub>1</sub>-рецептор и TxA<sub>2</sub>-рецептор), способствовала ограничению «чрезмерного» сокращения гладкой мышечной ткани путем лимитирования содержания внутриклеточного  $Ca^{2+}$ .

В литературе отсутствует понимание причин неэффективной элиминации конкрементов средних размеров из среднего–нижнего отделов мочеточника на фоне стандартной ЛКТ. Проведенное исследование показало, что на этапе госпитализации имела место гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, AT<sub>1</sub>-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора и TP-рецептора; активность пуриновых P2Y-рецепторов соответствовала уровню нормореактивности, тогда как – аденозинового A2-рецептора находилась в диапазоне гипореактивности. Через 1-3 суток ЛКТ, включающей  $\alpha_{1A}$ -АБ, отмечена гиперреактивность TP-рецептора, AT<sub>1</sub>-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, нормореактивность P2Y-рецепторов и A2A-рецептора. Через 4-6 суток снизилась активность  $\alpha_2$ -адренорецептора и TP-рецептора ( $P < 0,05$ ) по сравнению с предыдущим сроком наблюдения; активность AT<sub>1</sub>-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора оставалась на уровне нижней границы гиперреактивности; активность P2Y-рецепторов и A2-рецептора соответствовала уровню нормореактивности. Следовательно, нарушение траффика конкрементов средних размеров при ЛКТ, включающей  $\alpha_{1A}$ -АБ, может быть связано с гиперреактивностью GPCRs, способных поддерживать высокий уровень внутриклеточного  $Ca^{2+}$  [424], и нормореактивностью A2A-рецептора. Через 7-9 суток ЛКТ отмечено повышение реактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора, AT<sub>1</sub>-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора и P2Y-рецепторов ( $P < 0,001$ ) по сравнению с предыдущим сроком наблюдения; при этом достигался новый уровень гиперреактивности системы GPCR.

Активность A2A-рецептора снизилась на ( $p < 0,05$ ), по сравнению со сроком наблюдения 4-6 суток, и возвращалась к уровню гипореактивности. Анализ множественной корреляции выявил, усиление связи между активностью AT<sub>1</sub>-рецептора и  $\alpha_2$ -адренорецептора, а также между активностью P2Y-рецепторов и AT<sub>1</sub>-рецептора, TxA<sub>2</sub>-рецептора. На этом фоне низкая активность A2A-рецептора исключала возможность достижения необходимого уровня релаксации гладкой мышечной ткани в стенке мочеточника. Таким образом, отсутствие траффика конкрементов средних размеров через 7- 9 суток ЛКТ может быть связано с усилением активации рецепторов, повышающих уровень внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> ( $\alpha_2$ -адренорецептор, P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецептор, AT<sub>1</sub>-рецептор и TxA<sub>2</sub>-рецептор), и десенситизацией A2A-рецептора, призванного удалять избыток ионов Ca<sup>2+</sup> из клетки. [126; 424].

Возникает вопрос – почему введение блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора не обеспечивало релаксацию мышечной оболочки мочеточника, которая позволила бы обеспечить траффик конкрементов средних размеров? В этой связи хотелось бы вернуться к концепции *crosstalk* («перекрестных помех»). Ранее [258] высказали гипотезу, что эффекты минералокортикоидных рецепторов зависят от их взаимодействия с другими рецепторами. Оказалось, что среди различных белков, с которыми взаимодействуют минералокортикоидные рецепторы имеются молекулы, участвующие в передаче сигналов рецептора, связанного с G-белком. Данный факт приводит к значительным перекрестным помехам внутриклеточной сигнализации, связанным с функционированием GPCRs и минералокортикоидных рецепторов, что может существенно влиять на активность последних в клетках-мишенях. Установлено, что гетерологичные стимулы GPCRs оказывают минимальное или незначительное влияние на активацию аденозинового рецептора и связывание Gs-белка для продукции цАМФ [363]. Сигналы от рецепторов, связанных с G-белком (GPCRs), являются наиболее частыми мишенями для назначаемых в настоящее время терапевтических средств. В этой связи [194] полагают, что система GPCRs является не просто

трансдуктором, а может напрямую инициировать несколько сигналов для десенситизации или достижения селективности сигнала, исходя из структуры действующего агониста. В этой связи представляет интерес влияние системы GPCR на сигнализацию, связанную с введением блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора.

Известно, что  $\alpha_1$ -адренергический рецептор связан с  $\alpha$ -субъединицей Gq-белка; стимуляция данного типа адренорецептора приводит к повышению внутриклеточной концентрации ионов  $Ca^{2+}$ , следствием чего может быть сокращение гладкой мышечной ткани. Логично ожидать, что введение блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора будет сопровождаться снижением активации Gq-белка, уменьшением внутриклеточного содержания  $Ca^{2+}$  и релаксацией ГМК. Однако, эффект  $\alpha_{1A}$ -АБ может нивелироваться или даже отменяться если параллельно поддерживается стимуляция Gq-белка, т.е. существует конкурентная сигнализация, например, с P2Y-рецепторов, AT<sub>1</sub>-рецептора и TxA<sub>2</sub> рецепторов. Вероятно, наличие crosstalk между сигнальными путями  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора и системой рецепторов, связанных с Gq-белком является причиной низкой эффективности назначения блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора у данного контингента больных. Косвенным подтверждением данной гипотезы может быть факт эффективной элиминации конкрементов у пациентов при введении  $\alpha_{1A}$ -АБ и наличии гипореактивности рецепторов, связанных с Gq-сигнализацией. При низкой эффективности  $\alpha_{1A}$ -АБ уменьшить содержание  $Ca^{2+}$  в ГМК могло бы компенсаторное усиление аденозинергической сигнализации; однако, при ЛКТ не достигалась необходимая стимуляция A<sub>2A</sub>-рецептора. Таким образом, анализ *in vitro* внутриклеточной сигнализации, регулирующей поступление ионов  $Ca^{2+}$  в клетку при активации системы GPCR и удаление избытка  $Ca^{2+}$  позволил уточнить механизмы, поддерживающие баланс процессов релаксации и сокращения ГМК при траффике конкрементов средних размеров. Можно констатировать, что эффективная элиминация конкрементов через 7-9 суток ЛКТ, включающей блокатор  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора, воспроизводится при

наличии: (а) гиперреактивности А2А-рецептора, сигнальные пути которого обеспечивают дополнительную релаксацию ГМК; (б) гиперреактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора, связанного с Gi-белком, позволяющей увеличить силу сокращения мышечной оболочки мочеточника; (в) гипореактивности рецепторов, связанных с Gq-сигнализацией (P2Y-рецепторы, АТ<sub>1</sub>-рецептор и ТхА2-рецептор), что обеспечивает ограничение гипертонуса гладкой мышечной ткани. Отсутствие траффика конкрементов в этот срок наблюдения, вероятно, связано с дисрегуляцией внутриклеточной сигнализации, вызванной чрезмерной активацией системы рецепторов, повышающих уровень внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> ( $\alpha_2$ -адренорецептор, P2X<sub>1</sub>-рецептор, P2Y-рецептор, АТ<sub>1</sub>-рецептор и ТхА2-рецептор) и десенситизацией А2А-рецептора.

Можно было ожидать, что НЛТ сопровождается компенсаторной реакцией МОМ, которая лежит в основе спонтанной элиминации конкрементов при сохранении функции  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора? Исследование проведенное на этапе госпитализации выявило гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, TP-рецептора, пуриновых P2X<sub>1</sub>- и P2Y-рецепторов; нормореактивность А2-рецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора. Тем самым подтверждается, что сформировавшиеся в процессе нефролитолиза стереотипные компенсаторные механизмы направлены на выведение конкрементов; однако при этом, развивается гипертонус МОМ, что ограничивает возможность спонтанного выведения конкрементов средних размеров [136]. Через 4-6 суток медикаментозной терапии, не включающей  $\alpha_{1A}$ -АБ, изменение регуляции компенсаторной реакции МОМ проявляется снижением стимуляции TP-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора ( $p < 0,05$ ) по сравнению со сроком наблюдения 1-3 суток. Анализ множественной корреляции, выявил отрицательную связь между активностью А2А-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора, смыслом которой является ограничение силы сокращения гладкой мышечной ткани [201]. Следовательно, через 4-6 суток при функционировании  $\alpha_{1A}$ -

адренорецептора в нейро-мышечном синапсе реализация компенсаторных реакций МОМ обусловлена гиперреактивностью как ТР-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2Y-рецепторов, P2X<sub>1</sub>-рецептора, так и A2A-рецептора. Через 9 суток имела место гиперреактивность A2A-рецептора и P2Y-рецепторов; активность ТР-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора находилась в диапазоне нормореактивности и P2X<sub>1</sub>-рецептора – гипореактивности. В процессе медикаментозной терапии увеличилась активность A2A-рецептора, P2Y-рецепторов (P<0,001) и снизилась активность ТР-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора, АТ<sub>1</sub>-рецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора (P<0,001). Таким образом, при функционировании  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора специфическое влияние на перистальтику МОМ оказывали A2A и P2Y-рецепторы, тогда как при блокаде  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора – проявлялся эффект рецепторов, сопряженных с G-белками.

Анализ молекулярных механизмов, регулирующих компенсаторные реакции МОМ при локализации конкрементов мелких и средних размеров в различных отделах мочевыводящих путей, открывает новые возможности в разработке селективной фармакологической коррекции перистальтики мочеточника при ЛКТ.

## ВЫВОДЫ.

1. Факторами риска дисфункции мочеточника при нефролитолазе являются возраст пациентов, размер и локализация конкрементов, наличие пиелонефрита и назначение НПВП, гематурия и лейкоцитурия; патогенетические механизмы воздействия факторов риска связаны с активацией симпато-адреналовой и ренин-ангиотензиновой систем, нарушением микроциркуляции и развитием гипоксии/ишемии тканей мочеточника, реализацией компенсаторных реакций клеток крови, что проявляется изменением активности  $\alpha_2$ -адренорецепторов и АТ<sub>1</sub>-рецепторов, пуриновых Р2У-, Р2Х- и А2А-рецепторов, ТР-рецептора и ФАТ-рецептора на клетках-мишенях.

2. При коморбидности нефролитолаза с артериальной гипертензией активность  $\alpha_2$ -адренорецептора и АТ<sub>1</sub>-рецептора тромбоцитов у мужчин, больше ( $p < 0,05$ ), чем у женщин, что отражает гендерные различия реактивности организма и обосновывает целесообразность индивидуализации схемы ЛКТ. Влияние СД 2 типа на патогенез осложнений нефролитолаза связано с усилением ишемии тканей почки, системной воспалительной реакцией и ремоделированием стенки сосудов, что проявляется гиперреактивностью Р2У-рецепторов, ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора. Активность указанных рецепторов можно рассматривать как систему потенциальных биомаркеров и прогностических индикаторов развития дисфункции мочеточника при нефролитолазе.

3. При наличии конкрементов средних размеров ( $15,1 \pm 0,9$  мм) в верхней трети мочеточника имеет место гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, ТР-рецептора, Р2Х<sub>1</sub>-рецептора; нормореактивность Р2У-рецепторов, АТ<sub>1</sub>-рецептора и гипореактивность аденозинового А2А-рецептора, что направлено на обеспечение спонтанной элиминации конкрементов. Через 7 суток ЛКТ перемещение конкрементов в среднюю треть мочеточника происходит на фоне гиперреактивности А2А-рецептора и гипореактивности Р2Х<sub>1</sub>-рецептора, ТР-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора.

Нарушение элиминации конкрементов связано с сохраняющейся дисрегуляцией путей сигнализации, обеспечивающих транспорт ионов  $\text{Ca}^{2+}$ .

4. Однофакторная модель логистической регрессии, использованная для прогнозирования риска нарушения элиминации конкрементов средних размеров из верхней трети мочеточника, оказалась наиболее информативной через 48ч ЛКТ – при критическом пороге  $\alpha_2$ -адренорецептора ( $\alpha_2\text{AR-Rcrit}$ )  $>52\%$  чувствительность диагностического теста составляет  $80,6\%$  (95% ДИ  $64,0\%-91,8\%$ ), специфичность –  $76,0\%$  (95% ДИ  $54,9\%-90,6\%$ ),  $\text{AUC}=0,809$  (95% ДИ  $0,689-0,899$ ); через 72ч – при  $\text{P2X}_1\text{-Rcrit} >58\%$  чувствительность составляет  $88,2\%$  (95% ДИ  $72,5\%-96,7\%$ ), специфичность –  $83,3\%$  (95% ДИ  $62,3\%-95,3\%$ ),  $\text{AUC}=0,866$  (95% ДИ  $0,751-0,941$ ); через 7 суток – при  $\text{TR-Rcrit} \leq 35\%$  чувствительность составляет  $88,9\%$  (95% ДИ  $65,3\%-98,6\%$ ), специфичность  $92,1\%$  (95% ДИ  $78,6\%-98,3\%$ ),  $\text{AUC}=0,904$  (95% ДИ  $0,796-0,967$ ).

5. При ЛКТ скорость траффика средних конкрементов из верхней трети мочеточника зависит от активности  $\alpha_2$ -адренорецептора,  $\text{P2X}_1$ -рецептора, TR-рецептора и A2A-рецептора, которые модулируют функцию гладких миоцитов. При быстрой элиминации конкрементов воспроизводится десенситизация TR-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора через 48ч и  $\text{P2X}_1$ -рецептора через 72ч; нормореактивность A2A-рецептора восстанавливается в течение 48ч, гиперреактивность – через 72ч ЛКТ. При медленной элиминации гипореактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора регистрируется на 5 сутки, а  $\text{P2X}_1$ -рецептора и TR-рецептора – на 7 сутки; восстановление нормореактивности A2A-рецептора наблюдается на 5 сутки, гиперреактивность рецептора – на 7 сутки ЛКТ.

6. Неэффективная элиминация мелких конкрементов ( $\leq 6\text{мм}$ ) из средней трети мочеточника через 3 суток ЛКТ характеризуется гиперреактивностью  $\text{AT}_1$ -рецептора, нормореактивностью  $\alpha_2$ -адренорецептора,  $\text{P2X}_1$ -рецептора,  $\text{P2Y}$ -рецепторов, TR-рецептора и A2A-рецептора, что не обеспечивает необходимого усиления моторики

мочеточника. Через 6 суток нарушение траффика конкрементов связано с гиперреактивностью A2A-рецептора, модулирующего релаксацию гладких миоцитов, через 9 суток ЛКТ – с десенситизацией  $\alpha_2$ -адренорецептора и P2X<sub>1</sub>-рецептора.

7. Быстрая элиминация мелких конкрементов из средней трети мочеточника (в течение 3 суток ЛКТ) происходит при гиперреактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2Y-рецепторов, P2X<sub>1</sub>-рецептора, AT<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора и нормореактивности A2A-рецептора; регуляция промежуточной скорости траффика конкрементов (в течение 6 суток ЛКТ) отличается нормореактивностью P2Y-рецепторов и TP-рецептора, а медленной элиминации (в течение 9 суток ЛКТ) – нормореактивностью  $\alpha_2$ -адренорецептора и TP-рецептора.

8. Частота выведения мелких ( $\leq 6$ мм) конкрементов из средней и нижней трети мочеточника определяется компенсаторными возможностями мышечной оболочки, обеспечивающей траффик конкрементов, и не зависит от назначения  $\alpha_{1A}$ -адреноблокатора. На фоне блокады  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора усиление сокращения гладких миоцитов достигается при гиперреактивности P2X<sub>1</sub>-рецептора и AT<sub>1</sub>-рецептора; в случае сохранения сигнализации  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора в нейро-мышечном синапсе эффективность компенсаторных реакций мочеточника регулируется стимуляцией P2X<sub>1</sub>-рецептора, AT<sub>1</sub>-рецептора и P2Y-рецепторов.

9. Эффективная элиминация конкрементов (10,0–20,0мм) из средней и нижней трети мочеточника при стандартной ЛКТ связана с гиперреактивностью A2A-рецептора, который модулирует расслабление гладких миоцитов и может усиливать эффект блокады  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора. Гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора и его взаимодействие с P2X<sub>1</sub>-рецептором позволяют увеличить силу сокращения мышечной оболочки мочеточника.

10. Отсутствие траффика конкрементов (10,0–20,0мм) через 9 суток ЛКТ, включающей блокатор  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора, связано с чрезмерной стимуляцией системы рецепторов, повышающих уровень внутриклеточного  $Ca^{2+}$  ( $\alpha_2$ -адренорецептор, P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецептор, АТ<sub>1</sub>-рецептор и TR-рецептор) и десенситизацией А2А-рецептора. Возникающая гиперреактивность системы рецепторов, ассоциированных с Gq-белком, может нивелировать эффект блокады  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора, поскольку воспроизводится «crosstalk» сигнализации, следствием чего является сохранение избыточного уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$ .

11. При сохранении сигнализации  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора нейромышечного синапса эффективная элиминация конкрементов (10,0–20,0мм) из средней и нижней трети мочеточника может быть следствием: гиперреактивности А2А-рецептора, обеспечивающего релаксацию гладкой мышечной ткани; гиперреактивности P2Y-рецепторов, поддерживающих силу сокращения гладких миоцитов, необходимую для траффика конкрементов; нормореактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора, TR-рецептора и гипореактивности P2X<sub>1</sub>-рецептора, что ограничивает их участие в аддитивных механизмах усиления моторики мочеточника.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.**

1. Возраст больных, размер и локализация конкрементов, наличие гематурии и пиелонефрита, назначение НПВП являются факторами риска дисфункции мочеточника при нефролитолизе, которые необходимо учитывать для прогнозирования эффективности ЛКТ.

2. Пожилой возраст пациента, уровень гипергликемии и размер конкремента в мочеточнике являются значимыми факторами риска инфицирования мочевыводящих путей. При нефролитолизе, осложненном ИМП, возрастает выраженность микрогематурии и частота макрогематурии, что обосновывает необходимость коррекции медикаментозной терапии.

3. В когорте мужчин с нефролитиазом инфекция МВП, пожилой возраст, коморбидность с артериальной гипертензией и СД 2 типа являются факторами риска гематурии. У женщин при ассоциации нефролитиаза с СД 2 типа чаще выявляется ИМП, чем в случаях коморбидности НЛТ с артериальной гипертензией. Учет гендерных особенностей реактивности организма позволяет оптимизировать методы профилактики и лечения осложнений при нефролитиазе.

4. Гиперреактивность A2A-рецептора и гипореактивность P2X<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора,  $\alpha_2$ -адренорецептора через 7 суток стандартной ЛКТ являются индикаторами перемещения конкрементов средних размеров из пиело-уретерального сегмента в среднюю треть мочеточника.

5. Прогностическим фактором нарушения элиминации конкрементов средних размеров из верхней трети мочеточника через 48ч ЛКТ является активность  $\alpha_2$ -адренорецептора (критический порог,  $\alpha_2$ -ARcrit >52%); через 72ч – активность P2X<sub>1</sub>-рецептора (критический порог P2X<sub>1</sub>-Rcrit > 58%); через 7 суток – активность TP-рецептора (критический порог TP-R crit >35%).

6. Быстрая элиминация средних конкрементов из верхней трети мочеточника воспроизводится при поддержании нормореактивности A2A-рецептора на протяжении 48ч ЛКТ и развитии гиперреактивности рецептора в течение последующих 24ч. Медленная элиминация – прогнозируется в случае десенситизации  $\alpha_2$ -адренорецептора на 5 сутки, а P2X<sub>1</sub>-рецептора и TP-рецептора – на 7 сутки; при этом на 5 сутки должна восстановиться нормореактивность A2A-рецептора, а на 7 сутки – его гиперреактивность.

7. Неэффективная элиминация мелких конкрементов ( $\leq 6$ мм) из средней трети мочеточника при ЛКТ связана с гиперреактивностью аденозинового A2A-рецептора.

8. Гиперреактивность  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2Y-рецепторов, P2X<sub>1</sub>-рецептора, AT<sub>1</sub>-рецептора, TP-рецептора, и нормореактивность A2A-рецептора являются прогностическими индикаторами быстрой (в течение 3 суток ЛКТ) элиминации мелких конкрементов из средней и нижней трети

мочеточника. Медленная скорость элиминации конкрементов (в течение 7-9 суток ЛКТ) воспроизводится в случае гиперреактивности P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов, АТ<sub>1</sub>-рецептора и нормореактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора, TR-рецептора, A2A-рецептора.

9. Гиперреактивность P2Y-рецептора при блокаде  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора и его нормореактивность при сохранении сигнализации в нейро-мышечном синапсе являются индикатором эффективной элиминации мелких конкрементов из средней и нижней трети мочеточника при ЛКТ.

10. Исследование кластера рецепторов тромбоцитов позволяет оценивать влияние блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора на траффик конкрементов средних размеров в мочеточнике. При наличии гиперреактивности A2A-рецептора и  $\alpha_2$ -адренорецептора; гипореактивности P2Y-рецепторов, АТ<sub>1</sub>-рецептора и TR-рецептора можно прогнозировать эффективную элиминацию конкрементов из среднего и нижнего отделов мочеточника.

11. Нарушение траффика конкрементов размерами 10,0-20,0мм в среднем и нижнем отделах мочеточника при стандартной ЛКТ связано с гиперреактивностью  $\alpha_2$ -адренорецептора, P2X<sub>1</sub>-рецептора, P2Y-рецепторов, АТ<sub>1</sub>-рецептора, TR-рецептора и десенситизацией A2A-рецептора. Данный кластер рецепторов может использоваться как прогностический биомаркер неэффективной элиминации средних конкрементов из мочеточника.

12. При отсутствии блокатора  $\alpha_{1A}$ -адренорецептора в схеме ЛКТ эффективная элиминация конкрементов размерами 10,0-20,0мм из среднего и нижнего отделов мочеточника прогнозируется в случае гиперреактивности A2A-рецептора, P2Y-рецепторов, нормореактивности  $\alpha_2$ -адренорецептора, TR-рецептора и гипореактивности P2X<sub>1</sub>-рецептора.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабаев Ф.Г. Дисперсионный анализ факторов риска развития хронической болезни почек. Бюллетень науки и практики. 2020. Т. 6. № 9. С. 174-181
2. Бережной А.Г., Винник Ю.С., Капсаргин Ф.П., Максютов Д.М. Возможности прогнозирования развития геморрагических осложнений у пациентов с мочекаменной болезнью в послеоперационном периоде. Московский хирургический журнал. 2019. № 1 (65). С. 5-9.
3. Василенко И.А., Буймистр С.Ю., Метелин В.Б., Дутов В.В., Подойницын А.А. способ прогнозирования интраоперационных кровотечений у пациентов с коралловидным нефролитиазом при проведении чрескожной нефролитотрипсии Патент на изобретение 2722124 С1, 26.05.2020. Заявка № 2019134893 от 30.10.2019.
4. Гаджиев Н.К., Малхасян В.А., Мазуренко Д.А., Гусейнов М.А., Тагиров Н.С. Мочекаменная болезнь и метаболический синдром. патофизиология камнеобразования Экспериментальная и клиническая урология. 2018. № 1. С. 66-75.
5. Дутов В.В., Попов Д.М., Дутов С.В., Румянцев А.А., Подойницын А.А., Буймистр С.Ю., Гончарук В.С., Дадашов М.Т.С. Физиологические основы литокинетической терапии. часть 2. Клиническая нефрология. 2020. № 2. С. 67-73.
6. Казарян К.В., Даниелян М.А., Чибухчян Р.Г., Мкртчян Э.Х. Регуляция гистамином взаимодействия электрической активности мочеточников с мочевым пузырем. Проблемы современной науки и образования. 2018. № 6 (126). С. 18-21.
7. Капсаргин Ф.П., Саенко В.С., Трояков В.М., Буторова И.В., Голубева Д.Г., Зуева Л.Ф., Тихомиров Н.С., Хлебнова Е.Ю. Роль растительных препаратов в литокинетической терапии и метафилактике мочекаменной болезни клиническое исследование Экспериментальная и клиническая урология. 2021. Т. 14. № 2. С. 92-99.

8. Ковалев И.В., Бирулина Ю.Г., Гусакова С.В., Носарев А.В., Смаглий Л.В., Петрова И.В., Рыдченко В.С., Лещева А.А., Медведев М.А., Суханова Г.А., Васильев В.Н. Роль цАМФ-зависимой сигнальной системы в регуляции электрических и сократительных свойств гладких мышц мочеточника морской свинки при гипоксии Бюллетень сибирской медицины. 2019. Т. 18. № 2. С. 99-106.
9. Мартов А.Г., Ергаков Д.В. Реабилитация пациентов после выполнения современных эндоурологических операций по поводу мочекаменной болезни. Урология. 2018. № 4. С. 49-55.
10. Осколков С.А., Пакетов С.А., Жмуров В.А., Жмуров Д.В., Иванова П.В., Евсеев М.В. Комплексная оценка функционального состояния почек и гемодинамики в прогнозировании сердечно-сосудистого риска у больных с хроническим пиелонефритом и артериальной гипертензией Нефрология. 2022. Т. 26. № 2. С. 72-76.
11. Попов С.В., Орлов И. Н., Топузов Т. М., Сытник Д.А., Пазин И.С., Сулейманов М.М., Куликов А.Ю.. Способ эндоскопического лечения больных нефролитиазом с применением альфа-адреноблокаторов. Патент на изобретение 2779496 С1, 07.09.2022. Заявка № 2021129059 от 05.10.2021.
12. Просяников М.Ю., Константинова О.В., Голованов С.А., Анохин Н.В., Войтко Д.А. Результаты применения препарата растительного происхождения с антиоксидантной защитой при мочекаменной болезни. Урология. 2020. № 4. С. 55-59.
13. Рогачиков В.В., Кудряшов А.В., Игнатъев Д.Н., Сотников А.С., Григорьева К.М., Попов Д.М. Использование биометрических параметров верхних мочевых путей для планирования оперативных методов лечения нефролитиаза Экспериментальная и клиническая урология. 2022. Т. 15. № 4. С. 70-77.
14. Роюк Р.В., Яровой С.К., Гусева Н.А., Восканян Ш.Л., Роюк В.В., Родин Д.Б. Эпидемиологические аспекты сочетания нефролитиаза и хронических

- заболеваний сердечно-сосудистой системы. Исследования и практика в медицине. 2020. Т. 7. № 1. С. 38-47
15. Руденко В.И., Демидко Ю.Л. Эффективность литокинетической терапии с применением растительных терпенов. Фармакология & Фармакотерапия. 2021. № 2. С. 54-59.
  16. Смольянинова Д.С., Батищева Г.А., Жданова О.А. Возрастные аспекты инфекции мочевыводящих путей у больных мочекаменной болезнью. Лечебное дело. 2021. № 2. С. 96-105.
  17. Смольянинова Д.С., Батищева Г.А., Габбасова Н.В., Гончарова Н.Ю. Структура антибиотикорезистентности штаммов *klebsiella pneumoniae* у пациентов с мочекаменной болезнью. Современные проблемы науки и образования. 2022. № 2. С. 81.
  18. Фролова Е.А., Цариченко Д.Г., Саенко В.С., Рапопорт Л.М. Уратный нефролитиаз - патогенез и возможности консервативного лечения Урология. 2018. № 5. С. 146-152.
  19. Abate D, Marami D, Letta S. Prevalence, Antimicrobial Susceptibility Pattern, and Associated Factors of Urinary Tract Infections among Pregnant and Nonpregnant Women at Public Health Facilities, Harar, Eastern Ethiopia: A Comparative Cross-Sectional Study. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2020; 2020:9356865.
  20. Abdel-Basir Sayed M, Moeen AM, Saada H, Nassir A, Tayib A, Gadelkareem RA. Mirabegron as a Medical Expulsive Therapy for 5-10 mm Distal Ureteral Stones: A Prospective, Randomized, Comparative Study. *Turk J Urol.* 2022;48(3):209-14.
  21. Abou Heidar N, Labban M, Bustros G, Nasr R. Inflammatory serum markers predicting spontaneous ureteral stone passage. *Clin Exp Nephrol.* 2020 Mar;24(3):277-83.
  22. Abou Heidar N, Labban M, Najdi J, Al Shami A, Nasrallah O, Nasr R. Spontaneous ureteral stone passage: a novel and comprehensive nomogram. *Minerva Urol Nephrol.* 2022;74(1):102-9.

23. Agarwal DK, Krambeck AE, Sharma V, Maldonado FJ, Westerman ME, Knoedler JJ, Rivera ME. Treatment of non-obstructive, non-struvite urolithiasis is effective in treatment of recurrent urinary tract infections. *World J Urol.* 2020;38(8):2029-33.
24. Aghaways I, Ibrahim R, Bapir R, Salih RQ, Salih KM, Abdulla BA. The role of inflammatory serum markers and ureteral wall thickness on spontaneous passage of ureteral stone <0 mm: A prospective cohort study. *Ann Med Surg (Lond).* 2022;80:104198.
25. Ahmad S, Hussain A, Khan MSA, Shakireen N, Ali I. Diabetes mellitus and urinary tract infection: Causative uropathogens, their antibiotic susceptibility pattern and the effects of glycemic status. *Pak J Med Sci.* 2020;36(7):1550-7.
26. Ahmed AF, Shalaby E, El-Feky M, Kotb A, Elsothi E, El-Kholy M, et al. Role of Tamsulosin Therapy after Extracorporeal Shockwave Lithotripsy for Renal Stones: Randomized Controlled Trial. *Urol Int.* 2016;97(3):266-72.
27. Aikawa K, Sakai T, Ishibashi K. et al. Involvement of angiotensin II type receptor on pathological remodeling and dysfunction in obstructed bladder. *Int J Urol.* 2012;19(5):457-64.
28. Akash MSH, Rehman K, Fiayyaz F, Sabir S, Khurshid M. Diabetes-associated infections: development of antimicrobial resistance and possible treatment strategies. *Arch Microbiol.* 2020 Jul;202(5):953-65.
29. Akter S, Sharma RK, Sharma S, Rastogi S, Fiebich BL, Akundi RS. Exogenous ATP modulates PGE2 release in macrophages through sustained phosphorylation of CDK9 and p38 MAPK. *J Leukoc Biol.* 2021 Oct;110(4):663-77.
30. Al-Sofiani ME, Yanek LR, Faraday N, Kral BG, Mathias R, Becker LC, et al. Diabetes and Platelet Response to Low-Dose Aspirin. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018 Dec 1;103(12):4599-608.
31. Alexander RT, McArthur E, Jandoc R, Welk B, Fuster DG, Garg AX, et al. Thiazide Diuretic Dose and Risk of Kidney Stones in Older Adults: A

- Retrospective Cohort Study. *Can J Kidney Health Dis.* 2018;5:2054358118787480.
32. Amison RT, Arnold S, O'Shaughnessy BG, Cleary SJ, Ofoedu J, Idzko M, et al. Lipopolysaccharide (LPS) induced pulmonary neutrophil recruitment and platelet activation is mediated via the P2Y1 and P2Y14 receptors in mice. *Pulm Pharmacol Ther.* 2017 Aug;45:62-8.
33. Amison RT, Jamshidi S, Rahman KM, Page CP, Pitchford SC. Diverse signalling of the platelet P2Y1 receptor leads to a dichotomy in platelet function. *Eur J Pharmacol.* 2018 May 15;827:58-70.
34. Amison RT, Momi S, Morris A, Manni G, Keir S, Gresele P, et al. RhoA signaling through platelet P2Y<sub>1</sub> receptor controls leukocyte recruitment in allergic mice. *J Allergy Clin Immunol.* 2015 Feb;135(2):528-38.
35. Andersson KE. Overactive bladder--pharmacological aspects. *Scand J Urol Nephrol Suppl.* 2002;(210):72-81.
36. Ankem MK, Jerde TJ, Wilkinson ER, Nakada SY. Third prize: Prostaglandin E(2)-3 receptor is involved in ureteral contractility in obstruction. *J Endourol.* 2005 Nov;19(9):1088-91.
37. 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 Jul;107(1):603-13.
38. Arthur JF, Jandeleit-Dahm K, Andrews RK. Platelet Hyperreactivity in Diabetes: Focus on GPVI Signaling-Are Useful Drugs Already Available. *Diabetes.* 2017 Jan;66(1):7-13.
39. Aschrafi A, Berndt A, Kowalak JA, Gale JR, Gioio AE, Kaplan BB. Angiotensin II mediates the axonal trafficking of tyrosine hydroxylase and dopamine  $\beta$ -hydroxylase mRNAs and enhances norepinephrine synthesis in primary sympathetic neurons. *J Neurochem.* 2019 Sep;150(6):666-77.
40. Aslam M, Gündüz D, Troidl C. et al. Purinergic Regulation of Endothelial Barrier Function. *Int J Mol Sci.* 2021;22(3):1207.

41. Baboudjian M, Gondran-Tellier B, Abdallah R, Sichez PC, Akiki A, Gaillet S, et al. Predictive risk factors of urinary tract infection following flexible ureteroscopy despite preoperative precautions to avoid infectious complications. *World J Urol.* 2020 May;38(5):1253-9.
42. Babur Ö, Melrose AR, Cunliffe JM, Klimek J, Pang J, Sepp AI, et al. Phosphoproteomic quantitation and causal analysis reveal pathways in GPVI/ITAM-mediated platelet activation programs. *Blood.* 2020 Nov 12;136(20):2346-58.
43. Bader MS, Loeb M, Leto D, Brooks AA. Treatment of urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance and new antimicrobial agents. *Postgrad Med.* 2020 Apr;132(3):234-50.
44. Baeza-Raja B, Goodyear A, Liu X, Lam K, Yamamoto L, Li Y, et al. Pharmacological inhibition of P2RX7 ameliorates liver injury by reducing inflammation and fibrosis. *PLoS One.* 2020;15(6):e0234038.
45. Bai A, Lu N, Guo Y, Chen J, Liu Z. Modulation of inflammatory response via alpha2-adrenoceptor blockade in acute murine colitis. *Clin Exp Immunol.* 2009 May;156(2):353-62.
46. Barinov EF Activity of  $\alpha$ 2-adrenergic and PAF receptors of platelets as risk factor of acute pyelonephritis during urolithiasis in elderly women. *Adv Gerontol.* 2018;31(5):711-6.
47. Baysden M, Hein D, Castillo S. Tamsulosin for prevention of postoperative urinary retention: A systematic review and meta-analysis. *Am J Health Syst Pharm.* 2022;v 29:zxac349.
48. Beara-Lasic L, Goldfarb DS. Nephrolithiasis in women: how different from men. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2020 Mar;29(2):201-6.
49. Berent H, Kuczyńska K, Kochmański M, Wocial B, Lapiński M, Lewandowski J, et al. Hemorrheological indices, catecholamines, neuropeptide Y and serotonin in patients with essential hypertension. *Blood Press.* 1997 Jul;6(4):203-8.

50. Bhan C, Dash SP, Dipankar P, Kumar P, Chakraborty P, Sarangi PP. Investigation of Extracellular Matrix Protein Expression Dynamics Using Murine Models of Systemic Inflammation. *Inflammation*. 2019 Dec;42(6):2020-31.
51. Bhave G, Colon S, Ferrell N. The sulfilimine cross-link of collagen IV contributes to kidney tubular basement membrane stiffness. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2017 Sep 1;313(3):F596-F602.
52. Billaud M, Chiu YH, Lohman A. et al. A molecular signature in the pannexin1 intracellular loop confers channel activation by the  $\alpha 1$  adrenoceptor in smooth muscle cells. *Sci Signal*. 2015;8(364):ra17.
53. Binet F, Cagnone G, Crespo-Garcia S, Hata M, Neault M, Dejda A, et al. Neutrophil extracellular traps target senescent vasculature for tissue remodeling in retinopathy. *Science*. 2020 Aug 21;369(6506):eaay5356.
54. Birder LA, Ruan HZ, Chopra B, Xiang Z, Barrick S, Buffington CA, et al. Alterations in P2X and P2Y purinergic receptor expression in urinary bladder from normal cats and cats with interstitial cystitis. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2004 Nov;287(5):F1084-91.
55. Bobalova J, Mutafova-Yambolieva VN. Presynaptic  $\alpha 2$ -adrenoceptor-mediated modulation of adenosine 5' triphosphate and noradrenaline corelease: differences in canine mesenteric artery and vein. *J Auton Pharmacol*. 2001 Feb;21(1):47-55.
56. Bodiga VL, Bathula J, Kudle MR, Vemuri PK, Bodiga S. Andrographolide suppresses cisplatin-induced endothelial hyperpermeability through activation of PI3K/Akt and eNOS -derived nitric oxide. *Bioorg Med Chem*. 2020 Dec 1;28(23):115809.
57. Boezaart AP, Smith CR, Chembrovich S, Zasimovich Y, Server A, Morgan G, et al. Visceral versus somatic pain: an educational review of anatomy and clinical implications. *Reg Anesth Pain Med*. 2021 Jul;46(7):629-36.
58. Borst O, Gawaz M. Glycoprotein VI - novel target in antiplatelet medication. *Pharmacol Ther*. 2021 Jan;217:107630.

59. Borysova L, Shabir S, Walsh MP, Burdyga T. The importance of Rho-associated kinase-induced Ca<sup>2+</sup> sensitization as a component of electromechanical and pharmacomechanical coupling in rat ureteric smooth muscle. *Cell Calcium*. 2011;50(4):393-405.
60. Brunskole Hummel I, Reinartz MT, Kälble S, Burhenne H, Schwede F, Buschauer A, et al. Dissociations in the effects of  $\beta$ 2-adrenergic receptor agonists on cAMP formation and superoxide production in human neutrophils: support for the concept of functional selectivity. *PLoS One*. 2013;8(5):e64556.
61. Buch A, Kaur S, Nair R, Jain A. Platelet volume indices as predictive biomarkers for diabetic complications in Type 2 diabetic patients. *J Lab Physicians*. 2017;9(2):84-8.
62. Buchmann J, Baumann N, Meng K, Semrau J, Kuhl J, Pfeifer K, et al. Endurance and avoidance response patterns in pain patients: Application of action control theory in pain research. *PLoS One*. 2021;16(3):e0248875.
63. Burdyga T, Lang RJ. Excitation-Contraction Coupling in Ureteric Smooth Muscle: Mechanisms Driving Ureteric Peristalsis. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1124:103-19.
64. Burnstock G. Introduction to Purinergic Signaling. *Methods Mol Biol*. 2020;2041:1-15.
65. Cahilog Z, Zhao H, Wu L, Alam A, Eguchi S, Weng H, et al. The Role of Neutrophil NETosis in Organ Injury: Novel Inflammatory Cell Death Mechanisms. *Inflammation*. 2020 Dec;43(6):2021-32.
66. Cai D, Wei G, Wu P, Huang Y, Che X, Zhang Y, et al. The Efficacy of Mirabegron in Medical Expulsive Therapy for Ureteral Stones: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Clin Pract*. 2022;2022:2293182.
67. Campschroer T, Zhu X, Vernooij RW, Lock MT. Alpha-blockers as medical expulsive therapy for ureteral stones. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018 Apr 5;4(4):CD008509.
68. Campwala H, Fountain SJ. Constitutive and agonist stimulated ATP secretion in leukocytes. *Commun Integr Biol*. 2013 May 1;6(3):e23631.

69. Canda AE, Turna B, Cinar GM, Nazli O. Physiology and pharmacology of the human ureter: basis for current and future treatments. *Urol Int.* 2007;78(4):289-98.
70. Carbone A, Al Salhi Y, Tasca A, Palleschi G, Fuschi A, De Nunzio C, et al. Obesity and kidney stone disease: a systematic review. *Minerva Urol Nefrol.* 2018 Aug;70(4):393-400.
71. Cardoso TC, Pompeu TE, Silva CLM. The P2Y1 receptor-mediated leukocyte adhesion to endothelial cells is inhibited by melatonin. *Purinergic Signal.* 2017 Sep;13(3):331-8.
72. Carotti V, Rigalli JP, van Asbeck-van der Wijst J, Hoenderop JGJ. Interplay between purinergic signalling and extracellular vesicles in health and disease. *Biochem Pharmacol.* 2022;203:115192.
73. Celik S, Akdeniz F, Yildirim MA, Bozkurt O, Bulut MG, Hacıhasanoğlu ML, et al. Computed tomography findings predicting the success of silodosin for medical expulsive therapy of ureteral stones. *Kaohsiung J Med Sci.* 2017 Jun;33(6):290-4.
74. Cetinkaya M, Buldu I, Kurt O, Inan R. Platelet-to-Lymphocyte Ratio: A New Factor for Predicting Systemic Inflammatory Response Syndrome after Percutaneous Nephrolithotomy. *Urol J.* 2017 Aug 29;14(5):4089-93.
75. Chaignat V, Danuser H, Stoffel MH. et al. Effects of a non-selective COX inhibitor and selective COX-2 inhibitors on contractility of human and porcine ureters in vitro and in vivo. *Br J Pharmacol.* 2008;154(6):1297-307.
76. Chandra H, Singh C, Kumari P, Yadav S, Mishra AP, Laishevcev A, et al. Promising Roles of Alternative Medicine and Plant-Based Nanotechnology as Remedies for Urinary Tract Infections. *Molecules.* 2020 Nov 28;25(23):5593.
77. Chang E, Kent L, Prieto I, Eggers E, Tanner JP, Bassaly R, et al. Vaginal Estrogen as First-Line Therapy for Recurrent Urinary Tract Infections in Postmenopausal Women and Risk Factors for Needing Additional Therapy. *Female Pelvic Med Reconstr Surg.* 2021 Mar 1;27(3):e487-e492.

78. Chao Y, Zhu L, Qu X, Zhang J, Zhang J, Kong X, et al. Inhibition of angiotension II type 1 receptor reduced human endothelial inflammation induced by low shear stress. *Exp Cell Res*. 2017 Nov 15;360(2):94-104.
79. Chen D, Jiang C, Liang X, Zhong F, Huang J, Lin Y, et al. Early and rapid prediction of postoperative infections following percutaneous nephrolithotomy in patients with complex kidney stones. *BJU Int*. 2019 Jun;123(6):1041-7.
80. Chewcharat A, Thongprayoon C, Vaughan LE, Mehta RA, Schulte PJ, O'Connor HM, Lieske JC, Taylor EN, Rule AD. Dietary Risk Factors for Incident and Recurrent Symptomatic Kidney Stones. *Mayo Clin Proc*. 2022;97(8):1437-48.
81. Chigaev A, Waller A, Amit O, Sklar LA. Galphas-coupled receptor signaling actively down-regulates alpha4beta1-integrin affinity: a possible mechanism for cell de-adhesion. *BMC Immunol*. 2008 Jun 5;9:26.
82. Cho ST, Park EY, Kim JC. Effect of angiotensin II receptor antagonist telmisartan on detrusor overactivity in rats with bladder outlet obstruction. *Urology*. 2012;80(5):1163.e1-7.
83. Christensen MG, Johnsen N, Skals M, Hamilton ADM, Rubak P, Hvas AM, et al. Prevention of P2 Receptor-Dependent Thrombocyte Activation by Pore-Forming Bacterial Toxins Improves Outcome in A Murine Model of Urosepsis. *Int J Mol Sci*. 2020 Aug 6;21(16):5652.
84. Collado A, Marques P, Escudero P, Rius C, Domingo E, Martinez-Hervás S, et al. Functional role of endothelial CXCL16/CXCR6-platelet-leucocyte axis in angiotensin II-associated metabolic disorders. *Cardiovasc Res*. 2018 Nov 1;114(13):1764-75.
85. Comiter C. Local renin-angiotensin systems in the genitourinary tract. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2012 Jan;385(1):13-26.
86. Conti P, Caraffa A, Gallenga CE, Ross R, Kritas SK, Frydas I, et al. IL-1 induces thromboxane-A2 (TxA2) in COVID-19 causing inflammation and micro-thrombi: inhibitory effect of the IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra). *J Biol Regul Homeost Agents*. 2020 Sep-Oct.;34(5):1623-7.

87. Correa-Costa M, Andrade-Oliveira V, Braga TT, Castoldi A, Aguiar CF, Origassa CS, et al. Activation of platelet-activating factor receptor exacerbates renal inflammation and promotes fibrosis. *Lab Invest.* 2014 Apr;94(4):455-66.
88. Costa T, Linhares I, Ferreira R, Neves J, Almeida A. Frequency and Antibiotic Resistance of Bacteria Implicated in Community Urinary Tract Infections in North Aveiro Between 2011 and 2014. *Microb Drug Resist.* 2018 May;24(4):493-504.
89. Courtemanche K, Chan P, Kassouf W. Prevalence and associated factors for dipstick microscopic hematuria in men. *BMC Urol.* 2019 Aug 6;19(1):76.
90. Cui N, Hu M, Khalil RA. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017;147:1-73.
91. da Silva Rossato J, Krause M, Fernandes AJ, Fernandes JR, Seibt IL, Rech A, et al. Role of alpha- and beta-adrenoreceptors in rat monocyte/macrophage function at rest and acute exercise. *J Physiol Biochem.* 2014 Jun;70(2):363-74.
92. Dalghi MG, Montalbetti N, Carattino MD, Apodaca G. The Urothelium: Life in a Liquid Environment. *Physiol Rev.* 2020 Oct 1;100(4):1621-705.
93. Davenport K, Timoney AG, Keeley FX. Effect of smooth muscle relaxant drugs on proximal human ureteric activity in vivo: a pilot study. *Urol Res.* 2007 Aug;35(4):207-13.
94. Davidson ME, Lang RJ. Effects of selective inhibitors of cyclo-oxygenase-1 (COX-1) and cyclo-oxygenase-2 (COX-2) on the spontaneous myogenic contractions in the upper urinary tract of the guinea-pig and rat. *Br J Pharmacol.* 2000 Feb;129(4):661-70.
95. De Ita M, Vargas MH, Carbajal V, Ortiz-Quintero B, López-López C, Miranda-Morales M, et al. ATP releases ATP or other nucleotides from human peripheral blood leukocytes through purinergic P2 receptors. *Life Sci.* 2016 Jan 15;145:85-92.
96. De Nisco NJ, Neugent M, Mull J, Chen L, Kuprasertkul A, de Souza Santos M, et al. Direct Detection of Tissue-Resident Bacteria and Chronic Inflammation in

- the Bladder Wall of Postmenopausal Women with Recurrent Urinary Tract Infection. *J Mol Biol.* 2019 Oct 4;431(21):4368-79.
97. Demiray O, Cevik E, Cuce F. Association Between Complete Blood Count Parameters and Urinary Stone Disease. *Iran Red Crescent Med J.* 2016 Jul;18(7):e24319.
98. Denizalti M, Anjum I, Simsek G, Onder SC, Durlu-Kandilci NT. Trypsin-induced elevated contractile responses in a rat model of interstitial cystitis/bladder pain syndrome: Involvement of PAR2 and intracellular Ca<sup>2+</sup> release pathways. *Life Sci.* 2022;293:120359.
99. Devi S, Alexandre YO, Loi JK, Gillis R, Ghazanfari N, Creed SJ, et al. Adrenergic regulation of the vasculature impairs leukocyte interstitial migration and suppresses immune responses. *Immunity.* 2021 Jun 8;54(6):1219-1230.e7.
100. Dib PRB, Quirino-Teixeira AC, Merij LB, Pinheiro MBM, Rozini SV, Andrade FB, et al. Innate immune receptors in platelets and platelet-leukocyte interactions. *J Leukoc Biol.* 2020 Oct;108(4):1157-82.
101. Dillman JR, Rigsby CK, Iyer RS, Alazraki AL, Anupindi SA, Brown BP, et al. ACR Appropriateness Criteria® Hematuria-Child. *J Am Coll Radiol.* 2018 May;15(5S):S91-S103.
102. Docherty JR. The pharmacology of  $\alpha$ 1-adrenoceptor subtypes. *Eur J Pharmacol.* 2019 Jul 15;855:305-20.
103. Doykov M, Kostov G, Doykova K. Factors Affecting Residual Stone Rate, Operative Duration, and Complications in Patients Undergoing Minimally Invasive Percutaneous Nephrolithotomy. *Medicina (Kaunas).* 2022 Mar 13;58(3):422.
104. Doyle C, Cristofaro V, Sack BS, Lukianov SN, Schäfer M, Chung YG, et al. Inosine attenuates spontaneous activity in the rat neurogenic bladder through an A2B pathway. *Sci Rep.* 2017 Mar 15;7:44416.
105. Drumm BT, Rembetski BE, Cobine CA. et al. Ca<sup>2+</sup> signalling in mouse urethral smooth muscle in situ: role of Ca<sup>2+</sup> stores and Ca<sup>2+</sup> influx mechanisms. *J Physiol.* 2018;596(8):1433-66.

106. Dune TJ, Kliethermes S, Mueller ER, Fitzgerald CM, Brubaker L, Brincat CA. Screening for Microscopic Hematuria in a Urogynecologic Population. *Female Pelvic Med Reconstr Surg*. 2020 Jun;26(6):382-6.
107. Dwyer KM, Kishore BK, Robson SC. Conversion of extracellular ATP into adenosine: a master switch in renal health and disease. *Nat Rev Nephrol*. 2020 Sep;16(9):509-24.
108. Elmacı AM, Dönmez Mİ, Akın F, Çetin B, Gündüz M. What predicts spontaneous passage of  $\leq 1$  cm ureteral stones in children. *J Pediatr Surg*. 2020 Jul;55(7):1373-6.
109. Engelbrecht C, Sardinha LR, Rizzo LV. Cytokine and Chemokine Concentration in the Tear of Patients with Age-Related Cataract. *Curr Eye Res*. 2020; 45(9):1101-6.
110. Erb L, Weisman GA. Coupling of P2Y receptors to G proteins and other signaling pathways. *Wiley Interdiscip Rev Membr Transp Signal*. 2012;1(6):789-803.
111. Faas MM, Sáez T, de Vos P. Extracellular ATP and adenosine: The Yin and Yang in immune responses. *Mol Aspects Med*. 2017 Jun;55:9-19.
112. Fan J, Wan S, Liu L, Zhao Z, Mai Z, Chen D, et al. Predictors for uroseptic shock in patients who undergo minimally invasive percutaneous nephrolithotomy. *Urolithiasis*. 2017 Dec;45(6):573-8.
113. Fawzi A, Robinet A, Monboisse JC, Ziaie Z, Kefalides NA, Bellon G. A peptide of the alpha 3(IV) chain of type IV collagen modulates stimulated neutrophil function via activation of cAMP-dependent protein kinase and Ser/Thr protein phosphatase. *Cell Signal*. 2000 May;12(5):327-35.
114. Feit L, John D, Torres ND, Sinert R. Flank pain and hematuria is not always a kidney stone. *Am J Emerg Med*. 2020;S0735-6757(20)30641-0.
115. Ferguson AC, Sutton BW, Boone TB, Ford AP, Munoz A. Inhibition of urothelial P2X3 receptors prevents desensitization of purinergic detrusor contractions in the rat bladder. *BJU Int*. 2015 Aug;116(2):293-301.

116. Fernandez AM, Sherer BA, Gansky SA, Mena JD, Srirangapatnam S, Wiener SV, et al. Ectopic biomineralization in kidney stone formers compared to non-stone formers. *Transl Androl Urol.* 2020 Oct;9(5):2129-37.
117. Figueroa SM, Lozano M, Lobos C, Hennrikus MT, Gonzalez AA, Amador CA. Upregulation of Cortical Renin and Downregulation of Medullary (Pro)Renin Receptor in Unilateral Ureteral Obstruction. *Front Pharmacol.* 2019;10:1314.
118. Fillion D, Devost D, Hébert TE. Measuring Recruitment of  $\beta$ -Arrestin to G Protein-Coupled Heterodimers Using Bioluminescence Resonance Energy Transfer. *Methods Mol Biol.* 2019;1957:83-91.
119. Fillion D, Devost D, Sleno R, Inoue A, Hébert TE. Asymmetric Recruitment of  $\beta$ -Arrestin1/2 by the Angiotensin II Type I and Prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  Receptor Dimer. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10:162.
120. Finsterbusch M, Schrottmaier WC, Kral-Pointner JB, Salzmann M, Assinger A. Measuring and interpreting platelet-leukocyte aggregates. *Platelets.* 2018 Nov;29(7):677-85.
121. Fong Z, Griffin CS, Large RJ, Hollywood MA, Thornbury KD, Sergeant GP. Regulation of P2X1 receptors by modulators of the cAMP effectors PKA and EPAC. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2021 Sep 14;118(37):e2108094118.
122. Fry CH, McCloskey KD. Purinergic signalling in the urinary bladder - When function becomes dysfunction. *Auton Neurosci.* 2021; 235:102852.
123. Fu LW, Guo ZL, Longhurst JC. Undiscovered role of endogenous thromboxane A<sub>2</sub> in activation of cardiac sympathetic afferents during ischaemia. *J Physiol.* 2008;586(13):3287-3300.
124. Gao C, Peters M, Kurver P, Anbarasan T, Jayaraajan K, Manning T, et al. Nomogram predicting the probability of spontaneous stone passage in patients presenting with acute ureteric colic. *BJU Int.* 10.1111/bju.15839
125. Gao S, Chao Y, Li N, Li H, Zhao H, Liu X, Chen W, Dong X. An Integrated Proteomics and Metabolomics Strategy for the Mechanism of Calcium Oxalate Crystal-Induced Kidney Injury. *Front Med (Lausanne).* 2022;9:805356.

126. Gaudry M, Vairo D, Marlinge M, Gaubert M, Guiol C, Mottola G, et al. Adenosine and Its Receptors: An Expected Tool for the Diagnosis and Treatment of Coronary Artery and Ischemic Heart Diseases. *Int J Mol Sci.* 2020 Jul 27;21(15):5321.
127. Gendel G, Nolan R. Pregnant patient in the emergency department: An observational investigation of predictive values of symptoms and lab measures in predicting culture confirmed urinary tract infection. *Am J Emerg Med.* 2020 Jul 15:S0735-6757(20)30455-1.
128. Genovese F, Boor P, Papasotiriou M, Leeming DJ, Karsdal MA, Floege J. Turnover of type III collagen reflects disease severity and is associated with progression and microinflammation in patients with IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31(3):472-9.
129. Ghavidel Darestani S, Kurano M, Shinnakasu A, Yamamoto K, Dochi Y, Uemura K, et al. Association between changes in the mRNA expression of platelet-activating factor receptor in peripheral blood mononuclear cells and progression of diabetic nephropathy. *Diabetol Int.* 2020 Jan;11(1):11-8.
130. Ghigo A, Laffargue M, Li M, Hirsch E. (2017). PI3K and Calcium Signaling in Cardiovascular Disease. *Circ Res,* 121(3):282-92.
131. Gidday JM , Gasche YG, Copin JC, Shah AR, Perez RS, Shapiro SD, Chan PH, Park TS. Leukocyte-derived matrix metalloproteinase-9 mediates blood-brain barrier breakdown and is proinflammatory after transient focal cerebral ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005; 289(2):H558-68.
132. Giosia PD, Giorgini P., Stamerra CA, Petrarca M, Claudio Ferri<sup>1</sup>, Sahebkar A. Gender Differences in Epidemiology, Pathophysiology, and Treatment of Hypertension. *Curr Atheroscler Rep.* 2018;20(3):13.
133. Giuliani AL, Sarti AC, Di Virgilio F. Extracellular nucleotides and nucleosides as signalling molecules. *Immunol Lett.* 2019; 205:16-24.
134. Golaszewska A, Misztal T, Marcinczyk N, Chabielska 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.
135. Goldstein D S. Plasma catecholamines and essential hypertension. An analytical review. *Hypertension.* Jan-Feb 1983;5(1):86-99.
136. Golomb D, Shemesh A, Goldberg H, Hen E, Atmana F, Barkai E, et al. Effect of gender on presentation and outcome of renal colic. *Urologia.* 10.1177/03915603221150039
137. Golomb D, Shemesh A, Goldberg H, Shalom B, Hen E, Barkai E, Atamna F, Abu Nijmeh H, Cooper A, Raz O. Spontaneous stone expulsion in patients with history of urolithiasis. *Urologia.* 2022, 8:3915603221126756.
138. Gómez Belda AB, De la Fuente J, Diez LF, Capdevila JA, Inglada L, Arca A, et al. Inadequate empirical antimicrobial treatment in older people with bacteremic urinary tract infection who reside in nursing homes: A multicenter prospective observational study. *Geriatr Gerontol Int.* 2019 Nov;19(11):1112-7.
139. Gong D-J, Wang L, Yan Y-Y. et al. Diabetes aggravates renal ischemia and reperfusion injury in rats by exacerbating oxidative stress, inflammation, and apoptosis *Ren Fail* 2019;41(1):750-761.
140. Gonzalez-Montelongo MDC, Fountain SJ. Neuropeptide Y facilitates P2X1 receptor-dependent vasoconstriction via Y1 receptor activation in small mesenteric arteries during sympathetic neurogenic responses. *Vascul Pharmacol.* 2021;136:106810.
141. Gopalakrishnan SM, Buckner SA, Milicic I. et al.. Functional characterization of adenosine receptors and coupling to ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in Guinea pig urinary bladder smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002;300(3):910-17.
142. Gottlieb M, Long B, Koyfman A. The evaluation and management of urolithiasis in the ED: A review of the literature. *Am J Emerg Med.* 2018;36(4):699-706.
143. Grisanti LA, Gumpert AM, Traynham CJ, Gorsky JE, Repas AA, Gao E, et al. Leukocyte-Expressed  $\beta$ 2-Adrenergic Receptors Are Essential for Survival After Acute Myocardial Injury. *Circulation.* 2016 Jul 12;134(2):153-67.

144. Guan NN, Gustafsson LE, Svennersten K. Inhibitory Effects of Urothelium-related Factors. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2017;121(4):220-4.
145. Guyenet PG, Stornetta RL, Souza GM, Abbott SB, Brooks VL. Neuronal Networks in Hypertension: Recent Advances. *Hypertension*. 2020 Aug;76(2):300-11.
146. Haaland, H.D., Holmsen H., Dorsam R.T. Potentiation by adrenaline of agonist-induced responses in normal human platelets in vitro. *Platelets*. 2011; 22:328–337.
147. Hadzhibozheva P, Tolekova A, Kalfin R, Georgiev T. Analysis of angiotensin II-Induced rat urinary bladder contractions in the presence of angiotensin II receptors blockers. *Arch Physiol Biochem*. 2021;127(1):1-5.
148. Hall JE, Mouton A, da Silva AA, Omoto ACM, Wang Z, Xuan Li, do Carmo JM. Obesity, kidney dysfunction and inflammation: interactions in hypertension. *Cardiovasc Res*. 2020 Dec 1;cvaa336.
149. Hamburger SA, McEver RP. GMP-140 mediates adhesion of stimulated platelets to neutrophils. *Blood*. 1990;75(3):550-554.
150. Hao Y, Wang L, Chen H, Hill WG, Robson SC, Zeidel ML, Yu W. Targetable purinergic receptors P2Y<sub>12</sub> and A<sub>2b</sub> antagonistically regulate bladder function. *JCI Insight*. 2019;4(16):e122112.
151. Harden TK, Sesma JI, Fricks IP, Lazarowski ER. Signalling and pharmacological properties of the P2Y receptor. *Acta Physiol (Oxf)*. 2010 Jun;199(2):149-60.
152. Harrison P, Mackie I, Mumford A, Briggs C, Liesner R, Winter M, et al. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. *Br J Haematol*. 2011 Oct;155(1):30-44.
153. Hashem A, El-Assmy AM, Sharaf DE, Elgamal M, Elzalouey AE, Laymon M. A randomized trial of adjuvant tamsulosin as a medical expulsive therapy for renal stones after shock wave lithotripsy. *Urolithiasis*. 2022;50(4):473-80.

154. Hato T, Shimada N, Kurata Y, Kuwana M, Fujimura K, Kashiwagi H, et al. Risk factors for skin, mucosal, and organ bleeding in adults with primary ITP: a nationwide study in Japan. *Blood Adv.* 2020 Apr 28;4(8):1648-55.
155. Heidar NA, Labban M, Nguyen DD, El-Achkar A, Mansour M, Bhojani N, Nasr R. Does volume matter? Incorporating estimated stone volume in a nomogram to predict ureteral stone passage. *Can Urol Assoc J.* 2022;16(3):E150-E154.
156. Hellman KM, Yu PY, Oladosu FA, Segel C, Han A, Prasad PV, et al. The Effects of Platelet-Activating Factor on Uterine Contractility, Perfusion, Hypoxia, and Pain in Mice. *Reprod Sci.* 2018 Mar;25(3):384-94.
157. Hennenberg M, Tamalunas A, Wang Y. et al. Inhibition of agonist-induced smooth muscle contraction by picotamide in the male human lower urinary tract outflow region. *Eur J Pharmacol.* 2017;803:39-47.
158. Heo J, Son J, Lee W. Epidemiology of Urolithiasis with Sex and Working Status Stratification Based on the National Representative Cohort in Republic of Korea. *Saf Health Work.* 2022 Dec;13(4):482-6.
159. Hering L, Rahman M, Hoch H, Markó L, Yang G, Reil A, et al.  $\alpha$ 2A-Adrenoceptors Modulate Renal Sympathetic Neurotransmission and Protect against Hypertensive Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol.* 2020 Apr;31(4):783-98.
160. Hering L, Rahman M, Potthoff SA, Rump LC, Stegbauer J. Role of  $\alpha$ 2-Adrenoceptors in Hypertension: Focus on Renal Sympathetic Neurotransmitter Release, Inflammation, and Sodium Homeostasis. *Front Physiol.* 2020;11:566871.
161. Hernández M, Prieto D, Simonsen U, Rivera L, Barahona MV, García-Sacristán A. Noradrenaline modulates smooth muscle activity of the isolated intravesical ureter of the pig through different types of adrenoceptors. *Br J Pharmacol.* 1992;107(4):924-31.
162. Herrera-García A.M., Domínguez-Luis M.J., Arce-Franco M. et al. Prevention of neutrophil extravasation by  $\alpha$ 2-adrenoceptor-mediated endothelial

- stabilization. *J Immunol.* 2014;193(6):3023-35.
163. Hijmans RS, Rasmussen DGK, Yazdani S, Navis G, van Goor H, Karsdal MA, Genovese F, van den Born J. Urinary collagen degradation products as early markers of progressive renal fibrosis. *J Transl Med.* 2017;15(1):63.
164. Hiller S.D., Heldmann S., Richter K., et al.  $\beta$ -Nicotinamide adenine dinucleotide ( $\beta$ -nad) inhibits ATP-dependent IL-1 $\beta$  release from human monocytic cells. *Int J Mol Sci.* 2018;19(4): E1126.
165. Hinchado MD, Giraldo E, Ortega E. Adrenoreceptors are involved in the stimulation of neutrophils by exercise-induced circulating concentrations of Hsp72: cAMP as a potential "intracellular danger signal". *J Cell Physiol.* 2012 Feb;227(2):604-8.
166. Holmlund D. On medical treatment for ureteral stone expulsion *Scand J Urol.* 2018 Apr;52(2):94-100.
167. Horn N.A., Anastase D.M., Hecker K.E., et al. Epinephrine enhances platelet-neutrophil adhesion in whole blood in vitro. *Anesth Analg.* 2005;100(2):520-6.
168. Hosseinian S, Shahraki S, Bideskan A E, Shafei MN, Sadeghnia HR, Soukhtanloo M, Rahmani F, Rad AK. Thymoquinone alleviates renal interstitial fibrosis and kidney dysfunction in rats with unilateral ureteral obstruction. *Phytother Res.* 2019;33(8):2023-33.
169. Hou R, Yu Y, Jiang J. PGE2 receptors in detrusor muscle: Drugging the undruggable for urgency. *Biochem Pharmacol.* 2021;184:114363.
170. Hsieh JT, Chang FP, Yang AH, Tarng DC, Yang CY. Timing of kidney biopsy in type 2 diabetic patients: a stepwise approach. *BMC Nephrol.* 2020;21(1):131.
171. Hsu YP, Hsu CW, Bai CH, Cheng SW, Chen KC, Chen C. Silodosin versus tamsulosin for medical expulsive treatment of ureteral stones: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2018;13(8):e0203035.
172. Hu L, Chang L, Zhang Y. et al. Platelets Express Activated P2Y12 Receptor in Patients With Diabetes Mellitus. *Circulation.* 2017; 136(9):817-33.
173. Huang CC, Chung CM, Leu HB, Huang PH, Wu TC, Lin LY, et al. Sex difference in sympathetic nervous system activity and blood pressure in

- hypertensive patients. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2021 Jan;23(1):137-46.
174. Huang P, Zou Y, Zhong XZ, Cao Q, Zhao K, Zhu MX, et al. P2X4 forms functional ATP-activated cation channels on lysosomal membranes regulated by luminal pH. *J Biol Chem*. 2014 Jun 20;289(25):17658-67.
175. Huang R, Tamalunas A, Waidelich R, Strittmatter F, Stief CG, Hennenberg M. Antagonism of  $\alpha_1$ -adrenoceptors by  $\beta_3$ -adrenergic agonists: Structure-function relations of different agonists in prostate smooth muscle contraction. *Biochem Pharmacol*. 2022;202:115148.
176. Huang Z, Liu P, Zhu L, Li N, Hu H. P2X1-initiated p38 signalling enhances thromboxane A2-induced platelet secretion and aggregation. *Thromb Haemost*. 2014 Jul 3;112(1):142-50.
177. Idzko M, Ferrari D, Eltzschig HK. Nucleotide signalling during inflammation. *Nature*. 2014;509(7500):310-7.
178. Ilkan Z, Watson S, Watson SP, Mahaut-Smith MP. 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.
179. Inaba A, Tuong ZK, Riding AM, et al. B Lymphocyte-Derived CCL7 Augments Neutrophil and Monocyte Recruitment, Exacerbating Acute Kidney Injury. *J Immunol*. 2020;205(5):1376-84.
180. Iseki K, Konta T, Asahi K, Yamagata K, Fujimoto S, Tsuruya K, et al. Higher cardiovascular mortality in men with persistent dipstick hematuria. *Clin Exp Nephrol*. 2021 Feb;25(2):150-6.
181. Iseki K, Konta T, Asahi K, Yamagata K, Fujimoto S, Tsuruya K, et al. Association of dipstick hematuria with all-cause mortality in the general population: results from the specific health check and guidance program in Japan. *Nephrol Dial Transplant*. 2018 May 1;33(5):825-32.
182. Jankovic SM, Stojadinovic D, Stojadinovic M, Jankovic SV, Djuric JM, Stojic I, et al. Angiotensin Receptor Blocker Losartan Inhibits Spontaneous Motility of Isolated Human Ureter. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 2016 Dec;41(6):835-8.

183. Janssen C, Buttyan R, Seow CY, Jäger W, Solomon D, Fazli L, et al. A Role for the Hedgehog Effector Gli1 in Mediating Stent-induced Ureteral Smooth Muscle Dysfunction and Aperistalsis. *Urology*. 2017 Jun;104:242.e1-242.e8.
184. Jiang S, Wang Y, Zhang Z, Dai P, Yang Y, Li W. Accuracy of hematuria for predicting non-diabetic renal disease in patients with diabetes and kidney disease: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract*. 2018 Sep;143:288-300.
185. Jiang YH, Jhang JF, Hsu YH, Ho HC, Lin TY, Birder LA, et al. Urothelial health after platelet-rich plasma injection in intractable recurrent urinary tract infection: Improved cell proliferation, cytoskeleton, and barrier function protein expression. *Low Urin Tract Symptoms*. 2021 Apr;13(2):271-8.
186. Jung HD, Cho KS, Jun DY, Jeong JY, Moon YJ, Chung DY, et al. Silodosin versus Tamsulosin for Medical Expulsive Therapy of Ureteral Stones: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Medicina (Kaunas)*. 2022 Dec 6;58(12):1794.
187. Junga A, Siñicins I, Pētersons A, Pilmane M. J Evaluation of PGP 9.5, NGFR, TGFβ1, FGFR1, MMP-2, AT2R2, SHH, and TUNEL in Primary Obstructive Megaureter Tissue. *Histochem Cytochem*. 2022;70(2):139-49.
188. Kalkoff M, Chan-Dominy A, Sleight JW, Jogia PM, Cursons RT, Towers R, et al. Alpha1-adrenergic receptor mRNA and inflammatory mediator expression in circulating leucocytes after cardiac surgery. *Anaesth Intensive Care*. 2008 Jul;36(4):535-43.
189. Kamal FA, Travers JG, Schafer AE, Ma Q, Devarajan P, Blaxall BC. G Protein-Coupled Receptor-G-Protein βγ-Subunit Signaling Mediates Renal Dysfunction and Fibrosis in Heart Failure. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(1):197-208.
190. Karsdal MA, Genovese F, Madsen EA, Manon-Jensen T, Schuppan D. Collagen and tissue turnover as a function of age: Implications for fibrosis. *J Hepatol*. 2016 Jan;64(1):103-9.

191. Kawamura H, Kawamura T, Kanda Y, Kobayashi T, Abo T. Extracellular ATP-stimulated macrophages produce macrophage inflammatory protein-2 which is important for neutrophil migration. *Immunology*. 2012 Aug;136(4):448-58.
192. Kennedy C. ATP as a cotransmitter in sympathetic and parasympathetic nerves - another Burnstock legacy. *Auton Neurosci*. 2021;235:102860.
193. Khire TS, Salminen AT, Swamy H. et al. Microvascular Mimetics for the Study of Leukocyte-Endothelial Interactions. *Cell Mol Bioeng*. 2020 Jan 31;13(2):125-39.
194. Kim D, Tokmakova A, Woo JA, An SS, Goddard WA, Liggett SB. Selective Signal Capture from Multidimensional GPCR Outputs with Biased Agonists: Progress Towards Novel Drug Development. *Mol Diagn Ther*. 2022 May 20.
195. Kim K, Kim JY, Choi EY, Kwon HM, Rim SJ. Prevalence and risk factors for secondary hypertension among young Korean men. *Rev Cardiovasc Med*. 2020 Dec 30;21(4):627-34.
196. Kim S, Chang Y, Jung HS, Hyun YY, Lee KB, Joo KJ, et al. Glycemic Status, Insulin Resistance, and the Risk of Nephrolithiasis: A Cohort Study. *Am J Kidney Dis*. 2020 Nov;76(5):658-668.e1.
197. King BF. P2X3 receptors participate in purinergic inhibition of gastrointestinal smooth muscle. *Auton Neurosci*. 2021;234:102830.
198. Kishi F, Nagai K, Takamatsu N, Tominaga T, Tamaki M, Shibata E, et al. Urinary type IV collagen excretion is involved in the decline in estimated glomerular filtration rate in the Japanese general population without diabetes: A 5-year observational study. *PLoS One*. 2018;13(4):e0195523.
199. Kishore BK, Robson SC, Dwyer KM. CD39-adenosinergic axis in renal pathophysiology and therapeutics. *Purinergic Signal*. 2018 Jun;14(2):109-20.
200. Kisling A, Lust RM, Katwa LC. What is the role of peptide fragments of collagen I and IV in health and disease? *Life Sci*. 2019;228:30-4.

201. Kleppisch T, Nelson MT. Adenosine activates ATP-sensitive potassium channels in arterial myocytes via A<sub>2</sub> receptors and cAMP-dependent protein kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(26):12441-5.
202. Koo JW, Kim Y, Rozen S, Mauer M. Enalapril accelerates remodeling of the renal interstitium after release of unilateral ureteral obstruction in rats. *J Nephrol*. 2003;16(2):203-9.
203. Koo TY, Lee JG, Yan JJ, Jang JY, Ju KD, Han M, Oh KH, Ahn C, Yang J. The P2X<sub>7</sub> receptor antagonist, oxidized adenosine triphosphate, ameliorates renal ischemia-reperfusion injury by expansion of regulatory T cells. *Kidney Int*. 2017;92(2):415-31.
204. Koski RR, Zufall WH. Efficacy and Safety of Alpha-Blockers for Kidney Stones in Adults. *J Pharm Technol* . 2018;34(2):54-61.
205. Kostenis E, Pfeil EM, Annala S. Heterotrimeric Gq proteins as therapeutic targets? *J Biol Chem*. 2020;295(16):5206-15.
206. Kostov K, Blazhev A. Use of Glycated Hemoglobin (A1c) as a Biomarker for Vascular Risk in Type 2 Diabetes: Its Relationship with Matrix Metalloproteinases-2, -9 and the Metabolism of Collagen IV and Elastin. *Medicina (Kaunas)*. 2020;56(5):E231.
207. Krebber MM, van Dijk CGM, Vernooij RWM, Brandt MM, Emter CA, Rau CD, et al. Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases in Extracellular Matrix Remodeling during Left Ventricular Diastolic Dysfunction and Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci*. 2020 Sep 14;21(18):6742.
208. Kulthinee S, Nernpermpisooth N, Poomvanicha M et al. Cold Pressor Test Influences the Cardio-Ankle Vascular Index in Healthy Overweight Young Adults. *Pulse (Basel)*. 2021;9(1-2):30-7.
209. Kurano M, Darestani SG, Shinnakasu A, Yamamoto K, Dochi Y, Uemura K, et al. mRNA expression of platelet activating factor receptor (PAFR) in peripheral blood mononuclear cells is associated with albuminuria and vascular

- dysfunction in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2018 Feb;136:124-33.
210. Kwon TH, Jung H, Cho EJ, Jeong JH, Sohn UD. The Signaling Mechanism of Contraction Induced by ATP and UTP in Feline Esophageal Smooth Muscle Cells. *Mol Cells.* 2015 Jul;38(7):616-23.
211. Tanaka S, Okusa MD Crosstalk between the nervous system and the kidney. *Kidney Int.* 2020;97(3):466-76.
212. Labus J, Wöltje K, Stolte KN, Häckel S, Kim KS, Hildmann A, et al. IL-1 $\beta$  promotes transendothelial migration of PBMCs by upregulation of the FN/ $\alpha$ 5 $\beta$ 1 signalling pathway in immortalised human brain microvascular endothelial cells. *Exp Cell Res.* 2018 Dec 15;373(1-2):99-111.
213. 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 GFOGER motif. *Int J Biochem Cell Biol.* 2013;45(7):1204-11.
214. Landmann R. Beta-adrenergic receptors in human leukocyte subpopulations. *Eur J Clin Invest.* 1992 Oct;22 Suppl 1:30-6.
215. Laudanna C, Campbell JJ, Butcher EC. Elevation of intracellular cAMP inhibits RhoA activation and integrin-dependent leukocyte adhesion induced by chemoattractants. *J Biol Chem.* 1997 Sep 26;272(39):24141-4.
216. Lawrie AS, Kobayashi K, Lane PJ, Mackie IJ, Machin SJ. The automation of routine light transmission platelet aggregation. *Int J Lab Hematol.* 2014;36(4):431-8.
217. Layhadi JA, Fountain SJ. P2X4 Receptor-Dependent Ca<sup>2+</sup> Influx in Model Human Monocytes and Macrophages. *Int J Mol Sci.* 2017 Oct 27;18(11):2261.
218. Le Duc D, Schulz A, Lede V, Schulze A, Thor D, Brüser A, et al. P2Y Receptors in Immune Response and Inflammation. *Adv Immunol.* 2017;136:85-121.
219. Lee SY, Lee MY, Park SH. et al. NS-398 (a selective cyclooxygenase-2 inhibitor) decreases agonist-induced contraction of the human ureter via calcium channel inhibition. *J Endourol.* 2010;24(11):1863-8.

220. Li L, Wang Cong, Gu Y. Collagen IV, a promising serum biomarker for evaluating the prognosis of revascularization in a 2-kidney, 1-clip hypertensive rat model. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2020;30(3):483-90.
221. Li Q, Chen P, Shi S. et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as an independent inflammatory indicator of poor prognosis in IgA nephropathy. *Int Immunopharmacol*. 2020;87:106811.
222. Li Z, Wang KE, Zhou XL, Zhou J, Ye CH. Preoperative Th1/Th2 and related cytokines: Prediction value in postoperative febrile UTI after ureteroscopy in patients with ureteral calculi. *Adv Clin Exp Med*. 2019 Jan;28(1):125-32.
223. Lim I, Chess-Williams R. Mirabegron attenuates porcine ureteral contractility via  $\alpha 1$ -adrenoceptor antagonism. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2022 Jul;395(7):839-47.
224. Lin B-B, Huang R-H, Lin B-L. et al. Associations between nephrolithiasis and diabetes mellitus, hypertension and gallstones: A meta-analysis of cohort studies *Nephrology (Carlton)*. 2020;25(9):691-9.
225. Lin HY-H, Niu S-W, Kuo I-Ch, et.al. Hematuria and Renal Outcomes in Patients With Diabetic Chronic Kidney Disease. *Am J Med Sci*. 2018;356(3):268-76.
226. Liu J, Zhou C, Gao W, Huang H, Jiang X, Zhang D. Does preoperative urine culture still play a role in predicting post-PCNL SIRS? A retrospective cohort study. *Urolithiasis*. 2020 Jun;48(3):251-6.
227. Liu XJ, Wen JG, Wan YD, Hu BW, Wang QW, Wang Y. Role of silodosin as medical expulsive therapy in ureteral calculi: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Urolithiasis*. 2018 Apr;46(2):211-8.
228. Liu Y, Wei W, Yu Ch. et.al. Epidemiology and risk factors for progression in Chinese patients with IgA nephropathy. *Med Clin (Barc)*. 2020;S0025-7753(20)30573-X.
229. Liverani E, Rico MC, Tsygankov AY, Kilpatrick LE, Kunapuli SP. P2Y12 Receptor Modulates Sepsis-Induced Inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016 May;36(5):961-71.

230. Lohman AW, Leskov IL, Butcher JT, Johnstone SR, Stokes TA, Begandt D, et al. Pannexin 1 channels regulate leukocyte emigration through the venous endothelium during acute inflammation. *Nat Commun.* 2015 Aug 5;6:7965.
231. López-de-Andrés A, Albaladejo-Vicente R, Palacios-Ceña D, Carabantes-Alarcon D, Zamorano-Leon JJ, de Miguel-Diez J, et al. Time Trends in Spain from 2001 to 2018 in the Incidence and Outcomes of Hospitalization for Urinary Tract Infections in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Environ Res Public Health.* 2020 Dec 16;17(24):9427.
232. 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.
233. Lordan R, Tsoupras A, Zabetakis I. et al. Forty Years Since the Structural Elucidation of Platelet-Activating Factor (PAF): Historical, Current, and Future Research Perspectives *Molecules.* 2019;24(23):4414.
234. Loubet P, Ranfaing J, Dinh A, Dunyach-Remy C, Bernard L, Bruyère F, et al. Alternative Therapeutic Options to Antibiotics for the Treatment of Urinary Tract Infections. *Front Microbiol.* 2020;11:1509.
235. Lova P, Guidetti GF, Canobbio I, Catricalà S, Balduini C, Torti M. Epinephrine-mediated protein kinase C and Rap1b activation requires the co-stimulation of Gz-, Gq-, and Gi-coupled receptors. *Thromb Haemost.* 2011 Mar;105(3):479-86.
236. Lowry PS, Jerde TJ, Bjorling DE, Maskel JL, Nakada SY. Obstruction alters the effect of prostaglandin E2 on ureteral contractility. *J Endourol.* 2005 Mar;19(2):183-7.
237. Ludwig WW, Matlaga BR. Urinary Stone Disease: Diagnosis, Medical Therapy, and Surgical Management. *Med Clin North Am.* 2018;102(2):265-77.
238. Lumlertgul N, Siribamrungwong M, Jaber BL, Susantitaphong P. Secondary Oxalate Nephropathy: A Systematic Review. *Kidney Int Rep.* 2018 Nov;3(6):1363-72.

239. MacCraith E, O'Kelly J, Ryan J, Forde JC, Cheema I, McLornan L, et al. Predictors of emergency department attendance following ureterorenoscopy for urolithiasis. *Ir J Med Sci.* 2020 Nov;189(4):1445-9.
240. Maczewski M, Borys M, Kacprzak P, Gdowski T, Wojciechowski D. Angiotensin II AT1 receptor density on blood platelets predicts early left ventricular remodelling in non-reperfused acute myocardial infarction in humans. *Eur J Heart Fail.* 2006;8(2):173-8.
241. Maddahi N, Aghamir SMK, Moddaresi SS, Mirzaei K, Alizadeh S, Yekaninejad MS. The association of Dietary Approaches to Stop Hypertension-style diet with urinary risk factors of kidney stones formation in men with nephrolithiasis. *Clin Nutr ESPEN.* 2020 Oct;39:173-9.
242. Mahavadi S, Nalli AD, Wang H, Kendig DM, Crowe MS, Lyall V, Grider JR, Murthy KS. Regulation of gastric smooth muscle contraction via Ca<sup>2+</sup>-dependent and Ca<sup>2+</sup>-independent actin polymerization. *PLoS One.* 2018;13(12):e0209359.
243. Mamedov EA, Dutov VV, Bazaev VV, Podoynitsyn AA, Urenkov SB, Ivanov AE, et al. [Risk factors for complications of ureterolithotripsy]. *Urologiia.* 2020 Sep;< Missing volume number >(4):60-5.
244. Man JJ, Beckman JA, Jaffe IZ. Sex as a Biological Variable in Atherosclerosis. *Circ Res.* 2020 Apr 24;126(9):1297-319.
245. Marchand M, Monnot C, Muller L, Germain S. Extracellular matrix scaffolding in angiogenesis and capillary homeostasis. *Semin Cell Dev Biol.* 2019;89:147-56.
246. Marin TA, Bertassoli BM, de Siqueira de Carvalho AA, Feder D. The use of aliskiren as an antifibrotic drug in experimental models: A systematic review. *Drug Dev Res.* 2020;81(1):114-26.
247. Marino F, Scanzano A, Pulze L, Pinoli M, Rasini E, Luini A, et al.  $\beta$ 2 - Adrenoceptors inhibit neutrophil extracellular traps in human polymorphonuclear leukocytes. *J Leukoc Biol.* 2018 Sep;104(3):603-14.

248. Martin-Aragon Baudel M, Espinosa-Tanguma R, Nieves-Cintrón M, Navedo MF. Purinergic Signaling During Hyperglycemia in Vascular Smooth Muscle Cells. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:329.
249. Martinod K, Deppermann C. Immunothrombosis and thromboinflammation in host defense and disease. *Platelets*. 2021 Apr 3;32(3):314-24.
250. Marucci G, Dal Ben D, Buccioni M, Martí 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 Dec;29(12):943-63.
251. Mastropaolo M, Zizzo MG, Auteri M, Caldara G, Liotta R, Mulè F, et al. Activation of angiotensin II type 1 receptors and contractile activity in human sigmoid colon in vitro. *Acta Physiol (Oxf)*. 2015 Sep;215(1):37-45.
252. Matos R, Cordeiro JM, Coelho A, Ferreira S, Silva C, Igawa Y, Cruz F, Charrua A. Bladder pain induced by prolonged peripheral alphaA adrenoceptor stimulation involves the enhancement of transient receptor potential vanilloid activity and an increase of urothelial adenosine triphosphate release. *Acta Physiol (Oxf)*. 2016;218(4):265-75.
253. Matsumoto R, Otsuka A, Suzuki T, Shinbo H, Mizuno T, Kurita Y, et al. Expression and functional role of  $\beta_3$  -adrenoceptors in the human ureter. *Int J Urol*. 2013 Oct;20(10):1007-14.
254. Matthey M, Roberts R, Seidinger A, Simon A, Schröder R, Kuschak M, et al. Targeted inhibition of Gq signaling induces airway relaxation in mouse models of asthma. *Sci Transl Med*. 2017 Sep 13;9(407):eaag2288.
255. Mayans L. Nephrolithiasis. *Prim Care*. 2019 Jun;46(2):203-12.
256. Mayr M, Duerschmid C, Medrano G, Taffet GE, Wang Y, Entman ML, Haudek SB. TNF/Ang-II synergy is obligate for fibroinflammatory pathology, but not for changes in cardiorenal function. *Physiol Rep*. 2016;4(8):e12765
257. Mefford J.M., Tungate R.M., Amini L. et al. A Comparison of Urolithiasis in the Presence and Absence of Microscopic Hematuria in the Emergency Department. // *West J Emerg Med*. –2017; 18(4): 775-9.

258. Meinel S, Gekle M, Grossmann C. Mineralocorticoid receptor signaling: crosstalk with membrane receptors and other modulators. *Steroids*. 2014;91:3-10.
259. Meisner JG, Waldron JB, Sawynok J. Alpha1-adrenergic receptors augment P2X3 receptor-mediated nociceptive responses in the uninjured state. *J Pain*. 2007 Jul;8(7):556-62.
260. Melo Junior AF, Dalpiaz PLM, Escouto LDS, Sousa GJ, Aires R, Oliveira ND, et al. Involvement of sex hormones, oxidative stress, ACE and ACE2 activity in the impairment of renal function and remodelling in SHR. *Life Sci*. 2020 Sep 15;257:118138.
261. Meng M, Zheng J, Yan J, Li Q, Fang Q, Li W. P2X2 and P2X5 Receptors Mediate Bladder Hyperesthesia in ICC in Female Overactive Bladder. *Cell Biochem Biophys*. 2015;72(2):375-83.
262. Meng MV, Freise CE, Stoller ML Expanded experience with laparoscopic nephrectomy and autotransplantation for severe ureteral injury. *J Urol*. 2003 Apr;169(4):1363-7.
263. Menzies RI, Booth JWR, MullinsJJ, Bailey MA, Tam FWK, Norman JT, Robert Unwin J. Hyperglycemia-induced Renal P2X7 Receptor Activation Enhances Diabetes-related Injury. *EBioMedicine*. 2017;19:73-83.
264. Menzies RI, Tam FW, Unwin RJ, Bailey MA. Purinergic signaling in kidney disease. *Kidney Int*. 2017;91(2):315-23.
265. Micucci M, Chiarini A, Budriesi R. Neutral/negative  $\alpha$ 1-AR antagonists and calcium channel blockers at comparison in functional tests on guinea-pig smooth muscle and myocardium. *Pharmacol Rep*. 2019;71(1):128-32.
266. Mikolajewicz N, Smith D, Komarova SV, Khadra A. High-affinity P2Y2 and low-affinity P2X7 receptor interaction modulates ATP-mediated calcium signaling in murine osteoblasts. *PLoS Comput Biol* 2021;17(6):e1008872.
267. Miller JA, Cherney DZ, Duncan JA, Lai V, Burns KD, Kennedy ChR J, Zimpelmann J, Gao W, Cattran DC, Scholey JW. Gender differences in the

- renal response to renin-angiotensin system blockade. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17(9):2554-60.
268. Minhaj FS, 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):2564-2569.
269. Mohamed R, Janke R, Guo W, Cao Y, Zhou Y, Zheng W, Babaahmadi-Rezaei H, Xu S, Kamato D, Little PJ. GPCR transactivation signalling in vascular smooth muscle cells: role of NADPH oxidases and reactive oxygen species *Vasc Biol.* 2019;1(1):R1-R11.
270. Mohanty I, Singh J, Rattan S. Downregulation of thromboxane A2 and angiotensin II type receptors associated with aging-related decrease in internal anal sphincter tone. *Sci Rep.* 2019;9(1):6759.
271. Mohanty S, Kamolvit W, Hertting O, Brauner A. Vitamin D strengthens the bladder epithelial barrier by inducing tight junction proteins during *E. coli* urinary tract infection. *Cell Tissue Res.* 2020 Jun;380(3):669-73.
272. Molica F, Morel S, Meens MJ, Denis JF, Bradfield PF, Penuela S, Zufferey A, Monyer H, Imhof BA, Chanson M, Laird DW, Fontana P, Kwak BR. Functional role of a polymorphism in the Pannexin1 gene in collagen-induced platelet aggregation. *Thromb Haemost.* 2015;114(2):325-36.
273. Monks DR, Bund S The modulation of ureteral smooth muscle contractile responses by  $\alpha_1$ - and  $\alpha_2$ -adrenoceptor activation. *J. Physiol Int.* 2018;105(3):225-32.
274. Morsy S, Nasser I, Aboulela W, Abdelazim MS, Ali H. Efficacy of Mirabegron as Medical Expulsive Therapy for Distal Ureteral Stones: A Prospective, Randomized, Double-Blinded, Controlled Study. *Urol Int.* 2022;106(12):1265-71.
275. Motegi SI, Sekiguchi A, Fujiwara C, Toki S, Ishikawa O. Possible association of elevated serum collagen type IV level with skin sclerosis in systemic sclerosis. *J Dermatol.* 2017 Feb;44(2):167-72.

276. Motiejunaite J, Amar L, Vidal-Petiot E. Adrenergic receptors and cardiovascular effects of catecholamines. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2021 Jun;82(3-4):193-7.
277. Mudraya IS, Khodyreva LA. The role of functional urodynamic disorders in the pathogenesis of urolithiasis. *Arch Ital Urol Androl*. 2011;83(1):31-6.
278. Mueller H, Motulsky HJ, Sklar LA. The potency and kinetics of the beta-adrenergic receptors on human neutrophils. *Mol Pharmacol*. 1988 Sep;34(3):347-53.
279. Müller MB, Hoppe JM, Bideak A et al. Exclusive expression of transmembrane TNF aggravates acute glomerulonephritis despite reduced leukocyte infiltration and inflammation. *Kidney Int*. 2019;95(1):75-93.
280. Muralidharan J, Ramezani A, Hubal M, Knoblach S, Shrivastav S, Karandish S, Scott R, Maxwell N, Ozturk S, Beddhu S, Kopp JB, Raj DS. Extracellular microRNA signature in chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2017;312(6):F982-F991.
281. Naboka YL, Kogan MI, Gudima IA, Mitusova EV, Bedzhanyan SK, et al. Long-term monitoring of leukocyturia and bacteriuria after acute obstructive pyelonephritis. *Urologia*. 2018;(4):44-8.
282. Nackeeran S, Katz J, Ramasamy R, Marcovich R. Association between sex hormones and kidney stones: analysis of the National Health and Nutrition Examination Survey. *World J Urol*. 2020; Jun 5.
283. Nadzirin IB, Fortuny-Gomez A, Ngum N, Richards D, Ali S, Searcey M, Fountain SJ. Taspine is a natural product that suppresses P2X4 receptor activity via phosphoinositide 3-kinase inhibition. *Br J Pharmacol* 2021;178(24):4859-72.
284. Nakada SY, Jerde TJ, Bjorling DE, Saban R. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors reduce ureteral contraction in vitro: a better alternative for renal colic? *J Urol*. 2000 Feb;163(2):607-12.
285. Namkung Y, LeGouill C, Kumar S, Cao Y, Teixeira LB, Lukasheva V, et al. Functional selectivity profiling of the angiotensin II type 1 receptor using

- pathway-wide BRET signaling sensors. *Sci Signal*. 2018 Dec 4;11(559):eaat1631.
286. Nevo A, Golomb D, Lifshitz D, Yahav D. Predicting the risk of sepsis and causative organisms following urinary stones removal using urinary versus stone and stent cultures. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019 Jul;38(7):1313-8.
287. Nguyen MJ, Hashitani H, Lang RJ. Angiotensin receptor-1A knockout leads to hydronephrosis not associated with a loss of pyeloureteric peristalsis in the mouse renal pelvis. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2016;43(5):535-42.
288. Nishimura A, Nishida M. [Purinergic signaling in cardiovascular system]. *Nihon Yakurigaku Zasshi*. 2017;149(2):84-90.
289. Nishimura A, Sunggip C, Oda S, Numaga-Tomita T, Tsuda M, Nishida M. Purinergic P2Y receptors: Molecular diversity and implications for treatment of cardiovascular diseases. *Pharmacol Ther*. 2017 Dec;180:113-28.
290. Nishimura K. [Nursing study in England. 15. Clothing seen in England]. *Kangogaku Zasshi*. 1988 Mar;52(3):304-7.
291. Nørregaard R, Jensen BL, Topcu SO. et al. Cyclooxygenase type 2 is increased in obstructed rat and human ureter and contributes to pelvic pressure increase after obstruction. *Kidney Int*. 2006;70(5):872-881.
292. North RA. Molecular physiology of P2X receptors. *Physiol Rev*. 2002;82(4):1013-1067.
293. North RA. P2X receptors *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2016;371(1700):20150427.
294. Nuti E, Rossello A, Cuffaro D, Camodeca C, Van Bael J, van der Maat D, et al. Bivalent Inhibitor with Selectivity for Trimeric MMP-9 Amplifies Neutrophil Chemotaxis and Enables Functional Studies on MMP-9 Proteoforms. *Cells*. 2020 Jul 7;9(7):1634.
295. Ochodnický P, Humphreys S, Eccles R, Poljakovic M, Wiklund P, Michel MC. Expression profiling of G-protein-coupled receptors in human urothelium and related cell lines. *BJU Int*. 2012 Sep;110(6 Pt B):E293-300

296. Ochodnický P, Michel MB, Butter JJ, Seth J, Panicker JN, Michel MC. Bradykinin modulates spontaneous nerve growth factor production and stretch-induced ATP release in human urothelium. *Pharmacol Res.* 2013 Apr;70(1):147-54.
297. Ohki K, Ohno Y, Suzuki K. The investigation of ureteral sympathetic innervation, using semi-serial sections: why does the alpha1-adrenergic receptor antagonist work well for ureteral stones. *Int Urol Nephrol.* 2010 Mar;42(1):113-7.
298. Oliveira SD, Oliveira NF, Meyer-Fernandes JR, Savio LE, Ornelas FG, Ferreira ZS, et al. Increased expression of NTPDases 2 and 3 in mesenteric endothelial cells during schistosomiasis favors leukocyte adhesion through P2Y1 receptors. *Vascul Pharmacol.* 2016 Jul;82:66-72.
299. O'Reilly PJ, Ding Q, Akthar S, Cai G, Genschmer KR, Patel DF, Jackson PL, Viera L, Roda M, Locy ML, Bernstein EA, Lloyd CM, Bernstein KE, Snelgrove RJ, Blalock JE. Angiotensin-converting enzyme defines matrikine-regulated inflammation and fibrosis. *JCI Insight.* 2017; 2(22): pii: 91923.
300. Osman F, Romics I, Nyírády P, Monos E, Nádasy GL Ureteral motility. *Acta Physiol Hung.* 2009;96(4):407-26.
301. Ou G, Fujisawa M, Yashiro A, Xu K, Yoshioka K, Obara K, et al. Prostanoid TP receptor stimulation enhances contractile activities in guinea pig urinary bladder smooth muscle through activation of Ca<sup>2+</sup> entry channels: Potential targets in the treatment of urinary bladder contractile dysfunction. *Life Sci.* 2021 Dec 15;287:120130.
302. Ozgur BC, Ekici M, Baykam MM, Demir E. Efficiency and Safety of The Retrograde Intrarenal Surgery in Younger Compared to Elderly Patients. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2020 May;30(5):508-11.
303. Park YC, Tomiyama Y, Hayakawa K, Akahane M, Ajisawa Y, Miyatake R, et al. Existence of a beta3-adrenoceptor and its functional role in the human ureter. *J Urol.* 2000 Oct;164(4):1364-70.

304. Parker BM, Wertz SL, Pollard CM. et al. Novel Insights into the Crosstalk between Mineralocorticoid Receptor and G Protein-Coupled Receptors in Heart Adverse Remodeling and Disease. *Int J Mol Sci.* 2018;19(12):3764.
305. Parker T, Wang KW, Manning D, Dart C. Soluble adenylyl cyclase links  $\text{Ca}^{2+}$  entry to  $\text{Ca}^{2+}$ /cAMP-response element binding protein (CREB) activation in vascular smooth muscle. *Sci Rep.* 2019;9(1):7317.
306. Patel J, Chuaiphichai S, Douglas G, Gorvin CM, Channon KM. Vascular wall regulator of G-protein signalling-1 (RGS-1) is required for angiotensin II-mediated blood pressure control. *Vascul Pharmacol.* 2018;108:15-22.
307. Patel N, Shi W, Liss M, Raheem O, Wenzler D, Schallhorn C, et al. Multidrug resistant bacteriuria before percutaneous nephrolithotomy predicts for postoperative infectious complications. *J Endourol.* 2015 May;29(5):531-6.
308. Pennings GJ, Yong AS, Wong C. et al. Circulating levels of soluble EMMPRIN (CD147) correlate with levels of soluble glycoprotein VI in human plasma. *Platelets.* 2014 ; 25(8):639-42.
309. Pereira ADS, de Oliveira LS, Lopes TF. et al. Effect of gallic acid on purinergic signaling in lymphocytes, platelets, and serum of diabetic rats. *Biomed Pharmacother.* 2018;101:30-6.
310. Perrella G, Huang J, Provenzale I, Swieringa F, Heubel-Moenen FCJI, Farndale RW, et al. Nonredundant Roles of Platelet Glycoprotein VI and Integrin  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  in Fibrin-Mediated Microthrombus Formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2021 Feb;41(2):e97-e111.
311. Petsepe DC, Kourkoulis SK, Papadodima SA, Sokolis DP. Regional and age-dependent residual strains, curvature, and dimensions of the human ureter. *Proc Inst Mech Eng H.* 2018 Feb;232(2):149-62.
312. Ping H, Lu N, Wang M, Lu J, Liu Y, Qiao L, Wang Y, Jiang L, Zhang X. New-onset metabolic risk factors and the incidence of kidney stones: a prospective cohort study. *BJU Int.* 2019;124(6):1028-33.

313. Povstyan OV, Harhun MI, Gordienko DV. Ca<sup>2+</sup> entry following P2X receptor activation induces IP3 receptor-mediated Ca<sup>2+</sup> release in myocytes from small renal arteries. *Br J Pharmacol*. 2011;162(7):1618-38.
314. Praetorius H. The bacteria and the host: a story of purinergic signaling in urinary tract infections. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2021 Jul 1;321(1):C134-C146.
315. Prosyannikov MY, Zolotuhin OV, Madykin YY, Konstantinova OV, Voytko DA, Anokhin NV, et al. [An influence of herbal plant based on the combination of natural terpenes, vitamin and essential oil on the spontaneous stone passage after extracorporeal shock-wave lithotripsy]. *Urologiia*. 2020 Sep;< Missing volume number >(4):45-9.
316. Qian Y, Qian C, Xie K, Fan Q, Yan Y, Lu R, Wang L, Zhang M, Wang Q, Mou S, Dai H, Ni Z, Pang H, Gu L. P2X7 receptor signaling promotes inflammation in renal parenchymal cells suffering from ischemia-reperfusion injury. *Cell Death Dis*. 2021;12(1):132.
317. Qin L, Li X, Shi J, Yu M, Wang K, Tao Y, et al. Gendered effects on inflammation reaction and outcome of COVID-19 patients in Wuhan. *J Med Virol*. 2020 Nov;92(11):2684-92.
318. Quiroga J, Alarcón P, Manosalva C. et.al. Mitochondria-derived ATP participates in the formation of neutrophil extracellular traps induced by platelet-activating factor through purinergic signaling in cows. *Dev Comp Immunol*. 2020;113:103768.
319. Radović N, Aralica G, Ljubanović DG, Jelec V, Kontek M. Effect of unilateral ureteral obstruction and anti-angiotensin II treatment on renal tubule cell apoptosis and interstitial fibrosis in rats. *Coll Antropol*. 2014 Jun;38(2):583-8.
320. Ralevic V, Dunn WR. Purinergic transmission in blood vessels. *Auton Neurosci*. 2015;191:48-66.
321. Ramirez GA, Manfredi AA, Maugeri N. Misunderstandings Between Platelets and Neutrophils Build in Chronic Inflammation. *Front Immunol*. 2019;10:2491.

322. Rasmussen DGK, Boesby L, Nielsen SH, Tepel M, Birot S, Karsdal MA, Kamper AL, Genovese F. Collagen turnover profiles in chronic kidney disease. *Sci Rep.* 2019;9(1):16062.
323. Ratelade J, Mezouar N, Domenga-Denier, Roche A, Plaisier E, Joutel A. Severity of arterial defects in the retina correlates with the burden of intracerebral haemorrhage in COL4A1-related stroke *J Pathol* . 2018;244(4):408-20.
324. Reicherz A, Eltit F, Almutairi K, Mojtahedzadeh B, Herout R, Chew B, et al. Ureteral Obstruction Promotes Ureteral Inflammation and Fibrosis. *Eur Urol Focus.* 10.1016/j.euf.2022.09.014
325. Reinstatler L, Khaleel S, Pais VM Jr. Association of Pregnancy with Stone Formation among Women in the United States: A NHANES Analysis 2007 to 2012. *J Urol.* 2017;198(2):389-93.
326. Richter LA, Lippmann QK, Jallad K, Lucas J, Yeung J, Dune T, Mellano E, Weissbart S, Mete M, Kim Ja-H, Gutman R. Risk Factors for Microscopic Hematuria in Women. *Female Pelvic Med Reconstr Surg.* 2016;22(6):486-90.
327. Riegel AK, Faigle M, Zug S, Rosenberger P, Robaye B, Boeynaems JM, et al. Selective induction of endothelial P2Y6 nucleotide receptor promotes vascular inflammation. *Blood.* 2011 Feb 24;117(8):2548-55.
328. Roca R., Esteban P., Zapater P., et al.  $\beta$ 2-adrenergic receptor functionality and genotype in two different models of chronic inflammatory disease: Liver cirrhosis and osteoarthritis. *Mol Med Rep.* 2018;17(6):7987-95.
329. Rodriguez-Mañas L. Urinary tract infections in the elderly: a review of disease characteristics and current treatment options. *Drugs Context.* 2020;9:2020-4-13.
330. Roshani H, Weltings S, Dabhoiwala NF, Lamers WH. Pharmacological modulation of ureteric peristalsis in a chronically instrumented conscious pig model: effect of adrenergic and nitrenergic modulation. *World J Urol.* 2016;34(5):747-54.
331. Rossaint J, Margraf A, Zarbock A. Role of Platelets in Leukocyte Recruitment and Resolution of Inflammation. *Front Immunol.* 2018;9:2712.

332. Rudziak P, Ellis CG, Kowalewska PM . Role and Molecular Mechanisms of Pericytes in Regulation of Leukocyte Diapedesis in Inflamed Tissues. *Mediators Inflamm.* 2019; 2019:4123605.
333. Saeed SA, Rasheed H. Calcium-dependent synergistic interaction of platelet activating factor and epinephrine in human platelet aggregation. *Acta Pharmacol Sin.* 2003;24(1):31-6.
334. Sahin C, Can U, Eryildirim B, Sarica K. Transient cessation of antiplatelet medication before percutaneous stone surgery: does it have any safety concern on bleeding related problems? *Urolithiasis.* 2017;45(4):371-378.
335. Sairam K. Should we SUSPEND MET? Not really. *Cent European J Urol.* 2016;69(2):183.
336. Sama IE, Ravera A, Santema BT, van Goor H, Ter Maaten JM, Cleland JGF, et al. Circulating plasma concentrations of angiotensin-converting enzyme 2 in men and women with heart failure and effects of renin-angiotensin-aldosterone inhibitors. *Eur Heart J.* 2020 May 14;41(19):1810-7
337. Samir M, Elawady H, Hamid E, Tawfick A. Can ureteral wall thickness (UWT) be used as a potential parameter for decision-making in uncomplicated distal ureteral stones 5-10 mm in size? A prospective study. *World J Urol.* 2021;39(9):3555-61.
338. Sangaralingham SJ, Wang BH, Huang L, Kumfu S, Ichiki T, Krum H, Burnett JJC. Cardiorenal fibrosis and dysfunction in aging: Imbalance in mediators and regulators of collagen. *Peptides.* 2016;76:108-14.
339. Santis WF, Peters CA, Yalla SV, Sullivan MP. Ureteral function is modulated by a local renin-angiotensin system. *J Urol.* 2003;170(1):259-63.
340. Santisteban MM, Ahn SJ, Lane D, Faraco G, Garcia-Bonilla L, Racchumi G, et al. Endothelium-Macrophage Crosstalk Mediates Blood-Brain Barrier Dysfunction in Hypertension. *Hypertension.* 2020 Sep;76(3):795-807.
341. Santos-Otte P, Leysen H, van Gastel J, Hendrickx JO, Martin B, Maudsley S. G Protein-Coupled Receptor Systems and Their Role in Cellular Senescence. *Comput Struct Biotechnol J.* 2019;17:1265-77.

342. Sasmaz Mİ, Kirpat V. The relationship between the severity of pain and stone size, hydronephrosis and laboratory parameters in renal colic attack *Am J Emerg Med.* 2019;37(11):2107-10.
343. Sata Y, Burke SL, Gueguen C, Lim K, Watson AMD, Jha JC, et al. Contribution of the Renal Nerves to Hypertension in a Rabbit Model of Chronic Kidney Disease. *Hypertension.* 2020 Nov;76(5):1470-9.
344. Satonaka H, Nagata D, Takahashi M, Kiyosue A, Myojo M, Fujita D, et al. Involvement of P2Y12 receptor in vascular smooth muscle inflammatory changes via MCP-1 upregulation and monocyte adhesion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2015 Apr 15;308(8):H853-61.
345. Savio LEB, Leite-Aguiar R, Alves VS, Coutinho-Silva R, Wyse ATS. Purinergic signaling in the modulation of redox biology. *Redox Biol.* 2021 Nov;47:102137.
346. Saygin D, Wanner N, Rose JA, Naga Prasad SV, Tang WHW, Erzurum S, et al. Relative quantification of beta-adrenergic receptor in peripheral blood cells using flow cytometry. *Cytometry A.* 2018 May;93(5):563-70.
347. Scanzano A, Cosentino M. Adrenergic regulation of innate immunity: a review. *Front Pharmacol.* 2015;6:171.
348. Scemes E, Velišková J. Exciting and not so exciting roles of pannexins. *Neurosci Lett.* 2019 Mar6;695:25-31.
349. Schiattarella GG, Carrizzo A, Iardi F. et. al. Rac1 Modulates Endothelial Function and Platelet Aggregation in Diabetes Mellitus. *J Am Heart Assoc.* 2018; 7(8). pii: e007322.
350. Scotland KB, Bidnur S, Wang L. et al. Mediators of human ureteral smooth muscle contraction-a role for erythropoietin, tamsulosin and Gli effectors. *Transl Androl Urol.* 2021;10(7):2953-61.
351. Scrivens M, Dickenson JM. Functional expression of the P2Y14 receptor in human neutrophils. *Eur J Pharmacol.* 2006 Aug 14;543(1-3):166-73.

352. Sellers D, Chess-Williams R, Michel MC. Modulation of lower urinary tract smooth muscle contraction and relaxation by the urothelium. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2018 Jul;391(7):675-94.
353. Semen KO, van der Doelen RHA, 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.
354. Setiati S, Harimurti K, Safitri ED. et.al. Risk factors and laboratory test results associated with severe illness and mortality in COVID-19 patients: A systematic review. *Acta Med Indones.* 2020;52(3):227-45.
355. Shah TT, Gao C, Peters M, Manning T, Cashman S, Nambiar A, et al. Factors associated with spontaneous stone passage in a contemporary cohort of patients presenting with acute ureteric colic: results from the Multi-centre cohort study evaluating the role of Inflammatory Markers In patients presenting with acute ureteric Colic (MIMIC) study. *BJU Int.* 2019 Sep;124(3):504-13.
356. Shah TT, O'Keeffe AG, Gao C, Manning T, Peacock A, Cashman S, et al. A multi-centre cohort study evaluating the role of inflammatory markers in patient's presenting with acute ureteric colic (MIMIC). *Int J Surg Protoc.* 2017;6:1-4.
357. Shaheen G, Akram M, Jabeen F, Ali Shah SM, Munir N, Daniyal M, et al. Therapeutic potential of medicinal plants for the management of urinary tract infection: A systematic review. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2019 Jul;46(7):613-24.
358. Shang W, Li Y, Ren Y, Yang Y, Li H, Dong J. Nephrolithiasis and risk of hypertension: a meta-analysis of observational studies. *BMC Nephrol.* 2017 Nov 29;18(1):344.
359. Sharma G, Pareek T, Kaundal P, Tyagi S, Singh S, Yashaswi T, Devan SK, Sharma AP. Comparison of efficacy of three commonly used alpha-blockers as medical expulsive therapy for distal ureter stones: A systematic review and network meta-analysis. *Int Braz J Urol.* 2022;48(5):742-59.

360. Sharma P, Yadav SK, Shah SD, Javed E, Lim JM, Pan S, et al. Diacylglycerol Kinase Inhibition Reduces Airway Contraction by Negative Feedback Regulation of Gq-Signaling. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2021 Dec;65(6):658-71.
361. Sharp VJ, Barnes KT, Erickson BA. Assessment of asymptomatic microscopic hematuria in adults. *Am Fam Physician*. 2013 Dec 1;88(11):747-54.
362. Shen H, Chen Z, Mokhtar AD, Bi X, Wu G, Gong S, et al. Expression of  $\beta$ -adrenergic receptor subtypes in human normal and dilated ureter. *Int Urol Nephrol*. 2017 Oct;49(10):1771-8.
363. Shi Q, Li M, Mika D, Fu Q, Kim S, Phan J, et al. Heterologous desensitization of cardiac  $\beta$ -adrenergic signal via hormone-induced  $\beta$ AR/arrestin/PDE4 complexes. *Cardiovasc Res*. 2017 May 1;113(6):656-70.
364. Shih WY, Ahmad S, Chen YC, Lin TP, Mabon L. Spatial relationship between land development pattern and intra-urban thermal variations in Taipei. *Sustain Cities Soc*. 2020;62:102415.
365. Shilpi K, Potekar RM. A Study of Platelet Indices in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2018; 34(1):115-120.
366. Shrestha R, Bista Y, Khan A. Current Diagnostic Approach and Initial Treatment Patterns for Renal Colic in Emergency Department. *J Nepal Health Res Counc*. 2017 Jan;15(1):38-43.
367. Silva I, Magalhães-Cardoso MT, Ferreirinha F, Moreira S, Costa AF, Silva D, et al.  $\beta_3$  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 Apr;177(7):1589-608.
368. Silva-Ramos M, Silva I, Faria M, Ferreirinha F, Correia-de-Sá P. Activation of Prejunctional P2x2/3 Heterotrimers by ATP Enhances the Cholinergic Tone in Obstructed Human Urinary Bladders. *J Pharmacol Exp Ther*. 2020;372(1):63-72.

369. Silvestri M, Oddera S, Lantero S, Rossi GA. beta 2-agonist-induced inhibition of neutrophil chemotaxis is not associated with modification of LFA-1 and Mac-1 expression or with impairment of polymorphonuclear leukocyte antibacterial activity. *Respir Med.* 1999 Jun;93(6):416-23.
370. Singh A, Bisht P, Bhattacharya S, Guchhait P. Role of Platelet Cytokines in Dengue Virus Infection. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:561366.
371. Singh KD, Jara ZP, Harford T, Saha PP, Pardhi TR, Desnoyer R, et al. Novel allosteric ligands of the angiotensin receptor AT1R as autoantibody blockers. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2021 Aug 17;118(33):e2019126118.
372. Sivaramakrishnan V, Bidula S, Campwala H, Katikaneni D, Fountain SJ. Constitutive lysosome exocytosis releases ATP and engages P2Y receptors in human monocytes. *J Cell Sci.* 2012 Oct 1;125(Pt 19):4567-75.
373. Skals M, Greve AS, Fagerberg SK, Johnsen N, Christensen MG, Praetorius HA. P2X1 receptor blockers reduce the number of circulating thrombocytes and the overall survival of urosepsis with haemolysin-producing *Escherichia coli*. *Purinergic Signal.* 2019 Jun;15(2):265-76.
374. Skolarikos A, Grivas N, Kallidonis P, Mourmouris P, Rountos T, Fiamegos A, et al. The Efficacy of Medical Expulsive Therapy (MET) in Improving Stone-free Rate and Stone Expulsion Time, After Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy (SWL) for Upper Urinary Stones: A Systematic Review and Meta-analysis. *Urology.* 2015;86(6):1057-64.
375. Smith PA. K<sup>+</sup> Channels in Primary Afferents and Their Role in Nerve Injury-Induced Pain. *Front Cell Neurosci.* 2020;14:566418.
376. Sohlberg EM, Brubaker WD, Zhang CA, Anderegg LDL, Dallas KB, Song S, Ganesan C, Chertow GM, Pao AC, Liao JC, Leppert JT, Elliott CS, Conti SL. Urinary Stone Disease in Pregnancy: A Claims Based Analysis of 1.4 Million Patients. *J Urol.* 2020;203(5):957-61.
377. Sokolis DP, Petsepe DC, Papadodima SA, Kourkoulis SK. Age- and region-related changes in the biomechanical properties and composition of the human ureter. *J Biomech.* 2017 Jan 25;51:57-64.

378. Sokolis DP. In vitro study of age-related changes in human ureteral failure properties according to region, direction, and layer. *Proc Inst Mech Eng H*. 2019 May;233(5):570-83.
379. Song J-J, Ma Zh, Wang J, Chen L-X, Jiu-Chang Zhong J-Ch. Gender Differences in Hypertension. *Cardiovasc Transl Res*. 2020;13(1):47-54.
380. Soudais B, Lacroix-Hugues V, Meunier F, Gillibert A, Darmon D, Schuers M. Diagnosis and management of male urinary tract infections: a need for new guidelines. Study from a French general practice electronic database. *Fam Pract*. 2020; 19:cmaa136.
381. Southern JB, Higgins AM, Young AJ, Kost KA, Schreiter BR, Clifton M, et al. Risk Factors for Postoperative Fever and Systemic Inflammatory Response Syndrome After Ureteroscopy for Stone Disease. *J Endourol*. 2019 Jul;33(7):516-22.
382. Spek A, Li B, Rutz B, Ciotkowska A, Huang R, Liu Y, et al. Purinergic smooth muscle contractions in the human prostate: estimation of relevance and characterization of different agonists. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2021 Jun;394(6):1113-31.
383. Stenqvist J, Carlsson T, Winder M, Aronsson P. Functional atropine sensitive purinergic responses in the healthy rat bladder. *Auton Neurosci*. 2020;227:102693.
384. Stewart A, Ferguson C. Towards evidence-based emergency medicine: best BETs from the Manchester Royal Infirmary. BET 4: Alpha blockers v calcium blockers to increase spontaneous passage of renal calculi. *Emerg Med J*. 2013;30(2):168-9.
385. Stritt K, Bosshard P, Bonny, Roth B. Prevention of nephrolithiasis - Preliminary results of the Swiss Kidney Stone Cohort (SKSC) and the NOSTONE trial. *Rev Med Suisse* . 2020;16(717):2317-20.
386. Stromberga Z, Chess-Williams R, Moro C. The five primary prostaglandins stimulate contractions and phasic activity of the urinary bladder urothelium, lamina propria and detrusor. *BMC Urol*. 2020;20(1):48.

387. Su YJ, Yang HW. Risk factors of mortality in patients with purple urine bag syndrome. *J Drug Assess*. 2019;8(1):21-4.
388. Sud R, Spengler RN, Nader ND, Ignatowski TA. Antinociception occurs with a reversal in alpha 2-adrenoceptor regulation of TNF production by peripheral monocytes/macrophages from pro- to anti-inflammatory. *Eur J Pharmacol*. 2008 Jul 7;588(2-3):217-31.
389. Summers L, Kangwantas K, Rodriguez-Grande B, Denes A, Penny J, Kielty C, et al. Activation of brain endothelial cells by interleukin-1 is regulated by the extracellular matrix after acute brain injury. *Mol Cell Neurosci*. 2013 Nov;57:93-103.
390. Suresh A, Sanji N, Kamath PM, Devendrappa SL, Hanumanthareddy SG, Maniyar I, et al. A Pilot Study on the Effect of Angiotensin Receptor Blockers on Platelet Aggregation in Hypertensive Patients- A Prospective Observational Study. *J Clin Diagn Res*. 2016 Nov;10(11):FC14-FC16.
391. Suurväli J, Boudinot P, Kanellopoulos J, Rützel Boudinot S. P2X4: A fast and sensitive purinergic receptor. *Biomed J*. 2017;40(5):245-56.
392. Tang QL, Wang DJ, Zhou S, Tao RZ. Mirabegron in medical expulsive therapy for distal ureteral stones: a prospective, randomized, controlled study. *World J Urol*. 2021 Dec;39(12):4465-70.
393. Tangren JS, Powe CE, Ecker J, Bramham K, Ankers E, Karumanchi SA, Thadhani R. Metabolic and Hypertensive Complications of Pregnancy in Women with Nephrolithiasis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2018;13(4):612-19.
394. Tawinwung S, Petpiroon N, Chanvorachote P. Blocking of Type 1 Angiotensin II Receptor Inhibits T-lymphocyte Activation and IL-2 Production. *In Vivo*. 2018;32(6):1353-9.
395. Ten Oever J. [Nitrofurantoin for urinary tract infections in men: it is possible]. *Ned Tijdschr Geneesk*. 2020 Oct 8;164:D5235.
396. Ternes B, Wagenlehner FME. Guideline-based treatment of urinary tract infections. *Urologe A*. 2020;59(5):550-8.

397. Timaru CM, Stefan C, Iliescu DA, De Simone A, Batras M. Matrix regenerative therapy. *Rom J Ophthalmol*. 2017;61(1):2-10.
398. Tiwari AK, Sarkar D, Pal DK. Emergency extracorporeal shock wave lithotripsy: A study on feasibility and efficacy in stone clearance and reducing morbidity in ureteric and renal stones with colic. *Urologia*. 2022;4:3915603221140444.
399. Tofteng SS, Nilsson L, Mogensen AK, Nørregaard R, Nüsing R, Diatchikhine M, et al. Increased COX-2 after ureter obstruction attenuates fibrosis and is associated with EP2 receptor upregulation in mouse and human kidney. *Acta Physiol (Oxf)*. 2022 Aug;235(4):e13828.
400. Tokarz A, Szuścik I, Kuśnierz-Cabala B. et al. Extracellular Vesicles Participate in the Transport of Cytokines and Angiogenic Factors in Diabetic Patients With Ocular Complications. *Folia Med Cracov*. 2015;55(4):35-48.
401. Tokmakova A, Kim D, Goddard WA 3rd, Liggett SB. Biased  $\beta$ -Agonists Favoring Gs over  $\beta$ -Arrestin for Individualized Treatment of Obstructive Lung Disease. *J Pers Med*. 2022;12(3):331.
402. Trojanek JB, Michałkiewicz J, Grzywa-Czuba R, Jańczyk W, Gackowska L, Kubiszewska I, et al. Expression of Matrix Metalloproteinases and Their Tissue Inhibitors in Peripheral Blood Leukocytes and Plasma of Children with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Mediators Inflamm*. 2020;2020:8327945.
403. Tsai HJ, Chien KY, Liao HR, Shih MS, Lin YC, Chang YW, et al. Functional links between Disabled-2 Ser723 phosphorylation and thrombin signaling in human platelets. *J Thromb Haemost*. 2017 Oct;15(10):2029-44.
404. Tsuda K. Angiotensin 1-7 and the Sympathetic Nervous System in Hypertensive Kidney Disease. *Am J Hypertens*. 2019;32(10):e3.
405. Uchida Y, Takazawa R, Kitayama S, Tsujii T. Predictive risk factors for systemic inflammatory response syndrome following ureteroscopic laser lithotripsy. *Urolithiasis*. 2018 Aug;46(4):375-81.

406. Vasamsetti SB, Florentin J, Coppin E et al. Sympathetic neuronal activation triggers myeloid progenitor proliferation and differentiation. *Immunity*. 2018;49(1):93-106.
407. Vasamsetti SB, Florentin J, Coppin E, Stiekema LCA, Zheng KH, Nisar MU, et al. Sympathetic Neuronal Activation Triggers Myeloid Progenitor Proliferation and Differentiation. *Immunity*. 2018 Jul 17;49(1):93-106.e7.
408. Veselá R, Asklund H, Aronsson P, Johnsson M, Wsol V, Andersson M, Tobin G. Coupled nitric oxide and autonomic receptor functional responses in the normal and inflamed urinary bladder of the rat. *Physiol Res*. 2012;61(4):371-80.
409. von Kügelgen I., Hoffmann K. Pharmacology and structure of P2Y receptors. *Neuropharmacology*. 2016;104:50-61.
410. von Kügelgen Molecular pharmacology of P2Y receptor subtypes. I. *Biochem Pharmacol*. 2021;187:114361.
411. Wahle M., Greulich T., Baerwald C.G., et. al. Influence of catecholamines on cytokine production and expression of adhesion molecules of human neutrophils in vitro. *Immunobiology*. 2005;210(1):43-52.
412. Wang X, Lieske JC, Alexander MP, Jayachandran M, Denic A, Mathew J, O Lerman L, Kremers WK, Larson JJ, Rule AD. Tubulointerstitial Fibrosis of Living Donor Kidneys Associates with Urinary Monocyte Chemoattractant Protein 1. *Am J Nephrol*. 2016;43(6):454-9.
413. Wang B, Yee Aw T, Stokes KY. N-acetylcysteine attenuates systemic platelet activation and cerebral vessel thrombosis in diabetes. *Redox Biol*. 2018 Apr;14:218-28.
414. Wang C, Yin Q, Su Z, Xia L. [Progress on role of extracellular ATP and its metabolite adenosine in immunoregulation: Review]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*. 2020 Dec;36(12):1134-40.
415. 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.
416. Wang H-F, Yu Q-Q, Zheng R-F. et al. Inhibition of vascular adventitial remodeling by netrin-1 in diabetic rats. *J Endocrinol*. 2020;244(3):445-58.

417. Wang J, Gareri C, Rockman HA. G-Protein-Coupled Receptors in Heart Disease. *Circ Res.* 2018;123(6):716-35.
418. Wang S, Cao C, Chen Z, Bankaitis V, Tzima E, Sheibani N, et al. Pericytes regulate vascular basement membrane remodeling and govern neutrophil extravasation during inflammation. *PLoS One.* 2012;7(9):e45499.
419. Wang S, Zhang Y, Zhang X, Tang Y, Li J. Upper urinary tract stone compositions: the role of age and gender. *Int Braz J Urol.* 2020b;46(1):70-80.
420. Wang W, Hu D, Feng Y, Wu C, Song Y, Liu W, et al. Paxillin mediates ATP-induced activation of P2X7 receptor and NLRP3 inflammasome. *BMC Biol.* 2020 Nov 26;18(1):182.
421. Wang W, Li G, Hong D. et.al. Replication of genome-wide association study identified seven susceptibility genes, affirming the effect of rs2856717 on renal function and poor outcome of IgA nephropathy. *Nephrology (Carlton).* 2017t;22(10):811-7.
422. Watanabe R, Maeda T, Zhang H, Berry GJ, Zeisbrich M, Brockett R, et al. MMP (Matrix Metalloprotease)-9-Producing Monocytes Enable T Cells to Invade the Vessel Wall and Cause Vasculitis. *Circ Res.* 2018 Aug 31;123(6):700-15.
423. Wocial B, Ignatowska-Switalska H, Pruszczyk P, Jedrusik P, Januszewicz A, Lapinski M, et al. Plasma neuropeptide Y and catecholamines in women and men with essential hypertension. *Blood Press.* 1995 May;4(3):143-7.
424. Woszczek G, Fuerst E, Maguire TJA. FLIPR Calcium Mobilization Assays in GPCR Drug Discovery. *Methods Mol Biol.* 2021;2268:193-205.
425. Wu Y, Zhang J, Wang Y. et.al. The association of hematuria on kidney clinicopathologic features and renal outcome in patients with diabetic nephropathy: a biopsy-based study. *J Endocrinol Invest.* 2020;43(9):1213-20.
426. Xiao YH, He XY, Han Q, Yang F, Zhou SX. Atorvastatin prevents glomerular extracellular matrix formation by interfering with the PKC signaling pathway. *Mol Med Rep.* 2018;17(5):6441-48.

427. Xie Y, Wang Y, Ding H. et al. Highly glycosylated CD147 promotes hemorrhagic transformation after rt-PA treatment in diabetes: a novel therapeutic target. *J Neuroinflammation*. 2019;16(1):72.
428. Xiong SW, Wang J, Zhu WJ, Cheng SD, Zhang L, Li XS, et al. [Advance in re-do pyeloplasty for the management of recurrent ureteropelvic junction obstruction after surgery]. *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2020 Aug 18;52(4):794-8.
429. Xu JZ, Li C, Xia QD, Lu JL, Wan ZC, Hu L, Lv YM, Lei XM, Guan W, Xun Y, Wang SG. Sex disparities and the risk of urolithiasis: a large cross-sectional study. *Ann Med*. 2022 Dec;54(1):1627-35.
430. Xu K, Shimizu M, Murai C, Fujisawa M, Ito D, Saitoh N, et al. Docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid strongly inhibit prostanoid TP receptor-dependent contractions of guinea pig gastric fundus smooth muscle. *Pharmacol Res Perspect*. 2022 Jun;10(3):e00952.
431. Yadav SK, Sharma P, Shah SD, Panettieri RA, Kambayashi T, Penn RB, et al. Autocrine regulation of airway smooth muscle contraction by diacylglycerol kinase. *J Cell Physiol*. 2022 Jan;237(1):603-16.
432. Yamada S, Ito Y.  $\alpha(1)$ -Adrenoceptors in the urinary tract. *Handb Exp Pharmacol*. 2011;(202):283-306.
433. Yan Y, Bai J, Zhou X, Tang J, Jiang C, Tolbert E, Bayliss G, Gong R, Zhao TC, Zhuang S. P2X7 receptor inhibition protects against ischemic acute kidney injury in mice. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2015;308(6):C463-72.
434. Yang AC, Stevens MY, Chen MB. et al. Physiological blood-brain transport is impaired with age by a shift in transcytosis. *Nature*. 2020 Jul;583(7816):425-30.
435. Yang M, Dart C, Kamishima T, Quayle JM. Hypoxia and metabolic inhibitors alter the intracellular ATP:ADP ratio and membrane potential in human coronary artery smooth muscle cells. *PeerJ*. 2020;8:e10344.

436. Yang S, Huang X, Liao J, Li Q, Chen S, Liu C, et al. Platelet-leukocyte aggregates - a predictor for acute kidney injury after cardiac surgery. *Ren Fail.* 2021 Dec;43(1):1155-62.
437. Yang SX, Zhang ZC, Bai HL. CIC-5 alleviates renal fibrosis in unilateral ureteral obstruction mice. *Hum Cell.* 2019;32(3):297-305.
438. Yang T, Liu S, Hu J, Wang L, Jiang H. The Evaluation of Risk Factors for Postoperative Infectious Complications after Percutaneous Nephrolithotomy. *Biomed Res Int.* 2017;2017:4832051.
439. Yang Y, Zhang H, Lu Q, Liu X, Fan Y, Zhu J, et al. Suppression of adenosine A2a receptors alleviates bladder overactivity and hyperalgesia in cyclophosphamide-induced cystitis by inhibiting TRPV1. *Biochem Pharmacol.* 2021;183:114340.
440. Ye Z, Zeng G, Yang H, Tang K, Zhang X, Li H, et al. Efficacy and Safety of Tamsulosin in Medical Expulsive Therapy for Distal Ureteral Stones with Renal Colic: A Multicenter, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial. *Eur Urol.* 2018 Mar;73(3):385-91.
441. Yeaman MR. Platelets in defense against bacterial pathogens. *Cell Mol Life Sci.* 2010 Feb;67(4):525-44.
442. Yildirim A, Russell J, Yan LS, Senchenkova EY, Granger DN. Leukocyte-dependent responses of the microvasculature to chronic angiotensin II exposure. *Hypertension.* 2012 Dec;60(6):1503-9.
443. Yoon SS, Kwon HW, Shin JH, Rhee MH, Park CE, Lee DH. Anti-Thrombotic Effects of Artesunate through Regulation of cAMP and PI3K/MAPK Pathway on Human Platelets. *Int J Mol Sci.* 2022 Jan 29;23(3):1586.
444. Yoshida N, Hanai K, Murata H. et al. Cross-sectional and longitudinal associations between dipstick hematuria and chronic kidney disease in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2020;172:108519.
445. Yoshida T, Inoue T, Taguchi M, Omura N, Kinoshita H, Matsuda T. Ureteral wall thickness as a significant factor in predicting spontaneous passage of

- ureteral stones of  $\leq 10$  mm: a preliminary report. *World J Urol.* 2019 May;37(5):913-9.
446. Yu W, Hill WG, Robson SC, Zeidel ML. Role of P2X4 Receptor in Mouse Voiding Function. *Sci Rep.* 2018;8(1):1838.
447. Yu W, Sun X, Robson SC, Hill WG. ADP-induced bladder contractility is mediated by P2Y12 receptor and temporally regulated by ectonucleotidases and adenosine signaling. *FASEB J.* 2014;28(12):5288-98.
448. Yu W, Sun X, Robson SC, Hill WG. 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.
449. Zahid M, Nepal P, Nagar A, Batchala PP, Kumar D, Ojili V. Imaging of ureter: a primer for the emergency radiologist. *Emerg Radiol.* 2021 Aug;28(4):815-37.
450. Zhang H, Zhang Y, Tang X, Su W, Yang C, Pan D, et al. Hemostatic Effect of 20(S)-Panaxadiol by Induced Platelet Aggregation Depending on Calcium Signaling Pathway. *Biomed Res Int.* 2022;2022:8265898.
451. Zhang M, Wang K, Zheng H. et al. Monocyte lymphocyte ratio predicts the new-onset of chronic kidney disease: A cohort study. *Clin Chim Acta.* 2020;503:181-9.
452. Zhang RM, McNerney KP, Riek AE<sup>1</sup>, Carlos Bernal-Mizrachi C. Immunity and Hypertension. *Acta Physiol (Oxf).* 2021;231(1):e13487.
453. Zhao X, Cooper M, Michael JV, Yarman Y, Baltz A, Chuprun JK, Koch WJ, McKenzie SE, Tomaiuolo M, Stalker TJ, Zhu L, Ma P. GRK2 regulates ADP signaling in platelets via P2Y1 and P2Y12. *Blood Adv.* 2022;6(15):4524-36.
454. Zheng F, Ye C, Wan GW, Zhou B, Tong Y, Lei JZ, et al. Interleukin-1 $\beta$  in hypothalamic paraventricular nucleus mediates excitatory renal reflex. *Pflugers Arch.* 2020 Nov;472(11):1577-86.

455. Zheng TJ, Parra-Izquierdo I, Reitsma SE, Heinrich MC, Larson MK, Shatzel JJ, Aslan JE, McCarty OJT. Platelets and tyrosine kinase inhibitors: clinical features, mechanisms of action, and effects on physiology. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2022;323(4):C1231-C50.
456. Zhou S-X, Huo D-M, He X-Y. et al. High glucose/lysophosphatidylcholine levels stimulate extracellular matrix deposition in diabetic nephropathy via platelet-activating factor receptor. *Mol Med Rep.* 2018;17(2):2366-72.
457. Zhou Zh, Sun C, Tilley SL, Mustafa SJ. Mechanisms underlying uridine adenosine tetraphosphate-induced vascular contraction in mouse aorta: Role of thromboxane and purinergic receptors. *Vascul Pharmacol.* 2015;73:78-85.
458. Zou L, Dai L, Zhang Y. et al. Clinical Characteristics and Risk Factors for Disease Severity and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China/ *Front Med (Lausanne)* 2020;7:532.