

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

На правах рукописи

ТВЕРДОХЛЕБ ТАТЬЯНА АЛЕКСАНДРОВНА

УДК 616.61-002.3-007.271-036.12: 616.155.2)-089

**РЕАКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ГЕМАТУРИИ, СВЯЗАННОЙ С
КОНСЕРВАТИВНЫМ И ХИРУРГИЧЕСКИМ ЛЕЧЕНИЕМ
ХРОНИЧЕСКОГО ОБСТРУКТИВНОГО ПИЕЛОНЕФРИТА**

14.03.03 – патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Баринов Эдуард Федорович,
доктор медицинских наук, профессор

Экземпляр идентичный всем
существующим у Учёного секретаря
Диссертационного совета Д 01/022.05



Донецк – 2020

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

На правах рукописи

ТВЕРДОХЛЕБ ТАТЬЯНА АЛЕКСАНДРОВНА

УДК 616.61-002.3-007.271-036.12: 616.155.2)-089

**РЕАКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ГЕМАТУРИИ, СВЯЗАННОЙ С
КОНСЕРВАТИВНЫМ И ХИРУРГИЧЕСКИМ ЛЕЧЕНИЕМ
ХРОНИЧЕСКОГО ОБСТРУКТИВНОГО ПИЕЛОНЕФРИТА**

14.03.03 – патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Баринов Эдуард Федорович,
доктор медицинских наук, профессор

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

Донецк – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	4
Введение.....	5
ГЛАВА 1. ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ КОНСЕРВАТИВНОМ И ОПЕРАТИВНОМ ЛЕЧЕНИИ УРОЛИТИАЗА (обзор литературы).....	16
1.1 Роль тромбоцитов в патогенезе обструктивной уропатии.....	16
1.2. Реализация провоспалительной и протромбогенной функции тромбоцитов.....	20
1.3. Пути активации и механизмы оценки реализации функциональной активности тромбоцитов.....	25
1.4. Влияние консервативного и хирургического лечения мочекаменной болезни на функциональное состояние тромбоцитов...	31
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	38
2.1. Характеристика пациентов.....	38
2.2. Клинико-инструментальное обследование больных.....	40
2.3. Лабораторное исследование.....	41
2.4. Лечебная тактика.....	41
2.5. Критерии оценки результатов лечения.....	43
2.6. Исследования <i>in vitro</i> функционального состояния тромбоцитов.....	43
2.7. Дизайн исследования.....	45
2.8. Статистическая обработка результатов исследования.....	47
ГЛАВА 3. РЕАКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ КОНСЕРВАТИВНОЙ ТЕРАПИИ УРОЛИТИАЗА.....	48
3.1. Влияние консервативной терапии уролитиаза на пуринореактивность тромбоцитов на этапе госпитализации.....	48
3.2. Механизмы влияния нестероидных противовоспалительных средств на агрегацию тромбоцитов.....	54
3.3. Изменение амплитуды агрегации на провоспалительные медиаторы при различной адрено- и пуринореактивности тромбоцитов	61
3.4. Анализ эффекта ко-активации при различной реактивности тромбоцитов.....	62

ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ ОПЕРАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ УРОЛИТИАЗА НА ВЫРАЖЕННОСТЬ ГЕМАТУРИИ И АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ.....

69

4.1. Результаты клинико-инструментального обследования пациентов с уролитиазом в послеоперационном периоде..... 69

4.2. Влияние функциональной активности тромбоцитов на гематурию через 1-6 часов и 24 часа после литотрипсии..... 75

4.3. Механизмы влияния противовоспалительной терапии на агрегацию тромбоцитов после литотрипсии через 1-6 часов и 24 часа..... 82

4.4. Эффект ко-активации при различной пуринореактивности тромбоцитов на этапе 1-6 часов и через 24 часа после литотрипсии..... 86

4.5. Критический уровень потенцирования тромбоцитов для идентификации сохранения пуринореактивности..... 88

ГЛАВА 5. ПРЕДИКТОРЫ ФАЗЫ РЕЦИДИВА ПИЕЛОНЕФРИТА ПОСЛЕ ОПЕРАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ УРОЛИТИАЗА....

94

5.1. Клинико-лабораторная характеристика пациентов на этапе выписки из стационара после комплексного лечения мочекаменной болезни..... 94

5.2. Влияние вида оперативного лечения и наличие функционирующей дренажной системы на риск развития рецидива пиелонефрита..... 102

5.3. Роль функциональной активности тромбоцитов при фазе рецидива и ремиссии хронического обструктивного пиелонефрита..... 103

5.4. Роль тромбоцитов в формировании клеточных коопераций на фоне противовоспалительной терапии..... 106

5.5. Информативные показатели в диагностике фазы рецидива хронического обструктивного пиелонефрита на этапе выписки из стационара после проведения литотрипсии..... 112

ЗАКЛЮЧЕНИЕ..... 115

ВЫВОДЫ..... 130

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ..... 132

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ..... 133

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АДФ – аденозиндифосфат

ГКС – глюкокортикостероиды

ДАГ – диацилглицерол

ДИ – доверительный интервал

ИЗФ – инозитол-3-фосфат

ЛТ – литотрипсия

МКБ – мочекаменная болезнь

МВП – мочевыводящие пути

НПВС – нестероидные противовоспалительные средства

ПКС – протеинкиназа С

ТЛА – тромбоцитарно-лейкоцитарные агрегаты

ТХА₂ – тромбоксан А₂

Тц – тромбоциты

СРБ – С-реактивный белок

ФАТ – фактор активации тромбоцитов

ФИЗК – фосфоинозитол-3-киназа

ФЛА₂ – фосфолипаза А₂

ФЛС – фосфолипаза С

ХОПН – хронический обструктивный пиелонефрит

ЦОГ-1 – циклооксигеназа-1

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Мочекаменная болезнь (МКБ) занимает второе место по распространенности среди урологических нозологий после воспалительных неспецифических заболеваний почек и мочевых путей и имеет тенденцию к неуклонному росту [3, 61, 80]. Исследование реактивности тромбоцитов (Тц) продиктовано осложнениями МКБ. Наличие конкремента мочевыводящих путей (МВП) предопределяет нарушение оттока мочи и механическое повреждение слизистой оболочки, что приводит к развитию осложнений, ведущими из которых являются гематурия и хронический обструктивный пиелонефрит (ХОПН) [2, 8, 15, 62, 207]. В этой связи нет ясности относительно реактивности Тц по отношению к основным стимуляторам аденозиндифосфату (АДФ, паракринный регулятор), адреналину (гуморальный регулятор, маркер активности симпатoadреналовой системы (САС)), фактору активации тромбоцитов (ФАТ, сильный паракринный индуктор активации Тц), серотонину (медиатор воспаления), что затрудняет анализ механизмов ограничения гематурии и воспаления [1, 22, 242]. Оценка дисфункции Тц еще более усугубляется при проведении противовоспалительной терапии, направленной на профилактику и лечение ХОПН у пациентов с МКБ. Известно, что нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) ограничивают образование метаболитов арахидоновой кислоты путем ингибирования циклооксигеназы-1 (ЦОГ-1) [34, 157]. В этих условиях ингибирование синтеза тромбоксана A_2 (ТХА₂) в Тц может снизить их реактивность по отношению к основным стимулирующим агонистам, что будет способствовать усилению гематурии при уролитиазе [35, 39, 40]. Представляет научный интерес вопрос – как изменяется реактивность Тц у пациентов с гематурией на фоне приема НПВС.

Малоинвазивное оперативное вмешательство – кавитационная контактно-фрезевая ультразвуковая литотрипсия (ЛТ) – является одним из безопасных методов оперативного лечения МКБ. В последние годы появилось много

исследований, анализирующих послеоперационные осложнения ЛТ, частота которых варьируется в пределах от 4,2% до 24,2% [62, 64, 65]. ЛТ позволяет избежать открытого вмешательства на МВП, тем не менее сопровождается гематурией [70, 162]. Не установлено, имеется ли связь между ЛТ и выраженностью гематурии [206, 224, 231]. Сама по себе методика ЛТ связана с активацией САС в результате механического воздействия на надпочечник и сопровождается повышением концентрации катехоламинов в крови и моче пациента при МКБ [19]. Поскольку на поверхности Тц экспрессированы α_{2A} - и β -адренорецепторы, связанные с G_i - и G_s -сигнальными системами [30, 108], то можно предположить изменение реактивности Тц и лейкоцитов после ЛТ. Исследование компенсаторных возможностей Тц в раннем послеоперационном периоде (1-6 часов и 24 часа) позволит выделить группу риска по гематурии после ЛТ и определить дифференцированный подход к применению гемостатиков. Требуют оценки следующие исследовательские вопросы: изменяется ли реактивность Тц и как блокада ЦОГ модулирует реактивность Тц в раннем послеоперационном периоде? Консервативная терапия (через 24 часа после ЛТ) включает не только гемостатики и инфузионную терапию, но и противовоспалительные препараты (НПВС, глюкокортикостероиды (ГКС), антибиотики), которые обладают антиагрегантными свойствами [31, 34, 38, 39, 86]. В этих условиях тромбогенез будет определяться индивидуальной реактивностью Тц и соотношением эффектов проагрегантных и антиагрегантных стимулов. Немаловажным представляется оценка модулирующего влияния НПВС (блокада ЦОГ) и ГКС (блокада фосфолипазы A_2 (ФЛА $_2$)) в модуляции реактивности Тц через 24 часа после ЛТ. После выполнения ЛТ и введения антибиотиков с целью профилактики острого воспаления у части пациентов развивается пиелонефрит [32, 33, 102, 214]. Если причины этого явления понятны, то механизмы развития и ограничения воспалительной реакции требуют изучения. Можно предположить наличие индивидуальной резистентности организма к инфекции, отражением чего может быть модулирующая функция Тц в отношении рекрутирования и активации

лейкоцитов [150]. Доказана роль Тц в создании клеточных коопераций с лейкоцитами при воспалительном процессе [117, 152]. Однако, как на фоне противовоспалительной терапии изменяется взаимодействие Тц и лейкоцитов при реализации воспаления остается не изученным. Актуальными представляются исследования механизмов компенсаторных реакций Тц после противовоспалительного лечения и изменения спектра тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов (ТЛА) при остром воспалении после ЛТ.

Степень разработанности темы исследования. Многочисленные исследования подтверждают необходимость знаний молекулярных механизмов функциональной активности Тц [1, 74, 152, 132, 170, 222, 242]. Доказаны феномены остаточной реактивности и гиперфункции Тц на фоне антиагрегантной терапии (НПВС) [87, 96, 99]. При этом наиболее изучен фенотип гиперактивных Тц, ассоциированный с риском развития тромботических осложнений и прогрессирования обструктивной уропатии [100, 112, 124, 133, 209, 215], однако механизмы оценки гипореактивного статуса Тц и риски развития кровопотери при уrolитиазе ранее не проводились.

В исследовательских работах проведен анализ формирования агрегатограмм [170, 178, 200, 222], но их оценка зачастую связана с изучением максимальной амплитуды агрегации. Ранее анализ интегративных показателей агрегационных кривых и дополнительно введенных параметров для первой и второй фаз агрегации с целью оценки влияния НПВС на реактивность Тц не проводился.

В публикациях подтверждено наличие феномена потенцирования и суммации в агрегации Тц [29, 60, 132, 212], при этом анализ повышения протромбогенного потенциала при одновременном введении в суспензию Тц субпороговых концентраций нескольких агонистов на фоне введения НПВС и гематурии при МКБ не проводился.

Малоинвазивное оперативное лечение уrolитиаза ассоциировано с низким числом послеоперационных осложнений, но наиболее грозными из них являются гематурия и инфекция МВП [62, 64, 162]. Ранее не было исследовано влияние

реактивности Тц на выраженность гематурии в раннем послеоперационном периоде и развитие фазы рецидива ХОПН при медикаментозном ингибировании Тц. Перспективным направлением для оценки фаз клеточной миграции и в качестве раннего предиктора развития инфекционных осложнений ЛТ является анализ ТЛА [117, 150, 152]. Ранее не было предложений по оценке способности Тц формировать межклеточные агрегаты и расширять их качественной состав при индукции агонистами на фоне применения противовоспалительной терапии при уролитиазе.

Цель исследования: установить патогенетические механизмы изменения реактивности тромбоцитов при гематурии и пиелонефрите после консервативного и оперативного лечения уролитиаза.

Объект исследования: реактивность тромбоцитов, тромбогенез, гематурия и воспаление на этапах консервативного и оперативного лечения МКБ.

Предмет исследования: показатели агрегатограмм, тромбоцитарно-лейкоцитарные агрегаты (ТЛА) при развитии осложнений МКБ и литотрипсии.

Для достижения поставленной необходимо решение следующих задач:

1. Провести анализ реактивности Тц при гематурии, ассоциированной с уролитиазом на фоне применения НПВС.
2. Изучить влияние литотрипсии через 1-6 часов и 24 часа на выраженность гематурии и реактивность Тц на фоне противовоспалительной терапии.
3. Выявить особенности реактивности Тц при гематурии после литотрипсии.
4. Установить роль Тц в развитии острого воспаления после литотрипсии на этапе выписки.
5. Определить роль Тц в формировании клеточных коопераций в фазе рецидива и ремиссии пиелонефрита после литотрипсии на этапе выписки.

Научная новизна полученных результатов. Проведенное исследование способствовало установлению новых фактов и закономерностей, углубляющих и расширяющих представление о патогенезе осложнений (гематурии и пиелонефрита) при МКБ. Доказано, что реактивность Тц является

репрезентативной моделью для оценки статуса системы первичного гемостаза в условиях гематурии и ингибирования ЦОГ-1. В работе определено, что эффективное применение НПВС с регистрацией гипореактивности Тц на разных сроках лечения МКБ является фактором, усиливающим выраженность гематурии. Установлены дополнительные показатели агрегационных кривых, позволяющие разделить анализ первой («outside-in») и второй («inside-out») фаз агрегации Тц. За счет чего были определены механизмы снижения функциональной активности Тц на фоне противовоспалительной терапии МКБ, связанные с ограничением первой и второй фаз агрегации и эффекта потенцирования. Доказано, что проведение ЛТ и декомпрессии МВП приводит к интенсификации гематурии. Сохранение гипер-нормореактивности Тц в послеоперационном периоде уролитиаза связано с реализацией эффекта потенцирования при введении АДФ (G_i , G_q) + адреналин (G_i) в ЕС₁₀.

Установлено, что повышение реактивности Тц на медиатор воспаления ФАТ 150 мкМ после ЛТ на фоне консервативной терапии является фактором риска рецидива пиелонефрита. В работе установлены факты, подтверждающие, что формирование тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов (ТЛА) при стимуляции Тц является отражением фаз клеточной миграции при воспалении.

Теоретическая и практическая значимость работы. Патогенез МКБ и ее осложнений дополняют сведения о реактивности Тц при гематурии и рецидиве пиелонефрита. Оценка агрегационной реакции Тц может использоваться для прогнозирования эффектов противовоспалительной терапии уролитиаза. Анализ и определение гипореактивности Тц у пациентов при гематурии на разных этапах лечения МКБ может быть использована в клинической практике для персонализированной коррекции нарушений тромбогенеза. Данные, касающиеся оценки функционального состояния Тц и ТЛА при уролитиазе, позволяют прогнозировать выраженность гематурии и развитие острой воспалительной реакции после оперативного лечения.

Материалы диссертационной работы, касающиеся диагностики состояния тромбоцитарного звена системы гемостаза в условиях гематурии и рецидива

ХОПН при уролитиазе, внедрены в лечебную практику ДОКТМО (г. Донецк), а метод оценки влияния НПВС и повышения гипореактивности Тц с целью прогнозирования течения компенсаторно-приспособительных процессов – в практику Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) г. Донецка. Результаты диссертационной работы, отражающие патогенетические звенья нарушения гемостаза при уролитиазе и его осложнениях, внедрены в учебный процесс на кафедре патологической физиологии Донецкого медицинского университетов и способствуют расширению представлений о реактивности организма, механизмах нарушения тромбогенеза и патогенезе обструктивной уропатии.

Связь с научными программами, планами, темами. Работа является фрагментом плановой научно-исследовательской работы ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии «Изучить проявления индивидуальной реактивности организма и предложить информативные показатели для совершенствования диагностики типовых патологических процессов» (УН 16.01.28). Этапы соответствующие диссертационному исследованию: 1) исследование основных фенотипов кластеров рецепторов, определяющих индивидуальную реактивность Тц при нарушениях гемостаза; 2) анализ особенностей функционирования механизмов «outside-in» и «inside-out» внутриклеточных сигнальных путей при реализации индивидуальных реакций Тц; 3) определение возможности восстановления функции разных фенотипов Тц при нарушении гемостаза, основываясь на активности и возможном взаимодействии рецепторов в кластере.

Методология и методы исследования. В основе методологии диссертационного исследования лежит диалектический метод, который обеспечивает комплексный системный подход к изучению реактивности организма человека исходя из его молекулярно-клеточной, системно-органной, физиологической, культурно-социальной целостности и синергичности. Объективность, научность и логическая последовательность данной работы была

обеспечена применением комплекса общенаучных, клинических и специальных методов исследования. Для решения поставленных задач проведено открытое, когортное проспективное исследование с использованием клинко-инструментальных и морфологических исследований, световой микроскопии для качественного и количественного определения ТЛА, функцию Тц оценивали *in vitro* спектрофотометрически на агрегометре ChronoLog, USA. Для оценки выраженности гематурии проводили общий анализ мочи и анализ мочи по Нечипоренко с подсчетом числа эритроцитов в 1 мл. Иммунологические методы включали общий анализ крови с подсчетом общего числа лейкоцитов и их морфологического состава, скорости оседания эритроцитов (СОЭ). Биохимические методы использовались для определения уровня С-реактивного белка (СРБ) и параметров коагулограммы. Также был применен культурологический анализ мочи с определением бактериурии в диагностическом титре более 10^5 колониеобразующих единиц (КОЕ) и оценкой антибиотикочувствительности.

Статистические методы применялись при обработке полученных результатов и включали параметрическую и непараметрическую статистику с использованием критерия t-Стьюдента или критериев Вилкоксона и Манна-Уитни, метода углового преобразования Фишера, дисперсионного анализа и метода множественного сравнения Шеффе или рангового критерия Краскела-Уоллиса и критерия Данна. При сравнении качественных признаков использовали критерий χ^2 . Для оценки диагностической значимости показателей проводили ROC-анализ. Для выявления связи между признаками применяли методы корреляционного анализа и рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона или показатель ранговой корреляции Спирмена.

Для решения поставленных задач проведено открытое, когортное проспективное исследование с использованием клинко-инструментальных и морфологических исследований, световой микроскопии для качественного и количественного определения ТЛА, функцию Тц оценивали *in vitro* спектрофотометрически на агрегометре ChronoLog, USA. Для оценки

выраженности гематурии проводили общий анализ мочи и анализ мочи по Нечипоренко с подсчетом числа эритроцитов в 1 мл. Иммунологические методы включали общий анализ крови с подсчетом общего числа лейкоцитов и их морфологического состава, скорости оседания эритроцитов (СОЭ). Биохимические методы использовались для определения уровня С-реактивного белка (СРБ) и параметров коагулограммы. Также был применен культурологический анализ мочи с определением бактериурии в диагностическом титре более 10^5 колониеобразующих единиц (КОЕ) и оценкой антибиотикочувствительности.

Статистические методы применялись при обработке полученных результатов и включали параметрическую и непараметрическую статистику с использованием критерия t-Стьюдента или критериев Вилкоксона и Манна-Уитни, метода углового преобразования Фишера, дисперсионного анализа и метода множественного сравнения Шеффе или рангового критерия Краскела-Уоллиса и критерия Данна. При сравнении качественных признаков использовали критерий χ^2 . Для оценки диагностической значимости показателей проводили ROC-анализ. Для выявления связи между признаками применяли методы корреляционного анализа и рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона или показатель ранговой корреляции Спирмена.

Положения, выносимые на защиту:

1) Эффективное применение НПВС до оперативного лечения уролитиаза ассоциировано с гипореактивным статусом Тц, который имеет связь по данным агрегатограмм с ограничением и первой (рецептор-агонист) фазы активации («outside-in»), и второй фазы – дегрануляции («inside-out»), а также со снижением эффекта потенцирования. Гипореактивность Тц является фактором риска повышения выраженности гематурии в предоперационном периоде.

2) Проведение ЛТ на фоне применения противовоспалительной терапии (в том числе НПВС), декомпрессии МВП (установка нефростомы, стента+нефростомы и стента), снижает агрегационный потенциал и эффект

потенцирования Тц и усиливает выраженность гематурии в раннем послеоперационном периоде.

3) В фазе рецидива ХОПН на этапе выписки определяется повышение протромбогенной и провоспалительной функции Тц, несмотря на применение противовоспалительной терапии. К отличному прогностически эффективному маркеру фазы рецидива ХОПН после ЛТ, наряду с показателями системного воспалительного ответа, относится реактивность Тц на ФАТ в EC_{50} . Это указывает на необходимость использования данных о реактивности Тц на ФАТ в EC_{50} для дополнительной оценки выраженности воспалительного процесса.

4) Исследование ТЛА позволяет определять этапы клеточной миграции при рецидиве и ремиссии ХОПН после ЛТ.

Возможные области применения. Установленные в работе компенсаторные механизмы реактивности Тц и их взаимодействий с лейкоцитами на фоне проведения противовоспалительной терапии являются теоретической основой для разработки методов восстановления гемостаза и оценки эффективности торможения развития фазы рецидива ХОПН и прогрессирования гематурии. Материалы работы, отражающие индивидуальную реактивность Тц у пациентов с МКБ, будут способствовать формированию знаний о саногенетических механизмах поддержания гемостаза после комплексного лечения уролитиаза. Исследование компенсаторных возможностей Тц при развитии гематурии и фазы рецидива ХОПН у пациентов с МКБ может быть использовано для прогнозирования тяжести осложнений консервативного и оперативного лечения.

Результаты исследования могут быть применены в работе урологических и нефрологических отделений больниц и использованы в преподавании дисциплин патологической физиологии, патологической анатомии, терапии, урологии, гистологии.

Личный вклад соискателя. Вклад соискателя в результаты диссертационной работы является основным и заключается в проведении исследования, статистической обработке данных, написании всех разделов

диссертации, формулировании выводов. Автором самостоятельно проведены сбор и обработка материала; на основе статистического анализа установлены факторы, позволяющие проводить мониторинг эффективности лечения уролитиаза. Трактовка данных клиничко-інструментального обстеження больных проведена совместно с заведующим кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», д.м.н., профессором Бариновым Э.Ф. Морфологические и морфометрические исследования мазков крови, биохимические исследования проведены совместно с ассистентом кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького» Перенесенко А.О. Формулировка научной концепции исследования, определение цели и задач исследования, разработка методических подходов и выбор методов исследования, анализ и теоретическое обобщение результатов выполнены под руководством д.м.н., профессора Барина Э. Ф. Диссертантом не были заимствованы результаты и идеи соавторов публикаций.

Степень достоверности и апробация результатов диссертации. Достоверность диссертационного исследования подтверждают достаточный объём исследовательских выборок, дизайн, адекватно сформулированные цель и задачи исследования, использование современных клинических и инструментальных исследований, методов статистического анализа с применением пакетов прикладных программ MedStat и MedCalc, публикации основных результатов исследования в рецензируемых научных изданиях.

Основные положения диссертационной работы представлены, обсуждены и получили положительную оценку на научных форумах и конференциях: Морфологические основы научных исследований в медицине. Научно-практическая конференция, посвященная 110-летию со дня рождения Н.И. Зазыбина (Киев, 2013), Фундаментальна та клінічна медицина. Наукова конференція, присвячена 90-річчю з дня народження К.С. Кабака (Киев, 2014), Актуальні питання експериментальної та клінічної патофізіології: Програма VI пленуму наукового товариства патофізіологів України та науково-практичної

конференції за участю міжнародних спеціалістів (Вінниця, 2014), Теоретические основы клинической и профилактической медицины: Научно-практическая конференция XIII и XIV чтения им. В.В. Подвысоцкого (Одесса, 2014, 2015), Морфологічні аспекти ангіології (Тернополь, 2013), Научно-практическая конференция с международным участием «Профілактична медицина: здобутки сьогодення та погляд у майбутнє» (Днепропетровск, 2016), III Международный конгресс «Медицина транспорта – 2015», Укр НИИ медицины транспорта (Одесса, 2015), Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції: Програма VII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (Харьков, 2016), Всероссийская медико-биологическая конференция молодых исследователей (с международным участием): Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье (Санкт-Петербург, 2014, 2016, 2017, 2018, 2019 гг.).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 25 научных работ, в том числе: 11 статей – в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК (из них одна – без соавторов) и 14 тезисов – в материалах конгрессов, форумов и конференций.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 156 страницах текста компьютерной верстки (132 страниц основного текста, 24 страницы списка литературы) и включает: введение, обзор литературы и методов исследования, трёх глав собственных исследований, заключение, выводы и практические рекомендации. Диссертация иллюстрирована 21 таблицей и 29 рисунками. Список литературы включает 242 источников, в том числе 21 отечественных и 221 иностранных авторов.

ГЛАВА 1

ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ КОНСЕРВАТИВНОМ И ОПЕРАТИВНОМ ЛЕЧЕНИИ УРОЛИТИАЗА

1.1. Роль тромбоцитов в патогенезе обструктивной уropатии

МКБ занимает второе место по распространенности среди урологических заболеваний и встречается среди населения наиболее трудоспособного возраста (20-50 лет) от 3% до 15% [3, 7, 8].

Уролитиаз лидирует по числу urgentных урологических госпитализаций [18]. Полиэтиологичность МКБ приводит к необходимости лечить осложнения заболевания, которые зачастую и являются его первыми проявлениями с манифестной клиникой приступа почечной колики, гематурии, рецидивом ХОПН и прогрессирования почечной недостаточности [193, 240].

В литературе активно обсуждается роль Тц в прогрессировании ренальной дисфункции при ХОПН [44, 68, 104, 126]. На этом фоне дискуссионными остаются вопросы о безопасном применении НПВС и антибиотикотерапии в периоперационном периоде МКБ, приводящие к усугублению интерстициального нефрита и гематурии [103, 129, 136, 155].

При ХОПН в почке усиливается повреждение, в том числе за счет вовлечения и активации Тц с последующим формированием микротромбозов [56]. Разнообразие и сложность путей, задействованных в рекрутировании лейкоцитов и активации Тц, затрудняет контроль над этим процессом.

Эндокринная дисрегуляция и гиперактивность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) и САС при МКБ приводят к повышению уровня ангиотензина 2 (АТ2), образованию свободных радикалов кислорода (ROS) и снижению биодоступности оксида азота (NO), что является основными молекулярными изменениями, связанными с эндотелиальной дисфункцией [68, 83, 142, 159]. Прогрессирование обструктивной уropатии приводит к ограничению эндотелий-опосредованной вазодилатации, повышению генерации

эндотелина-1, дополнительной активации Тц, повышению проницаемости сосудов, трансмиграции лейкоцитов и моноцитов в интерстиций [151].

Поиск терапевтических мишеней обструктивной уропатии включает применение антитромбоцитарной, антибактериальной и противовоспалительной терапии, с целью купирования гиперактивности Тц и снижения миграции лейкоцитов и моноцитов в интерстиций путем подавления взаимодействия эндотелий-тромбоцит-лейкоцит [36, 119, 172, 228]. Однако из внимания специалистов уходит тот факт, что морфофункциональные изменения в почке прогрессируют при применении противовоспалительной терапии за счет развития тубулоинтерстициального нефрита [78, 129, 136].

В частности, ингибирование ЦОГ-1 приводит к снижению пула хранения альфа-гранул и ингибированию активации и агрегации Тц, что может повлиять на выраженность гематурии при МКБ [18, 89, 106]. Роль Тц в патогенезе ХОПН продолжает активно изучаться [98, 134, 133]. Доказано, что мезангиальные клетки продуцируют ФАТ при воздействии IL-12 (интерлейкин-12), что дополнительно повышает функциональную активность Тц [121].

Малоинвазивные методы литотрипсии являются важным этапом в современном лечении МКБ, однако приводят к раннему прекращению наблюдения урологов после оперативного лечения. На животной модели подтвердили накопление почечного интерстициального коллагена после устранения обструкции [156, 201]. Группа авторов во главе с К. Ito в 2004 году продемонстрировала, что несмотря на восстановление почечного кровотока и скорости клубочковой фильтрации, после устранения обструкции мочеточника наблюдалось прогрессирование интерстициального фиброза и тубулярной атрофии [124]. В 2014 году ученые L. Zuo et al. подтвердили, что восстановление функции почек после устранения обструкции зависит от локализации конкремента, продолжительности полной или частичной обструкции и наличия инфекции [27].

Развитие ХОПН сопровождается лейкоцитозом, изменениями лейкоцитарной формулы, СОЭ, С-реактивного белка, цитокинов [192]. Однако на

сегодняшний день отсутствуют четкие диагностические критерии рецидива ХОПН.

Экспериментальные исследования указывают на то, что Тц первыми приходят в очаг воспаления и повреждения [104]. Определение параметров Тц является перспективным направлением в скрининг диагностике осложнений уролитиаза.

Оценка среднего объема тромбоцита (MPV) в урологической практике все чаще используется как биомаркер активного воспалительного процесса [145, 174, 232]. Кроме того, увеличение этого показателя ассоциировано с повышением реактивности Тц.

Исследователи доказали прогностическое значение определения MPV для диагностики ХОПН и формирования рубцовых изменений в паренхиме почки и подтвердили его преимущество над С-реактивного белка (СРБ), СОЭ и уровнем лейкоцитов [122].

Изменение числа Тц также используется как маркер воспалительного процесса [72, 77]. Реактивный тромбоцитоз определяется у пациентов с инфекцией мочевых путей (ИМП) [131, 177].

Коллектив авторов O.N. Gofrit et al., 2006, сделали вывод, что обнаружение тромбоцитоза у пациента с пиелонефритом должно побудить лечащего врача провести дополнительные исследования (УЗИ или компьютерную томографию) для ранней диагностики блока почки и паранефротического абсцесса. Положительная прогностическая ценность тромбоцитоза при ХОПН или абсцессе почки у пациентов с ИМП составила 71%. У 26 пациентов (31%) исследуемой группы, тромбоцитоз был определен в среднем за 3 дня до клинических проявлений осложнений. В этой группе пациентов тромбоцитоз был по существу ранним признаком развития инфекционных осложнений [233].

Показатели Тц могут использоваться как ранний скрининг для идентификации типа возбудителя при ХОПН. В работе F. Catal et al., 2008, показано, что количество Тц было выше у пациентов с грамположительными возбудителями ИМП по сравнению с грамотрицательными [182].

Важным признаком тяжелого сепсиса (тяжелой сепсисемии, септического шока) в связи с истощением компенсаторных возможностей красного костного мозга является тромбоцитопения.

Рецидив ХОПН является одним из ведущих осложнений при обструкции мочеточника, вызванной уролитиазом, и при развитии септического шока может приводить к летальному исходу. В ретроспективном исследовании Y. Yamamoto et al., 2012, был проведен логистический регрессионный анализ с оценкой факторов риска септического шока, который включал 98 пациентов (101 событие), требующих экстренной декомпрессии мочевыводящих путей при ХОПН, связанном с конкрементом верхних МВП. Согласно результатам работы MPV и уровень сывороточного альбумина у пациентов с септическим шоком был значительно ниже показателей группы сравнения ($8,6 \times 10,000$ / мкл и 2,7 мг / дл ($p < 0,001$) против $17,0 \times 10,000$ / мкл и 3,2 мг / дл ($p = 0,017$)) [59].

В исследовании Y.H. Ko et al., 2016, оценили роль уровня прокальцитонина (ПКТ) в качестве раннего предиктора септического шока у пациента с рецидивом ХОПН. Исследователи сделали вывод, что повышение уровня ПКТ и снижение числа Тц являются независимыми предикторами для развития септического шока у пациентов с рецидивом ХОПН [195].

Острое повреждение почки часто является результатом патологических изменений до и после проведения литотрипсии и связано с ишемией-реперфузией органа с последующей активацией гемостаза и воспаления. МКБ и развитие гидронефроза приводит к ишемии паренхимы почки и тубулярного эпителия. После проведения литотрипсии и реперфузии почки могут проявиться отдаленные осложнения, в том числе развитие фиброза паренхимы почки. Можно предположить, что гиперактивность Тц усугубляет острое повреждение почки.

Группа исследователей во главе с M.P. Jansen в 2017 году на животной модели обнаружили, что повреждение почки ишемией-реперфузией у мышей приводит к усилению активации Тц в непосредственной близости от участков повреждения. Ингибирование Тц клопидогрелем уменьшало клеточный некроз и

воспаление, указывая на связь между функциональным статусом Тц и острым повреждением почек. Кроме того, при повреждении тубулярного эпителия внеклеточная ДНК активирует Тц, что приводит к последующему взаимодействию Тц и нейтрофилов с образованием внеклеточных ловушек нейтрофилов (NETs) *ex vivo*. Повреждение почек ишемией-реперфузией связано с увеличением ко-локализации ДНК-тромбоцитов-гранулоцитов в тканях и повышением уровня циркулирующей внеклеточной ДНК и фактора тромбоцитов 4 (PF 4) [203].

1.2. Реализация провоспалительной и протромбогенной функции тромбоцитов

На сегодняшний день остается много вопросов касательно управления и контроля функциональной активностью Тц, также нет убедительных данных в пользу применения антиагрегантной терапии при ХОПН [137]. Создание многофакторных моделей прогнозирования осложнений у пациентов с хроническими заболеваниями почек включает изучение параметров Тц, однако медикаментозная коррекция гиперактивности Тц противоречива [38, 40, 97, 144]. Дисковидная форма и небольшой размер Тц позволяет занимать периферическое положение в сосудистом русле и при необходимости первыми перемещаться в место повреждения для контроля целостности сосудистой стенки [46, 123].

Тромбоциты удивительно многофункциональны и участвуют во многих патофизиологических процессах, включая гемостаз и тромбоз, ретракцию сгустка, воспаление, спазм сосудов и регенерацию, развитие атеросклероза, онкогенеза и процесса метастазирования [67, 101, 111].

При активации Тц происходит сплайсинг и созревание пре-мРНК с последующим изменением состава протеома [216]. За счет выделения микроРНК Тц регулируют транскрипционную и посттранскрипционную экспрессию генов других клеток [141, 241].

После повреждения сосудистой стенки, Тц одни из первых претерпевают последовательный каскад функциональных реакций: адгезию, активацию, дегрануляцию, агрегацию, образование прокоагулянтной поверхности, формирование микротромба и ретракцию сгустка [1, 72].

Активация Тц в ответ на выход кальция из системы плотных трубочек приводит к трансформации цитоскелета в течение нескольких секунд и переходу из дисковидной формы в сферическую с образованием многочисленных псевдоподий для повышения адгезивных свойств [1, 22]. Однако слабые агонисты могут индуцировать частичную и обратимую активацию Тц («праймирование»), которая усиливается несколькими агонистами за счет синергизма между внутриклеточными сигнальными путями [105, 140, 237].

При активации Тц высвобождаются такие белки и молекулы как хемокины, ангиогенные факторы, АДФ/АТФ, факторы коагуляции, предварительно сформированные и хранящиеся в плотных тельцах, альфа-гранулах, лизосомах и синтезированные *de novo* (ТХА₂, реактивные радикалы кислорода, IL-1b и др.) [178].

Стойкая агрегация Тц опосредована фибриногеном, связанным с комплексом гликопротеина GPIIb/IIIa и высвобождением содержимого гранул, для чего требуется сигнализация через несколько рецепторов [45, 199, 204]. Активированный интегрин $\alpha IIb\beta 3$ связывает множественные лиганды, включая VWF [110, 210], фибриноген [42], фибрин и фибронектин [167] и незаменим для образования стабильных агрегатов Тц [125]. Взаимодействие между Тц, эндотелиальными клетками и лейкоцитами создает местный воспалительный ответ [211].

Активация Тц приводит к выходу АДФ из плотных гранул и образованию *de novo* ТХА₂ из фосфолипидов клеточных мембран. Секретируемый АДФ и образованный ТХА₂ выступают в качестве посредников с положительной обратной связью и вовлекают в активацию другие Тц, что приводит к амплификации начальных реакций Тц, а также способствуют формированию стабильного тромбоцитарного тромба [118, 204].

Медиаторы воспаления при ХОПН способствуют активации Тц за счет увеличения экспрессии поверхностных молекул адгезии эндотелия (фактора фон Виллебранда (VWF), Р- и Е-селектинов, ICAM-1 (молекула клеточной адгезии-1), VCAM-1 (сосудистая молекула клеточной адгезии-1) [100, 198]. Развитие эндотелиальной дисфункции при обструктивной уропатии приводит к выходу Р-селектина и VWF из телец Вайбеля-Паладе в окружающую ткань с последующей адгезией Тц посредством рецепторного комплекса – GPIb-IX-V [197, 198].

Активированный Тц выделяет IL-1 β с индукцией эндотелиальной секреции IL-6 и IL-8 и поверхностной экспрессии ICAM-1, $\alpha v\beta 3$ и MCP-1 (моноцитарный хемоаттрактантный белок-1) [100].

Контррецепторами для Р-селектина являются GPIb α и гликопротеиновый лиганд Р-селектина-1 (PSGL-1) на поверхности Тц, однако эта связь носит обратимый характер [197].

Механизм стабильной адгезии Тц к активированному эндотелию *in vitro* и *in vivo* опосредован связыванием тромбоцитарного $\alpha IIb\beta 3$ с фибриногеном и эндотелиальным $\alpha v\beta 3$ или ICAM-1 с последующей активацией Тц [95].

При активации на поверхности Тц экспрессируется CD 40 лиганд (CD40L, CD154), член TNF- α (фактор некроза опухоли – α) семейства [180]. Связывание CD40L с эндотелиальными клетками приводит к активации провоспалительного фенотипа [223].

Провоспалительный потенциал при активации Тц подтверждается взаимодействием с моноцитами, полиморфноядерными нейтрофилами, эозинофилами, базофилами и Т-клетками с образованием тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов (ТЛА) [95, 109].

Образование ТЛА может происходить двумя путями: 1) адгезия лейкоцитов к активированным Тц на поверхности эндотелия или компонентам внеклеточного матрикса; 2) внутрисосудистое образование гетеротипических ТЛА [120, 178]. Тромбоциты способствуют трансмиграции лейкоцитов в очаг воспаления или повреждения за счет кооперации с эндотелиальными клетками через Р и Е-селектины – первый шаг в адгезионном каскаде, приводящий к

лейкоцитарной экстравазации [183]. Хемотаксис лейкоцитов регулируется хемокинами, выделенными также из активированных Тц MCP-1 (CCL2), RANTES (регулируемый активацией, нормально экспрессируемый и секретируемый Т-клетками) и PF4 [58].

Начальная адгезия лейкоцитов зависит от Р-селектина Тц и PSGL-1 лейкоцитов с последующим привлечением в агрегат лейкоцитов за счет активации интегринов $\alpha\text{L}\beta 2$ (LFA-1, лимфоцитарный функциональный антиген-1) и $\alpha\text{M}\beta 2\text{CR3}$ (Mac-1 (макрофагальный антиген-1) или CD11b/CD18) [184]. Mac-1 является основным $\beta 2$ -интегрином, который вызывает стабильную адгезию лейкоцитов к Тц и эндотелию посредством связывания с несколькими лигандами, включая GPIb α [179], ICAM-2 (CD 54, молекула клеточной адгезии-2) [23] и JAM-3 (соединительной адгезивной молекулой-3) [229], а также через фибриноген, связанный с $\alpha\text{IIb}\beta 3$ [139, 154, 220, 239].

Процесс диапедеза (трансмиграции) также зависит от прямого взаимодействия лейкоцит-эндотелий посредством молекул PECAM-1 (тромбоцитарно-эндотелиальной клеточной адгезии-1 или CD31), CD99, VE-кадгерин (сосудистого эндотелия или CD 144), а также JAM-A, -B и -C [183]. JAM конститутивно экспрессируется на циркулирующих Тц, моноцитах, нейтрофилах и лимфоцитах [130, 152]. Процесс инфильтрации усиливается за счет реорганизации внеклеточного матрикса при помощи металлопротеиназ (MMPs), выделенных в том числе из Тц.

Секретируемый активированными тромбоцитами АДФ, является мощным стимулятором продукции ROS в нейтрофилах [205].

Провоспалительная активность Тц приводит к свободнорадикальному окислению и деградации нейтрофилов с формированием NETs, которые способствуют захвату Тц с последующим тромбообразованием и служит подтверждением связи между тромбогенезом и воспалением [92, 150, 153]. Взаимоусиление активации лейкоцитов-тромбоцитов-эндотелия ассоциировано также с продукцией ФАТ, TNF- α и лейкотриенов [54, 185, 234].

В работе Н. Ни 2003 года подтверждается способность изменения реологических свойств в ламинарном токе крови увеличивать экспрессию Р-селектина на Тц и CD11b на лейкоцитах, что является проявлением адаптационного механизма [186].

Доказана роль тромбоцитарных хемокинов (СХС), таких как PF4 или β -тромбоглобулин (β -TG), в изменении функционального статуса нейтрофилов [50].

В образовании ТЛА принимает участие CD40 на плазмолемме активированных Тц, взаимодействующий с контррецепторами CD40L (CD 154) на поверхности лейкоцитов, с CD147 и JAM [171].

Модулирующее влияние Тц на лейкоцитарную функцию может быть связано с выходом из активированных Тц гистамина, адреналина и серотонина. В лейкоцитах серотонин регулирует фагоцитоз, миграцию, продукцию супероксидных анионов, секрецию цитокинов.

В работе исследователей N. Ashman et al., 2003, было доказано значительное повышение количества циркулирующий тромбоцитарно-моноцитарных агрегатов у пациентов с хроническим заболеваниями почек при сравнении с группой с нормальной функцией почек [120].

При дегрануляции Тц, выделяют широкий спектр воспалительных и митогенных медиаторов [138]. В α -гранулах Тц содержатся хемокины СХС и СС классов [48]. Хемокин RANTES (CCL5), выделенный из Тц, является сильным хемоаттрактантом для клеток-участниц воспалительного процесса и переносится на поверхность эндотелия микрочастицами Тц [58, 160, 181].

В своих исследованиях С. Weber, 1997, и R.R. Koenen, 2010, определили, что миграция мононуклеаров в модели *in vitro* опосредована CCL5. Совместное действие модуляторов MCP-4, PF4, Р-селектина и RANTES усиливает воспалительный процесс [135, 239].

Адгезия Тц к лейкоцитам и эндотелию приводит к трансцеллюлярному метаболизму эйкозаноидов, что приводит к локальному синтезу провоспалительных липидов, таких как ФАТ, лейкотриены и ТхА2.

Дополнительный синтез провоспалительных эйкозаноидов связан с повышением экспрессии ЦОГ-2 в моноцитах посредством участия Р-селектина и IL-1 β [178].

ФАТ генерируется из лизофосфатидилхолина и ацетил-коэнзима А ферментом лизофосфатидилхолинацилтрансферазой. Деградацию ФАТ производит ацетилгидролаза из надсемейства фосфолипаз A₂. ФАТ является мощным агонистом Тц и медиатором воспаления, а также регулятором устойчивой адгезии нейтрофилов на поверхности иммобилизованных Тц [66]. Кроме того, при генерации в локальное микроокружение ФАТ активирует хемотаксис клеток-участниц воспалительного процесса. Хотя этот провоспалительный липид не является эйкозаноидом, ФАТ генерируется из той же ферментной системы. Ингибиторы ФЛА₂ ограничивают скорость производства ФАТ. Разрушается ФАТ специфической ацетилгидролазой, которая также была идентифицирована в микрочастицах Тц [127,141].

В работе S. Kulkarni et al., 2007, было высказано мнение, что Тц секретируют неактивную форму – деацетилованный ФАТ, который активируется нейтрофилами, с последующим воздействием на Тц [66].

Многоуровневая система регуляции и наличие связи между тромбогенезом и воспалением подтверждается сложностью медикаментозного управления воспалительного процесса и гемостаза.

В этом контексте баланс между протромбогенными и антиагрегантными стимулами позволяет поддерживать и осуществлять реализацию провоспалительных и адаптационных иммунных реакций в организме.

1.3. Пути активации и механизмы оценки реализации функциональной активности тромбоцитов

В связи с повышенным риском развития послеоперационного кровотечения при гипореактивности Тц при МКБ, представляет интерес оценка компенсаторно-адаптационных возможностей системы первичного гемостаза. Гиперактивность Тц при ХОПН может способствовать прогрессированию

воспалительного процесса, в первую очередь, за счет повышения кооперации с лейкоцитами и эндотелием.

Как правило, повышенный риск кровотечения при прохождении конкремента по мочевыводящим путям и проведении оперативного лечения, связан с приемом НПВС [93, 94]. Применение НПВС приводит к снижению пула хранения альфа-гранул и ингибированию активации и агрегации Тц [87].

Выявление пациентов, подверженных риску кровотечения, и мониторинг антитромбоцитарной терапии становится все более важным для идентификации гипо- или гиперактивных пациентов, подверженных риску тромбоза или кровопотери с целью управления периоперационным гемостазом и развития рецидива ХОПН.

Золотым стандартом оценки функциональной активности Тц с определением максимального числа параметров является турбидиметрический метод исследования агрегации Тц или световая агрегатометрия по методу Борна [49, 176].

Исследование реактивности Тц связано с вариабельностью агрегационного ответа Тц при индукции агонистами, что усложняет стандартизацию проведения агрегатометрии [158, 238]. Механизмы и пути идентификации реактивности Тц продолжают активно изучаться.

Фенотип гиперактивных Тц заслуживает особого внимания в связи с возможным развитием тромбозов и тромбоэмболий и рецидивом воспалительного процесса, в то время как недостаточно изучен гипореактивный статус Тц, связанный с риском кровопотери, в том числе развитием геморрагических осложнений литотрипсии [96, 168]. Гипореактивный фенотип Тц подтверждается при снижении показателей агрегации на 2 агониста и более [74].

Немаловажную роль в идентификации гипореактивных Тц играют субпороговые концентрации агонистов. Исследователи С. Hayes et al., 2014, заключили, что гиперагрегация Тц имеет многофакторной характер и не обязательно носит наследственный характер [112].

Адгезия Тц запускает сигнальный каскад, опосредованный тирозинкиназами и G-рецепторами, которые ведут к полной активации Тц с сопутствующей дегрануляцией и привлечением дополнительных Тц в агрегат. Тромбоциты экспрессируют целый ряд гетеротримерных ГТФ-связывающих белков или G-белок ассоциированных рецепторов (GPCR), активация которых генерирует как стимулирующие, так и тормозящие сигналы.

К слабым индукторам агрегации Тц относятся АДФ, адреналин, серотонин, к сильным – тромбин, коллаген, TxA_2 , ФАТ. Считается, что слабые агонисты вызывают обратимую агрегацию.

При введении агониста происходит рецептор-опосредованная активация Тц с каскадным механизмом усиления и конвергенции сигнальных путей. При этом на кривой агрегации определяется лаг-фаза или время задержки от введения агониста до связи с рецептором. На поверхности Тц выделяют такие типы G-белков: G_s , G_i , G_q , G_z и $G_{12/13}$, которые реализуют свои сигналы посредством внутриклеточных сигнальных путей с участием вторичных посредников [1, 111]. Наиболее изучена роль G_i и G_q сигнальных путей в активации Тц.

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 (ИЗФ) и диацилглицерола (ДАГ). ИЗФ взаимодействует с рецепторами на мембране эндоплазматической сети (плотных трубочек) Тц и вызывает выход ионов Ca^{2+} в цитоплазму из депо, ДАГ опосредует приток кальция из внеклеточного пространства. Вход кальция может индуцировать связывание АТФ с рецептором – ионным каналом P2X1 [221].

Активация $G_{\alpha i}$ вызывает ингибирование аденилатциклазы (АЦ) и снижение образования циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) с повышением концентрации внутриклеточного Ca^{+2} . Ключевым изменением при активации Тц является повышение внутриклеточной концентрации Ca^{+2} .

Присутствие высокой концентрации цитозольного Ca^{2+} необходимо для фазы дегрануляции и ауто- и паракринной активации Тц, активации $\alpha IIb\beta_3$, что

приводит к формированию стабильных тромбоцитарных агрегатов. Кальций активирует киназу легкой цепи миозина (КЛЦМ), фосфолипазу A_2 (ФЛА $_2$), циклооксигеназу-1 (ЦОГ-1) и тромбоксансинтазу [43]. ФЛА $_2$ участвует в деградации фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина с образованием арахидоновой кислоты. Арахидоновая кислота превращается в промежуточный продукт простагландин H_2 (ПГ H_2) ферментом ФЛА $_2$ [52]. ПГ H_2 дополнительно метаболизируется в ТХА $_2$ тромбоксансинтазой. ТХА $_2$ и КЛЦМ приводят к секреции гранул в Тц [221].

Реализация усиления внутриклеточной активации связана в первую очередь с выходом ауто- и паракринных регуляторов – ФАТ, ТХА $_2$, АДФ и мобилизацией ионов Ca^{+2} . Этап дегрануляции через открытую канальцевую систему (создает дополнительный выход АДФ, серотонина, адреналина), выход синтезированных продуктов ФАТ и ТХА $_2$ и активацию «inside-out» интегрин $\alpha IIb\beta 3$ за счет ионов Ca^{+2} [1].

Активация α_{2A} -адренорецепторов, сопряженных с $G_{\alpha z}$ в Тц, сопровождается максимальной полимеризацией актина через 1 минуту после активации Тц, в то время как максимальная ассоциация актин – интегрин $\alpha IIb\beta 3$ – фибриноген требует от 5 до 10 минут, что соответствует времени проведения агрегатометрии [51].

Комбинированный эффект стимуляции Тц несколькими агонистами вызывает конформационные изменения (сигнализация «изнутри» или «inside-out») GPIIb/IIIa. В свою очередь связывание лиганда GPIIb/IIIa приводит к изменениям, направленным на цитоплазму («внешняя сигнализация» или «outside-in») [100, 101].

На начальных этапах активации Тц меняют форму, что находит отражение в процессе регистрации агрегационной кривой в виде пика дезагрегации (снижения светопропускания). Гранулы в Тц централизуются и их содержимое выходит в просвет открытой канальцевой системы, из которой они поступают в межклеточное пространство (реакция дегрануляции, которая регистрируется в виде второй фазы агрегации) [222].

Наконец, Тц обеспечивают реализацию вторичного гемостаза, создавая каталитическую поверхность для активации коагуляционного каскада.

Каскадная система активации внутриклеточных сигнальных путей характеризуется множеством путей проведения сигнала, дублированием и взаимозаменяемостью элементов и быстрому возврату к равновесному состоянию [9]. Это обеспечивает надежность и динамичность активности Тц.

Дисфункция Тц проявляется уже на этапе дефекта связи рецептор-лиганд. В результатах работы ученого L. Zhou, 2005, подтверждается, что дефекты в сигнализации через тромбоцитарный α -адренергический рецептор связаны с риском развития кровотечения [242].

Фаза обратимой агрегации Тц ингибируется регуляторами эндотелия (оксид азота, постациклин, ПГЕ₁ и D₂) и путем повышения активности цАМФ и цГМФ и зависит от местного баланса активаторов и антагонистов Тц [83].

На этапе консервативного лечения и периоперационной подготовки пациенты с МКБ получают НПВС для купирования болевого синдрома с ингибированием ЦОГ-1 Тц и подавлением синтеза сильного ауто- и паракринного агониста ТхА₂. Вторую фазу активации Тц ингибируют блокаторы кальциевых каналов (БКК, нифедипин и верапамил) [1].

Исследователи во главе с N. Khan, 2015, показали, что применение селективных и неселективных ингибиторов ЦОГ блокирует не только метаболизм арахидоновой кислоты и образование ТХА₂, но также активацию рецептор-ассоциированных Ca⁺²-каналов в Тц [132]. И ключевой терапевтической мишенью становится вторая фаза агрегации Тц.

Можно предположить, что адаптационная реакция при проведении антиагрегационной терапии может иметь реализацию в проявлении синергизма и потенцирования в активации Тц.

Механизмы повышения функциональной активности Тц включают анализ ко-активации внутриклеточных сигнальных систем и главным образом между G_i и G_q сигнальными путями [29, 108].

Доказано, что при добавлении в суспензию Тц *in vitro* субпороговых (физиологических) концентраций двух агонистов Тц проявляется синергизм в агрегации, однако механизмы этого явления продолжают активно изучаться.

Считается, что α_{2A} -адренергические рецепторы имеют общие перекрестные механизмы с G_q -сигнальным путем, опосредованные ФИЗ-киназами/Akt. При реализации эффекта синергизма адреналин дополнительно вызывает секрецию плотных гранул, фосфорилирование белка плекстрина протеинкиназы C (ПКС) и усиливает сигнализацию от рецептора P2X1. Добавление адреналина к Тц также может стимулировать активацию Rap-1b [91].

Представляет интерес работа исследователей S.A. Saeed и H. Rasheed, 2003, в которой подтверждается ингибирование НПВС синергизма в агрегации Тц при одновременном введении адреналина и ФАТ. Повышение агрегации Тц при добавлении ФАТ (5-8 нмоль/л) и адреналина (0,5-2 мкмоль/л) подавлялись антагонистом адренорецептора – йохимбином и антагонистом рецептора ФАТ – WEB 2086, а также БКК – верапамилом и дилтиаземом. Кроме того, агрегация Тц, индуцированная ФАТ и адреналином, также нивелировалась ингибитором ФЛС (U73122, IC_{50} 0,2 мкмоль/л), ингибитором киназы MAP (PD 98059, IC_{50} 3 мкмоль/L) и ингибиторами ЦОГ-1, включая индометацин (IC_{50} 0,25 мкмоль/л), флурбипрофен (IC_{50} 0,7 мкмоль/л) и пироксикам (IC_{50} 7 мкмоль/л). Было подтверждено, что ингибиторы ЦОГ-2 – нимесулид (IC_{50} 26 мкмоль/л), NS-398 (IC_{50} 7 мкмоль/л) и этодолак (IC_{50} 15 мкмоль/л) также эффективны в ингибировании агрегации. Ингибиторы протеинкиназы C (хелеритрин), тирозинкиназы (генистейн) и ингибитор фосфатидилинозитол-3-киназы (ФИЗК) (вортманнин) не оказывали существенного влияния на агрегацию Тц, вызванную ФАТ и адреналином. Исследователи заключили, что синергизм в агрегации Тц является рецептор-опосредованным и включает в себя активацию сигнальных путей ФЛС/ Ca^{2+} , ЦОГ и MAP-киназы [212].

Внутриклеточные сигнальные системы имеют универсальный характер и присутствуют во всех клетках организма, в том числе и в лейкоцитах. В связи с этим похожие механизмы активации и системы вторичных посредников

ответственны за регуляцию процесса воспаления. Доказана роль Тц в формировании ТЛА и определенно в этом играет роль ФАТ. При помощи ФАТ в нейтрофилах человека происходит изменение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} . ФАТ индуцирует фосфорилирование внеклеточной сигнально-регулируемой киназы (ERK), опосредованное ФИЗК, ПКС, ФЛА₂, ФЛС и внеклеточным Ca^{2+} [57]. Активность САС оказывает влияние на кооперацию тромбоцит-лейкоцит. Повышение уровня катехоламинов при стрессе и травме посредством β_2 -адренергических рецепторов приводят к лейкоцитозу за счет выхода из маргинального пула цитотоксических лейкоцитов в кровообращение *in vivo* [75].

Адреналин и АДФ приводят к повышению образования ТЛА за счет повышения экспрессии CD11b, Р-селектина и гликопротеина IIb/IIIa [90].

Индивидуальная реактивность диктует необходимость анализировать провоспалительный и протромбогенный потенциал Тц и их роль в адаптационных и компенсаторно-приспособительных процессах. В этом свете одномоментное развитие воспалительного процесса (рецидив ХОПН) и кровопотери (гематурия при МКБ) изменяет реактивность Тц с модуляцией функции лейкоцитов и эндотелия.

1.4. Влияние консервативного и хирургического лечения МКБ на функциональное состояние тромбоцитов

Ключевыми диагностическими критериями уролитиаза являются гематурия в сочетании с приступом острой боли и дизурией. Как правило, клинические проявления мочекаменной болезни связаны с развитием осложнений: ХОПН, хронической почечной недостаточностью (ХПН), пионефрозом, сморщиванием почек, рецидивом камнеобразования [107, 207].

Диагностическим критерием гематурии считается наличие более 3-5 эритроцитов в поле зрения при микроскопии осадка или более 1000 в 1 мл мочи по Нечипоренко [3,4, 5,11, 90].

Первый этап лечения при острой почечной колике – рациональное купирование боли [146]. НПВС доказали свою эффективность у пациентов с манифестной клиникой МКБ, ингибируя опосредованную простагландином болевую афферентацию и уменьшая сократительную способность мочеточников [115].

Применение НПВС для купирования болевого синдрома, связанное с прохождением конкремента, находит широкое применение в урологической практике и может усугубить проявление гематурии [34, 163, 157]. НПВС приводят к снижению функциональной активности Тц путем блокады ЦОГ-1 и синтеза TxA_2 – сильного паракринного активатора агрегации. Данный факт необходимо учитывать для предупреждения кровотечений у пациентов урологического профиля. Гипореактивный фенотип Тц недостаточно изучен и требует оценки механизмов повышения протромбогенного потенциала и состоятельности гемостаза.

Мультимодальная (или сбалансированная) анальгезия представляет собой современный подход к контролю боли во время оперативного лечения уролитиаза путем введения комбинации опиоидных и неопиоидных анальгетиков [76].

В последнее время широко обсуждается вопрос безопасности назначения НПВС в периоперационном периоде у пациентов с уролитиазом. Расширяется спектр работ, направленных на применение комбинированной терапии для рациональной анальгезии пациентов с МКБ при помощи α -адреноблокаторов, БКК и ГКС. Ежедневный прием α -адреноблокаторов при МКБ позволяет уменьшить вероятность возникновения повторных приступов почечной колики [81,115].

Учитывая широкое применение НПВС с целью купирования болевого синдрома при МКБ, из внимания специалистов уходит антиагрегантный эффект обезболивающих препаратов, в связи с этим предпочтительным является оценка влияния на агрегацию Тц консервативного и оперативного лечения уролитиаза.

Медикаментозная экспульсивная терапия (МЭТ) включает применение α -адреноблокаторов, БКК и ГКС. В ряде исследований находит подтверждение положительный эффект МЭТ для купирования боли при уролитиазе [24, 85, 147, 236].

Применение α -адреноблокаторов обосновано наличием высокой концентрации α_1 -адренорецепторов в дистальном отделе мочеточника. Их эффект связан с ингибированием базального уретерального тонуса и перистальтики как результат уменьшения интенсивности сокращений мочеточника [165]. Применение МЭТ также доказывает свою эффективность после проведения ЛТ.

Периоперационное назначение α -адреноблокаторов способствует предупреждению дилатации МВП при уретеролитотрипсии (УЛТ) [88, 227]. В исследовании под руководством Т. John в 2010 году было подтверждено, что применение МЭТ после контактной уретеролитотрипсии (КУЛТ) увеличивает скорость полного избавления от конкрементов и уменьшает частоту приступов почечной колики в послеоперационном периоде [128].

Нифедипин, БКК L-типа, приводит к доза-зависимому снижению АТц [37, 161]. α -адреноблокаторы также существенно оказывают влияние на гемостаз. В результатах работы С. Alan et al., 2011, наблюдалось увеличение времени кровотечения и параметров коагуляции (ПТИ, АЧТВ) в группах с использованием доксазозина и terazозина [63].

Однако механизмы фармакологического ингибирования функций Тц еще не до конца изучены, что еще раз подтверждает необходимость оценки параметров гемостаза в предоперационном периоде МКБ.

Неоднозначным остается вопрос о необходимости профилактического приема антибиотикотерапии перед оперативным лечением уролитиаза.

Согласно современным рекомендациям по ведению пациентов с уролитиазом при первичной диагностике почечной колики и инфекции МВП назначают антибиотики широкого спектра действия, а дальнейшее лечение должно быть адаптировано к результатам культуры мочи [18, 20, 69].

УЛТ и чрескожная нефролитотрипсия (ЧНЛТ) являются современными методами лечения уролитиаза, однако могут приводить к развитию инфекционных осложнений [25, 26, 55, 61].

Согласно опросу, проведенного среди урологов, от 21% до 39% респондентов сообщили о применении антибиотикотерапии длительностью более 24 часов перед проведением УЛТ и ЧНЛТ у пациентов с отрицательными и бессимптомными положительными культурами предоперационной мочи [33].

Исследователи Н. Shafi et al., 2018, заключили, что профилактический прием антибиотиков до ЛТ у пациентов с отрицательной культурой мочи не обеспечивает значительного снижения риска инфекции МВП после ЛТ [32].

Расширяется анализ лекарственного ингибирования функции Тц и оценки возможной рациональной фармакологии с целью минимизировать риски осложнений от проводимых инвазивных процедур. Широко используются в урологической практике комбинации НПВС, ГКС, антибиотикотерапии, БКК и α -адреноблокаторов, которые могут вызывать или усугублять кровопотерю в периоперационном периоде уролитиаза. Это особенно актуально у пациентов с существующими нарушениями в системе гемостаза любого типа, которые могут оставаться компенсированными до тех пор, пока функция Тц не ингибируется фармакологически [213].

Хирургическое вмешательство, в том числе проведение ЛТ при МКБ, может привести к коагулопатии в результате влияния периоперационных факторов: ацидоза, гипотермии и гемодилюции, связанной с повышением фибринолитической активности и как результат повышением риска развития кровотечения [6].

На сегодняшний день нет противопоказаний к отмене антиагрегантов перед проведением малоинвазивных оперативных вмешательств, в том числе ЛТ [164, 214], но и недостаточно изучен вопрос о зависимости гематурии от изменения реактивности Тц под влиянием НПВС. Послеоперационная консервативная терапия (через 24 часов после ЛТ), включает не только гемостатики и инфузионную терапию, но и противовоспалительные препараты

(НПВС, ГКС, антибиотики, анальгетики), которые обладают антиагрегантными свойствами [14, 106, 102]. В этих условиях тромбогенез будет определяться индивидуальной реактивностью Тц и соотношением эффектов проагрегантных и антиагрегантных стимулов.

Во многих исследованиях отмечается, что на сегодняшний день нет конкретных рекомендаций о сроках возобновления антикоагулянтов и других антитромбоцитарных препаратов после проведения ЛТ [34, 35, 39, 166]. Ряд авторов делают акцент, что кровотечение является серьезной проблемой для любого пациента, которому необходима ЧНЛТ [166, 189, 230].

Одним из недостатков контактной ЛТ является частая необходимость установки стента мочеточника, который предотвращает обструкцию фрагментами конкрементов и послеоперационный отек. В нескольких экспериментах доказано, что нахождение камня в одном месте мочеточника уже к 14-м суткам приводит к выраженному отеку и гиперплазии слизистой оболочки, перимускулярному склерозу [20, 61, 73, 193].

На сегодняшний день существует два равноценных по эффективности метода дренирования почки при помощи внутреннего мочеточникового стента или чрескожной пункционной нефростомии (ЧПНС) [143].

Для предупреждения развития инфекции МВП при любом виде дренирования почки рекомендовано назначать антибиотикотерапию [69].

Необходимость стентирования мочеточника во время УЛТ является спорной. В метаанализе, проведенном Н. Wang, et al., 2017, оценили преимущества и недостатки установки стентов в мочеточник при лечении уретеролитиаза. Систематический обзор включал 22 рандомизированных контролируемых исследования, сравнивающих результаты с или без установки стента при проведенной УЛТ и дистанционной литотрипсии (ДЛТ). В группе с установленным стентом в мочеточник частота развития гематурии (ОР: 3,68, 95% ДИ: 1,86-7,29, $p < 0,001$), инфекции мочевыводящих путей (ОР: 2,23, 95% ДИ: от 1,57 до 3,19, $p < 0,001$), дизурии (ОР: 3,90, 95% ДИ: от 2,51 до 6,07, $p < 0,001$) наблюдались значительно чаще. Исследователи сделали вывод, что

стентирование не улучшает скорости элиминации от камней и приводит к дополнительным осложнениям [149]. Однако стенты мочеточника позволяют предупредить незапланированную повторную госпитализацию, что находит подтверждение в исследовании T. Yoshida et al., 2019 [84].

Установка стента в мочеточник длительностью 7 дней позволяет предупредить послеоперационные осложнения и сократить кратность повторных незапланированных вмешательств после уретероскопии при МКБ [82, 165, 169].

Малоинвазивное оперативное вмешательство – контактно-фрезевая ультразвуковая ЛТ является одним из безопасных методов оперативного лечения МКБ. В последние годы расширяется спектр работ, анализирующих послеоперационные осложнения ЛТ, частота которых варьируется в пределах от 4,2% до 24,2% [62, 65, 79, 84, 206, 214, 225].

ЛТ позволяет избежать открытого вмешательства на МВП, тем не менее сопровождается гематурией. Не установлено, имеется ли связь между ЛТ и выраженностью гематурии. Сама по себе методика ЛТ связана с активацией САС вследствие механического воздействия на надпочечник и сопровождается повышением концентрации катехоламинов в крови и моче пациента при МКБ [19].

Поскольку на поверхности Тц экспрессированы α_{2A} - и β -адренорецепторы, связанные с G_i - и G_s - сигнальными системами [170], то можно предположить изменение реактивности Тц и лейкоцитов после ЛТ. Исследование компенсаторных возможностей Тц в раннем послеоперационном периоде позволит выделить группу риска развития гематурии после оперативного лечения МКБ и определить дифференцированный подход к применению гемостатической терапии.

После выполнения ЛТ и введения антибиотиков с целью профилактики острого воспаления у части пациентов развивается пиелонефрит [32, 33]. К наиболее частым осложнениям ЛТ относятся: лихорадка и инфекция МВП; дыхательная недостаточность в результате пневмоторакса, плеврального выпота, ателектаза или пневмонии; илеус; гематурия (составляет 2%) и кровотечение

(0,1%); уросепсис (0,5%); стриктура мочеточника и отрыв мочеточника; спорадические случаи висцеральных повреждений селезенки и толстой кишки [47, 139].

ЧНЛТ остается наиболее опасным методом лечения МКБ по риску развития кровотечения [190, 191, 230]. Периоперационные кровотечения, требующие переливания крови и/или оперативного лечения, встречаются в 3,8-11% случаев при ЧНЛТ [70].

Ретроспективный анализ J. de la Rosette 2014 включал 5803 пациента после проведения ЧНЛТ. Основными осложнениями после оперативного вмешательства были: значительное кровотечение (7,8%), перфорация почек (3,4%) и гидроторакс (1,8%). Переливание крови потребовалось 328 (5,7%) пациентам, а лихорадка $> 38,5^{\circ}\text{C}$ наблюдалась у 10,5% пациентов. Согласно модифицированной шкале Clavien пациенты были распределены таким образом: без осложнений – 79,5%, I – 11,1%, II – 5,3%, IIIa – 2,3%, IIIb – 1,3%, IVa – 0,3%, IVb – 0,2 % и V – 0,03%. 30-дневная скорость элиминации от конкремента составила 75,7%, а 84,5% пациентов не нуждались в дополнительном лечении [224].

Риски развития тяжелых осложнений при проведении ЛТ диктуют необходимость определять периоперационную группу риска по гематурии и рецидиву ХОПН [217, 218, 235, 240].

Таким образом, проведенный обзор литературы подтверждает необходимость проведения оценки реактивности Тц и их адаптационных механизмов на фоне противовоспалительной терапии, в том числе НПВС, на разных сроках лечения уrolитиаза. Проблема реактивности Тц глубоко исследована, однако, оценка функциональной активности при гематурии и фазе рецидива ХОПН после консервативного и оперативного лечения МКБ является актуальным и не до конца изученным вопросом.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика пациентов

В работе проведен анализ клинико-лабораторных показателей 122 пациентов с МКБ до и после проведения ЛТ, осложненной фазой рецидива или ремиссии ХОПН и различной выраженностью гематурии, проходивших лечение в урологическом отделении клиники «МедиФаст» г. Мариуполя.

Расчет объема выборки проводился по формуле Н.А. Плохинского [12]:

$$n = \frac{t^2}{k^2}$$

Где n – численность выборки, t – критерий достоверности (1,96), k – коэффициент, отражающий отношение максимально допустимой ошибки к среднеквадратическому отклонению генеральной совокупности ($k = 0,19$). На основании проведенного расчета численность выборки должна составлять не менее 106 наблюдений.

Критериями включения пациентов в исследование были наличие клинико-инструментальных признаков уrolитиаза и показаний для литотрипсии, информированное согласие пациента на проведение исследования (Таблица 2.1).

Характеристика пациентов, включенных в исследование

Показатели	Распределение пациентов по показателям	Количество пациентов (чел.)	Удельный вес (%) $\pm m$
Всего, из них:		122	100
по полу	Мужчины	62	50,8 $\pm$ 4,5
	Женщины	60	49,5 $\pm$ 4,2
по возрасту	Пациенты старше 65 лет	38	31,1 $\pm$ 4,2
	Пациенты моложе 65 лет	84	68,9 $\pm$ 4,2
по характеру патологии	Коморбидная патология	32	26,2 $\pm$ 3,98
	Локализация конкремента		
	– почка	35	28,7 $\pm$ 4,1
	– мочеточник	79	64,8 $\pm$ 4,3 %
	– сочетанные конкременты в почке и мочеточнике	7	5,7 $\pm$ 2,1 %

Из исследования были исключены пациенты при наличии следующих факторов: онкологической патологии, острых и хронических воспалительных заболеваний другой локализации, беременности, коагулопатии, тромбоцитопении, аневризмы аорты, менструации, искусственного водителя ритма или клапана сердца, стентов коронарных сосудов, периода острого инфаркта миокарда, кардиогенного шока, впервые возникшего нарушения ритма сердца, гипертонического криза, черепно-мозговой травмы или острого нарушения мозгового кровообращения менее 6 месяцев назад, наличия в анамнезе язвенной болезни желудка или двенадцатиперстной кишки, печеночной недостаточности, варикозной болезни, сахарного диабета при декомпенсации. Пациенты, госпитализированные во время выходных дней или праздников, также не были включены в исследование.

У пациентов проводили сбор жалоб и анамнеза, физикальное обследование, исследование общего анализа крови и мочи, биохимического анализа крови, коагулограммы, культурологическое исследование мочи,

ультразвуковое исследование почек, мочеточников и мочевого пузыря; компьютерную томографию или обзорную урографию; при рентген-негативных конкрементах выполняли ретроградную уретеропиелографию и экскреторную урографию. Группу контроля составили 20 здоровых волонтеров.

2.2. Клинико-инструментальное обследование больных

Клинико-инструментальное исследование проводили на момент госпитализации в урологический стационар, в первые часы (1-6 часов) и через 24 часа после оперативного лечения, при выписке из стационара (на 3-5 день) после проведения ЛТ.

При анализе осложнений МКБ учитывали демографические факторы: пол, возраст. Оценивали анамнез начала заболевания и предыдущие эпизоды нарушения уродинамики. Учитывали коморбидный фон пациентов, а именно ишемическую болезнь сердца, гипертоническую болезнь, сахарный диабет.

Локализацию и размер конкрементов определяли при ультразвуковом исследовании, компьютерной томографии, обзорной урографии, рентген-контрастном исследовании, экскреторной урографии и ретроградной уретеропиелографии.

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 не значимая бактериурия; в общем анализе крови отсутствовали изменения, характеризующие острое воспаление.

Гематурию определяли при наличии 3-х и более эритроцитов в поле зрения при микроскопии осадка мочи [8, 11, 15]. Макрогематурия констатировалась, если количество эритроцитов составляло 1/2 поля зрения и более [14, 17].

2.3. Лабораторное исследование

На момент госпитализации у больных основной группы проводили оценку общего анализа крови и мочи, биохимического анализа крови, а также определяли параметры коагулограммы.

При анализе гемограммы оценивали количество форменных элементов и лейкоцитарную формулу. Выраженность гематурии определяли по количеству эритроцитов в осадке мочи и количеству эритроцитов в 1 мл мочи по Нечипоренко. В качестве биохимического маркера воспалительной реакции использовали СОЭ и концентрацию СРБ на момент госпитализации, через 1-6 часов и 24 часа после ЛТ, на момент выписки из стационара.

2.4. Лечебная тактика

Всем больным проводилось восстановление уродинамики согласно стандартным протоколам – с учетом локализации, размера и плотности конкрементов [18, 20, 80]. Всем пациентам на догоспитальном и госпитальном этапах были введены НПВС с целью купирования боли и дизурии.

Больным с хроническим пиелонефритом в фазе ремиссии при локализации конкремента в почке проводили контактную нефролитотрипсию (КНЛТ). В условиях эпидуральной анестезии и предварительного ретроградного введения катетера в верхнюю треть мочеточника проводили пункцию чашечно-лоханочной системы (ЧЛС) под ультразвуковым контролем. В дальнейшем выполняли антеградную пиелографию с проведением сквозь просвет пункционной иглы струны-проводника в ЧЛС под рентгеновским контролем. После фрагментации конкремента и эвакуации его фрагментов устанавливали нефростому. Удаление нефростомы выполняли на 2-3 сутки в условиях

адекватной проходимости ЧЛС и мочеточников, полного удаления конкрементов и отсутствия признаков макрогематурии.

При локализации конкремента в верхней трети мочеточника при невозможности ретроградного доступа выполняли пункцию ЧЛС под ультразвуковым наведением и рентгеновским контролем, затем проводили струну-проводник к мочеточнику и выполняли антеградную уретеролитотрипсию (АУЛТ).

Пациентам с конкрементом в средней и нижней трети мочеточника выполняли контактную ретроградную уретеролитотрипсию (КУЛТ). Дробление конкремента проводили под эпидуральной анестезией. После введения уретероскопа через рабочий канал к нему подводили зонд литотриптера. После фрагментации и удаления остатков конкремента в условиях отека или повреждения стенки мочеточника устанавливали стент на 7-10 суток.

В условиях фазы обострения ХОПН, блока почки (в течение 1 суток или больше), гидронефрозе (расширение ЧЛС, мочеточника над конкрементом) на первом этапе производили один из видов дренирования – стентирование мочеточника или ЧПНС. Стентирование с целью купирования острого обструктивного пиелонефрита не требует обезболивания и облегчает в дальнейшем процедуру проведения по мочеточнику уретероскопа и обеспечивает тотальную литоэкстракцию конкремента петлей или извлечение фрагментов камня.

ЧПНС обеспечивает контроль выделенного объема мочи из заблокированной почки, оценку состава мочи и служит доступом для проведения нефроскопа. Кроме того, данный вид дренирования предоставляет возможность выполнения антеградной и ретроградной урографии для контроля расположения камня.

Кавитационную контактно-фрезовую ультразвуковую литотрипсию (ЛТ) проводили при помощи аппарата KarlStorz – Calcuson 27610020. При дроблении конкрементов использовали визуальный контроль с использованием видеокамеры KarlStorz Telekam SL pal 202120 20 (Германия), рентген контроль (мобильный рентген С-Арка SiemensSiremobil 2002, Германия), УЗ-контроль

(Mylabfive, Италия). Все пациенты до и после литотрипсии получали противовоспалительную терапию.

2.5. Критерии оценки результатов лечения

В качестве первичной конечной точки исследования использовали наличие на момент госпитализации различий в реактивности Тц на фоне применения НПВС и гематурии.

Вторичной конечной точкой исследования был результат лечения после проведения ЛТ, который оценивали следующим образом:

- 1) развитие локальных геморрагических осложнений (развитие гематурии, гематом) через 1-6 часов, 24 часа;
- 2) развитие системных воспалительных осложнений на этапе выписки из стационара (3-5 сутки после ЛТ) – фаза рецидива ХОПН, которое сопровождалось острой воспалительной реакцией.

2.6. Исследования *in vitro* функционального состояния тромбоцитов

Тромбоциты больных с уролитиазом использовали для оценки реактивности организма, интерпретации состояния системы гемостаза и механизмов развития геморрагических осложнений. Оценку функционального состояния Тц проводили в тесте *in vitro* спектрофотометрически на анализаторе агрегации Тц ChronoLog (USA).

С целью выделения Тц кровь набирали в пластиковую пробирку, содержащую кислый цитратдекстрозный антикоагулянт в пропорции по объему крови 1:9. После этого кровь центрифугировали в течение 15 минут в режиме 1500 об/мин для получения обогащенной тромбоцитами плазмы [111, 176]. Следующим этапом было выделение плазмы бедной тромбоцитами путем дальнейшего центрифугирования в течение 20 минут в режиме 3000 об/мин, которую использовали для контроля формирования агрегатов [222].

Для анализа реактивности Тц в 500 мкл суспензии Тц добавляли агонисты по 10 мкл в концентрации, соответствующей 50% агрегации Тц (EC_{50}) и 10% агрегации (EC_{10}). В качестве агонистов использовали: арахидоновую кислоту (500 мкМ) («Технология стандарт») АДФ (5 и 0,5 мкМ) («Технология стандарт»); серотонин (5-НТ, 10 мкМ) («Технология стандарт»); адреналин (epinephrine, 5 и 0,1 мкМ) (Sigma), ФАТ (PAF, 150 и 30 мкМ) (Sigma) [111]. 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.

Оценку агрегатограммы проводили по следующим параметрам:

1) Амплитуда агрегации тромбоцитов (АТц), % – показатель рассчитывается автоматически и определяет максимальную степень агрегации как результат прироста прохождения света через плазму богатую тромбоцитами (0% светопропускания) по сравнению с плазмой бедной тромбоцитами (контроль – 100 % светопропускания) после добавления индуктора. Чем больше амплитуда агрегации, тем выше активность Тц и способность участвовать в тромбогенезе.

2) Время задержки (Lag-time), секунды – рассчитывается автоматически, измеряется в секундах. Период времени, необходимый для взаимодействия агонист-рецептор и активации рецептор – опосредованного каскада внутриклеточной сигнальной системы.

3) Площадь под кривой (AUC, area under curve) – интегрирующий показатель между амплитудой и скоростью агрегации, который наиболее полно отражает тромбоцитарную активность. Величина площади под кривой определяется как произведение двух переменных – амплитуды агрегации (%) и времени агрегации (мин).

4) Максимальный наклон кривой (Slope), %/мин – рассчитывается автоматически и отражает скорость агрегации, кроме того позволяет оценить эффективность функционирования рецептора и сигнальной системы, ассоциированной с G-белком, в первую минуту агрегации – 1 фаза агрегации.

В исследовании для детализации первой и второй фаз агрегации Тц были введены дополнительные параметры агрегационной кривой:

1) Скорость наклона для первой волны (фазы) агрегации ($\text{tg } \alpha$ (%/мин), угол α°) – показатель характеризует инициацию активации Тц посредством связывания агониста со специфическим мембранным рецептором с последующей активацией внутриклеточной сигнальной системы, мобилизацией Ca^{2+} из внутриклеточного депо («outside –in»).

2) Скорость наклона для второй волны (фазы) агрегации ($\text{tg } \beta$ (%/ мин), угол β°) – характеризует фазу дегрануляции с формированием стабильных тромбоцитарных агрегатов. Реакция высвобождения или дегрануляции в Тц происходит через открытую канальцевую систему, при которой выделяется содержимое гранул Тц, в том числе АДФ, ФАТ, серотонин, адреналин, TxA_2 , вовлекающие в процесс агрегации другие Тц («inside-out»). Экспозиция рецепторов фибриногена – гликопротеинового комплекса PbIIIa на поверхности Тц является конечным этапом активации Тц с выходом агрегатограммы на плато.

Для анализа тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов проводили морфологическое исследование мазков периферической крови при окраске по Романовскому-Гимзе [1, 150, 220]. При этом учитывали следующие параметры: наличие агрегатов; абсолютное число лейкоцитов, вовлеченных в формирование агрегатов; структурный состав агрегатов (вид лейкоцитов, вовлеченных в формирование агрегатов).

2.7. Дизайн исследования

Для решения поставленных задач проведено открытое, когортное проспективное исследование с использованием методов поперечного и продольного срезов, случай – контроль (Рисунок 2.1).

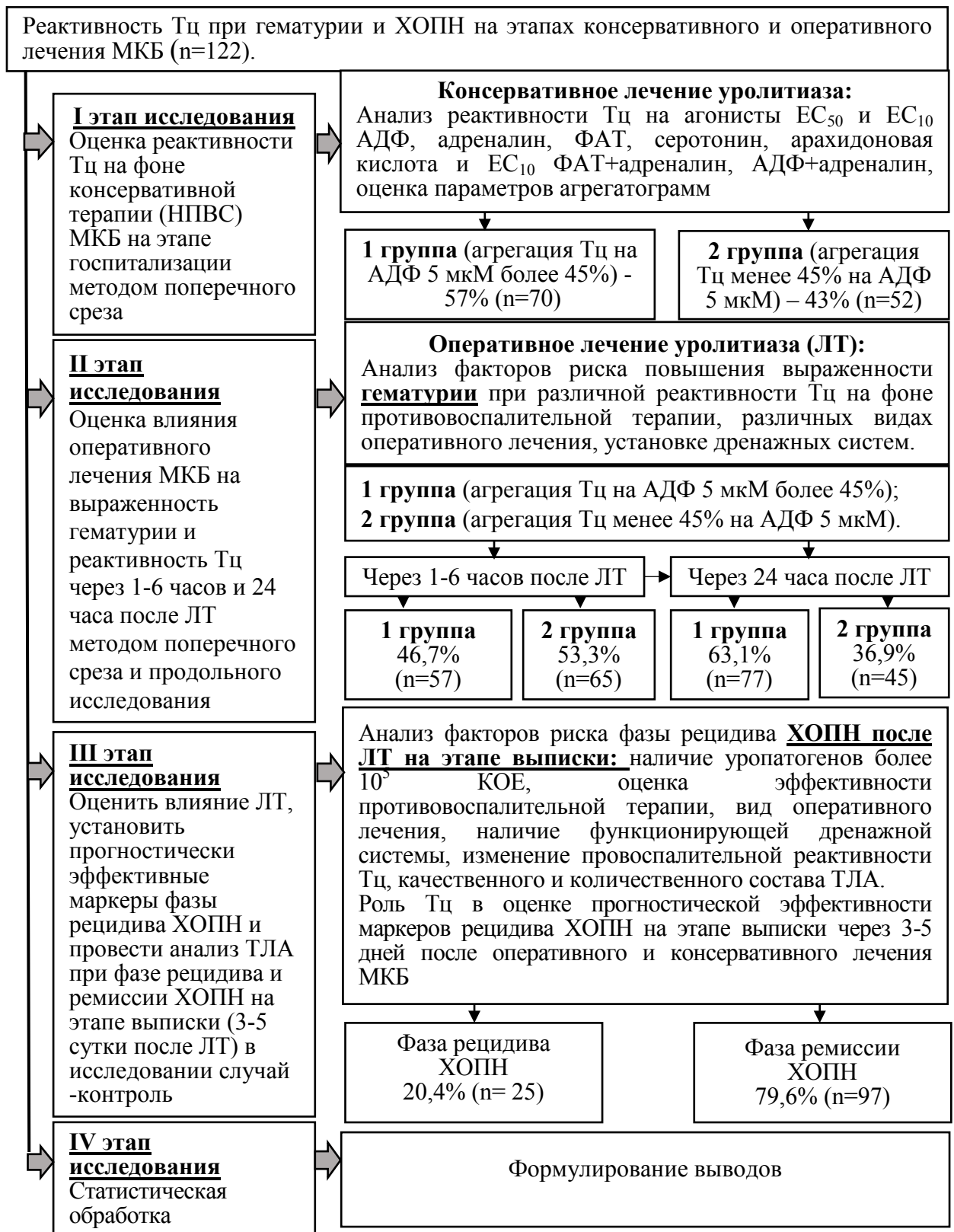


Рисунок 2.1. Дизайн исследования.

2.8. Статистическая обработка результатов исследования

Анализ полученных результатов осуществлялся с помощью методов биостатистики. При проведении анализа использовались статистические пакеты MedStat и MedCalc [12].

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 отклонения 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 отклонения закона распределения от нормального. При сравнении качественных признаков в этом случае использовали критерий χ^2 . Во всех случаях отличие считалось статистически значимым при уровне значимости $p < 0,05$.

Для оценки диагностической значимости показателей использовали ROC-анализ с определением площади ROC-кривой и диагностической чувствительности и специфичности в пакете MedCalc.

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 отклонения закона распределения от нормального).

ГЛАВА 3

РЕАКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ КОНСЕРВАТИВНОЙ ТЕРАПИИ УРОЛИТИАЗА

Применение НПВС для купирования болевого синдрома, связанного с прохождением конкремента, находит широкое применение в урологической практике и может усугубить проявление гематурии [2, 34, 163, 157]. Как известно, НПВС приводят к снижению функциональной активности Тц путем блокады ЦОГ-1 и синтеза TxA_2 [1]. Данный факт необходимо учитывать для предупреждения кровотечений. На сегодняшний день нет показаний к отмене антиагрегантов перед проведением малоинвазивных оперативных вмешательств (в т. ч. ЛТ), но и недостаточно изучены механизмы изменения реактивности Тц под влиянием НПВС при гематурии [164, 214]. В условиях прохождения конкремента по МВП происходит альтерация слизистой оболочки, обструкция и нарушение нормального пассажа мочи, что приводит к появлению болевого синдрома, гематурии и развитию хронического воспалительного процесса. Тромбоциты имеют провоспалительный и проагрегантный потенциал – однако недостаточно изучена их роль при условии воздействия и воспаления, и кровопотери. Исследование функционального статуса Тц на протромбогенные и провоспалительные агонисты при МКБ продиктовано развитием осложнений, таких как гематурия и рецидив ХОПН [34, 35, 53].

3.1. Влияние консервативной терапии уролитиаза на пуринореактивность тромбоцитов на этапе госпитализации

Влияние НПВС на индуцированную агрегацию Тц связано с отсутствием агрегации при введении арахидоновой кислоты [87, 164]. Такой результат находит подтверждение в нашем исследовании. Зачастую при почечной колике на амбулаторном и госпитальном этапе используются неселективные ингибиторы ЦОГ-1,2 – диклофенак, индометацин, кетопрофен, кеторолак [8, 16,

18]. Доказано влияние НПВС на индуцированную арахидоновой кислотой агрегацию за счет отсутствия или резкого ограничения активации Тц и ингибирование амплитуды агрегации при введении в богатую тромбоцитами плазму коллагена, АДФ и адреналина EC_{50} [29, 30]. Медиана амплитуды агрегации Тц при индукции арахидоновой кислотой 500 мкМ у пациентов с уролитиазом на фоне приема НПВС (Рисунок 3.1) составила $3 \pm 1,2$ (95 % ДИ 1-6) %, такой результат подтверждает эффективное ингибирование ЦОГ-1 в Тц. Однако, как известно, механизмы реализации тромбогенеза не опосредованы исключительно TxA_2 и включают пакринную (АДФ), гуморальную (адреналин, серотонин) и провоспалительную (ФАТ) активацию Тц [49, 50, 51, 53]. В связи с этим требуется анализ индуцированной агрегации тромбоцитов нескольких агонистов.

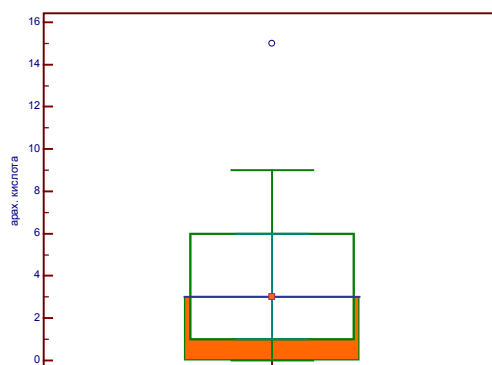


Рисунок 3.1. Показатель амплитуды агрегации тромбоцитов при индукции арахидоновой кислотой 500 мкМ на фоне противовоспалительной терапии.

Примечание. По оси абсцисс – амплитуда агрегации (%), по оси ординат – частота регистрации данного уровня агрегации.

Применение НПВС приводит к ограничению фазы дегрануляции и генерации TxA_2 – сильного паракринного регулятора. Исследователями ранее было доказано наличие феномена резистентности Тц к антиагрегантной терапии [168]. Причины сохранения гиперактивности Тц на фоне применения НПВС активно изучаются [112]. Однако не до конца изучены механизмы гипореактивного статуса Тц. Требование к анализу гипофункции Тц возникает при необходимости оценки риска развития кровотечений, в том числе в

периооперационном периоде. Одним из критериев эффективного применения НПВС является наличие гипореактивности Тц при индукции агрегации АДФ 5,0 мкМ. Выбор данного агониста оправдан тем, что на поверхности Тц экспрессированы два типа пуринорецепторов P2Y₁ (G_q) и P2Y₁₂ (G_i).

Использование АДФ позволяет активировать внутриклеточные сигнальные пути, ассоциированные с: G_q-белком → ФЛС_β (фосфолипаза C_β), ИЗФ и ДАГ → мобилизация ионов Ca⁺² → синтез ТхА₂, централизация гранул, изменение формы → активация ПКС → дегрануляция, экспозиция рецепторов для фибриногена GPIIb-IIIa → необратимая агрегация; G_i-белком → ингибирование аденилатциклазы (АЦ) и активация SFK (Lyn) → активация ФИЗФ → потенцирование секреции гранул, активация рецепторов для фибриногена.

За счет этих механизмов АДФ является ауто- и паракринным активатором для Тц, что позволяет его использовать в качестве индикатора снижения функциональной активности Тц при ограничении сигнализации с G_i- и G_q-связанных сигнальных путей. Всем пациентам на амбулаторном и госпитальном этапе с целью купирования болевого синдрома и воспалительного процесса в МВП были введены НПВС, что регламентирует клинический протокол при манифестной клинике МКБ – почечной колике [18]. Ожидаемо наличие медикаментозного ингибирования агрегационного потенциала Тц в исследуемой группе пациентов. Однако при оценке функционального статуса Тц регистрировалась гетерогенная амплитуда агрегации на АДФ 5 мкМ. Ответ Тц на ЕС₅₀ считали гипореактивным при регистрации амплитуды агрегации менее 45 %, гиперактивным при показателе более 55 % и нормореактивным при диапазоне 50 ± 5 % амплитуды агрегации.

Пациенты с уролитиазом на этапе консервативного лечения были разделены на 2 группы (Рисунок 3.2).

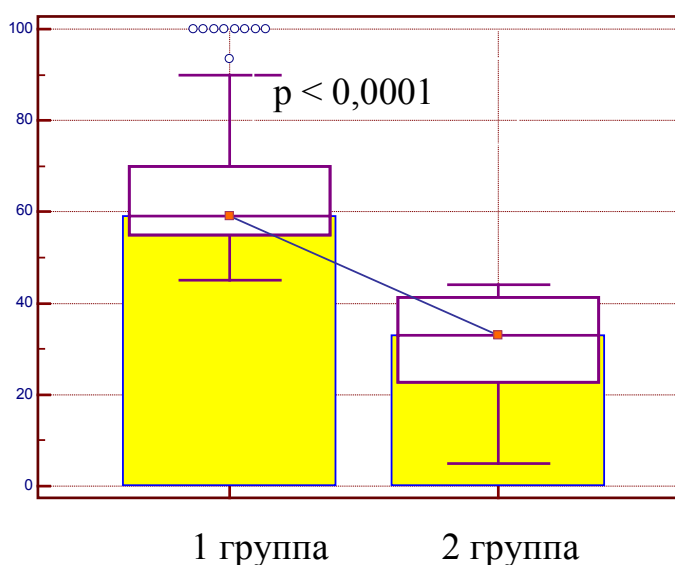


Рисунок 3.2. Показатели амплитуды агрегации тромбоцитов на АДФ 5 мкМ при различной пуринореактивности на этапе госпитализации.

Примечание. По оси абсцисс – амплитуда агрегации (%), по оси ординат – частота регистрации данного уровня агрегации, p – показатель достоверности различия с 1 группой по критерию Манна-Уитни.

1 группа – 57 % ($n = 70$) пациентов при амплитуде агрегации на АДФ 5 мкМ более или равно 45 % – нормо- и гиперпуринореактивные Тц. Сохранение реактивности Тц при индукции АДФ 5 мкМ $59 \pm 2,99$ % (95 % ДИ 57-65 %) на фоне противовоспалительной терапии является проявлением резистентности к НПВС.

Устойчивость тромбоцитов к НПВС можно классифицировать как лабораторное или клиническое явление [99]. Изучены такие механизмы устойчивости к антитромбоцитарным препаратам как снижение биодоступности препарата из-за плохой абсорбции, одновременный прием нескольких противовоспалительных лекарственных средств (например, ибупрофена, индометацина, ГКС, антибиотикотерапия), генетические полиморфизмы, альтернативные пути активации и ускоренная элиминация Тц [202]. Механизмами, которые вызывают повышенную реактивность Тц и устойчивость к антитромбоцитарной терапии, являются активация агрегации через независимые от ЦОГ-1-ТхА₂ или P2Y₁₂ – G_i внутриклеточного сигнального пути

при провоспалительном эффекте со стороны лейкоцитов [226]. По литературным данным частота регистрации резистентности к НПВС составляет от 5 до 60 % [99, 202, 226].

2 группа – 43 % ($n = 52$) при регистрации амплитуды агрегации Тц на АДФ 5 мкМ менее 45 % (гипопуринореактивность) – $33 \pm 2,15$ % (95 % ДИ 28-38 %), $p < 0,0001$. Такой результат подтверждает эффективное применение НПВС с ингибированием ЦОГ-1.

К причинам гипореактивности Тц можно отнести:

2) Генетически детерминированное индивидуальное снижение сенситивности рецепторного аппарата, и положительная регуляция системы ограничения тромбогенеза АЦ-цАМФ-ПКА.

3) Снижение взаимоактивации сигнальных эффектов с привлечением ФЛС и ее нисходящего каскада с реализацией потенцирования.

4) Изменение провоспалительной активации за счет цитокиновых и нейрогуморальных механизмов регуляции воспалительной реакции при ХОПН.

5) Применение противовоспалительной терапии – снижение продукции TxA_2 .

В условиях резистентности Тц к НПВС (1 группа) при МКБ определялась взаимомодулирующая роль агонистов в агрегации Тц. Корреляционный анализ (Таблица 3.1) позволил установить прямую связь средней силы между адреналином 5 мкМ (G_i) и серотонином 10 мкМ (G_q) ($p < 0,0023$), адреналином 5 мкМ (G_i) и АДФ 5 мкМ (G_i и G_q) ($p < 0,0001$), адреналином 5 мкМ (G_i) и ФАТ 150 мкМ (G_q) ($p = 0,0002$). Такой результат подтверждает регулируемую роль САС в агрегации Тц.

Таблица 3.1

**Корреляционные связи между эффектами разных агонистов
на агрегацию тромбоцитов при МКБ на этапе госпитализации в 1 группе**

Показатели (мкМ) r, p	Адреналин 5,0	АДФ 5,0	Серотонин 10	ФАТ 150
Адреналин 5,0		0,540 < 0,0001	0,552 0,0023	0,696 0,0002
АДФ 5,0	0,540 < 0,0001		0,272 0,1618	0,121 0,5834
Серотонин 10,0	0,552 0,0023	0,272 0,1618		0,482 0,172
ФАТ 150	0,696 0,0002	0,121 0,5834	0,482 0,172	

Примечание. r – коэффициент корреляции Спирмена.

Во 2 группе с гипопуринореактивностью Тц эффект взаиморегуляции индукторов агрегации снижается (Таблица 3.2). Прямая корреляционная связь средней силы регистрировалась между АДФ (G_i и G_q) и ФАТ (G_q) ($p = 0,05$), и сильной силы между адреналином (G_i) и серотонином (G_q) ($p = 0,0066$).

Таблица 3.2

**Корреляционные связи между эффектами разных агонистов
на агрегацию тромбоцитов при МКБ на этапе госпитализации во 2 группе**

Показатель (мкМ) r, p	Адреналин 5,0	АДФ 5,0	Серотонин 10,0	ФАТ 150
Адреналин 5,0		-0,040 0,802	0,734 0,0066	0,185 0,3759
АДФ 5,0	-0,040 0,8029		-0,458 0,1341	0,389 0,0547
Серотонин 10,0	0,734 0,0066	-0,458 0,1341		0,581 0,181
ФАТ 150	0,185 0,3759	0,389 0,05	0,581 0,181	

Примечание. r - коэффициент корреляции Спирмена.

Несмотря на ингибирование ЦОГ-1 в Тц роль провоспалительных медиаторов в регуляции протромбогенного потенциала сохраняется.

3.2. Механизмы влияния НПВС на агрегацию тромбоцитов

Прием НПВС приводит к ингибированию ЦОГ-1,2 и генерации метаболитов арахидоновой кислоты, в том числе TxA_2 , оказывая противовоспалительное и антиагрегантное действие. Однако какие механизмы лежат в основе различной реактивности Тц на фоне приема НПВС остаются не до конца изученными.

Проблема индивидуальной реактивности Тц обсуждается всякий раз, когда консервативная терапия, направленная на ограничение тромбогенеза, оказывается малоэффективной. Недостаточно известно о фенотипе гипореактивных Тц, который характеризуется низким ответом Тц *in vitro* на основные агонисты при сохранении гемостаза на физиологическом уровне [1]. Наиболее часто феномен гипофункции Тц связывают с фармакологическим ингибированием [31, 34, 35]. Оптимальным решением было бы определить механизмы, которые вызывают адаптационную реакцию организма и характеристики соответствующих клеток крови на агонисты *in vitro*. Можно предположить, что изменение уровня катехоламинов в крови в предоперационном периоде МКБ модулирует реакцию Тц *in vitro*, которая в конечном счете и определяет стационарное состояние первичного звена гемостаза.

В качестве объяснения изменения реакции Тц на адреналин можно предположить повышение активности САС при прохождении конкремента. Как известно, этапы активации Тц и формирования агрегатов (инициация, прогрессирование и стабилизация) находят отражение в процессе регистрации индуцированной агонистом агрегации в виде кривой – агрегатограммы [176, 200]. Ранее было установлено, что НПВС подавляют вторую волну агрегации при введении АДФ и адреналина, однако при описании агрегатограмм количественные критерии первой и второй фаз агрегации на сегодняшний день отсутствуют [170].

Перспективным считается использование теста *in vitro* с Тц, позволяющего оценить чувствительность α_{2A} - и β_2 -адренорецепторов по амплитуде агрегации Тц.

Исследование параметров агрегационных кривых расширяет возможности оценки функциональной активности Тц. Введение дополнительных показателей детализирует этапы агрегации Тц. В качестве эталона анализа, мы использовали EC_{50} адреналина (Рисунок 3.3). Пороговая концентрация адреналина, введенная в суспензию Тц в контрольной группе, индуцировала регистрацию двухволновой необратимой агрегатограммы, что подтверждают результаты других исследователей [74, 170, 200, 222].

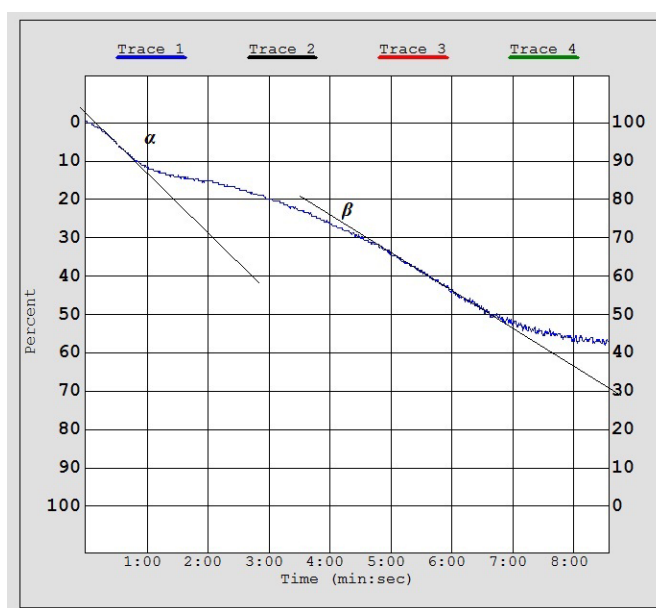


Рисунок 3.3. Пример агрегатограммы (угол α и угол β) в группе контроля при индукции тромбоцитов адреналином 5 мкМ.

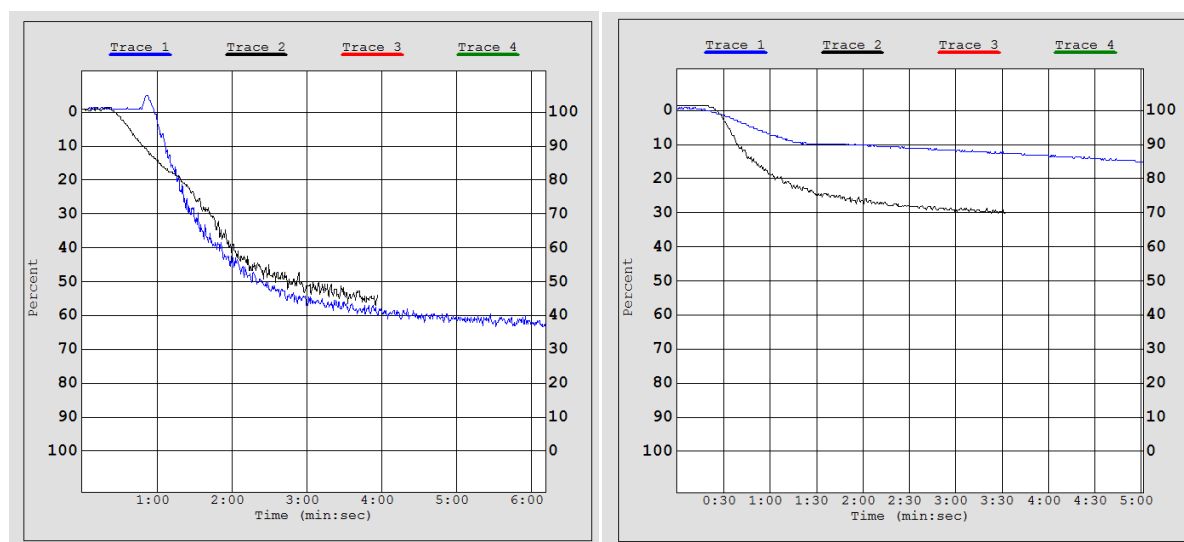
Адреналин является слабым агонистом агрегации, однако на поверхности Тц экспрессированы α_{2A} -адренорецепторы, которые принимают активное участие в потенцировании эффектов других лигандов [1, 9]. Активация α_{2A} -адренорецептора, ассоциированного с G_{ai} , вызывает ингибирование агрегации Тц и снижение образования цАМФ в первую очередь за счет ограничения мобилизации Ca^{2+} [111, 200]. При всем спектре рецепторов механизм активации Тц связан с повышением внутриклеточного уровня Ca^{2+} .

Добавление адреналина 5,0 мкМ в контрольной группе индуцирует двухволновую (двухфазную) агрегационную кривую с достижением максимального % светопропускания в богатой Тц плазме на уровне $44 \pm 7,11\%$ без регистрации изменения формы Тц. Для анализа механизмов гипoadренореактивности были использованы параметры агрегатограмм, рассчитанные автоматически при помощи агрегометра, и для детализации 1 и 2 фаз агрегации введены дополнительные показатели угол α и угол β и скорость наклона для первой ($\text{tg } \alpha$) и второй ($\text{tg } \beta$) волн агрегации.

В физиологических условиях адреналин и АДФ представляют собой паракринный и системный регуляторы активности Тц и отражают реактивность организма [173, 175, 199].

При анализе эффектов индукторов пациенты были разделены на группы в зависимости от агрегационного ответа на диады агонистов АДФ и адреналин.

Рисунок 3.4 демонстрирует, что при различной пуринореактивности Тц агрегатограмма, индуцированная адреналином 5 мкМ, сохраняет двухфазный характер.



1 группа

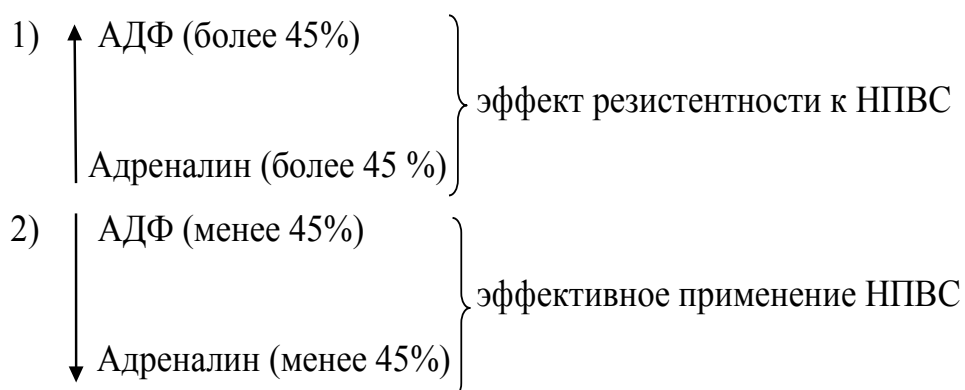
Резистентность Тц к НПВС

2 группа

Эффективное применение НПВС

Рисунок 3.4. Примеры агрегационных кривых с различной пуринореактивностью у пациентов с МКБ на фоне консервативной терапии.

Два варианта реактивности Тц определяются при сочетанном анализе диады агонистов:



В 1 группе активность Тц была выше для АДФ 5,0 мкМ ($51,5 \pm 2,96$ vs $59 \pm 2,99$ %; $p = 0,003$) и не имела различий для адреналина 5,0 мкМ ($44 \pm 7,11$ vs $48 \pm 4,66$ %, $p \geq 0,05$) по сравнению с показателями контрольной группы. Такой результат свидетельствует о резистентности Тц к ингибиторам ЦОГ-1.

2 группа является отражением эффективного применения НПВС со снижением функционального ответа Тц, индуцированного как EC_{50} АДФ ($33 \pm 2,15$ %, $p < 0,0001$), так и адреналином ($18 \pm 4,64$ %, $p = 0,0001$) по сравнению с группой контроля.

Сравнение показателей агрегатограмм пациентов с различной реактивностью Тц (Таблица 3.3) позволило установить нормореактивный уровень амплитуды агрегации на EC_{50} адреналин $48 \pm 4,66$ % в 1 группе. Интересен тот факт, что адренореактивность в 1 группе имела сильную прямую корреляционную связь с наклоном кривой (скоростью формирования агрегатов) $r = 0,836$ ($p < 0,0001$), площадью под кривой $r = 0,847$ ($p < 0,0001$). Из дополнительно введенных параметров амплитуда агрегации имела сильную прямую корреляционную связь с величиной угла β и скоростью наклона второй волны ($\tan \beta$) $r = 0,792$ ($p < 0,0001$).

В 1 группе сохраняется функциональная активность Тц на EC_{50} адреналин и АДФ (амплитуда агрегации ≥ 45 %) на фоне приема ингибиторов ЦОГ за счет

преимущественного влияния на формирование тромбоцитарных агрегатов фазы дегрануляции (угол β и $\text{tg } \beta$).

Во 2 группе – фенотип гипoadренореактивных и гипопуринореактивных Тц, максимальная амплитуда агрегации, индуцированная адреналином 5 мкМ, составила $18 \pm 4,64$ % и была ниже в 2,7 раза 1 группы ($p < 0,0001$). Механизм снижения реактивности Тц при индукции агрегации адреналином 5 мкМ в данной группе ассоциирован со снижением в 2 раза скорости агрегации ($13 \pm 1,00$ %/мин) при $p < 0,0001$; пролонгации времени связывания агонист-рецептор в 1,7 раз (Lag-время $19 \pm 2,11$ сек. vs $11,5 \pm 2,2$ сек., $p = 0,0024$); уменьшением площади под кривой в 1,95 раз по сравнению с 1 группой резистентных к НПВС Тц ($p = 0,0075$). При детализации по двум волнам агрегации эффективное применение НПВС приводило к достоверному снижению в 1,5 раза показателей угла α ($p = 0,0367$) и в 2,76 раз угла β ($p < 0,0001$) по сравнению с 1 группой.

Таблица 3.3

**Параметры агрегационных кривых при индукции адреналином 5 мкМ
у пациентов с различной реактивностью тромбоцитов**

Показатели агрегатограмм Me $\pm$ m (95% ДИ)	1 группа	2 группа	p
Амплитуда агрегации, %	48 $\pm$ 4,66	18 $\pm$ 4,64	$p < 0,0001$
Скорость (Slope), %/мин	26 $\pm$ 6,654 (20-33)	13 $\pm$ 1,00 (11-15)	$p < 0,0001$
Lag-время, сек	11,5 $\pm$ 2,2 (8-14)	19 $\pm$ 2,11 (14-20)	$p = 0,0024$
Площадь под кривой, % $\times$ мин	108,45 $\pm$ 19,87 (83,5-155,1)	55,7 $\pm$ 10,77 (40-82,2)	$p = 0,0075$
Угол α	44,5 $\pm$ 5,354 (35-53)	29,5 $\pm$ 6,135 (22-39)	$p = 0,0367$
tg угла α	0,985 $\pm$ 3,234 (0,7-1,33)	0,57 $\pm$ 3,23 (0,4-0,81)	$p = 0,0367$
угол β	58 $\pm$ 6,56 (44-73)	21 $\pm$ 4,03 (14-31)	$p < 0,0001$
tg угла β	1,6 $\pm$ 0,61 (0,97-3,27)	0,38 $\pm$ 0,096 (0,25-0,6)	$p < 0,0001$

Примечание. p – демонстрирует достоверность различий по критерию Манна-Уитни.

Адренореактивность в данной группе зависела от наклона кривой $r = 0,718$ ($p = 0,0002$) и площади под кривой $r = 0,882$ ($p < 0,0001$). В свою очередь на наклон кривой влияли показатели угла α $r = 0,487$ ($p = 0,0217$), который имел прямую связь со скоростью второй волны агрегатограммы $r = 0,664$ ($p = 0,005$). Несмотря на гипореактивность, регистрировалась связь между показателями 1 (угол α) и 2 (угол β) фазы агрегации $r = 0,664$ ($p = 0,005$).

Во 2 группе механизм гипореактивности Тц ассоциирован как с супрессией рецептор-опосредованной фазы активации («outside-in»), так и фазы дегрануляции («insite-out») и поддержанием сопряженности внутриклеточных сигнальных систем.

Достоверные различия определялись между двумя группами с различной реактивностью Тц на диаду агонистов АДФ и адреналин ЕС 50 на фоне приема НПВС в интегративных показателях (Рисунок 3.5) – снижение максимальной амплитуды агрегации, площади под кривой, скорости формирования агрегатов (наклоне кривой) и увеличением лаг-фазы (времени активации рецептор-агонист).

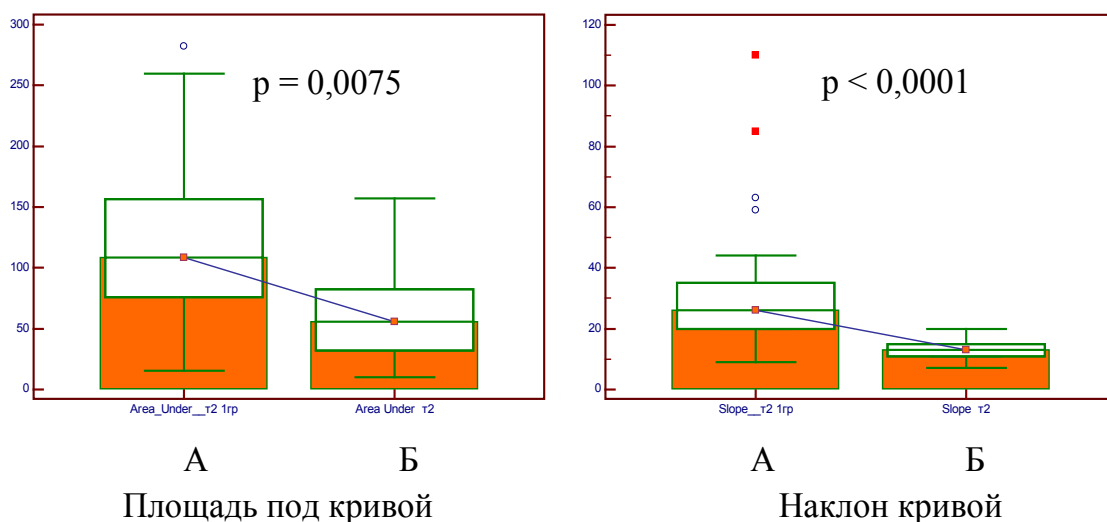


Рисунок 3.5. Различия в параметрах агрегационной кривой, индуцированной адреналином 5 мкМ.

Примечание. По оси абсцисс – показатель агрегационной кривой А – 1 группа, Б – 2 группа, по оси ординат – частота регистрации данного показателя. p – показатель достоверности различия по критерию Манна-Уитни.

Эффективное применение НПВС приводит к снижению угла α ($p = 0,037$) и β ($p < 0,0001$) и скорости наклона для первой ($\tan \alpha$) и второй ($\tan \beta$) волн агрегатограммы (Рисунок 3.6).

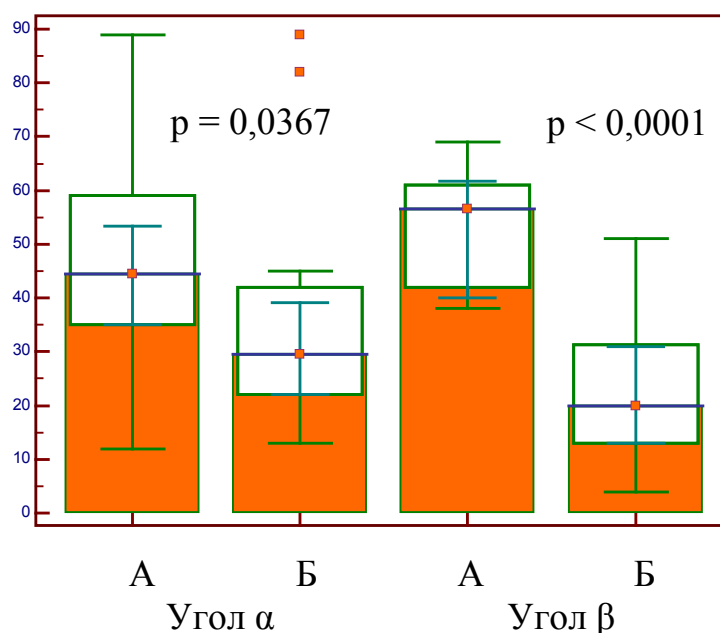


Рисунок 3.6. Различия в дополнительных параметрах агрегационной кривой, индуцированной адреналином 5 мкМ.

А – 1 группа, Б – 2 группа.

Примечание. По оси абсцисс – показатель агрегационной кривой, по оси ординат – частота регистрации данного показателя. p – показатель достоверности различия по критерию Манна-Уитни.

Для анализа эффективного ингибирования ЦОГ-1 в Тц необходима регистрация гипореактивности на EC_{50} нескольких агонистов (адреналин и АДФ).

Раздельный расчет углов α и β позволил детализировать изменения в механизмах, обеспечивающих инициацию агрегации (этап «outside-in») и дегрануляцию с экспозицией рецепторов к фибриногену (этап «inside-out») на фоне медикаментозного ингибирования Тц у пациентов с уролитиазом на этапе госпитализации.

3.3. Изменение амплитуды агрегации на провоспалительные медиаторы при различной адрено- и пуринореактивности тромбоцитов

Функциональный ответ Тц в 1 группе по данным таблицы 3.4 регистрировался на нормореактивном уровне при стимуляции ФАТ 150 мкМ ($49,5 \pm 9,59$ %) и гипореактивном ($24 \pm 8,6$ %) на серотонин 10 мкМ.

Во 2 группе индуцированная агрегация Тц на ФАТ и серотонин определялась на гипореактивном уровне и была ниже показателей 1 группы соответственно в 3,5 ($p = 0,03$) и 6 раз ($p = 0,02$).

Таблица 3.4

Показатели амплитуды агрегации тромбоцитов на провоспалительные медиаторы при различной реактивности Тц на ЕС₅₀ АДФ и адреналин при консервативной терапии уролитиаза

Амплитуда агрегации, % Me $\pm$ m (95% ДИ)	1 группа	2 группа	p
ФАТ 150 мкМ	49,5 $\pm$ 9,59 (12-56)	14 $\pm$ 4,08 (10-28)	p = 0,03
Серотонин 10,0 мкМ	24 $\pm$ 8,59 (3-45)	4 $\pm$ 2,65 (0-9)	p = 0,02

Примечание. p – показатель достоверности различия с 1 группой по критерию Манна-Уитни.

Наличие феномена ингибирования агрегации Тц на АДФ и адреналин на фоне применения НПВС ограничивает возможность Тц участвовать в воспалительном ответе. Как известно, Тц являются основным источником серотонина в периферической крови. Протромбогенная реакция на этот нейрогуморальный медиатор опосредована мембранными рецепторами 5-гидрокситриптамина (5-НТ₂) на поверхности Тц и связана с G_q-белком – ИЗФ и ДАГ [1]. Повышение концентрации серотонина при дегрануляции Тц активирует хемотаксис лейкоцитов и вазоконстрикцию [23]. В свою очередь, главным и

одним из сильных провоспалительных активаторов Тц является ФАТ (G_q), который образуется в лейкоцитах при их активации [66]. Введение в суспензию гипопурино- и гипoadренореактивных Тц ФАТ и серотонина в EC_{50} воспроизводит кривую с максимальной амплитудой агрегации менее 50% и подтверждает эффективность ингибирования ЦОГ-1 в Тц при приеме НПВС. Такой результат говорит о том, что гипореактивность Тц на фоне приема НПВС приводит к снижению провоспалительного потенциала Тц.

3.4. Анализ эффекта ко-активации при различной реактивности тромбоцитов

В ряде исследований доказан феномен остаточной реактивности Тц при сочетанной активации нескольких рецепторов [60, 99, 168]. Исследование возможности повышения протромбогенного потенциала при гипореактивности Тц является перспективным и заслуживает внимания при риске развития кровопотери.

Сигнальные пути, которые запускаются с нескольких рецепторов (ассоциированных с разными G-белками), имеют общие сигнальные молекулы и носят перекрестный характер активации [51, 132, 175, 212].

Эффективное применение НПВС и снижение проагрегантного потенциала Тц на пороговые концентрации адреналина и АДФ приводят к повышению риска развития периоперационной гематурии (Рисунок 3.7).

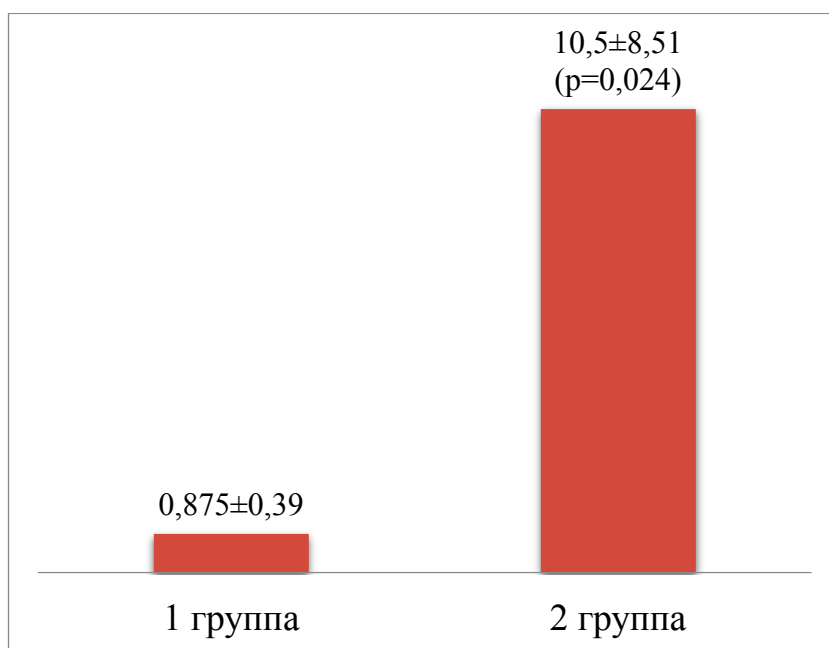


Рисунок 3.7. Показатель выраженности гематурии при различной реактивности тромбоцитов на этапе госпитализации.

Примечание. По оси абсцисс – эритроцитурия × 10³/мл, по оси ординат – частота регистрации данного уровня гематурии, p – показатель достоверности различия с 1 группой по критерию Манна-Уитни.

Гематурия в 1 группе не превышала нормативный показатель более 1000 Эр/мл и составила 0,875 ± 0,39 (95%ДИ 0,25-1,75)×10³/мл. Однако во 2 группе выраженность кровопотери была в 12 раз больше 1 группы и составила 10,5 ± 8,51 (95%ДИ 2,25-27,5)×10³/мл, p = 0,024. Данный результат говорит о влиянии гипореактивного статуса Тц на выраженность гематурии на дооперационном этапе лечения уролитиаза.

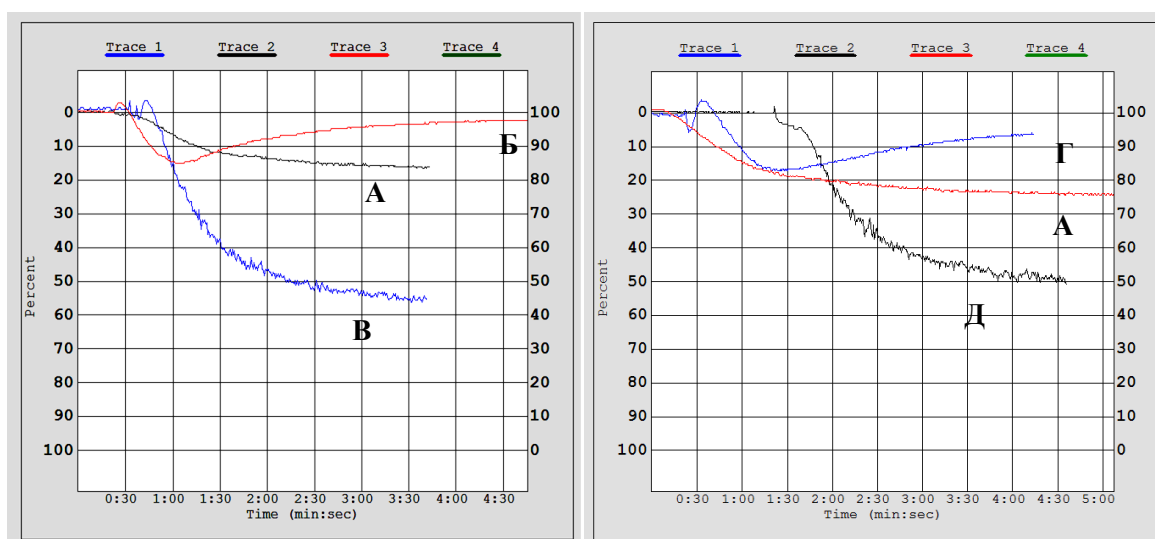
Различий в показателях коагулограммы перед проведением ЛТ (Таблица 3.5) в исследуемых группах не было зарегистрировано. Такой результат исключает влияние на гематурию нарушений со стороны вторичного звена гемостаза.

**Характеристика показателей коагулограммы пациентов с МКБ
на этапе госпитализации при различной реактивности тромбоцитов**

Переменная	1 группа	2 группа
ПТВ, 14-18,5 сек.	15,2±1,09 (14-17,5)	16,1±4,13 (15,2-17,2)
ПТИ, 75-105%	95,8±3,14 (87,3-101,4)	95,1±4,85 (89,5-100)
МНО, 0,7-1,25	1,05±0,04 (0,99-1,18)	1,04±0,02 (1-1,12)

Примечание. Протромбиновое время (ПТВ), протромбиновый индекс (ПТИ) и международное нормализованное отношение (МНО).

Регуляция функции Тц может обеспечиваться вполне определенным сочетанием агонистов. Взаимодействие АДФ-адреналина, и ФАТ-адреналина традиционно рассматривается как механизм потенцирования функциональной активности Тц (Рисунок 3.8).



**Рисунок 3.8. Эффект потенцирования у пациента с МКБ на этапе
госпитализации.**

Примечание. А – адреналин 0,1 мкМ, Б – АДФ 0,5 мкМ, В – АДФ 0,5 + адреналин 0,1 мкМ; Г – ФАТ 30 мкМ, Д – ФАТ 30+адреналин 0,1 мкМ.

Суть механизма в том, что эффекты адреналина и АДФ реализуются через один и тот же сигнальный путь $G_i - Akt$, хотя при этом активируются разные

рецепторы – соответственно α_2 -адренорецептор и пуриновый рецептор – P2Y₁₂. Исследование этой пары агонистов *in vitro* позволит оценить взаимодействие гуморального и аутокринного механизмов регуляции Тц, что является одним из факторов для прогнозирования гематурии до проведения ЛТ. Действие агонистов адреналин и ФАТ не имеют общего сигнального пути. Однако ряд исследователей подтверждают наличие ко-активации между ФАТ-рецепторами (G_q) и α_{2A} -адренорецепторами (G_i) [91, 112].

Выявленное сочетание сигналов агонистов, каждый из которых может вызывать повышение/снижение реакции Тц, отражает индивидуальную реактивность организма. Анализ эффектов адреналина – АДФ и адреналина – ФАТ до ЛТ позволяет предположить, что выраженность и длительность гематурии связана с сохранением имеющихся нарушений гуморального, аутокринного и провоспалительного механизмов регуляции функции Тц. К возможным факторам риска гематурии можно отнести отсутствие положительной динамики реакции гипореактивных Тц на ЕС₁₀ АДФ + адреналин и ФАТ + адреналин до ЛТ (Таблица 3.6).

Таблица 3.6

Сравнительная характеристика эффекта потенцирования у пациентов с различной адрено- и пуринореактивностью тромбоцитов

Показатели	1 группа	2 группа	
АДФ 0,5 мкМ	30,9±4,8 (26-61)	6,5±2,71 (4-14)	p < 0,0001
Адреналин 0,1 мкМ	11±11,24 (5-52)	7,5±5,07 (3-25)	p ≥ 0,05
ФАТ 30 мкМ	18±16,43 (2-100)	8±3,51 (1-16,1)	p = 0,1022
ФАТ 30 + Адреналин 0,1мкМ	30,8±16,13 (22-47)	5±2,52 (1-12)	p = 0,0039
АДФ 0,5 + Адреналин 0,1мкМ	61±7,85 (45-75)	27±3,87 (11-37)	p = 0,0001

Примечание. p - демонстрирует достоверность различий по сравнению с 1 группой по критерию Манна-Уитни.

В 1 группе гипер- и нормореактивных Тц на АДФ 5 мкМ и адреналин 5мкМ при одновременном введении в суспензию Тц адреналина 0,1 + АДФ 0,5 мкМ и адреналина 0,1 + ФАТ 30 мкМ эффект потенцирования сохранялся несмотря на введение НПВС, что еще раз служит доказательством резистентности данной группы к ингибиторам ЦОГ-1.

Во 2 группе с гипопурино- и гипoadренореактивностью Тц достоверно был снижен проагрегантный потенциал Тц на EC_{10} АДФ по сравнению с 1-й группой при $p < 0,0001$. Реакция Тц на EC_{10} адреналин и ФАТ была сопоставима с группой сравнения. Взаимоактивация АДФ + адреналин при EC_{10} снижалась в 2,26 раза ($p = 0,0001$) и в 6,16 раз ($p = 0,0039$) на ФАТ + адреналин по сравнению с 1 группой (Рисунок 3.9).

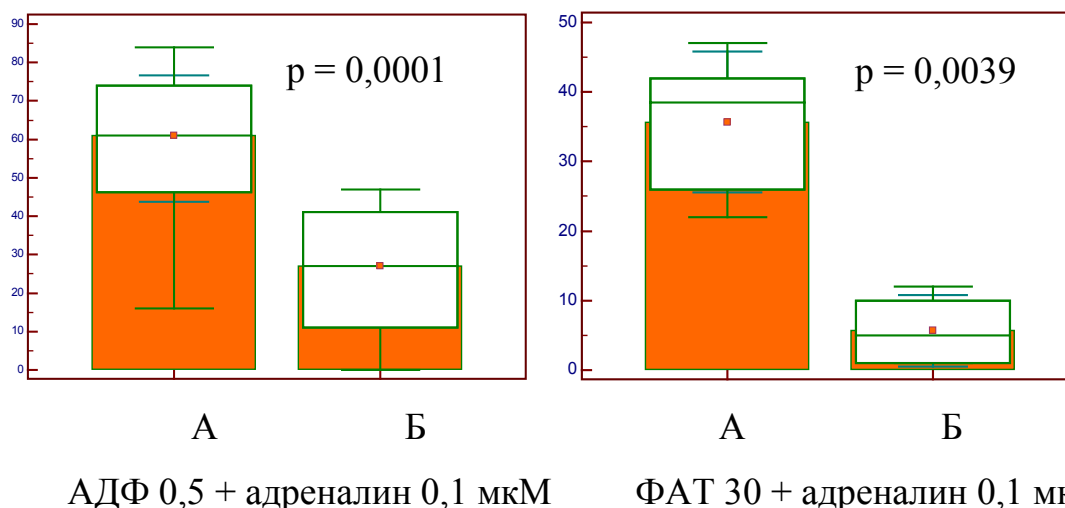


Рисунок 3.9. Сравнительная характеристика реализации эффектов потенцирования у пациентов на фоне приема НПВС.

Примечание. По оси абсцисс – амплитуда агрегации (%), по оси ординат – частота регистрации данного уровня агрегации. А – 1 группа, Б – 2 группа.

Эффективное применение НПВС до оперативного лечения уролитиаза ассоциировано с гипореактивным статусом Тц на протромбогенные и провоспалительные агонисты, которые имеют связь с ограничением параметров рецептор-агонист («outside-in») фазы активации и этапа дегрануляции («inside-out») по данным агрегатограмм, а также снижением эффекта потенцирования,

что является одним из факторов риска повышения выраженности гематурии в предоперационном периоде.

Основные положения данной главы представлены в следующих работах:

1. Барінов, Е.Ф. Патогенез хронічного обструктивного пієлонефриту: реактивність тромбоцитів / Е.Ф. Барінов, А.Н. Кравченко, Т.О Твердохліб // Актуальні питання експериментальної та клінічної патофізіології: Програма VI пленуму наукового товариства патофізіологів України та науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів. – Вінниця, 2014. – Т. 18, № 2. – С. 485-489.
2. Пуриновые рецепторы и сопряженные внутриклеточные сигнальные системы в регуляции функции тромбоцитов / Э.Ф. Баринов, О.Н. Сулаева, Н.Н. Канана, Т.А.Твердохлеб // Кардиология. – 2014. – № 2. – С.56-62.
3. Гендерные особенности лейкоцитопоза при хроническом обструктивном пиелонефрите / Э.Ф. Баринов, А.Н. Кравченко, Т.А. Твердохлеб, А.О. Балыкина // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – Донецк, том 15, №2, 2014. – С. 258-260.
4. Терещук, Б.П. Реактивность тромбоцитов при назначении НПВП у пациентов с хроническим обструктивным пиелонефритом / Б.П. Терещук, Т.А. Твердохлеб, О. И. Николенко // XIV-е чтения В.В. Подвысоцкого: материалы конференции. – Одесса: Укр НИИ медицины транспорта, 2015. – С.202.
5. Сенситивность альфа-2 адренорецепторов тромбоцитов у здоровых индивидуумов / Э.Ф. Баринов, С. Мамедалиева, Т.А. Твердохлеб [и др.] // Сборник материалов III Международного конгресса «Медицина транспорта». – 2015. – Одесса: Укр НИИ медицины транспорта, 2015. – С. 34-35.
6. Информативность показателей агрегатограммы для трактовки механизмов формирования агрегатов / Э.Ф. Баринов, Т.А. Твердохлеб, А.Н. Кравченко [и др.] // Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції: тези доповідей VII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (5-7 жовтня 2016 р.). – Х.: Вид-во НФаУ, 2016. – С. 37.

7. Твердохлеб Т.А. Механизмы реализации индивидуальной адренореактивности тромбоцитов // Фундаментальная наука и клиническая медицина: Тезисы XIX Международной медико-биологической конференции молодых исследователей: материалы – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2016. – С. 555-556.

ГЛАВА 4

ВЛИЯНИЕ ОПЕРАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ УРОЛИТИАЗА НА ВЫРАЖЕННОСТЬ ГЕМАТУРИИ И АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ

4.1. Результаты клинико-инструментального обследования пациентов с уролитиазом в послеоперационном периоде

Малоинвазивное оперативное лечение уrolитиаза характеризуется низким числом послеоперационных осложнений от 3-10%, из которых наиболее тяжелыми являются кровотечение и уросепсис [52, 54, 62].

Своевременная диагностика и поиск оптимальных маркеров идентификации рецидива воспалительного процесса и кровопотери остаются актуальными в урологической практике и на сегодняшний день [6]. В связи с этим возникает необходимость оценки нескольких точек исследования – первые часы (1-6 часов) после ЛТ – период развития ранних послеоперационных осложнений, из которых наибольшую опасность представляет кровопотеря как результат катаболической фазы оперативного лечения [15]. Период через 24 часа после ЛТ представляет интерес как анаболическая фаза послеоперационного периода и позволяет оценить компенсаторно-приспособительные реакции организма в условиях различной выраженности гематурии и возможной инициации воспалительного процесса [17, 21].

На сегодняшний день с целью профилактики и купирования фазы рецидива ХОПН после оперативного лечения применяется комплексная противовоспалительная терапия (НПВС, ГКС, антибиотикотерапия). Однако риск нежелательных эффектов вводимых препаратов, к которым относится снижение функциональной активности Тц, уходит из внимания специалистов.

В ходе исследования 122 пациентам было проведено оперативное малоинвазивное лечение уrolитиаза – контактная ультразвуковая ЛТ. Из них 10 пациентам ЛТ была выполнена в 2 этапа с предварительным дренированием

мочевыводящих путей из-за развития критического блока почки и необходимости предоперационной консервативной терапии с целью купирования острой фазы ХОПН.

Ретроградный вид оперативного доступа был преобладающим при проведении ЛТ 76,2%, $p < 0,001$ (Рисунок 4.1): КНЛТ, ($n = 38$), КУЛТ ($n = 51$), контактная нефроуретеролитотрипсия (КНУЛТ, $n = 4$). Антеградный вид оперативного доступа – антеградная контактная нефроуретеролитотрипсия (АКНУЛТ) – был выполнен 29 пациентам.

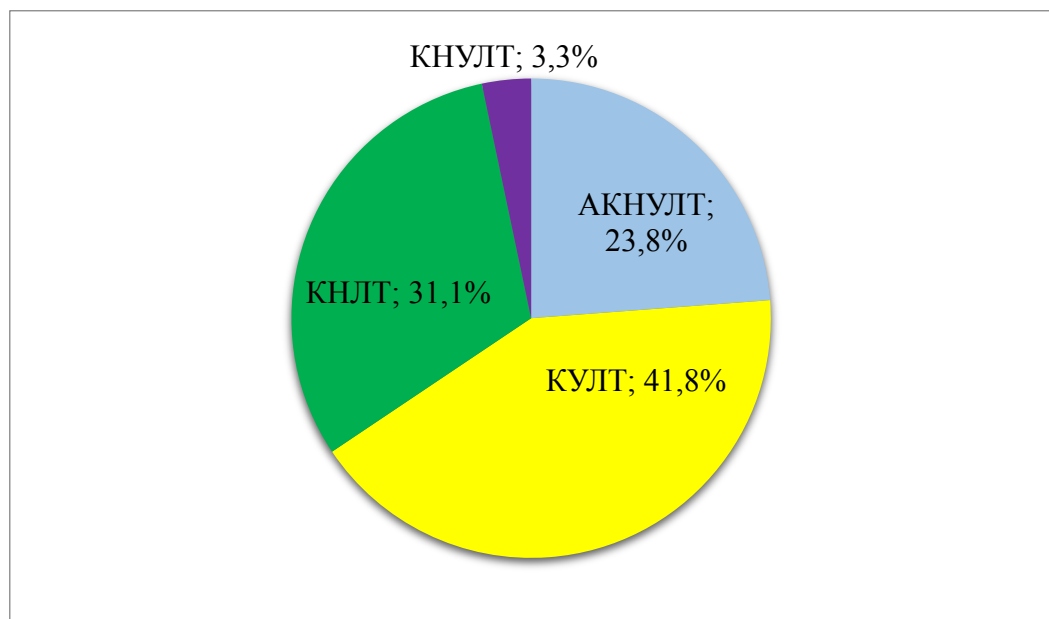


Рисунок 4.1. Распределение пациентов с МКБ по виду оперативного лечения.

Определение выраженности гематурии после оперативного лечения уролитиаза оправдано тем, что в ряде случаев кровопотеря после ЛТ требует консервативной и оперативной коррекции. На сегодняшний день «золотым стандартом» купирования урологических кровотечений является высокоселективная эмболизация поврежденного сосуда [47].

К наиболее вероятным причинам повышения выраженности послеоперационной гематурии можно отнести:

1) Вид оперативного лечения в зависимости от размера и локализации конкремента. Ряд исследователей подтверждают повышение выраженности

послеоперационной кровопотери при нахождении камня в чашечно-лоханочной системе почки при проведении АКНУЛТ и ЧПНС [41, 64, 166].

2) Наличие функционирующей дренажной системы с одной стороны связано с необходимостью восстановления уродинамики при отеке и наличии сгустков крови, но с другой стороны, является дополнительным травмирующим фактором МВП [84, 143, 149].

3) Гипореактивный статус Тц – как отражение функциональной состоятельности первичного звена гемостаза.

4) Применение консервативной противовоспалительной терапии (геомоделиция при оперативном лечении, НПВС, ГКС, антибиотикотерапия), направленной на ограничение провоспалительной функции лейкоцитов и вторичное лимитирование агрегационного потенциала Тц [31, 33, 34, 38, 103, 157].

5) Активность воспалительного процесса (фаза рецидива ХОПН) как фактор модулирующий функциональное состояние Тц и взаимосвязь системы гемостаз-воспаление.

Особого внимания заслуживает высокая вариабельность эритроцитурии у пациентов как на этапе госпитализации, так и в послеоперационном периоде.

Данный феномен является многофакторным и включает как особенности течения уrolитиаза, эффективность консервативной терапии и характер проведения оперативного лечения, так и реактивность организма в целом. В первые 1-6 часов после ЛТ число свежих эритроцитов в 1 мл мочи увеличивалось в 28,6 раз ($281,25 \pm 123,2$ (95% ДИ 110,75-475,5) $\times 10^3$ /мл) при $p < 0,0001$ по сравнению с периодом госпитализации ($9,875 \pm 7,01$ (95% ДИ 2-17) $\times 10^3$ /мл), при этом через сутки после ЛТ гематурия несколько ограничивалась и в 16,5 раз превышала дооперационный показатель $p < 0,0001$ (Рисунок 4.2).

Можно констатировать более высокую вариабельность гематурии у пациентов после оперативного лечения МКБ, которая сохраняется через 24 часа после ЛТ.

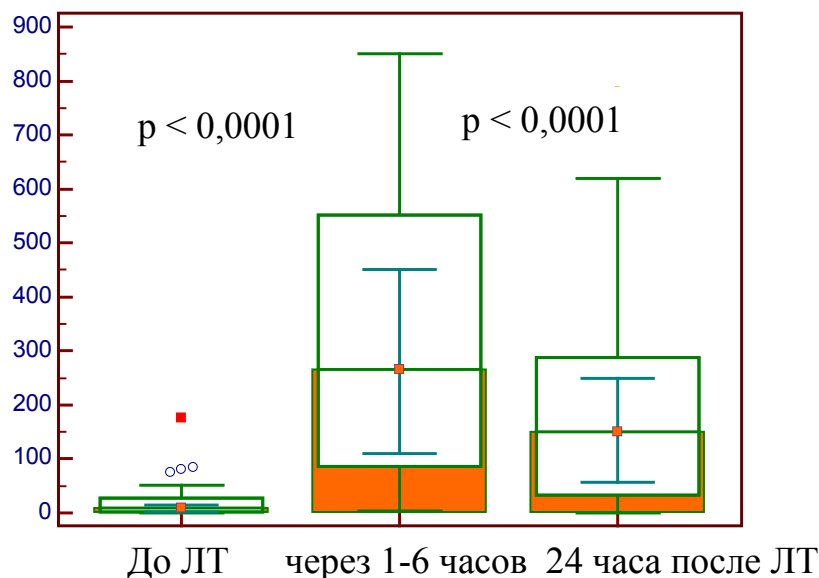


Рисунок 4.2. Выраженность гематурии по Нечипоренко (в 1 мл) на разных сроках лечения уролитиаза.

Примечание. p – демонстрирует достоверность различий по критерию Вилкоксона.

Оперативное лечение является фактором риска интенсификации гематурии, так как достоверно повышается выраженность гематурии после проведения ЛТ.

Применение послеоперационной декомпрессии МВП оправдано восстановлением уродинамики, однако наличие инородного тела на фоне рецидивирующего воспалительного процесса и травмы МВП при прохождении конкрементов может приводить к дополнительной альтерации и пролонгации гематурии.

Частота послеоперационного дренирования в урологической практике остается довольно высокой несмотря на совершенствование операционной техники.

Установка дренажных систем (стент, нефростома, стент+нефростома) потребовалась 70,5% ($n = 86$) пациентам сроком от 3 до 7 дней. У 36 пациентов было бездренажное послеоперационное ведение. При этом распределение по видам дренирования МВП было гомогенным и не имело межгрупповых

различий: нефростома (n = 33), нефростома+стент (n = 29), стент (n = 24) (Рисунок 4.3).

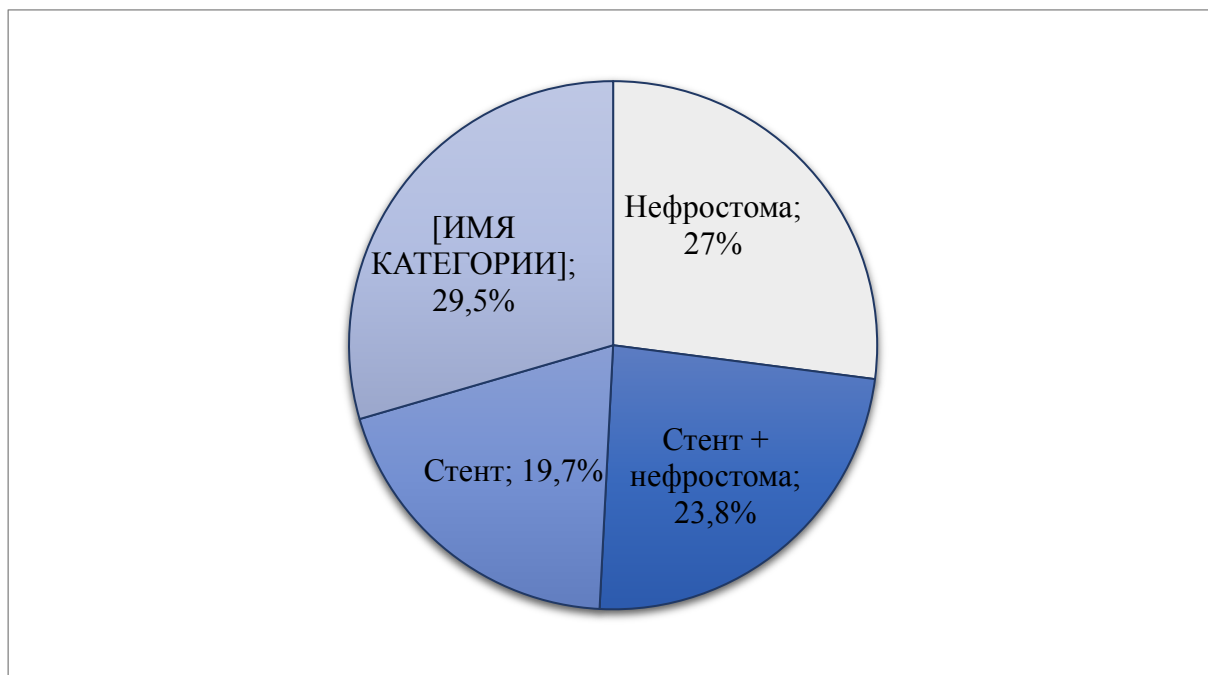


Рисунок 4.3. Распределение пациентов (в %) по виду дренажных систем в послеоперационном периоде.

Выраженность гематурии через 24 часа после ЛТ при проведении послеоперационного дренирования МВП была максимальная в группе с установленной нефростомой – $248,5 \pm 109,7$ (95% ДИ 12,5-500) $\times 10^3$ /мл, $p = 0,0196$ и одновременной установкой стента и нефростомы – $150 \pm 53,64 \times 10^3$ /мл (95% ДИ 56,25-300) $\times 10^3$ /мл, $p = 0,009$ по сравнению с бездренажным ведением пациентов. При этом установка стента не приводила к достоверному увеличению кровопотери через 24 часа после ЛТ по сравнению с группой без наличия дренажных систем $p = 0,22$ (Рисунок 4.4).

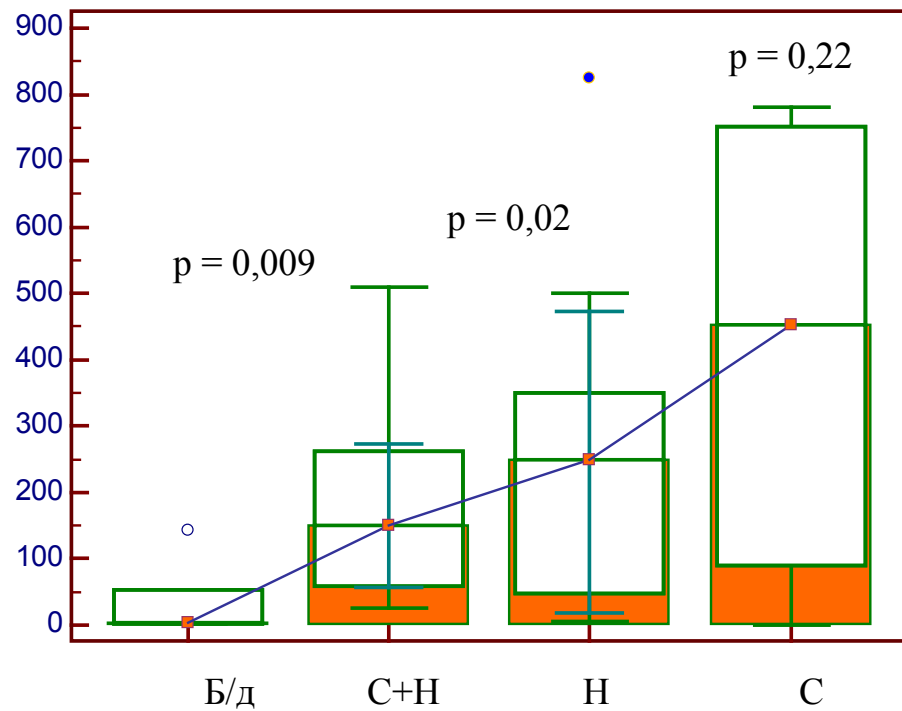


Рисунок 4.4. Выраженность гематурии при разных видах послеоперационного дренирования МВП.

Примечание. По оси абсцисс – показатель гематурии $\times 10^3/\text{мл}$, по оси ординат – частота регистрации данного уровня кровопотери. p – демонстрирует достоверность различий по критерию Манна-Уитни. Б/д – без дренажей, С+Н – стент+нефростома, Н – нефростома, С – стент.

Уровень гематурии был достоверно выше в группах с наличием нефростомы и стента+нефростомы. Функционирующий стент после ЛТ приводил к высокой вариабельности гематурии.

Благодаря техническому совершенствованию контактной ЛТ и литоэкстракции удалось добиться снижения процента послеоперационных кровотечений, однако проблема диагностики и предупреждения периоперационной кровопотери в урологической практике остается актуальной [62, 65]. В этом свете перспективным является оценка состоятельности первичного звена гемостаза, а именно функционального статуса Тц [10].

Из вышесказанного можно констатировать, что патогенез послеоперационных кровотечений при уrolитиазе остается одной из

малоизученных и многофакторных проблем урологии [15, 70, 224]. Причины развития гематурии следует искать, в том числе в индивидуальной реактивности тромбоцитарного звена гемостаза.

Это определяет интерес к разработке технологий оценки индивидуальной реактивности Тц на этапах консервативного и оперативного лечения пациентов урологического профиля.

4.2. Влияние функциональной активности тромбоцитов на гематурию через 1-6 часов и 24 часа после литотрипсии

При оценке развития геморрагических осложнений особый интерес представляет ранний послеоперационный период, который характеризуется максимальной выраженностью гематурии. В этой связи недостаточно изучено влияние функциональной активности Тц на кровопотерю как отражение состояния первичного звена гемостаза и механизмов адаптационной реакции на фоне консервативной терапии. Активно продолжает изучаться антиагрегантный эффект противовоспалительных препаратов на Тц [34, 35]. Малоизученным остаются адаптационные механизмы реализации первичного гемостаза в условиях медикаментозного ингибирования Тц [1, 38, 39].

Как изменяется агрегация Тц в условиях одновременного воздействия альтерации и противовоспалительной терапии при уrolитиазе после проведения ЛТ?

При проведении агрегационного анализа при индукции Тц арахидоновой кислотой 500 мкМ (Рисунок 4.5) в первые 1-6 часов после оперативного лечения МКБ в общей выборке регистрировался гипореактивный ответ $2 \pm 1,5$ (95% ДИ 0-15) %, как и через 24 часа $4 \pm 1,51$ (95% ДИ 1-9) % при $p \geq 0,05$. Такой результат говорит об эффективном ингибировании ЦОГ-1 в Тц в двух исследуемых сроках.

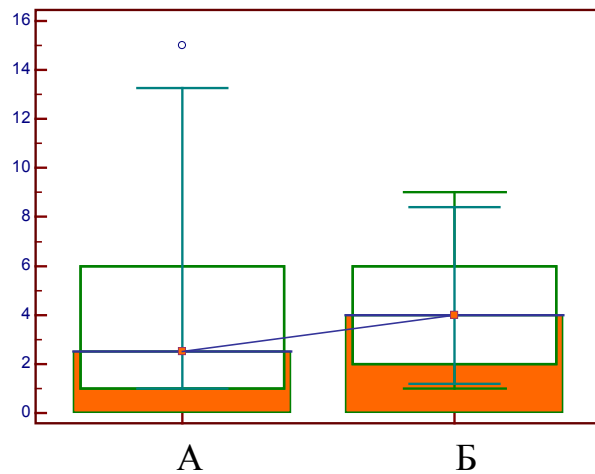


Рисунок 4.5. Показатель амплитуды агрегации Тц при индукции арахидоновой кислотой 500 мкМ через 1-6 (А) и 24 (Б) часа после ЛТ.

Примечание. По оси абсцисс – амплитуда агрегации (%), по оси ординат – частота регистрации данного уровня агрегации.

Однако при оценке агрегационного ответа Тц на паракринный регулятор АДФ у пациентов через 1-6 часов – $43 \pm 3,35$ (95% ДИ 33-47) % и 24 часа после ЛТ – $49 \pm 3,45$ (95% ДИ 45-52) % при $p = 0,08$ регистрировалась вариабельность показателя амплитуды агрегации (Рисунок 4.6). Такой результат может говорить о взаимоактивации нескольких внутриклеточных сигнальных путей Тц, не ассоциированных с ЦОГ-1-ТхА₂ в двух точках исследования.

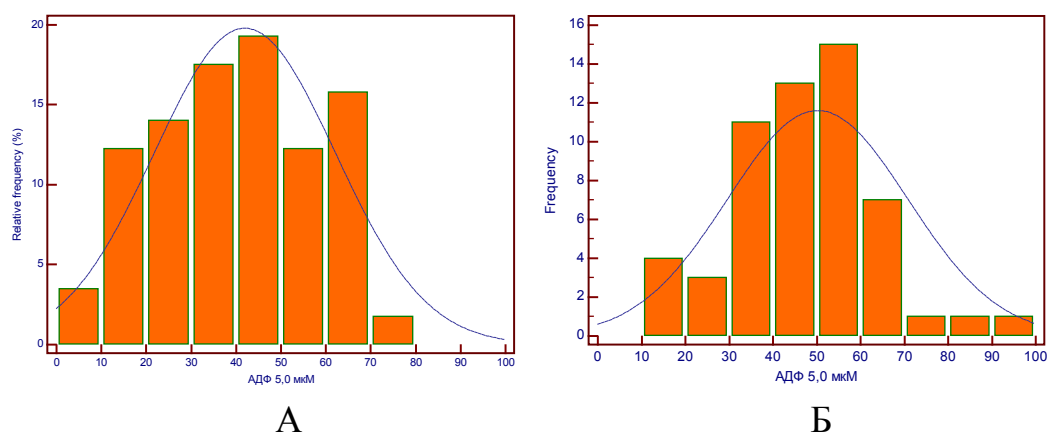


Рисунок 4.6. Гистограммы распределения амплитуды агрегации Тц на АДФ 5 мкМ через 1-6 (А) и 24 часа (Б) после ЛТ.

Примечание. По оси абсцисс – интервалы, по оси ординат – частота регистрации данного уровня агрегации.

С целью профилактики послеоперационных осложнений пациентам назначают противовоспалительную терапию, которая включает НПВС, антибиотики и глюкокортикостероиды, что может приводить к дополнительному ограничению функциональной активности Тц и усилению выраженности кровопотери.

Особый интерес представляет оценка вариабельности ответа Тц на АДФ с анализом двух групп через 1-6 часов и 24 часа после ЛТ: 1 группа с амплитудой агрегации более 45% и 2 группа – менее 45% на АДФ 5 мкМ после оперативного лечения уrolитиаза.

Анализ клинико-лабораторных показателей пациентов после проведения ЛТ позволил определить гомогенность выборки по основным показателям (Таблица 4.1).

Таблица 4.1

Качественные характеристики пациентов после оперативного лечения уrolитиаза

Переменная, %±m	1 группа (n=57)	2 группа (n=65)	p
Пол (м)	40,4±6,5% (n=23)	43±6,14% (n=28)	p = 0,79
КНЛТ	38,6±6,45% (n=22)	24,62±5,34% (n=16)	p = 0,14
КУЛТ	45,6±6,6% (n=26)	38,46±6,03% (n=25)	p = 0,54
АКНУЛТ	14,4±4,6% (n=8)	32,31±5,8% (n=21)	p = 0,01
КНУЛТ	1,75±1,74% (n=1)	4,62±2,6%, (n=3)	p = 0,71
Стент	21,05±5,04% (n=12)	18,46±4,81% (n=12)	p = 0,897
Нефростома	31,58±6,16% (n=18)	23,08±5,23% (n=15)	p = 0,396
Стент+нефростома	22,81±5,56% (n=13)	24,62 ±5,34% (n=16)	p = 0,98
Без дренажных систем	24,6±5,7% (n=14)	33,85±5,84% (n=22)	p = 0,36

Примечание. p – демонстрирует достоверность различий по критерию хи-квадрат.

Достоверно чаще в 2,2 (p = 0,01) раза пациентам во 2 группе была проведена АКНУЛТ. Такой результат подтверждает более травматичный вид

оперативного лечения МКБ при необходимости элиминации конкрементов из чашечно-лоханочной системы и мочеточника.

Группы были сопоставимы по основным клинико-лабораторным характеристикам, а значит различия послеоперационной гематурии могут быть связаны с медикаментозным ингибированием Тц (Таблица 4.2). При этом в двух группах в послеоперационном периоде регистрировался лейкоцитоз (более 9 Г/л) и сегментоядерный нейтрофилез (более 72%).

Таблица 4.2

**Количественные клинико-лабораторные показатели пациентов
после оперативного лечения уролитиаза**

Переменная	1 группа (n = 57)	2 группа (n = 65)	p
Возраст, лет	60±4,3 (45-72)	61±3,14 (54-66)	p = 0,965
Койко-дней	3±0,62 (2-5)	4±0,45 (3-5)	p = 0,130
Размер камней, мм	14±11,92 (10-15)	17±12,53 (12-30)	p = 0,38
Эритроциты, Т/л	4±0,23 (3,2-4,6)	4,3±0,13 (4-4,5)	p = 0,97
Нб, г/л	122±9,13 (93-105)	137,5±5,1 (123-147)	p = 0,13
Цветной показатель	0,9±0,02 (0,87-0,99)	0,95±0,01 (0,9-0,98)	p = 0,68
Лейкоциты, Г/л	10,8±0,85 (7,2-12,4)	11,3±1,01 (7,8-12,2)	p = 0,87
СОЭ, мм/час	20±6,24 (7-45)	10±5,64 (6-16)	p = 0,06
Палочкоядерные нейтрофилы, %	5±2,21 (1-15)	3±1,15 (1-4)	p = 0,12
Сегментоядерные нейтрофилы, %	76±2,44 (70-85)	74±2,88 (66-80)	p = 0,34
Эозинофилы, %	0±0,31 (0-1)	1±0,36 (0-2)	p = 0,56
Лимфоциты, %	15±2,00 (10-22)	16±2,56 (12-22)	p = 0,78
Моноциты, %	2±0,54 (1-4)	4±0,77 (3-7)	p = 0,33
Базофилы, %	1±0 (0-1)	1±0 (0-1)	p = 0,81
СРБ, мг/мл	12±5,41 (6-36)	18±1,89 (12-24)	p = 0,32

Примечание. p – демонстрирует достоверность различий по критерию Манна-Уитни.

При межгрупповом сравнении показателей кровопотери через 1-6 часов после ЛТ выраженность гематурии была выше в 5,5 раз во 2 группе $510 \pm 154,4$ (95% ДИ 58,5-825) $\times 10^3/\text{мл}$ по сравнению с 1 группой $92,5 \pm 46,27$ (95% ДИ 0,75-244) $\times 10^3/\text{мл}$, $p = 0,052$ (Рисунок 4.7).

Через 24 часа выраженность гематурии во 2 группе была в 11,6 ($184,5 \pm 99,71$ (95% ДИ 52-450) $\times 10^3/\text{мл}$) раз выше, чем регистрировалась в 1 группе ($15,88 \pm 11,35$ (95% ДИ 1- 142,45) $\times 10^3/\text{мл}$) при $p = 0,0316$. Снижение функциональной активности Тц при индукции АДФ 5 мкМ менее 45% через 1-6 часов и 24 часа после ЛТ является одним из факторов риска увеличения выраженности гематурии (Рисунок 4.7).

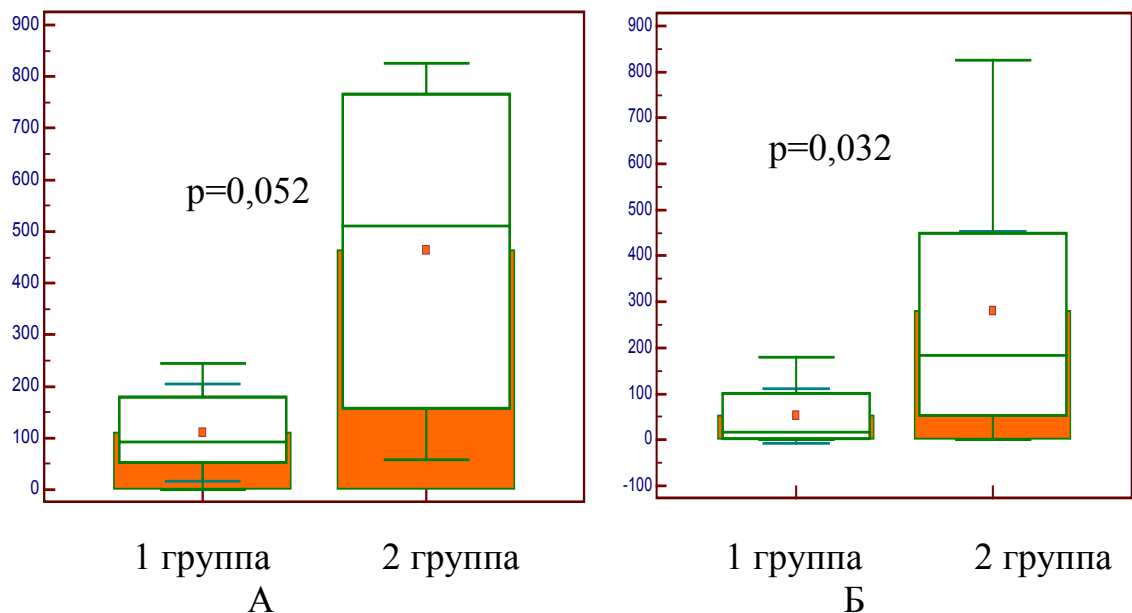


Рисунок 4.7. Выраженность гематурии в группах с различной пуринореактивностью у пациентов через 1-6 часов (А) и через 24 часа (Б) после ЛТ.

Примечание. По оси абсцисс – выраженность кровопотери $\times 10^3/\text{мл}$, по оси ординат – частота регистрации данного уровня гематурии. p – демонстрирует достоверность различий по критерию Манна-Уитни.

Различия в АДФ-индуцированной агрегации Тц в двух группах через 1-6 часов (Таблица 4.3) приводили к достоверному снижению в 2,4 раза

адренореактивности Тц ($p < 0,0001$) с регистрацией в двух группах гипoadренореактивности (агрегация Тц менее 45%). Также различия в гипореактивности Тц определялись на серотонин, так как достоверно амплитуда агрегации была снижена в 2,9 раза во 2 группе ($p = 0,0223$). При этом был определен гипореактивный ответ Тц на провоспалительный медиатор – ФАТ 150 мкМ без регистрации межгрупповых различий ($p = 0,13$), что говорит об эффективном ограничении провоспалительной активации Тц в двух группах.

Таблица 4.3

**Амплитуда агрегации Тц на агонисты в ЕС₅₀
при различной реактивности Тц на АДФ 5 мкМ через 1-6 часов после ЛТ**

Переменная	1 группа n= 58, 47, 4%	2 группа n= 64, 52, 6%	p
АДФ 5 мкМ	56±3,445 (50-62)	28±2,268 (20-31)	$p < 0,0001$
Адреналин 5 мкМ	29±5,716 (19-45)	12±2,181 (11-15)	$p < 0,0001$
ФАТ 150 мкМ	20±7,49 (13-47)	19±3,432 (7-26)	$p = 0,1265$
Серотонин 10 мкМ	10±8,89 (4-27)	3,5±1,5 (3-6)	$p = 0,0223$

Примечание. p – показатель достоверности различия с 1 группой по критерию Манна-Уитни.

В 1 группе через 1-6 часов после ЛТ с сохранением функционального ответа Тц при индукции АДФ 5 более 45% регистрировались прямые корреляционные связи средней силы между АДФ (G_i , G_q) – адреналином (G_i) $r=0,590$ ($p = 0,0012$), АДФ (G_i , G_q) – серотонином (G_q) $r=0,546$ ($p = 0,05$) и серотонином (G_q) – адреналином (G_i) $r=0,62$ ($p = 0,024$).

Во 2 группе со снижением функциональной активности Тц при индукции АДФ 5 менее 45% в первые часы после оперативного лечения эффективное применение противовоспалительной терапии приводит к отсутствию корреляционных связей.

Через 24 часа после проведения ЛТ различия в пуринореактивности были связаны с достоверным снижением в 1,73 раза реактивности Тц на адреналин 5 мкМ ($p = 0,0001$) с гипореактивным ответом (менее 45%) в двух группах. Различий в агрегации Тц на EC_{50} ФАТ ($p = 0,16$) и серотонин ($p = 0,13$) не были зарегистрированы между 1 и 2 группами через 24 часа после ЛТ (Таблица 4.4).

В 1 группе через 24 часа после ЛТ определялась прямая корреляционная связь средней силы АДФ (G_i, G_q) – серотонином (G_q) $r = 0,516$ ($p = 0,04$). Во 2 группе модуляция реактивности Тц была зарегистрирована между серотонином (G_q) – адреналином (G_i) $r = 0,852$, $p = 0,015$ и АДФ (G_i, G_q) – ФАТ (G_q) $r = 0,691$, $p = 0,0128$. Такой результат говорит о важной роли эффекта ко-активации при реализации агрегации на фоне гипопуринореактивности за счет гуморальных и провоспалительных медиаторов, который отсутствовал через 1-6 часов после ЛТ.

Таблица 4.4

**Амплитуда агрегации тромбоцитов на агонисты в EC_{50}
при различной реактивности Тц на АДФ 5 мкМ через 24 часа после ЛТ**

Переменная	1 группа 63, 3% (n= 77)	2 группа 36, 4% (n= 45)	p
АДФ 5 мкМ	53±3,52 (50-62)	35±2,67 (26-38)	$p < 0,0001$
Адреналин 5 мкМ	28,5±4,08 (21-41)	16,5±2,13 (11-21)	$p = 0,0001$
ФАТ 150 мкМ	24,5±5,16 (12-47)	14±4,08 (6-29)	$p = 0,1561$
Серотонин 10 мкМ	15,5±4,85 (11-25)	8±4,61 (2-31)	$p = 0,1327$

Примечание. p – показатель достоверности различия с 1 группой по критерию Манна-Уитни.

Таким образом, важным критерием оценки адаптационного потенциала Тц на фоне медикаментозного ингибирования следует считать сохранение эффекта потенцирования для стабильной агрегации и сохранения состоятельности гемостаза.

4.3. Механизмы влияния противовоспалительной терапии на агрегацию тромбоцитов после литотрипсии через 1-6 часов и 24 часа

Для оценки механизмов ингибирования агрегации Тц в раннем послеоперационном периоде (через 1-6 часов и 24 часа после ЛТ), в связи с регистрацией достоверного снижения адренореактивности Тц при определении гипопуринореактивности (2 группа), был проведен анализ параметров агрегатограмм. Несмотря на наличие гипoadренореактивности в двух исследуемых группах амплитуда агрегации на адреналин была в 2,4 раза ниже во 2 группе ($p < 0,0001$) через 1-6 часов и в 1,73 раза ($p = 0,0001$) во 2 группе через 24 часа после ЛТ. Такой результат позволяет считать агрегатограммы, индуцированные адреналином 5 мкМ, репрезентативными для оценки механизмов гипопуринореактивности с целью идентификации возможных различий для 1 и 2 фаз агрегации после ЛТ.

При сравнении параметров кривых агрегации через 1-6 часов после ЛТ определялось снижение во 2 группе интегративных показателей площади под кривой в 3,3 раза ($p = 0,0032$), скорости наклона кривой в 1,8 раза ($p = 0,0005$) и увеличении времени задержки агрегации в 1,6 раза ($p = 0,0349$) по сравнению с 1 группой (Таблица 4.5).

Детализация механизмов гипoadренореактивности позволяет определить снижение показателей в 3 раза для первой (угол α и $\text{tg } \alpha$ при $p = 0,033$) и в 1,75 раза для второй волн (угол β и $\text{tg } \beta$ при $p = 0,04$) агрегации.

**Параметры агрегатограмм на адреналин 5 мкМ у пациентов
с различной пуринореактивностью Тц через 1-6 часов после ЛТ**

Показатели Me±m (95% ДИ)	1 группа	2 группа	p
Амплитуда агрегации Тц на адреналин 5,0 мкМ	29±5,716 (19-45)	12±2,181 (11-15)	p < 0,0001
Скорость (Slope), % в мин	18±2,12 (15-22)	10±1,23 (7-13)	p = 0,0005
Lag-время, сек	12,5±3,54 (10-20)	20,5±2,61 (14-28)	p = 0,035
Площадь под кривой (AUC), %×мин	79,4±16,39 (37,1-121,2)	24,05±5,9 (16,5-32)	p = 0,0032
Угол α, °	35±4,22 (32-45)	11,5±3,07 (5-18)	p = 0,033
tg угла α	0,7±0,41 (0,62-1)	0,36±0,64 (0,34-0,67)	p = 0,033
Угол β, °	21±3,11 (15-26)	12±3,52 (9-18)	p = 0,04
tg угла β	0,38±0,07 (0,27-0,49)	0,2±0,08 (0,09-0,62)	p = 0,04

Примечание. p – демонстрирует достоверность различий по критерию Манна-Уитни.

В 1 группе амплитуда агрегации на адреналин 5 мкМ имела корреляционную связь средней силы с наклоном кривой $r = 0,64$ ($p = 0,0026$) и сильной силы с показателем площади под кривой $r = 0,93$ ($p < 0,0001$), а также средней силы с параметрами второй волны агрегации $r = 0,67$ ($p = 0,0032$). Кроме того, интегративный показатель агрегации – площадь под кривой имела средней силы корреляционную связь как с показателями первой волны агрегации $r = 0,5$ ($p = 0,025$), так и со второй $r = 0,52$ ($p = 0,034$). Что подтверждает факт отсутствия ингибирования противовоспалительными препаратами агрегационного потенциала Тц.

Во 2 группе адренореактивность Тц имела корреляционную связь высокой силы с показателем площади под кривой $r = 0,93$ ($p < 0,0001$) и наклоном кривой $r = 0,76$ ($p = 0,0001$) и средней силы с параметрами второй волны агрегации $r = 0,67$ ($p = 0,0244$).

Через 24 часа после ЛТ во 2 группе при гипопуринореактивности Тц достоверно были снижены в 3,2 раза показатели площади под кривой ($p = 0,0001$), в 2,79 раза наклон кривой ($p = 0,0001$) и в 1,89 раза параметры для первой ($p = 0,012$) и в 2,7 раза для второй ($p = 0,023$) волн агрегации по сравнению с 1 группой (Таблица 4.6).

Таблица 4.6

**Параметры агрегатограмм на адреналин 5 мкМ у пациентов
с различной пуринореактивностью Тц через 24 часа после ЛТ**

Переменная Медиана $\pm$ Ош. Медианы (95% ДИ, %)	1 группа	2 группа	p
Амплитуда агрегации Тц	28,5 $\pm$ 4,08 (21-41)	16,5 $\pm$ 2,13 (11-21)	$p = 0,0001$
Скорость (Slope), % в мин	47,5 $\pm$ 9,139 (35-79)	17 $\pm$ 2,25 (15-22)	$p = 0,0001$
Lag-время, сек	13 $\pm$ 4,12 (2-20)	13 $\pm$ 2,87 (10-17)	$P \geq 0,05$
Площадь под кривой (AUC), % $\times$ мин	185,3 $\pm$ 25,31 (138-251)	57,3 $\pm$ 7,78 (50,3-65,4)	$p = 0,0001$
Угол α , °	62,5 $\pm$ 7,93 (33-73)	33 $\pm$ 4,922 (24-41)	$p = 0,0122$
tg угла α	1,92 $\pm$ 0,51 (0,65-3,37)	0,65 $\pm$ 0,17 (0,45-0,87)	$p = 0,0122$
Угол β , °	38 $\pm$ 9,095 (23-68)	14 $\pm$ 4,84 (8-34)	$p = 0,0228$
tg угла β	0,795 $\pm$ 0,48 (0,42-2,48)	0,25 $\pm$ 0,11 (0,14-0,67)	$p = 0,0228$

Примечание. p – демонстрирует достоверность различий по критерию Манна -Уитни.

В 1 группе амплитуда агрегации на адреналин имела прямую корреляционную сильной силы связь с наклоном кривой $r = 0,82$ ($p < 0,0001$) и площадью под кривой $r = 0,94$ ($p < 0,0001$), средней силы связь с параметрами первой волны $r = 0,50$ ($p = 0,006$) и второй волны $r = 0,62$ ($p = 0,0008$) агрегации.

Проведенный корреляционный анализ во 2 группе позволил установить зависимость показателя амплитуды агрегации от наклона кривой $r = 0,85$ ($p < 0,0001$), площади под кривой $r = 0,506$ ($p = 0,038$) и показателей второй волны агрегатограммы (угла β , $\text{tg } \beta$) $r = 0,842$ ($p = 0,0006$).

Влияние фазы дегрануляции на амплитуду агрегации на адреналин 5 мкМ было зарегистрировано во 2 группе через 1-6 часов и 24 часа после ЛТ. В условиях гипопуринореактивности Тц на фоне консервативной терапии рецептор-опосредованные механизмы подвержены существенному ингибированию.

Можно заключить, что послеоперационная гипореактивность Тц на фоне приема противовоспалительных препаратов, которая влияет на выраженность гематурии, связана как с количеством экспрессированных на плазмолемме рецепторов и их аффинитетом, а значит со средней скоростью агрегации (наклон кривой) и скоростью первичной волны агрегации, так и с механизмами амплификации при аутокринной стимуляции Тц (вторая волна), что приводит к снижению интегративных показателей амплитуды агрегации и площади под кривой.

Во 2 группе с эффективным применением противовоспалительной терапии через 1-6 часов и 24 часа после ЛТ ограничивается как проагрегантная регуляция «outside-in», то есть рецептор-агонист ассоциированный каскад изменений, так и «inside-out», опосредованная вторичной активацией Тц за счет амплификации и потенцирования внутриклеточного сигнального пути при дегрануляции.

Результат преимущественного влияния на амплитуду агрегации в двух группах фазы дегрануляции (параметры второй волны агрегатограммы) подтверждает важность паракринной взаимоактивации Тц в сохранении функции первичного гемостаза несмотря на ингибирование рецептор-ассоциированной фазы агрегации.

4.4. Эффект ко-активации при различной пуринореактивности тромбоцитов на этапе через 1-6 часов и 24 часа после литотрипсии

Оценить остаточную реактивность Тц на фоне противовоспалительной терапии позволяет анализ агрегации при использовании агонистов в субпороговых (физиологических) концентрациях. Сочетанная активация нескольких внутриклеточных сигнальных систем с регистрацией эффекта потенцирования и/или суммации является одним из маркеров адаптационной активности Тц при гипореактивности. Учитывая усиление выраженности гематурии через 1-6 часов и 24 часа после проведения ЛТ, исследование возможности повышения протромбогенного потенциала Тц в условиях медикаментозного ингибирования представляется актуальным исследовательским вопросом. Эффективное применение противовоспалительной терапии с регистрацией гипопуринореактивности (2 группа) приводит к достоверному снижению в 3 раза проагрегантного потенциала Тц при индукции АДФ 0,5 мкМ ($p = 0,0032$) через 1-6 часов и в 2 раза ($p = 0,0014$) через 24 часа после ЛТ, а также в 1, 6 ($p = 0,0448$) раза и в 2 раза ($p = 0,0253$) при введении адреналина 0,1 мкМ соответственно. В двух исследуемых сроках не было зафиксировано межгрупповых различий на ФАТ 30 мкМ ($p > 0,05$) при сравнении с 1 группой. Через 1-6 часов после ЛТ эффект потенцирования сохраняется в двух группах, однако во 2 группе снижается в 2,18 раза ($p < 0,0001$) при индукции АДФ 0,5+адреналин 0,1 мкМ и в 2,17 раза ($p = 0,05$) на ФАТ 30+адреналин 0,1 мкМ при сравнении с 1 группой (Таблица 4.7).

**Амплитуда агрегации Тц на агонисты в ЕС₁₀
при различной пуринореактивности через 1-6 часов после ЛТ**

Переменная	1 группа	2 группа	p
ФАТ 30 мкМ	5±5,065 (3-16)	6,5±6,295 (0-22)	p > 0,05
АДФ 0,5мкМ	21,5±6,339 (17-25)	7±2,81 (3-15)	p = 0,0032
ФАТ 30 + адреналин 0,1 мкМ	39±8,213 (7-43)	18±4,24 (11-31)	p = 0,05
Адреналин 0,1 мкМ	11,5±3,457 (9-21)	7±2,342 (2-15)	p = 0,0448
АДФ 0,5 +адреналин 0,1мкМ	48±3,413 (44-52)	22±3,342 (13-31)	p < 0,0001

Примечание. p – показатель достоверности различия с 1 группой по критерию Манна-Уитни.

Особый интерес представляет тот факт, что эффект потенцирования при регистрации гипопуринореактивности (2 группа) в раннем послеоперационном периоде и через 24 часа полностью не ингибируется.

Через 24 часа после ЛТ в 1,96 раза снижается ко-активация Тц во 2 группе при введении АДФ 0,5+адреналин 0,1 мкМ (p = 0,0001) и в 1,92 раза на ФАТ 30+адреналин 0,1 мкМ при p = 0,143 (Таблица 4.8).

Такой показатель отражает ограничение провоспалительной активации Тц за счет ингибирования генерации ФАТ в лейкоцитах при введении противовоспалительной терапии.

**Амплитуда агрегации Тц на агонисты в ЕС₁₀
при различной пуринореактивности через 24 часа после ЛТ**

Переменная	1 группа	2 группа	p
ФАТ 30 мкМ	3±0,08 (1-4)	2,5±1,07 (1-5)	p = 0,89
АДФ 0,5мкМ	21±3,66 (15-28)	10,5±2,48 (4-15)	p = 0,0014
ФАТ 30 + адреналин 0,1 мкМ	23±13,19 (12-60)	12±3,41 (8-25)	p = 0,143
Адреналин 0,1 мкМ	14±3,25 (6-21)	7±1,28 (4-10)	p = 0,0253
АДФ 0,5 + адреналин 0,1мкМ	45±4,97 (38-55)	23±4,21 (12-32)	p = 0,0001

Примечание. p – показатель достоверности различия с 1 группой по критерию Манна-Уитни.

Полученные результаты, подтверждают ограничение адаптационной активности Тц в условиях эффективного применения противовоспалительной терапии и регистрации сниженного функционального ответа Тц на АДФ 5 мкМ, что является дополнительным фактором риска усиления выраженности кровопотери.

4.5. Критический уровень потенцирования тромбоцитов для идентификации сохранения пуринореактивности

Достижение гипореактивного статуса Тц при применении ингибиторов ЦОГ является ожидаемым показателем. В условиях проведения оперативного лечения и риска развития микро- и макрогематурии представляет интерес вопрос – при каком уровне сохранения эффекта потенцирования будет регистрироваться гипер- или нормореактивный ответ Тц. Для оценки прогностически эффективных маркеров сохранения пуринореактивности был проведен ROC-анализ с использованием амплитуды агрегации на адреналин 5 мкМ и АДФ+

адреналин в ЕС₁₀. В качестве эталона сравнения для ROC-анализа была использована амплитуда агрегации Тц более 45% на АДФ 5 мкМ как индикатор резистентности Тц на фоне применения НПВС.

ROC-анализ позволил определить, что показатель амплитуды агрегации Тц на адреналин 5,0 мкМ более 15% при умеренной информативности (чувствительность (Se) 81,5% и специфичность (Sp) 70,4%) через 1-6 часов после ЛТ относится к отличному прогностическому классификатору гипернормопуринореактивности Тц (AUC $0,82 \pm 0,056$; 95% ДИ 0,69-0,91), $p < 0,0001$ (Рисунок 4.8).

Прогностическая ценность амплитуды агрегации на адреналин 5,0 мкМ при определении сохранения пуринореактивности была хорошая через 24 часа после ЛТ (AUC = $0,8 \pm 0,055$; 95% ДИ 0,68 - 0,89), $p < 0,0001$ при низком уровне чувствительности (Se 50%, Sp 100%) для показателя максимальной амплитуды агрегации более 28% (Рисунок 4.8).

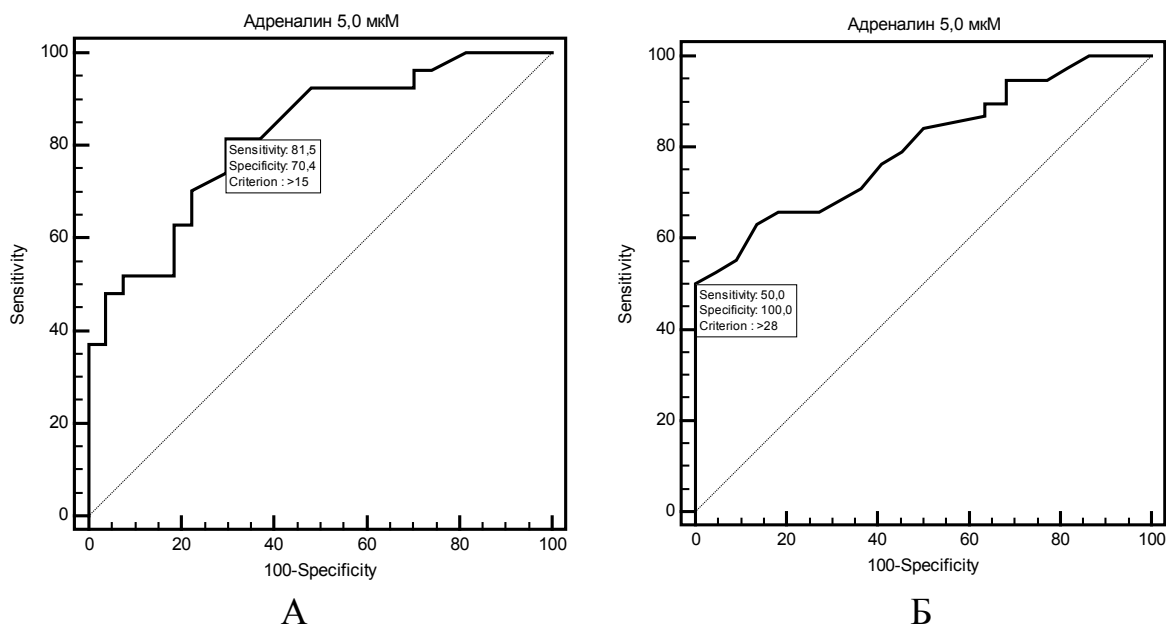


Рисунок 4.8. Графическое изображение ROC-анализа показателей агрегации Тц на адреналин 5 мкМ через 1-6 (А) и 24 часа (Б) после ЛТ.

Повышение амплитуды агрегации Тц более 42% при умеренной информативности (Se 76,5%, Sp 100%) на АДФ + адреналин в ЕС₁₀ является отличным классификатором как через 1-6 часов (AUC $0,92 \pm 0,046$; 95% ДИ

0,78 - 0,98), $p < 0,0001$, так и через 24 часа (AUC $0,83 \pm 0,062$; 95% ДИ 0,7 - 0,92), $p < 0,0001$ информативность также была умеренная (Se 78,8%, Sp 94,4%) при показателе амплитуды агрегации более 34% (Рисунок 4.9) для идентификации пуринореактивности Тц более 45% после проведения ЛТ. Такой результат свидетельствует об адаптационной реакции Тц, опосредованной изменением функционального ответа Тц при кровопотере на фоне противовоспалительной терапии.

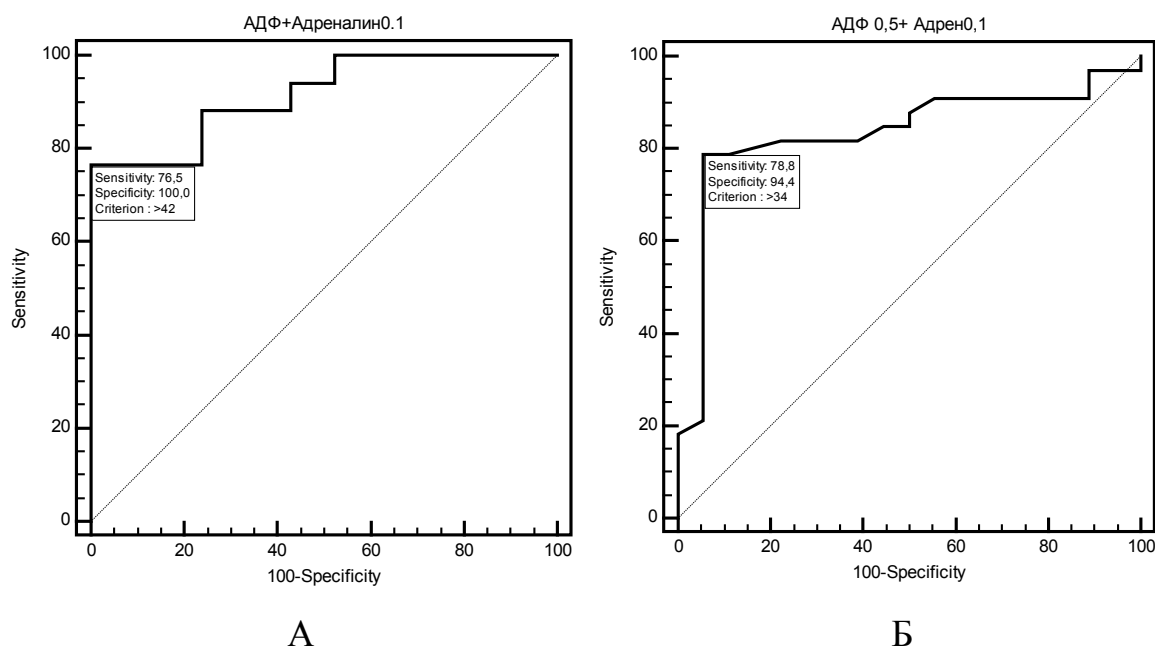


Рисунок 4.9. Графическое изображение ROC-анализа показателей агрегации Тц на ЕС₁₀ АДФ+адреналин через 1-6 (А) и 24 часа (Б) после ЛТ.

Гипер-и нормопуринореактивность Тц через 1-6 часов и 24 часа после ЛТ и на фоне медикаментозного ингибирования сохраняется за счет взаимоактивации нескольких внутриклеточных сигнальных путей. При этом сочетанная взаимоактивация пурино- и адренорецепторов в физиологических концентрациях является отличным прогностическим маркером определения резистентности к НПВС. Отличную (через 1-6 часов) и хорошую (через 24 часа) прогностическую ценность для определения пуринореактивности Тц более 45% демонстрирует агрегация Тц на адреналин 5 мкМ.

У пациентов при уролитиазе и гематурии на фоне применения НПВС на этапе через 1-6 часов и 24 часа после ЛТ наблюдается реализация компенсаторных реакций Тц, основанная на изменениях регуляции внутриклеточных механизмов «outside-in» и «inside-out», что требует анализа мембранного фенотипа с целью предупреждения периоперационных осложнений и контроля рациональной фармакотерапии.

Анализ полученных результатов позволяет заключить:

1) Проведение контактной литотрипсии (АКНУЛТ) на фоне приема противовоспалительной терапии (в том числе НПВС), проведение декомпрессии МВП (установка нефростомы, стента+нефростомы и стента), снижение агрегационного потенциала тромбоцитов на АДФ и адреналин в EC_{50} являются факторами риска усиления выраженности гематурии в раннем послеоперационном периоде.

2) Во 2 группе с эффективным применением противовоспалительной терапии и большей выраженностью гематурии через 1-6 часов и 24 часа после ЛТ ограничивается как «outside-in» механизм, который характеризует рецептор-агонист ассоциированный каскад изменений, так и «inside-out» за счет амплификации и потенцирования внутриклеточного сигнального пути при дегрануляции.

3) Гипер- и нормопуринореактивность Тц после ЛТ на фоне медикаментозного ингибирования сохраняется за счет взаимоактивации нескольких внутриклеточных сигнальных путей, при этом сочетанная ко-активация пурино- и адренорецепторов в физиологических концентрациях является отличным прогностическим маркером определения резистентности Тц к НПВС через 1-6 часов и 24 часа после ЛТ. Отличную (через 1-6 часов) и хорошую (через 24 часа) прогностическую ценность для определения пуринореактивности Тц более 45% демонстрирует агрегация тромбоцитов на адреналин 5 мкМ.

Основные положения данной главы представлены в следующих работах:

1. Модуляция функции тромбоцитов после литотрипсии / Э.Ф. Баринов, А.Н. Кравченко, Т.А. Твердохлеб, А.О. Балыкина // Фундаментальна та клінічна медицина. Наукова конференція, присвячена 90-річчю з дня народження К.С. Кабака. – Київ, 2014. – С. 59-60.
2. Індивідуальна реактивність тромбоцитів у пацієнтів після літотрипсії / Е.Ф. Барінов, А.Н. Кравченко, Т.О. Твердохліб, А.О. Баликіна // Світ медицини та біології – Полтава: ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», 2014. – №2 (44). – С. 9-12.
3. Твердохлеб, Т.А. Адренореактивность тромбоцитов при мочекаменной болезни // Питання експериментальної та клінічної медицини: Зб. статей. – Донецьк, 2014. – Вип. 18, Т. 3. – С. 140-147.
4. Баринов, Э. Ф. Внутриклеточные механизмы реализации гипoadренореактивности тромбоцитов после литотрипсии / Э. Ф. Баринов, Т.А. Твердохлеб // ПРС. Профілактична медицина: здобутки сьогодення та погляд у майбутнє: Матеріали НП конф. 2016. – С. 83-85.
5. Твердохлеб, Т.А. Механизмы снижения потенцирования агрегации тромбоцитов на фоне лечения уролитиаза / Т. А. Твердохлеб, Т. И. Фабер // Фундаментальная наука и клиническая медицина: Тезисы XX Международной медико-биологической конференции молодых исследователей: материалы. – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2017. – С. 555-556.
6. Твердохлеб, Т.А. Факторы риска развития гематурии при оперативном лечении уролитиаза / Т. А. Твердохлеб, Т. И. Фабер // Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье: тезисы XXI Международной медико-биологической конференции молодых исследователей. – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2018. – С. 432-433.
7. Выраженность гематурии после оперативного лечения уролитиаза: роль индивидуальной реактивности тромбоцитов на агонисты / Э.Ф. Баринов, Т.А. Твердохлеб, А.Н. Кравченко, М.Э. Барина // Экспериментальная и клиническая урология. – 2015. – № 3. – С. 72-77.

8. Твердохлеб, Т.А. Реактивность тромбоцитов при различной выраженности гематурии после оперативной терапии уrolитиаза // XIV–е чтения В.В. Подвысоцкого: материалы Конференции. – Одесса: УкрНИИ медицины транспорта, 2015. – С.199.

9. Твердохлеб, Т. А. Адаптационные механизмы тромбоцитов женщин с гематурией при мочекаменной болезни // XVIII Всероссийская медико-биологическая конференция молодых исследователей (с международным участием): Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье. – Санкт-Петербург: СПбГУ, 2015. – С. 535- 536.

10. Молекулярные механизмы индивидуальной реактивности тромбоцитов при гематурии, ассоциированной с литотрипсией / Э.Ф. Баринov, Т.А.Твердохлеб, А.Н. Кравченко [и др.] // Урология. – 2016. – № 5. – С. 10-15.

11. Твердохлеб, Т.А. Выраженность гематурии и реактивность тромбоцитов при обструктивной уropатии / Т. А. Твердохлеб, И. А. Коровка // Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье: тезисы XXII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей. – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2019. – С. 499-500.

ГЛАВА 5

ПРЕДИКТОРЫ ФАЗЫ РЕЦИДИВА ПИЕЛОНЕФРИТА ПОСЛЕ ОПЕРАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ УРОЛИТИАЗА

5.1. Клинико-лабораторная характеристика пациентов на этапе выписки из стационара после комплексного лечения МКБ

Своевременная диагностика и поиск оптимальных маркеров идентификации рецидива воспалительного процесса и кровопотери остаются актуальными в урологической практике после проведения оперативного лечения и на сегодняшний день [47, 59, 62, 64]. Комплексная терапия уролитиаза не исключает возможности развития рецидива ХОПН. По данным литературы частота фазы рецидива ХОПН после ЛТ варьируется от 3 до 30 %, несмотря на применение противовоспалительной терапии [65, 69].

Считается, что адекватная периоперационная антибиотикотерапия, сокращение продолжительности оперативного лечения, применение предоперационного дренирования верхних мочевых путей позволяет снизить частоту пиелонефритов при эндоурологических вмешательствах у больных уролитиазом [65].

Для определения этиопатогенеза вторичного пиелонефрита требуется установление уropатогена, факторов инфицирования и характера иммунной реактивности организма [103].

Как известно, пиелонефрит не имеет специфического возбудителя. Этиологическим агентом ХОПН выступают грамположительные и грамотрицательные условно-патогенные микроорганизмы [23]. Немаловажную роль в качестве возбудителей пиелонефрита играют нозокомиальные штаммы уropатогенов. По литературным данным мочевого инфекция, обусловленная инструментальными методами обследования, лечения и декомпрессией МВП, составляет от 30 до 50 % случаев всех госпитальных инфекций [79].

Оправдано считать, что патогенез пиелонефрита имеет многофакторный характер и зависит от адгезивных, инвазивных и цитотоксичных свойств бактерий, иммунной реактивности организма, нарушения уродинамики и почечной перфузии. Таким образом, комплекс факторов формирует особенности возникновения, течения и прогноза пиелонефрита.

Лечение ХОПН включает устранение урологических нарушений, эрадикацию уропатогенов, симптоматическую и поддерживающую терапию [18, 20, 33, 34].

К предикторам рецидива ХОПН после проведения ЛТ можно отнести:

- 1) Уропатогены.
- 2) Альтерация слизистой оболочки МВП (пассаж конкремента, оперативное лечение, установка дренажных систем – инородное тело).
- 3) Прогрессирование обструктивной уropатии – повреждение ишемией-реперфузией почки и уротелия, отсутствие эффективной декомпрессии МВП.

Ретроградные уретероскопические процедуры в настоящее время представляют основную причину зарегистрированного увеличения ятрогенных повреждений мочеточника от 41 до 46% [55, 62, 80, 88]. Перфорация мочеточника, отрыв или оторванный сегмент представляют собой редчайшие, но наиболее тяжелые осложнения хирургического лечения уролитиаза [64, 65, 206].

Неоспоримым является необходимость применения профилактической противовоспалительной терапии у пациентов с МКБ в периоперационном периоде с целью минимизации рисков рецидива ХОПН. Обоснованным является применение комплексной терапии, которая направлена на элиминацию инфекционного агента – антибиотикотерапия. Эмпирическое назначение антибиотиков на этапе госпитализации включает применение монотерапии или комбинации – цефалоспоринов (ЦФ) третьего поколения (цефоперазон, цефтриаксон), аминогликозидов (АГ, амикацин), производных имидазола (метронидазол), флорхинолонов (ФХ, левофлоксацин). Патогенетически и симптоматически также оправдано назначение НПВС с целью подавления синтеза медиаторов острой фазы воспаления и в первую очередь метаболитов

арахидоновой кислоты за счет ингибирования ЦОГ-1,2 и синтеза ПГ, купирования болевого синдрома и дизурии. В период оперативного и раннего послеоперационного периода применяются ГКС (дексаметазон), которые обеспечивают мембраностабилизацию, подавление свободнорадикального окисления и ограничение отека слизистой оболочки МВП [78]. Однако следует учитывать, что ГКС могут изменять периферический анализ крови за счет усиления нейтрофилопоза и повышения содержания нейтрофильных гранулоцитов, что характеризуется усилением противовоспалительной активности организма. Ограничение активности ФЛА₂ под действием ГКС в лейкоцитах тормозит синтез простагландинов, кининов, лейкотриенов и других медиаторов воспаления из общего предшественника арахидоновой кислоты [10, 21]. Оценка провоспалительной реакции организма через 3-5 суток (период выписки из стационара) позволяет определить результат эффективности и безопасности проведенного лечения уролитиаза.

Диагноз фазы рецидива ХОПН на этапе выписки был верифицирован у 25 пациентов (20,4 %) на основе жалоб, анамнестических данных, объективного осмотра, лабораторных и дополнительных исследований. 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, при этом могла сохраняться лейкоцитурия и диагностически не значимая бактериурия, в общем анализе крови отсутствовали изменения, характеризующие острое воспаление.

По данным клинико-лабораторного анализа (Таблица 5.1) в фазу рецидива ХОПН регистрировался в 1,46 раз выше уровень общего числа лейкоцитов ($p = 0,0012$) за счет сегментоядерного нейтрофилеза ($p = 0,0428$).

Клинико-лабораторные показатели пациентов в фазе рецидива и ремиссии ХОПН после проведения литотрипсии на этапе выписки

Переменная Me% ± m (95%ДИ)	Рецидив ХОПН	Ремиссия ХОПН	p
Эритроциты, Т/л	4,5±0,23 (3,8-4,6)	4,3±0,13 (3,9-4,7)	p = 0,7282
Нб, г/л	148±9,69 (116-150)	138±6,19 (116-152)	p = 0,9078
Цветной показатель (ЦП)	0,91±0,02 (0,84-0,98)	0,9±0,02 (0,88-0,99)	p = 0,8463
Лейкоциты, Г/л	10,65±0,30 (10,4-11,3)	7,3±0,43 (5,8-8,8)	p = 0,0012
СОЭ, мм/час	16±6,90 (10-52)	27±4,95 (8-36)	p = 0,4822
Палочкоядерные нейтрофилы, %	3,5±1,01 (2-6)	3±0,65 (1-4)	p = 0,2950
Сегментоядерные нейтрофилы, %	75,5±2,25 (71-79)	59±4,58 (55-77)	p = 0,0428
Эозинофилы, %	1±0,36 (1-3)	1±0,60 (0-3)	p = 0,9455
Лимфоциты, %	14,5±2,35 (10-22)	29±4,36 (13-37)	p = 0,0279
Моноциты, %	4,5±0,70 (4-6)	4±1,05 (2-8)	p = 0,5607
Базофилы, %	1±0,2 (0-2)	1±0,26 (0-2)	p = 0,57
СРБ, мг/мл	18±1,61 (12-24)	6±0,5 (5-8)	p = 0,0016
Лейкоцитурия×10 ³ /мл	25±20,04 (15-125)	6,25±2,40 (1-10,5)	p = 0,0093

Примечание. p – показатель достоверности различия по критерию Манна-Уитни.

Уровень СРБ превышал показатель группы сравнения в 3 раза (p = 0,0016).
Выраженность лейкоцитурии по данным анализа мочи по Нечипоренко в 4 раза превышала аналогичный показатель фазы ремиссии ХОПН (p = 0,0093).

Приведенные межгрупповые различия позволяют проводить сравнительный анализ между двумя группами на этапе выписки из стационара после проведенного лечения уролитиаза с целью выделения возможных факторов риска рецидива пиелонефрита.

При госпитализации всем пациентам была назначена эмпирическая антибактериальная терапия с последующим культурологическим исследованием мочи и оценкой антибиотикочувствительности.

Определение бактериурии в диагностическом титре более 10^5 колониеобразующих единиц (КОЕ) позволяет начать этиологическое лечение инфекции МВП.

У 56,8 % (n = 25) пациентов при госпитализации рост микрофлоры не был обнаружен, а у 25 % (n = 17) определялся в диагностическом титре более 10^5 КОЕ. На момент выписки рост микрофлоры не был обнаружен у 61,5 % (n = 27), при этом у 13 пациентов (30,8%) рост микрофлоры был более 10^5 КОЕ (Рисунок 5.1). Эти показатели не имели межгрупповых различий. Однако все пациенты с диагностированной бактериурией после оперативного лечения имели функционирующую дренажную систему.

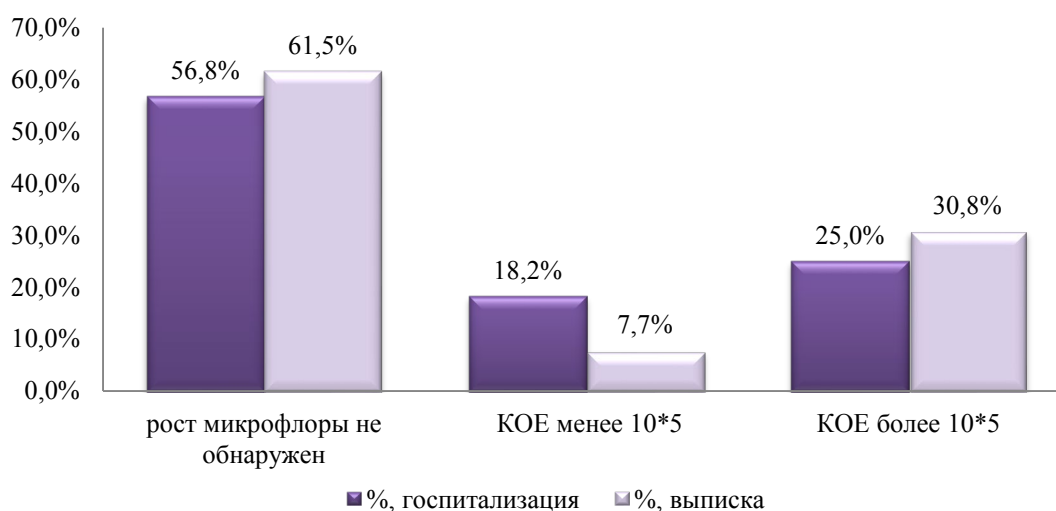


Рисунок 5.1. Показатели культурологического исследования мочи у пациентов с МКБ на этапе госпитализации и при выписке из стационара.

На этапе госпитализации по результатам культурологического исследования мочи (Рисунок 5.2) был идентифицирован широкий спектр микроорганизмов, в то время как на этапе выписки из стационара он был представлен двумя уропатогенами. Эти данные демонстрирует эффективность проводимой антибиотикотерапии и низкую вероятность рецидива инфекции МВП, ассоциированной с бактериальной инвазией. В день выписки бактериурия была представлена *Enterococcus Faecalis* и *Klebsiella Pneumonia* у пациентов с наличием дренажных систем. Такой спектр возбудителей связан с развитием пиелонефрита тяжелой степени на фоне МКБ и может приводить к уросепсису [69]. Поддержание уродинамики при помощи дренажных систем может способствовать распространению инфекции и требует проведения антибактериальной терапии в течение всего периода проведения декомпрессии МВП после ЛТ [22, 23]. Ряд исследований утверждают, что эрадикация возбудителя при ХОПН позволяет также купировать рецидив МКБ после ЛТ [79, 103].

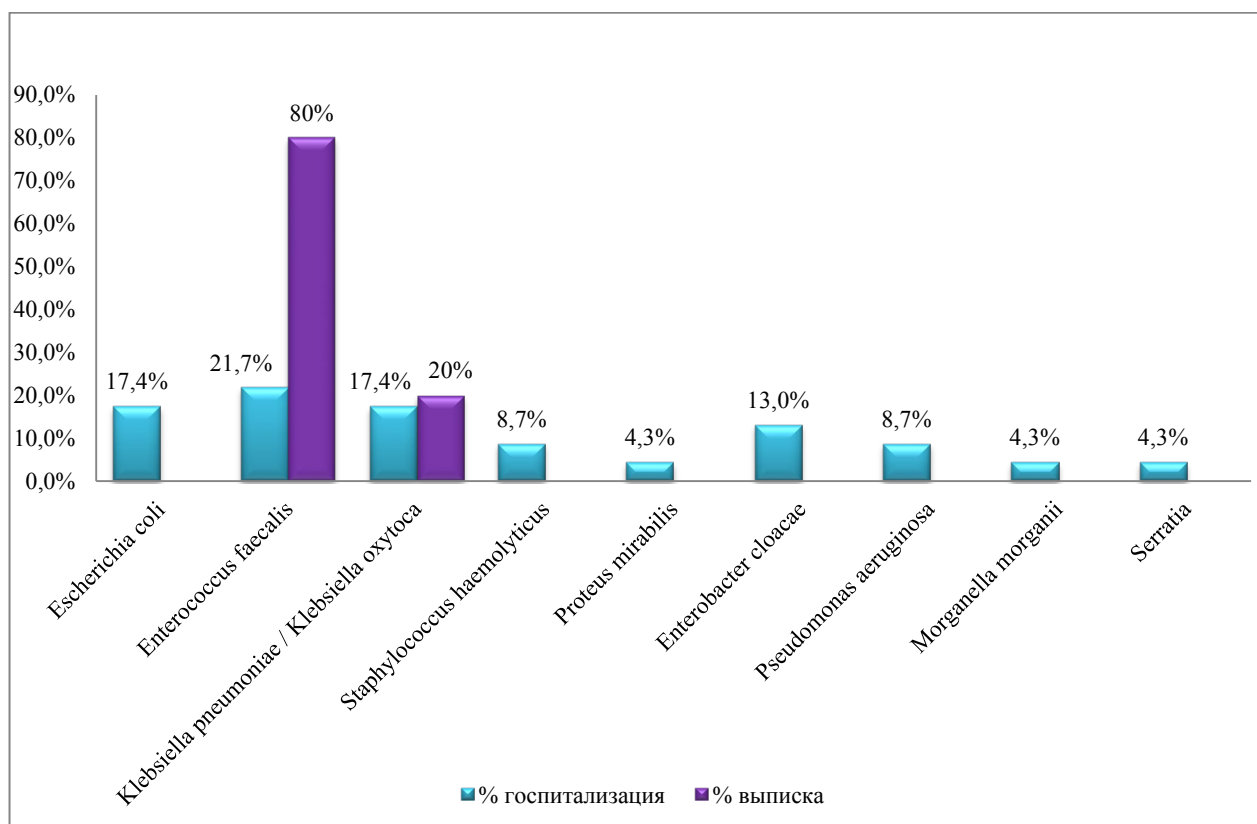


Рисунок 5.2. Спектр штаммов уропатогенов у пациентов с МКБ на этапе госпитализации и выписки из стационара.

При ретроспективном анализе применяемой антибиотикотерапии (Рисунок 5.3) монотерапия была использована в 56% ($n = 42$) случаев и включала препараты широкого спектра действия (ЦФ, АГ, ФХ). Эмпирическая терапия с комбинацией нескольких антибактериальных препаратов потребовалась в 44% ($n = 33$) случаев. Наиболее встречаемой двойной комбинацией у 32% ($n = 24$) пациентов было введение ЦФ и АГ, а в 12 % ($n = 9$) случаев было необходимо применение метронидазола в сочетании с ЦФ и АГ, то есть тройная антибактериальная терапия.

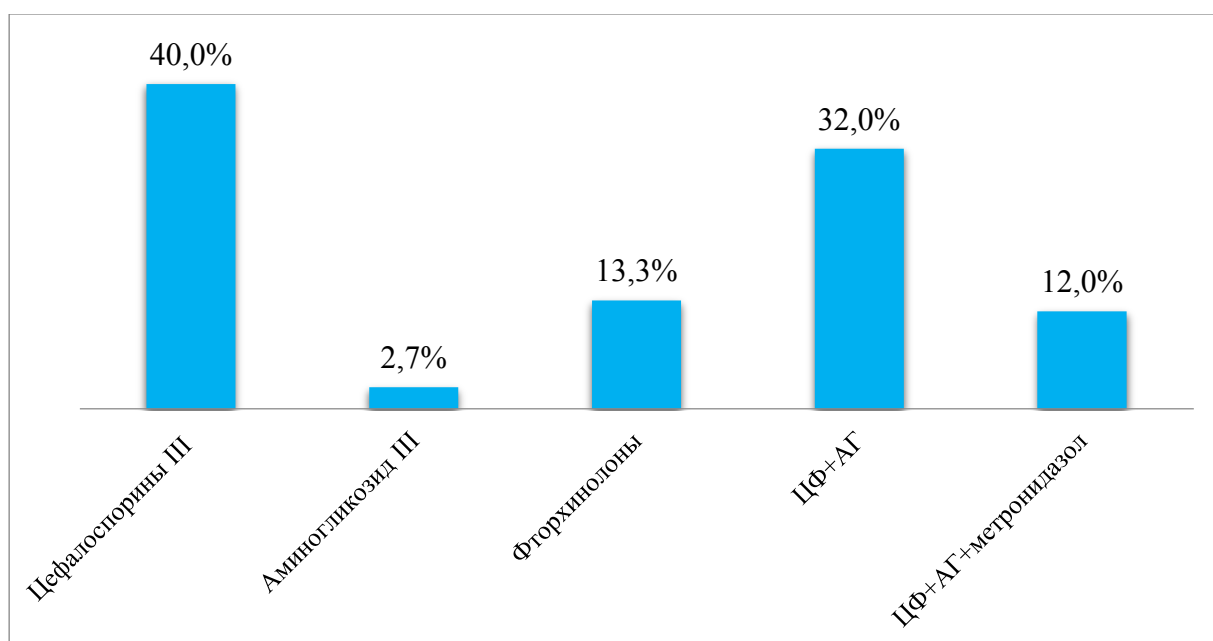


Рисунок 5.3. Схемы эмпирической антибиотикотерапии у пациентов с МКБ на этапе госпитализации.

Различий по частоте использования в фазе ремиссии и рецидива ХОПН различных комбинаций антибиотикотерапии не было определено (Рисунок 5.4).

Монотерапия ЦФ III поколения была ведущей в двух группах (42,86% и 50% при $p = 0,975$). Выбор данной группы антибиотиков оправдан широким спектром действия, который включает как грамположительные, так и грамотрицательные бактерии.

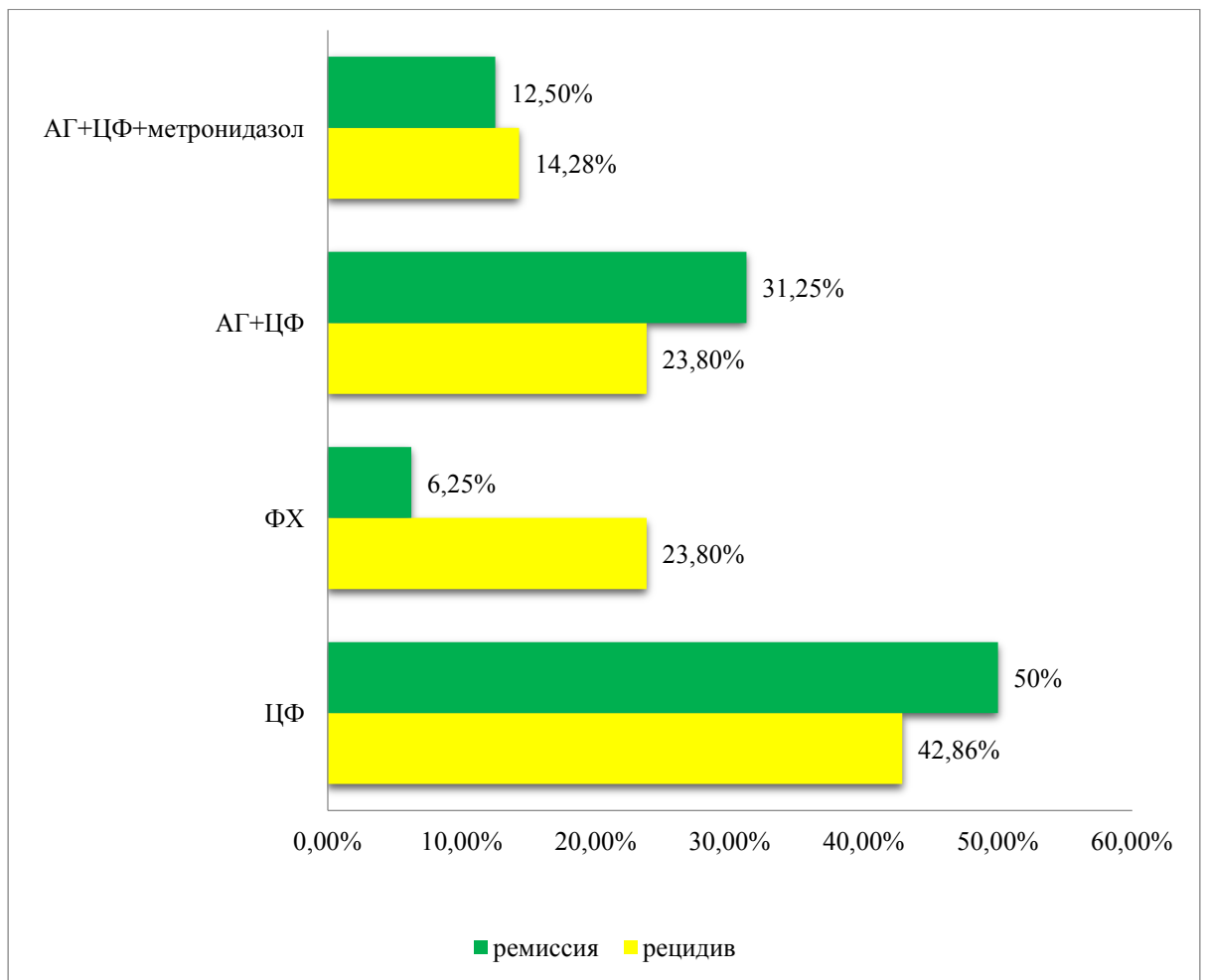


Рисунок 5.4. Схемы эмпирической антибиотикотерапии у пациентов в фазе рецидива и ремиссии ХОПН на этапе выписки.

Достоверных различий при сравнении спектра уропатогенов в фазе рецидива и ремиссии ХОПН также не было зарегистрировано (Рисунок 5.5).

Данный результат говорит об эффективности выбранных схем антибиотикотерапии с минимизацией риска развития фазы рецидива ХОПН, ассоциированной с бактериальной инвазией.

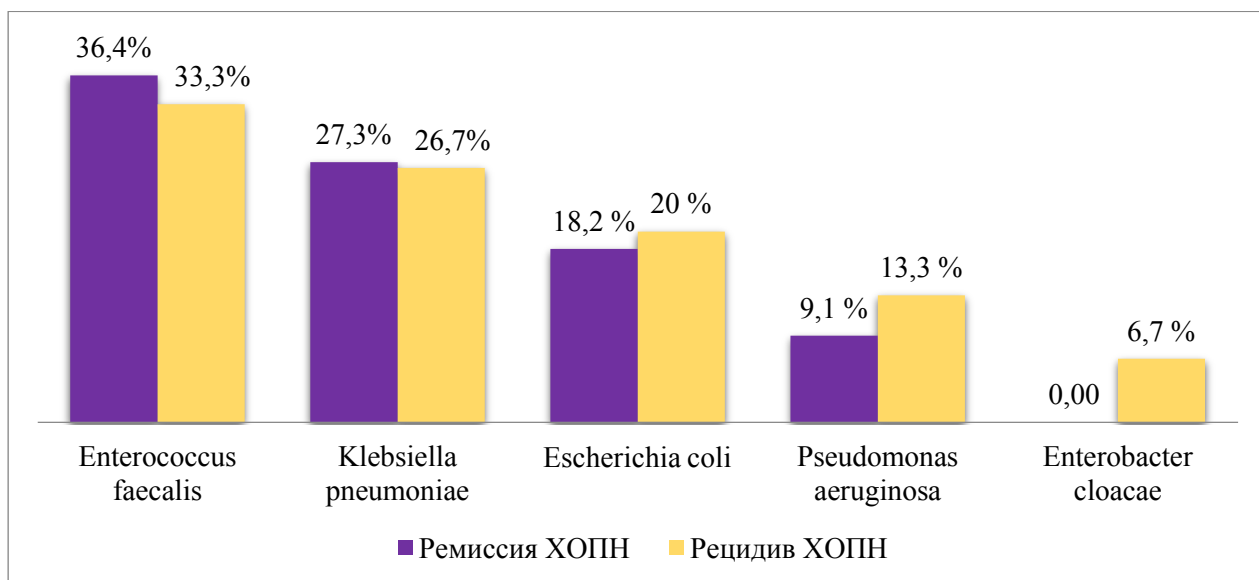


Рисунок 5.5. Спектр штаммов уропатогенов при фазе рецидива и ремиссии ХОПН на этапе выписки до проведения антибиотикотерапии.

5.2. Влияние вида оперативного лечения и наличие функционирующей дренажной системы на риск развития рецидива пиелонефрита

Наиболее травматичным видом эндоурологического вмешательства при МКБ считается нефролитотрипсия из-за возможности влияния ударной волны на паренхиму почки и как результат развития кровотечений и травм [79, 103, 106]. По данным проведенного анализа (Рисунок 5.6) в фазе рецидива ХОПН достоверно чаще в 9,14 раз ($57,14 \pm 10,8\%$) была проведена КНЛТ ($p = 0,047$) по сравнению с фазой ремиссии ХОПН, при которой ведущим оперативным лечением была КУЛТ $81,25 \pm 9,76\%$ ($p = 0,048$). КНУЛТ в 2,28 раз чаще была проведена в группе с рецидивом ХОПН ($28,5 \pm 9,86\%$) по сравнению с группой ремиссии ($12,5 \pm 8,27\%$), однако различия были недостоверными ($p = 0,578$). Такой результат подтверждает более высокий риск развития послеоперационных инфекционных осложнений при нефролитолизе и проведении КНЛТ.

Наличие функционирующей дренажной системы также является одним из факторов риска развития инфекционных осложнений МВП в послеоперационном периоде [51. 94], однако межгрупповые различия на момент выписки при наличии у пациентов функционирующих дренажных систем (стент, нефростома)

не были определены. Так в фазе ремиссии ХОПН не было ни одного случая с функционирующей нефростомой на момент выписки по сравнению с фазой рецидива ХОПН – $14,28 \pm 7,64\%$, $p = 0,392$. При этом в двух группах практически с равной частотой регистрировалось наличие функционирующего стента соответственно в фазе рецидива – $42,86 \pm 10,8\%$ и ремиссии – $50 \pm 12,5\%$ ($p = 0,975$) ХОПН.

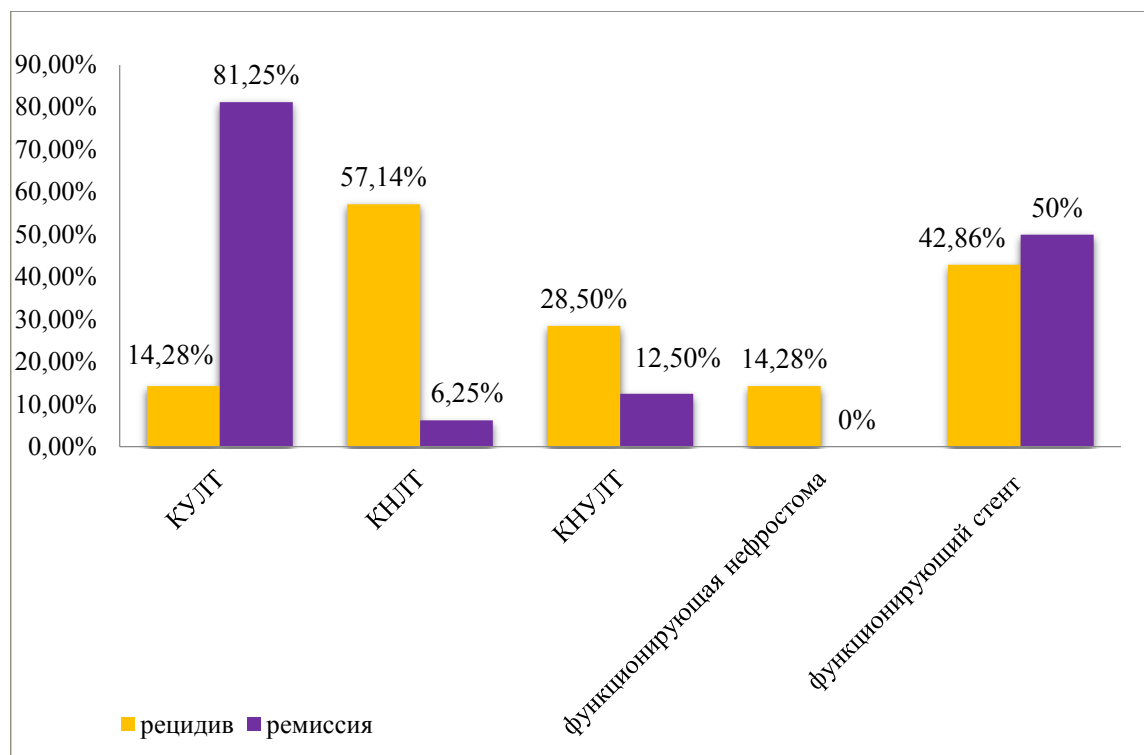


Рисунок 5.6. Виды оперативного лечения и декомпрессии МВП у пациентов в фазе рецидива и ремиссии ХОПН на этапе выписки.

Развитие рецидива ХОПН после ЛТ является проявлением осложненной инфекции МВП.

5.3. Роль функциональной активности тромбоцитов при фазе рецидива и ремиссии пиелонефрита

В период госпитализации пациентов с уролитиазом стартовая терапия продолжительностью 3-5 дней была представлена НПВС (диклофенак,

кеторолак) в комбинации с антибиотикотерапией в течение пред- и послеоперационного периода.

Эффективное применение НПВС приводит к ингибированию функциональной активности Тц за счет ограничения генерации TxA_2 при ингибировании ЦОГ-1.

Особый интерес представляет провоспалительный медиатор ФАТ, который синтезируется в лейкоцитах при активации FLA_2 [66, 212]. Снижение амплитуды агрегации Тц на ФАТ 150 мкМ говорит об ограничении участия Тц в формировании ТЛА и, следовательно, провоспалительной функции.

Агрегационный потенциал тромбоцитов пациентов с МКБ в фазе рецидива ХОПН при индукции медиатора воспаления ФАТ 150 мкМ на этапе выписки был в 2,76 раз выше ($p = 0,0073$) по сравнению с фазой ремиссии (Рисунок 5.7).

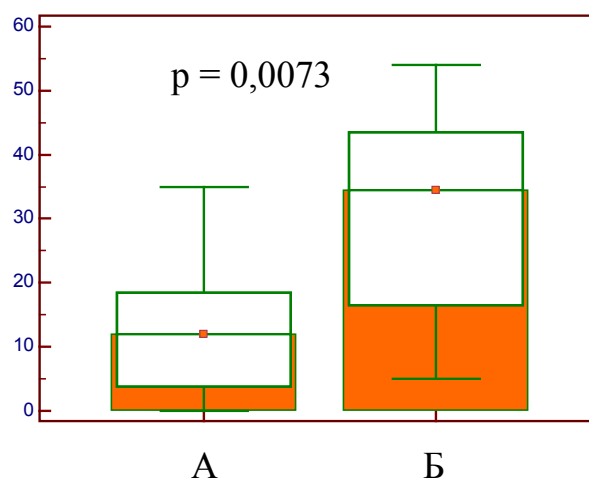


Рисунок 5.7. Агрегация тромбоцитов при индукции ФАТ 150 мкМ в фазе ремиссии (А) и рецидива (Б) ХОПН на 3-5 сутки после ЛТ.

Примечание. По оси абсцисс – амплитуда агрегации (%), по оси ординат – частота регистрации данного уровня агрегации.

Амплитуда агрегации в фазе рецидива ХОПН на этапе выписки на АДФ 5,0 мкМ в 1,8 раз ($p < 0,0001$) и на адреналин 5 мкМ в 1,85 раз ($p = 0,0417$) превышали показатели фазы ремиссии. Эффект ко-активации при стимулированной агрегации АДФ 0,5+адреналин 0,1 мкМ в 1,7 раз ($p = 0,0019$) и субпороговой концентрации АДФ 0,5 мкМ в 3,2 раза ($p = 0,0046$) был выше, чем

у пациентов в фазе ремиссии ХОПН. Такой результат говорит о повышении протромбогенного и провоспалительного потенциала Тц у пациентов после ЛТ и активном воспалительном процессе в МВП, несмотря на применение НПВС, и может быть одним из предикторов активации воспалительного процесса.

Отсутствие эффективного ингибирования функциональной активности Тц на провоспалительные, паракринные и гуморальные регуляторы через 3-4 дня после ЛТ на фоне противовоспалительной терапии (НПВС – ингибирование ЦОГ-1) может быть предиктором фазы рецидива ХОПН (Таблица 5.2).

Таблица 5.2

Показатели агрегации тромбоцитов при ХОПН на этапе выписки

Переменная	Рецидив ХОПН	Ремиссия ХОПН	p
ФАТ, 150 мкМ	34,5±5,17 (24-42)	12,5±3,6 (6-17)	p = 0,0073
АДФ 5,0 мкМ	58±8,13 (47-96)	32,3±2,92 (27-37)	p < 0,0001
Адреналин 5,0 мкМ	25±9,66 (15-50)	13,5±2,95 (9-23)	p = 0,0417
Серотонин 10,0 мкМ	18±6,69 (10-31)	8,5±6,57 (2-36,3)	p = 0,1066
АДФ 0,5 мкМ	32±7,73 (13-55)	10±2,21 (5-14)	p = 0,0046
Адреналин 0,5 мкМ	10±5,82 (5-41)	7±3,20 (2-11)	p = 0,1386
АДФ 0,5 + адреналин 0,1 мкМ	48±7,78 (24-67)	28±3,62 (10-32)	p = 0,0019

Примечание. p – показатель достоверности различия по критерию Манна-Уитни.

Эффективное применение комбинации НПВС + антибиотикотерапии приводит к снижению провоспалительного потенциала Тц за счет снижения ФАТ-индуцированной агрегации.

Повышение функциональной активности Тц приводит к формированию клеточных коопераций и трансмиграции лейкоцитов в очаг воспаления при острой воспалительной реакции. Сохранение агрегационного потенциала Тц на фоне введения НПВС приводит к необходимости оценки клеточных коопераций,

как индикатора лейкоцитарной активности, инициации воспалительного процесса и этапов клеточной миграции.

5.4. Роль тромбоцитов в формировании клеточных коопераций на фоне противовоспалительной терапии

Ранее было установлено, что эффективное применение НПВС снижает проагрегантный потенциал Тц, в том числе и на медиаторы воспалительного процесса (серотонин, ФАТ) за счет снижения функциональной активности лейкоцитов. Тц являются также модуляторами воспалительного процесса. Развитие воспаления МВП, в первую очередь ХОПН, ассоциировано с наличием открытой раневой поверхности, нарушением оттока мочи и вторичной ишемией ткани почки. Тромбоцит, лейкоцит и эндотелий составляют классическую триаду инициации воспалительного ответа. Доказана способность Тц формировать агрегаты с лейкоцитами крови [187,119].

В свою очередь применение противовоспалительной терапии в периоперационном периоде МКБ оправдано вдвойне – снижением болевой афферентации и подавлением активного воспалительного процесса. Неоспоримым является факт участия Тц в формировании ТЛА, в образовании которых принимают участие паракринные регуляторы за счет изменения экспрессии молекул межклеточной адгезии.

Провоспалительный потенциал при активации Тц подтверждается взаимодействием с моноцитами, полиморфноядерными нейтрофилами, эозинофилами, базофилами и лимфоцитами с образованием ТЛА [95, 109].

Секретируемый Тц АДФ является мощным стимулятором продукции ROS в нейтрофилах [205].

В исследовании N. Ashman, 2003, у пациентов с хроническим заболеванием почек количество циркулирующих тромбоцитрано-моноцитарных агрегатов значительно выше, чем у пациентов с нормальной функцией почек [87].

ФАТ является мощным агонистом Тц и медиатором воспаления, а также регулятором устойчивой адгезии нейтрофилов на поверхности иммобилизованных Тц [56].

Многоуровневая система регуляции и наличие связи между тромбогенезом и воспалением обуславливает сложность медикаментозного управления воспалительным процессом и гемостазом.

В проведенном анализе ТЛА после оперативного лечения МКБ мы можем наблюдать классические стадии клеточной реакции при воспалении. Как известно, первыми в очаг воспаления мигрируют из сосудистого русла сегментоядерные нейтрофилы и эозинофилы – полинуклеарная стадия [21]. Посредниками в экстравазации лейкоцитов служат Тц за счет молекул адгезии, активированных на поверхности тромбоцитов, лейкоцитов и эндотелия. Уже через 24 часа при развитии воспаления в экссудат эмигрирует моноцитарно-макрофагальная ассоциация – мононуклеарная стадия [10]. При проведенном морфологическом исследовании мазков крови прослеживаются фазы классического представления о выходе клеток крови в очаг альтерации, несмотря на введение НПВС, ГКС и антибиотикотерапию. В литературе находится подтверждение наличия адрено- и пуринорецепторов на поверхности Тц и лейкоцитов [95, 109]. Данный факт говорит о возможности модулировать функциональную активность клеток крови паракринными (АДФ) и гуморальными (адреналин) регуляторами.

При оценке ТЛА у пациентов с уролитиазом на фоне приема НПВС без стимуляции *in vitro* большинство агрегатов были небольшого размера и морфологически отвечали статусу микроагрегатов, то есть состояли из 1 лейкоцита и 5-10 адгезированных на его поверхности Тц (Рисунок 5.8).

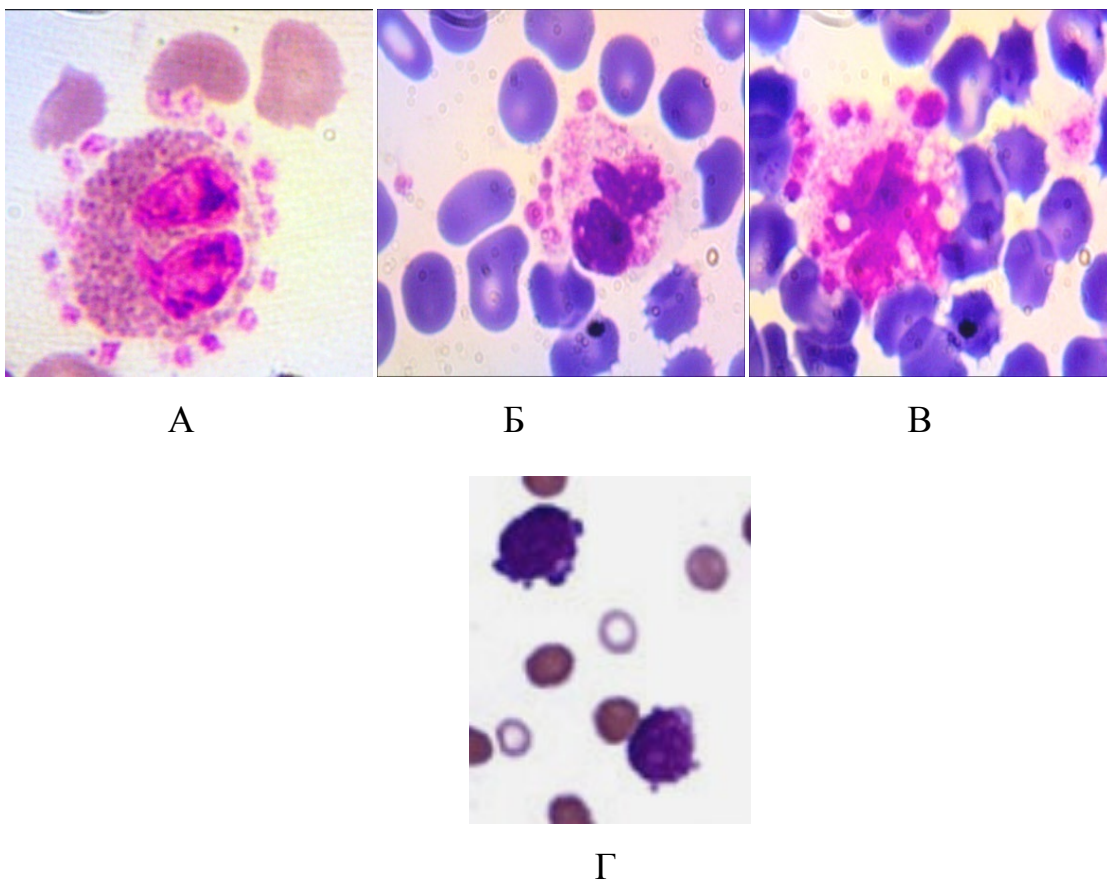


Рисунок 5.8. Варианты ТЛА у пациентов с МКБ после ЛТ, окраска по Романовскому-Гимзе, увеличение $\times 400$.

А – эозинофило-тромбоцитарный агрегат; Б – нейтрофильно-тромбоцитарный агрегат; В – моноцитарно-тромбоцитарный агрегат, Г – лимфоцитарно-тромбоцитарный агрегат.

При добавлении адреналина и АДФ зарегистрировано увеличение размеров агрегатов за счет трансформации микроагрегатов в тромбоцитарные комплексы вокруг отдельных лейкоцитов [1]. Такой результат подтверждает необходимость исследования ТЛА после стимуляции Тц агонистами.

Клеточный состав ТЛА без предварительной стимуляции агонистом в фазе ремиссии $100 \pm 7,90$ (95% ДИ 83,3-100) % и рецидива ХОПН $100 \pm 12,98$ (95% ДИ 33,3-100) % был представлен тромбоцитарно-нейтрофильной кооперацией (Таблица 5.3).

Сравнительная характеристика составов тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов без стимуляции при ремиссии и рецидиве ХОПН на этапе выписки

Переменная	Фаза ремиссии ХОПН	Фаза рецидива ХОПН
Общее число ТЛА	2,5±0,85 (1-5)	3±0,47 (1-4)
Тромбоцитарно-нейтрофильные агрегаты (ТНА)	2±0,79 (1-5)	1±0,58 (0-4)
Число нейтрофилов в агрегате (%)	100±7,90 (83,3-100)	100±12,98 (33,3-100)
Тромбоцитарно-моноцитарные агрегаты (ТМА)	0±0,21 (0-1)	0±0,33 (0-1)
Число моноцитов в агрегате (%)	0±7,90 (0-16,7)	0±11,24 (0-33,3)
Тромбоцитарно-эозинофильные агрегаты (ТЭА)	0±0,23 (0-1)	0±0,10 (0-1)
Тромбоцитарно-лимфоцитарные агрегаты (ТЛимфА)	0±0,14 (0-1)	0±0,12 (0-1)
Число лимфоцитов в агрегате (%)	0±4,23 (0-40)	0±6,83 (0-15,3)

Введение в суспензию Тц адреналина и АДФ приводило к увеличению абсолютного числа агрегатов и изменению их качественного состава. Стимуляция Тц АДФ 5 мкМ в фазе ремиссии ХОПН достоверно приводило к повышению числа тромбоцитарно-лимфоцитарной кооперации в 10 раз ($p = 0,0043$) по сравнению с группой в фазе рецидиве ХОПН. При этом тромбоцитарно-нейтрофильные агрегаты являлись основным видом межклеточного взаимодействия в двух группах (Таблица 5.4).

**Сравнительная характеристика составов ТЛА при стимуляции
АДФ 5 мкМ при ремиссии и рецидиве ХОПН на этапе выписки**

Переменная	Фаза ремиссии ХОПН	Фаза рецидива ХОПН	p
Общее число ТЛА + АДФ 5 мкМ	5±0,86 (3-7)	8±1,52 (3-10)	
Тромбоцитарно-нейтрофильные агрегаты (ТНА)	4±1,16 (3-5)	3±0,73 (2-6)	p = 0,3290
Число нейтрофилов в агрегате (%)	50±11,47 (50-100)	76,2±5,99 (60-87,5)	
Тромбоцитарно-моноцитарные агрегаты (ТМА)	1,5±0,75 (0-4)	1±0,30 (0-2)	p = 0,6979
Число моноцитов в агрегате (%)	20,85±7,56 (0-40)	23,8±5,46 (12,5-37,5)	
Тромбоцитарно-эозинофильные агрегаты (ТЭА)	0±0,23 (0-1)	0±0,10 (0-1)	
Тромбоцитарно-лимфоцитарные агрегаты (ТЛимфА)	1±0,23 (0-12,5)	0±0,13 (0-1)	
Число лимфоцитов в агрегате (%)	10±2,98 (0-12,5)	0±1,22 (0-3)	p = 0,0043

Примечание. p – показатель достоверности различия по критерию Манна-Уитни.

При предварительном введении в суспензию Тц адреналина 5,0 мкМ в группе в фазе ремиссии ХОПН менялся качественный состав ТЛА за счет достоверного увеличения тромбоцитарно-моноцитарной кооперации (p = 0,0314) по сравнению с пациентами в фазе рецидива ХОПН. Однако в 1 и 2 группах преобладающим вариантом ТЛА были тромбоцитарно-нейтрофильные кооперации (Таблица 5.5).

**Сравнительная характеристика составов ТЛА при стимуляции
адреналином 5 мкМ при ремиссии и рецидиве ХОПН на этапе выписки**

Переменная	Фаза ремиссии ХОПН	Фаза рецидива ХОПН	p
Общее число ТЛА + адреналин 5 мкМ	6,5±1,82 (4-13)	4±1,30 (3-8)	
Тромбоцитарно-нейтрофильные агрегаты (ТНА)	3,5±1,59 (2-10)	3±0,98 (2-7)	
Число нейтрофилов в агрегате (%)	50±6,24 (50-76,9)	68,9±9,49 (50-100)	p = 0,2476
Тромбоцитарно-моноцитарные агрегаты (ТМА)	2±0,50 (1-3)	0±0,5 (0-2)	
Число моноцитов в агрегате (%)	25±6,26 (23,1-50)	0±9,23 (0-25)	p = 0,0314
Тромбоцитарно-эозинофильные агрегаты (ТЭА)	0±0,14 (0-1)	0±0,16 (0-1)	
Тромбоцитарно-лимфоцитарные агрегаты (ТЛимфА)	1±0,21 (0-1)	0±0,32 (0-2)	
Число лимфоцитов в агрегате (%)	8,85±4,29 (0-25)	0±6,96 (0-25)	p = 0,6042

Примечание. p – показатель достоверности различия по критерию Манна-Уитни.

В острую фазу воспалительного процесса в составе ТЛА при индукции АДФ и адреналином преобладают нейтрофилы, а в фазе ремиссии качественный состав ТЛА расширяется за счет моноцитов и лимфоцитов. Проведение индуцированного агонистами формирования тромбоцитарно-лейкоцитарных коопераций позволяет расширить качественный состав и увеличить абсолютное число агрегатов.

Анализ ТЛА в фазе рецидива ХОПН после ЛТ на этапе выписки определил тенденции к преобладанию тромбоцитарно-нейтрофильной кооперации как индикатор лейкоцитарной активности при инициации острой фазы воспаления.

5.5. Информативные показатели в диагностике фазы рецидива пиелонефрита на этапе выписки из стационара после проведения литотрипсии

С целью оценки прогностической эффективности маркеров рецидива ХОПН на фоне оперативного и консервативного лечения уролитиаза в исследование был включен этап выписки (3-5 день после ЛТ) из стационара. В качестве показателей системного воспалительного процесса были использованы относительное число сегментоядерных нейтрофилов, СОЭ, СРБ и амплитуда агрегации Тц на ФАТ 150 мкМ (Таблица 5.6). В качестве эталона сравнения для ROC-анализа был использован уровень лейкоцитов более 9 Г/л по результатам периферического анализа крови в исследуемом сроке лечения МКБ.

Прогностически эффективными маркерами рецидива ХОПН у пациентов после оперативного лечения МКБ являются уровень сегментоядерных нейтрофилов и амплитуда агрегации Тц на ФАТ 150 мкМ (Рисунок 5.9).

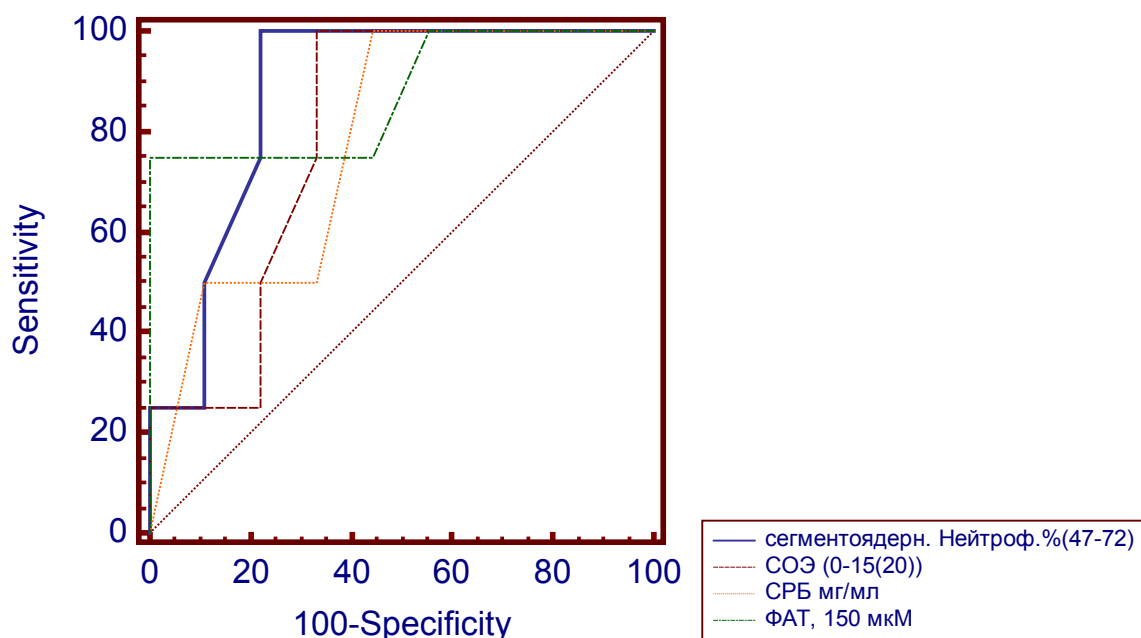


Рисунок 5.9. Информативность показателей воспалительного ответа (ROC-кривые) на этапе выписки у пациентов с МКБ на фоне комплексного лечения

ROC-анализ позволил определить, что повышение агрегации Тц на ФАТ 150 мкМ более 35% ($Se = 50\%$; $Sp = 100\%$) является отличным классификатором рецидива ХОПН ($AUC\ 0,77 \pm 0,126$, $p = 0,0344$), как и увеличение сегментоядерных нейтрофилов более 71% в периферическом анализе крови ($Se = 68,7\%$; $Sp = 77,4\%$; $AUC\ 0,78 \pm 0,066$, $p < 0,0001$), а СОЭ и СРБ являются плохими прогностическими маркерами рецидива ХОПН на момент выписки из стационара (Таблица 5.6).

Таблица 5.6

**ROC-кривая диагностической эффективности
показателей фазы рецидива ХОПН на этапе выписки**

Показатель	AUC выписка
Сегментоядерные нейтрофилы, %	$0,78 \pm 0,07$ (0,64 - 0,89) $p < 0,0001$
ФАТ 150 мкМ	$0,77 \pm 0,13$ (0,49 - 0,94) $p = 0,03$
СОЭ, мм/час	$0,5 \pm 0,09$ (0,35 - 0,65) $p = 0,99$
СРБ, мг/мл	$0,6 \pm 0,096$ (0,42 - 0,76) $p = 0,31$

Проведение противовоспалительной терапии приводит к снижению информативности клинико-лабораторных показателей развития воспаления в МВП после ЛТ и осложняет верификацию фазы рецидива ХОПН, что требует поиска информативных индикаторов воспалительного процесса. Перспективным направлением является исследование ТЛА и анализ функциональной активности Тц, которые продемонстрировали в ROC-анализе отличную прогностическую эффективность при индукции ФАТ 150 мкМ.

Основные положения данной главы представлены в следующих работах:

1. Анализ факторов риска осложнений, индуцированных литотрипсией / Э.Ф. Баринов, А.Н. Кравченко, Т.А. Твердохлеб, А.О. Балыкина // Український

журнал хірургії. – Донецьк, 2014. – № 1(24). – С. 123-127.

2. Барінов, Е.Ф. Предиктори розвитку рецидиву хронічного обструктивного пієлонефриту у чоловіків / Е.Ф. Барінов, Т.О. Твердохліб, А.М. Кравченко // Морфологічні аспекти ангіології. – Тернопіль: ТДМУ, Укрмедкнига, 2013. – С. 8-9.

3. Особенности реакции клеток крови у женщин при хроническом обструктивном пиелонефрите / Э.Ф. Баринов, Т.А. Твердохлеб, А.Н. Кравченко [и др.] // *Jornal of Health Sciences*. – Radom, Poland, 4(2), 2014;. – С. 201-218.

4. Механізми ініціації рецидиву хронічного обструктивного пієлонефриту / Е.Ф. Барінов, А.Н. Кравченко, Т.О. Твердохліб., А.О. Баликіна // Актуальные проблемы транспортной медицины – Одесса, 2014. – Т. 1 (36-I), №2 . – С. 130- 134.

5. Возрастные особенности реакции лейкоцитов мужчин при хроническом обструктивном пиелонефрите / Э.Ф. Баринов, А.Н. Кравченко, Т.А. Твердохлеб, М.Э. Баринова // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2014. – Т. 59, № 6. – С. 16-18.

6. Возрастные особенности адаптационной реакции клеток крови у женщин при рецидиве хронического обструктивного пиелонефрита / Э.Ф. Баринов, А.О. Балыкина, А.Н. Кравченко, Т.А. Твердохлеб // *Успехи геронтологии*. – Т. 27, № 3. – 2014. – С. 472-476.

7. Твердохлеб, Т.А. Реактивность клеток периферической крови у пациентов с хроническим обструктивным пиелонефритом / Т.А. Твердохлеб, А.О. Балыкина, А.Н. Кравченко // XVII Всероссийская медико-биологическая конференция молодых исследователей (с международным участием): *Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье*. – Санкт-Петербург: СПбГУ, 2014. – С. 438-439.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный в работе комплексный анализ клинико-инструментальных данных и реактивности Тц в первую очередь определил роль тромбогенеза в условиях применения НПВС, развития гематурии и фазы рецидива ХОПН на фоне консервативного и оперативного лечения уролитиаза. Кроме хорошо известных патогенетических и клинико-лабораторных факторов [22, 26, 101] в работе была проанализирована связь осложнений уролитиаза с изменениями в системе первичного звена гемостаза на фоне применения противовоспалительной терапии [45,10, 37]. Факт связи реакции Тц и реализации тромбогенеза заслуживает особого внимания, поскольку требует анализа механизмов повышения протромбогенного потенциала при сниженном функциональном ответе Тц в условиях кровопотери.

Применение НПВС для купирования болевого синдрома, связанного с прохождением конкремента, находит широкое применение в урологической практике и может усугубить проявление гематурии [2, 34, 163, 157]. Как известно, НПВС приводят к снижению функциональной активности Тц путем блокады ЦОГ-1 и синтеза TxA_2 [1]. При использовании обычной противовоспалительной дозы НПВС происходит ингибирование активности ЦОГ-1 на 70-90% [5, 43]. Данный факт необходимо учитывать для предупреждения кровотечений. На сегодняшний день нет показаний к отмене антиагрегантов перед проведением ЛТ, но и недостаточно изучены механизмы изменения реактивности Тц под влиянием НПВС при гематурии [164, 214]. В условиях прохождения конкремента по МВП происходит альтерация слизистой оболочки, обструкция и нарушение нормального пассажа мочи, что приводит к появлению болевого синдрома, гематурии и развитию хронического воспалительного процесса (Рисунок 6.1).



Рисунок 6.1. Патогенез обструктивной уропатии при МКБ.

Тромбоциты имеют провоспалительный и проагрегантный потенциал, при этом недостаточно изучена их роль при воспалении и кровопотере. Исследование функционального статуса Тц на протромбогенные и провоспалительные агонисты при МКБ продиктовано развитием осложнений, таких как гематурия и рецидив ХОПН [34, 35, 53].

Экспрессия многочисленных и разнообразных рецепторов Тц к системным, паракринным и плазменным агонистам позволяет использовать их как *in vitro* модель для оценки системы гемостаза и реактивности организма в целом [251].

Следует отметить, что не всегда применение антиагрегантов приводит к снижению протромбогенного потенциала Тц. Ранее было доказано наличие феноменов резистентности и остаточной реактивности Тц на фоне введения НПВС, но пути их оценки активно обсуждаются [96, 158, 175].

Влияние НПВС на функциональную активность Тц связано с отсутствием агрегации при введении арахидоновой кислоты [87, 164]. Такой результат находит подтверждение и в нашем исследовании как на этапе госпитализации $3 \pm 1,2$ (95 % ДИ 1-6) %, так и через 1-6 часов $2 \pm 1,5$ (95% ДИ 0-15) % и 24 часа $4 \pm 1,51$ (95% ДИ 1-9) % после проведения ЛТ.

Реализация тромбогенеза не опосредованна исключительно TxA_2 и включает паракринную (АДФ), гуморальную (адреналин, серотонин) и провоспалительную (ФАТ) активацию Тц [49, 50, 51, 53].

Одним из критериев эффективного применения НПВС является наличие гипореактивности Тц при индукции агрегации АДФ 5,0 мкМ. Выбор данного агониста оправдан тем, что на поверхности Тц экспрессированы два типа пуринорецепторов P2Y1 (G_q) и P2Y12 (G_i).

P2Y1 приводит к активации G_q и внутриклеточного каскада сигнальных событий через ФЛС [210, 266]. Однако для полноценного ответа Тц и формирования стабильных агрегатов требуется активация P2Y12 рецепторов, которые через $G_{i\alpha}$ -белок ингибируют АЦ и за счет $G_{\beta\gamma}$ -субъединицы повышают активность ФИЗК, Akt/ПКВ (протеинкиназы В) и Rap 1b [150]. Стимуляция

P2Y₁₂ усиливает связывание фибриногена с GPIIb-IIIa, что ведет к необратимой агрегации [142].

В результате вариабельности агрегационного ответа Тц на АДФ 5 мкМ на фоне приема НПВС пациенты с уролитиазом на этапе консервативного лечения были разделены на 2 группы: 1 группа – 57% (n = 70) при амплитуде агрегации на АДФ 5 мкМ более или равно 45%, что является проявлением резистентности Тц к НПВС; 2 группа – 43% (n = 52) при регистрации амплитуды агрегации Тц на АДФ 5 мкМ менее 45% – $33 \pm 2,15\%$ (95% ДИ 28-38%) ($p < 0,0001$) и говорит об эффективном применении НПВС с ингибированием агрегации Тц.

Согласно ранее проведенным исследованиям частота регистрации резистентности к НПВС составляет от 5 до 60% [99, 202, 226]. Изучены такие механизмы устойчивости к антитромбоцитарным препаратам как: снижение биодоступности препарата из-за плохой абсорбции, одновременный прием нескольких противовоспалительных препаратов (например, ибупрофена, индометацина, ГКС, антибиотикотерапия), генетические полиморфизмы, альтернативные пути активации и ускоренная элиминация Тц [202, 226].

Мало известно о фенотипе гипореактивных Тц, который характеризуется низким ответом Тц *in vitro* на основные агонисты, при сохранении гемостаза на физиологическом уровне [1]. Наиболее часто к причинам гипореактивности Тц можно отнести генетически детерминированное снижение чувствительности рецепторного аппарата, положительную регуляцию системы ограничения тромбогенеза АЦ-цАМФ-ПКА, снижение эффектов взаимоактивации сигнальных путей, влияние провоспалительной активации на тромбогенез и применение противовоспалительной терапии.

Как известно, этапы активации Тц и формирования агрегатов (инициация, прогрессирование и стабилизация) находят отражение в процессе регистрации агрегатограммы [176, 200]. Ранее было установлено, что НПВС подавляют вторую волну агрегации при введении АДФ и адреналина [170].

Для оценки механизмов влияния НПВС на агрегацию Тц и в связи с регистрацией снижения в 2,7 раза ($p < 0,0001$) адренореактивности Тц при

определении гипопуринореактивности (2 группа) был проведен анализ параметров агрегатограмм. Ранее было установлено, что пороговая концентрация адреналина, введенная в суспензию Тц, приводит к регистрации двухволновой необратимой агрегатограммы [74, 170, 200, 222]. В связи с этим кривые агрегации при индукции адреналином 5 мкМ являются репрезентативными для оценки механизмов гипофункции Тц с целью идентификации возможных различий для 1 и 2 фаз агрегации на фоне применения НПВС.

Гипореактивный статус Тц во 2 группе был связан со снижением в 1,95 раза площади под кривой ($108,45 \pm 19,87$ vs $55,7 \pm 10,77\% \times \text{мин}$, $p < 0,0075$), в 2 раза ($26 \pm 6,65$ vs $13 \pm 1 \text{ %/мин}$, $p < 0,0001$) скорости формирования агрегатов (наклоне кривой) и пролонгацией в 1,7 раза времени задержки ($19 \pm 2,11$ сек. vs $11,5 \pm 2,2$ сек., $p = 0,0024$). Эффективное применение НПВС (2 группа) приводило к достоверному снижению в 1,5 раза показателей угла α ($44,5 \pm 5,34$ vs $29,5 \pm 6,14^\circ$ и $\text{tg } \alpha$ $0,985 \pm 3,23$ vs $0,57 \pm 3,23$, $p = 0,0367$) и в 2,76 раз угла β ($58 \pm 6,56$ vs $21 \pm 4,03^\circ$ и $\text{tg } \beta$ $1,6 \pm 0,61$ vs $0,38 \pm 0,096$, $p < 0,0001$) по сравнению с 1 группой.

Проведенный в исследовании отдельный расчет углов α и β позволил детализировать изменения в механизмах, обеспечивающих инициацию агрегации (этап «outside-in») и дегрануляцию с экспозицией рецепторов к фибриногену (этап «inside-out») на фоне введения НПВС при МКБ.

Наличие феномена ингибирования агрегации Тц на АДФ и адреналин на фоне применения НПВС ограничивает возможность Тц участвовать в воспалительном ответе.

Во 2 группе индуцированная агрегация Тц на ФАТ и серотонин определялась на гипореактивном уровне и была ниже показателей 1 группы соответственно в 3,5 ($p = 0,03$) и 6 раз ($p = 0,02$).

По литературным данным доказан феномен остаточной реактивности Тц при сочетанной активации нескольких рецепторов [60, 99, 168]. Исследование возможности повышения протромбогенного потенциала при гипореактивности Тц является перспективным и заслуживает внимания при риске развития

гематурии. Эффект ко-активации представляет интерес в качестве индикатора остаточной реактивности Тц в условиях медикаментозного ингибирования.

Сигнальные пути, которые запускаются с нескольких рецепторов (ассоциированных с разными G-белками), имеют общие сигнальные молекулы и носят перекрестный характер активации [51, 132, 175, 212].

Эффективное применение НПВС и снижение проагрегантного потенциала Тц на пороговые концентрации адреналина и АДФ приводят к повышению риска развития периоперационной гематурии. Показатель гематурии во 2 группе был в 12 раз выше 1 группы ($p = 0,024$). Данный результат говорит о влиянии гипореактивного статуса Тц на выраженность гематурии на дооперационном этапе лечения уролитиаза.

Суть механизма в том, что эффекты адреналина и АДФ реализуются через один и тот же сигнальный путь G_i -Akt, хотя при этом активируются разные рецепторы – соответственно α_2 -адренорецептор и пуриновый рецептор – P2Y₁₂. Агонисты адреналин и ФАТ не имеют общего сигнального пути. Литературные данные подтверждают наличие ко-активации между PAF-рецепторами (G_q) и α_{2A} -адренорецепторами (G_i) [1, 51, 132].

Взаимоактивация АДФ+адреналин при EC_{10} снижалась в 2,26 раза ($p = 0,0001$) и на ФАТ+адреналин в 6,16 раз ($p = 0,0039$) по сравнению с 1 группой.

Эффективное применение НПВС ограничивает феномен потенцирования агрегации Тц и может приводить к повышению выраженности гематурии в периоперационном периоде.

Малоинвазивное оперативное лечение уролитиаза характеризуется низким числом послеоперационных осложнений от 3 до 10%, из которых наиболее тяжелыми являются кровотечение и уросепсис [52, 54, 62].

На сегодняшний день с целью профилактики периоперационных осложнений применяется комплексная противовоспалительная терапия (НПВС, глюкокортикостероиды, антибиотикотерапия), однако риск нежелательных эффектов вводимых препаратов, к которым относится снижение функциональной активности Тц, уходит из внимания специалистов.

К наиболее вероятным причинам повышения выраженности послеоперационной гематурии можно отнести наличие дренажных систем в МВП, размер и локализация конкремента, продолжительность обструкции, вид оперативного вмешательства, реактивность организма, активность воспалительного процесса, применение противовоспалительной терапии в периоперационном периоде [41, 224]. Выраженность гематурии в первые 1-6 часов ($p < 0,0001$) и через 24 часа ($p < 0,0001$) после ЛТ достоверно превышала показатели дооперационного периода. Оперативное лечение является фактором риска интенсификации гематурии.

Одним из недостатков контактной ЛТ является частая необходимость установки стента мочеточника, который предотвращает обструкцию МВП фрагментами конкрементов и ограничивает послеоперационный отек [143]. Литературные источники подтверждают, что рутинное стентирование после ЛТ может быть связано с более высокой частотой побочных эффектов [148, 162, 218].

Выраженность гематурии через 24 часа после ЛТ при проведении дренирования МВП была достоверно выше в группе с установленной нефростомой ($p = 0,0196$) и одновременной установкой стента и нефростомы ($p = 0,009$) по сравнению с бездренажным ведением пациентов. При этом установка стента характеризовалась высокой вариабельностью гематурии, но не приводила к достоверному увеличению кровопотери через 24 часа после ЛТ ($p = 0,22$) по сравнению с группой без наличия дренажных систем.

Перспективным направлением в диагностике и предупреждении периоперационной кровопотери в урологической практике является оценка функционального статуса Тц [10, 62, 65].

Особый интерес представляет оценка вариабельности ответа Тц на АДФ с анализом двух групп через 1-6 часов и 24 часа после ЛТ: 1 группа с амплитудой агрегации более 45% и 2 группа – менее 45% на АДФ 5 мкМ после оперативного лечения уролитиаза.

Достоверно чаще в 2,2 ($p = 0,01$) раза пациентам во 2 группе была проведена АКНУЛТ. Такой результат подтверждает более травматичный вид оперативного лечения МКБ при необходимости элиминации конкрементов из чашечно-лоханочной системы и мочеточника антеградным доступом.

При межгрупповом сравнении показателей кровопотери через 1-6 часов после ЛТ выраженность гематурии была выше в 5,5 раза во 2 группе по сравнению с 1 группой ($p = 0,052$).

Через 24 часа выраженность гематурии во 2 группе была в 11,6 раза выше, чем регистрировалась в 1 группе ($p = 0,0316$). Снижение функциональной активности Тц при индукции АДФ 5 мкМ менее 45% через 1-6 часов и 24 часа после ЛТ является одним из факторов риска увеличения выраженности гематурии.

Особый интерес заслуживает оценка механизмов гипореактивного статуса Тц после проведения ЛТ по данным агрегатограмм. Так несмотря на наличие гипоадренореактивности в двух исследуемых группах, амплитуда агрегации на адреналин была в 2,4 раз ниже во 2 группе ($p < 0,0001$) через 1-6 часов и в 1,73 раза ($p = 0,0001$) во 2 группе через 24 часа после ЛТ. Такой результат позволяет считать агрегатограммы, индуцированные адреналином 5 мкМ в исследуемых сроках, репрезентативными для оценки механизмов гипопуринореактивности Тц.

При сравнении параметров кривых агрегации через 1-6 часов после ЛТ определялось снижение во 2 группе интегративных показателей: площади под кривой в 3,3 раза ($p = 0,0032$), скорости наклона кривой в 1,8 раза ($p = 0,0005$) и увеличении времени задержки агрегации в 1,6 раза ($p = 0,0349$) по сравнению с 1 группой. Также регистрировалось снижение дополнительно введенных показателей в 1,9 раза для первой (угол α и $\text{tg } \alpha$ при $p = 0,033$) и в 1,9 раза для второй волны (угол β и $\text{tg } \beta$ при $p = 0,04$) агрегации.

Через 24 часа после ЛТ во 2 группе при гипопуринореактивности Тц были снижены в 3,2 раза показатели площади под кривой ($p = 0,0001$), в 2,79 раза наклона кривой ($p = 0,0001$) и в 1,89 раза параметры для первой ($p = 0,012$) и в 2,7 раза для второй ($p = 0,023$) волн агрегации по сравнению с 1 группой.

Корреляционный анализ позволил установить влияние фазы дегрануляции (показателей угла β и $\text{tg } \beta$) на амплитуду агрегации на адреналин 5 мкМ во 2 группе через 1-6 часов $r = 0,67$ ($p = 0,0244$) и 24 часа после ЛТ $r = 0,842$ ($p = 0,0006$).

Такой результат преимущественного влияния на амплитуду агрегации в двух группах фазы дегрануляции (параметры второй волны агрегатограммы) подтверждает важную роль паракринной взаимоактивации, за счет чего происходит эффект ускользания от антиагрегантной терапии и сохраняется функция первичного гемостаза, несмотря на ингибирование рецептор-опосредованной фазы агрегации.

Сочетанная активация нескольких внутриклеточных сигнальных систем с регистрацией эффекта потенцирования и/или суммации является одним из маркеров адаптационной активности Тц при гипореактивности.

Учитывая усиление выраженности гематурии через 1-6 часов и 24 часа после проведения ЛТ, изучение возможности повышения протромбогенного потенциала Тц в условиях медикаментозного ингибирования представляется актуальным исследовательским вопросом.

Через 1-6 часов после ЛТ эффект потенцирования сохраняется в двух группах, однако во 2 группе снижается в 2,18 раза ($p < 0,0001$) при индукции АДФ 0,5+адреналин 0,1 мкМ и на ФАТ 30+адреналин 0,1 мкМ в 2,17 ($p = 0,05$) раза при сравнении с 1 группой.

Особый интерес представляет тот факт, что эффект потенцирования при регистрации гипопуринореактивности (2 группа) в раннем послеоперационном периоде и через 24 часа полностью не ингибируется.

Через 24 часа после ЛТ в 1,96 раза снижается ко-активация Тц во 2 группе при введении АДФ 0,5+адреналин 0,1 мкМ ($p = 0,0001$) и в 1,92 раза на ФАТ 30+адреналин 0,1 мкМ при $p = 0,143$. Такой показатель отражает ингибирование провоспалительной активации Тц за счет снижения генерации ФАТ в лейкоцитах при введении противовоспалительной терапии.

Полученные результаты подтверждают ограничение адаптационной активности Тц в условиях эффективного применения противовоспалительной терапии и при регистрации сниженного функционального ответа Тц на АДФ 5 мкМ, что является дополнительным фактором риска усиления выраженности кровопотери.

Для оценки прогностически эффективных маркеров сохранения пуринореактивности был проведен ROC-анализ с использованием амплитуды агрегации на адреналин 5 мкМ и АДФ+адреналин в ЕС₁₀ после проведения ЛТ.

Повышение амплитуды агрегации на АДФ+адреналин в ЕС₁₀ Тц более 42% (AUC 0,92 ± 0,046, Se 76,5%, Sp 100%) через 1-6 часов и более 34% (AUC 0,83 ± 0,062, Se 78,8%, Sp 94,4%) через 24 часа после ЛТ и на фоне медикаментозного ингибирования является отличным прогностическим маркером определения резистентности Тц к НПВС ($p < 0,0001$). Отличную через 1-6 часов (AUC 0,82 ± 0,056, $p < 0,0001$) и хорошую через 24 часа (AUC 0,8 ± 0,055, $p < 0,0001$) прогностическую ценность для определения пуринореактивности Тц более 45% демонстрирует агрегация Тц на адреналин 5 мкМ.

Своевременная диагностика и поиск оптимальных маркеров идентификации рецидива воспалительного процесса и кровопотери остаются актуальными в урологической практике после проведения оперативного лечения и на сегодняшний день [47, 59, 62, 64]. По данным литературных источников частота фазы рецидива ХОПН после ЛТ варьирует от 3 до 30%, несмотря на применение противовоспалительной терапии [65, 69].

Считается, что адекватная периоперационная антибиотикотерапия, сокращение продолжительности оперативного лечения, применение предоперационного дренирования верхних мочевых путей позволяет снизить частоту пиелонефритов при эндоурологических вмешательствах у больных уролитиазом [65, 84, 225].

Для оценки фазы рецидива ХОПН необходимо использовать несколько индикаторов воспалительного процесса такие, как общий уровень лейкоцитов, сдвиг лейкоцитарной формулы влево, повышение СРБ, выраженность

лейкоцитурии и бактериурии, и сопоставлять их с клинической картиной [3, 39, 79, 106].

Определение этиопатогенеза вторичного пиелонефрита требует установление уropатогена, факторов инфицирования и характера иммунной реактивности организма [103].

Как известно, пиелонефрит не имеет специфического возбудителя. Этиологическим агентом ХОПН выступают грамположительные, грамотрицательные и условно-патогенные нозокомиальные штаммы уropатогенов [23]. По литературным данным мочевиная инфекция, обусловленная инструментальными методами обследования, лечением и декомпрессией МВП, составляет от 30 до 50% случаев всех госпитальных инфекций [79].

Оправдано считать, что этиопатогенез пиелонефрита имеет многофакторный характер и зависит от адгезивных, инвазивных и цитотоксичных свойств бактерий, иммунной реактивности организма, нарушения уродинамики и почечной перфузии [3, 7, 59, 192, 207]. Таким образом, комплекс факторов формирует особенности возникновения, течения и прогноза пиелонефрита.

Лечение ХОПН имеет следующие цели: устранение урологических нарушений, применение антибиотикотерапии, симптоматическая и поддерживающая терапия [18, 20, 33, 34].

К предикторам рецидива ХОПН после проведения ЛТ можно отнести: уropатогены, альтерацию слизистой оболочки МВП, установку дренажных систем, прогрессирование обструктивной уropатии, отсутствие эффективной противовоспалительной терапии.

Профилактическая противовоспалительная терапия у пациентов с МКБ в периоперационном периоде является необходимой для минимизации рисков рецидива ХОПН. Оценка провоспалительной реакции организма через 3-5 суток (период выписки из стационара) позволяет определить результат эффективности и безопасности проведенного лечения уrolитиаза.

Диагноз фазы рецидива ХОПН на этапе выписки был верифицирован у 25 пациентов (20,4%) на основе жалоб, анамнестических данных, объективного осмотра, лабораторных и дополнительных исследований.

По данным клинико-лабораторного анализа в фазу рецидива ХОПН регистрировался в 1,46 раза выше уровень общего числа лейкоцитов ($p = 0,0012$) за счет сегментоядерных нейтрофилов ($p = 0,0428$) по сравнению с фазой ремиссии ХОПН. Уровень СРБ превышал показатель группы сравнения в 3 раза ($p = 0,0016$). Выраженность лейкоцитурii в 4 раза превышала аналогичный показатель фазы ремиссии ХОПН ($p = 0,0093$). При госпитализации рост микрофлоры определялся в диагностическом титре более 10^5 КОЕ у 25 % ($n = 17$) пациентов и был представлен широким спектром бактерий. На момент выписки рост микрофлоры более 10^5 КОЕ был обнаружен у 13 пациентов (30,8%). В день выписки бактериурия была представлена *Enterococcus Faecalis* и *Klebsiella pneumoniae*, у пациентов с наличием дренажных систем.

Поддержание уродинамики при помощи дренажных систем может способствовать распространению инфекции и требует проведения антибактериальной терапии в течение всего периода проведения декомпрессии МВП после ЛТ [22, 23]. Ряд исследователей считают, что эрадикация возбудителя при ХОПН позволяет также купировать рецидив МКБ после ЛТ [79, 103].

Различий по частоте использования в фазе ремиссии и рецидива ХОПН различных комбинаций антибиотикотерапии не было определено. Монотерапия ЦФ III поколения была ведущей в двух группах (42,86% и 50% при $p = 0,975$). Выбор данной группы антибиотиков оправдан широким спектром действия, который включает как грамположительные, так и грамотрицательные микроорганизмы.

Нефролитотрипсия считается наиболее травматичным видом эндоурологического вмешательства в связи с возможностью влияния ударной волны на паренхиму почки и как результат развития кровотечений и травм [79, 103, 106]. По данным проведенного исследования в фазе рецидива ХОПН

достоверно чаще была проведена $57,14 \pm 10,8\%$ КНЛТ ($p = 0,047$) по сравнению с фазой ремиссии ХОПН при которой ведущим оперативным лечением была КУЛТ $81,25 \pm 9,76\%$ ($p = 0,048$). Такой результат подтверждает более высокий риск развития послеоперационных инфекционных осложнений при нефролитиазе и проведении КНЛТ.

В период госпитализации пациентов с уролитиазом стартовая терапия продолжительностью 3-5 дней была представлена НПВС (диклофенак, кеторолак) в комбинации с антибиотикотерапией в течение пред- и послеоперационного периода.

Особый интерес представляет медиатор воспаления ФАТ, который синтезируется в лейкоцитах при их активации. Агрегационный потенциал Тц пациентов с МКБ в фазе рецидива ХОПН при индукции медиатором воспаления ФАТ 150 мкМ на этапе выписки был в 2,76 раза выше ($p = 0,0073$) по сравнению с фазой ремиссии. Амплитуда агрегации в фазе рецидива ХОПН на этапе выписки в 1,8 раза на АДФ 5,0 мкМ ($p < 0,0001$) и в 1,85 раза на адреналин 5 мкМ ($p = 0,0417$) превышали показатели фазы ремиссии. Эффект ко-активации при стимулированной агрегации АДФ 0,5+адреналин 0,1 мкМ в 1,7 раза ($p = 0,0019$) был выше, чем у пациентов в фазе ремиссии ХОПН. Такой результат говорит о повышении протромбогенного и провоспалительного потенциала Тц у пациентов после ЛТ и активном воспалительном процессе МВП несмотря на применение НПВС.

В исследовании были проанализированы прогностические факторы фазы рецидива ХОПН на этапе выписки после оперативного лечения МКБ.

Повышение амплитуды агрегации при индукции ФАТ 150 мкМ более 35% ($Se = 50\%$; $Sp = 100\%$) говорит об эффективном прогнозе рецидива ХОПН ($AUC 0,77 \pm 0,126$, $p = 0,0344$), как и при повышении уровня сегментоядерных нейтрофилов более 71% ($Se = 68,7\%$; $Sp = 77,4\%$; $AUC 0,78 \pm 0,066$, $p < 0,0001$) после ЛТ на этапе выписки. В то время как СОЭ и СРБ являются плохими прогностическими маркерами рецидива ХОПН на момент выписки из стационара.

Верификация диагноза фазы рецидива ХОПН после ЛТ требует комплексного анализа клинико-лабораторных показателей системного и локального воспалительного процесса и осложнена стертой клинической картиной в условиях применения противовоспалительной терапии. Одним из факторов влияния на выраженность воспалительного процесса может быть провоспалительная функция Тц, в том числе за счет сочетанной нейрогуморальной регуляции и способности формировать ТЛА.

Поиск терапевтических мишеней обструктивной уропатии включает применение антитромбоцитарной, антибактериальной и противовоспалительной терапии с целью купирования гиперактивности Тц и снижения миграции лейкоцитов и моноцитов в интерстиций путем подавления взаимодействия эндотелий-тромбоцит-лейкоцит [14, 32, 34].

Как на фоне противовоспалительной терапии изменяется взаимодействие Тц и лейкоцитов при реализации воспаления остается малоизученным [76, 87].

Тромбоциты участвуют в воспалительных заболеваниях посредством различных функциональных реакций, включая хемотаксис. Образование тромбоцитарно-лейкоцитарных комплексов и содействие миграции лейкоцитов, которые отличаются от агрегации Тц [72]. Эффект резистентности к противовоспалительной терапии может быть связан с вовлечением в воспаление Тц. Считается, что агонисты АДФ, коллаген, адреналин, TRAP-6 и U46619 вызывают агрегацию Тц, в то время как медиаторы воспаления fMLP, гистамин, IL-1 β , LPS, MDC/CCL22, SDF-1 α /CXCL12 и 5-НТ активируют миграцию Тц [22]. Доказана способность Тц формировать агрегаты с лейкоцитами [95, 109].

Разнообразие и сложность путей, задействованных в хемотаксисе лейкоцитов и активации Тц, затрудняет контроль над этим процессом.

Известным является факт экспрессии рецепторов к катехоламинам и пуринам как на поверхности Тц, так и лейкоцитов.

В проведенном нами анализе тромбоцитарно-лейкоцитарной кооперации на этапе выписки из стационара в фазе рецидива и ремиссии ХОПН отражается классическое представление о последовательности выхода форменных элементов

крови в очаг воспаления. Первая стадия характеризуется выходом в зону инфильтрации сегментоядерных нейтрофилов и эозинофилов и длится до двух суток [21]. Лейкоциты способны как напрямую взаимодействовать с эндотелием, так и опосредовано при помощи Тц за счет экспрессии молекул адгезии на поверхности тромбоцит-лейкоцит-эндотелий [10]. Через 24 часа в место альтерации мигрирует моноцитарно-макрофагальная ассоциация – моноклеарная стадия [10].

Стимуляция Тц АДФ 5 мкМ в фазе ремиссии ХОПН приводила к увеличению числа тромбоцитарно-лимфоцитарной кооперации в 10 раз ($p = 0,0043$), а при введении в суспензию Тц адреналина 5,0 мкМ увеличивалось число тромбоцитарно-моноцитарных коопераций ($p = 0,0314$) по сравнению с пациентами в фазе рецидива ХОПН. Однако в 1 и 2 группах преобладающим вариантом ТЛА были тромбоцитарно-нейтрофильные кооперации.

Несмотря на комплексную противовоспалительную терапию в послеоперационном периоде функциональная активность Тц при участии в создании клеточных коопераций сохраняется. В острую фазу воспалительного процесса в составе ТЛА при индукции АДФ и адреналином преобладают нейтрофилы, а в фазе ремиссии качественный состав ТЛА расширяется за счет моноцитов и лимфоцитов. Проведение индуцированного агонистами формирования тромбоцитарно-лейкоцитарной кооперации позволят расширить качественный состав и увеличить абсолютное число агрегатов несмотря на фармакологическое ингибирование.

ВЫВОДЫ

В диссертационной работе на основании морфологических, спектрофотометрических, иммунологических, биохимических, культурологических и клинико-инструментальных методов исследования автором решена актуальная научная задача современной патофизиологии: установлены патогенетические механизмы изменения реактивности тромбоцитов при гематурии и пиелонефрите после консервативного и оперативного лечения уролитиаза, что имеет важное значение для теоретической и практической медицины.

1. Эффективное применение НПВС при уролитиазе приводит к снижению протромбогенного (в 1,8 раза на АДФ 5 мкМ ($p < 0,0001$), в 2,7 раза на адреналин 5 мкМ ($p < 0,001$)) и провоспалительного (в 3,5 раза на ФАТ 150 мкМ ($p = 0,03$), в 6 раз на серотонин 10 мкМ и ($p = 0,02$)) потенциала тромбоцитов за счет как первой ($p = 0,0367$), так и второй ($p < 0,0001$) фаз агрегации тромбоцитов, ограничения эффекта потенцирования (в 2,3 раза на АДФ 0,5 мкМ + адреналин 0,1 мкМ ($p = 0,0001$) и в 6,16 раза на ФАТ 30 мкМ + адреналин 0,1 мкМ ($p = 0,0039$)) и усилению выраженности гематурии в 12 раз ($p = 0,024$) по сравнению с группой резистентной к НПВС на этапе госпитализации.
2. Проведение оперативного лечения уролитиаза и, в частности, антеградной контактной нефроуретеролитотрипсии ($p = 0,01$), декомпрессии мочевыводящих путей с установкой нефростомы ($p = 0,0196$) или стента+нефростомы ($p = 0,009$), снижение пуринореактивности ($p < 0,0001$) и адренореактивности ($p < 0,0001$) тромбоцитов на фоне противовоспалительной терапии с ограничением 1 и 2 волн агрегатограмм, сопряжено с повышением выраженности гематурии через 1-6 часов и 24 часа после литотрипсии.

3. К отличному прогностическому фактору гипер-нормореактивности тромбоцитов при гематурии на фоне применения противовоспалительной терапии относится сохранение эффекта потенцирования АДФ 0,5 мкМ+адреналин 0,1 мкМ более 42% через 1-6 часов (AUC $0,92 \pm 0,046$) при $p < 0,0001$ и более 34% через 24 часа (AUC $0,83 \pm 0,062$) при $p < 0,0001$ после оперативного лечения МКБ.
4. Повышение агрегации тромбоцитов на медиатор воспаления ФАТ 150 мкМ более 35% (AUC $0,77 \pm 0,13$, $p = 0,034$) наряду с повышением уровня сегментоядерных нейтрофилов более 71% (AUC $0,78 \pm 0,07$, $p < 0,0001$) определено как отличный прогностический маркер фазы рецидива хронического обструктивного пиелонефрита.
5. Индуцированное формирование ТЛА после литотрипсии на этапе выписки определяет изменение фаз клеточной миграции при воспалительном ответе на фоне противовоспалительной терапии: полинуклеарную с преобладанием тромбоцитарно-нейтрофильной кооперации при рецидиве пиелонефрита; мононуклеарную при фазе ремиссии с увеличением тромбоцитарно-моноцитарной кооперации ($p = 0,031$) на адреналин 5 мкМ и тромбоцитарно-лимфоцитарной кооперации ($p = 0,004$) при введении АДФ 5 мкМ по сравнению с фазой рецидива.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1) Определение фенотипа гипореактивных Тц на фоне эффективного применения противовоспалительной терапии позволяет провести анализ индуцированной агрегации как минимум двумя агонистами в пороговой концентрации EC_{50} (АДФ, адреналин) и при снижении амплитуды агрегации менее 45% приводит к повышению выраженности гематурии при МКБ.

2) С целью оценки компенсаторных возможностей тромбоцитов и их резидуальной проагрегантной активности на фоне применения НПВС рекомендуется использовать в стандартных протоколах агрегатометрии одновременное введение в суспензию тромбоцитов в субпороговых (EC_{10}) концентрациях активаторов $G_i + G_q$ ассоциированных внутриклеточных сигнальных систем (АДФ 0,5 мкМ + адреналин 0,1 мкМ, ФАТ 30 мкМ + адреналин 0,1 мкМ). Сохранение эффекта потенцирования через 1-6 часов и 24 часа после ЛТ является индикатором нормо-гиперпуринореактивности Тц.

3) Использование расширенных параметров оценки агрегационной кривой при введении антиагрегантов позволяет дифференцировать механизмы внутриклеточной сигнализации, эталоном для оценки 1 и 2 фазы агрегации Тц рекомендовано использовать адреналин 5 мкМ, который индуцирует двухволновую необратимую кривую с возможностью выделения параметров для рецептор-опосредованной фазы (1 волна) и фазы дегрануляции (2 волна). Эффективное применение противовоспалительной терапии до и после ЛТ приводит к регистрации гипореактивности Тц за счет снижения показателей как первой, так и второй фаз агрегации Тц и усилению выраженности кровопотери.

4) Использование показателей реактивности Тц на ФАТ 150 мкМ и индуцированного формирования ТЛА в клинической практике расширяет спектр патогенетического анализа фазы рецидива ХОПН на этапе выписки после проведения оперативного лечения уролитиаза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баринов, Э.Ф. Тромбоциты / Э.Ф. Баринов, О.Н. Сулаева, А.М. Гнилорыбов. – Донецк, 2012. – 324 с.
2. Гидронефроз / Ю.Г. Аляев, В.А. Григорян, А.А. Крапивин [и др.] // Урология: настоящее и будущее. М. – 2002. – С. 11–19.
3. Диагностика и лечение болезней почек / Н.А. Мухин, И.Е. Тареева, Е.М. Шилов, Козловская Л.В. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2011. – 384 с.
4. Дифференциальный диагноз мочевого синдрома: эритроцитурия / Д.И. Трухан, Н.В. Багишева, В.В. Голошубина, Н.В. Коншу // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017. – № 2 (часть 1) – С. 28-32.
5. Давидов, М. И. Гигантский копролит, осложненный острой задержкой мочеиспускания, гидронефрозом и острым обструктивным пиелонефритом / М.И. Давидов // Урология. – 2016. – № 2. – С. 109-111.
6. Заболотских, И. Б. Периоперационное ведение пациентов с сопутствующими заболеваниями / И.Б. Заболотских, Н.В. Трембач, А.П. Мурунов // Руководство для врачей. – М.: Практическая медицина, 2019. – 848 с.
7. Избранные лекции по урологии [Текст] / под ред. Н. А. Лопаткина, А.Г. Мартова. – Москва: МИА, 2008. – 576 с.
8. Комяков, Б. К. Урология [Текст]: учебник / Б.К. Комяков. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 464 с.
9. Крутецкая, З.И. Механизмы внутриклеточной сигнализации: Монография / З.И. Крутецкая, О.Е. Лебедев, Л.С. Курилова // СПб: Изд-во С. Петерб. Унта, 2003. – 208 с.
10. Кумар, В. Основы патологии заболеваний по Роббинсу и Котрану / В. Кумар, А.К. Аббас, Н. Фаусто, Дж.К. Астер // пер. с англ.; под ред. Е.А. Коган. В 3 т. Том 1: главы 1–10. – М.: Логосфера, 2014. – 624 с. – Перевод изд. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, Vinay Kumar, et al., 8th ed.

11. Лойманн, Э. Детская нефрология / Э. Лойманн, А.Н. Цыгин, А.А. Саркисян // Практическое руководство. – М.: Литтерра, 2010. – С. 84–85.
12. Лях, Ю. Е. Основы компьютерной биостатистики: анализ информации в биологии, медицине и фармации статистическим пакетом Medstat / Ю.Е. Лях, Г.В. Гурьянов, В.Н. Хоменко. – Донецк.: Каштан, 2006. – 214 с.
13. Мухин, Н. А. Пропедевтика внутренних болезней [Текст]: учебник / Н.А. Мухин, В.С. Моисеев. – 2-е изд., доп. и перераб. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 848 с.: ил. - Предм. указ. с. 832-847.
14. Нефрология: национальное руководство / В.В. Борисов, Т.В. Вашурина, Т.С. Вознесенская [и др.] // под ред. Н.А. Мухина. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2009. – С. 112–118.
15. Панфёрова, Р.Д. Гематурия: причины и дифференциальный диагноз / Р.Д. Панфёрова // Учебное пособие для студентов. – 2011. – 22 с.
16. Пушкарь, Д. Ю. Функциональная урология и уродинамика [Текст] / Д.Ю. Пушкарь, Г.Р. Касян. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 376 с.
17. Урология [Текст]: нац. рук. / под ред. Н.А. Лопаткина; АСМОК, Рос. о-во урологов. - крат. изд. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 608 с.
18. Урология. Российские клинические рекомендации / под ред. Ю.Г. Аляева, П.В. Глыбочко, Д.Ю. Пушкаря. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2016. – 496 с.
19. Характеристика процессов липопероксидации и активности симпатoadреналовой системы у больных хроническим калькулезным пиелонефритом / С.А.Осколков, В.А. Жмуров, В.Е. Твердой [и др.] // Урология. – 2014. – № 3. – С.8–12.
20. Хинман, Ф. Оперативная урология [Текст]: атлас / Ф. Хинман; пер. с англ.; под ред. Ю.Г. Аляева, В.А. Григоряна. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 1192 с.
21. Черешнев, В.А. Клиническая патофизиология / В.А. Черешнев // М.: СпецЛит, 2015. – 472 с.

22. A dichotomy in platelet activation: Evidence of different functional platelet responses to inflammatory versus haemostatic stimuli / E. Petito, R.T. Amison, E. Piselli [et al.] // *Thromb Res.* – 2018. – Vol.172. – P. 110-118.
23. A functional integrin ligand on the surface of platelets: intercellular adhesion molecule-2 / T.G. Diacovo, A.R. de Fougères, D.F. Bainton, T.A. Springer // *J Clin Invest.* – 1994. – Vol.94, №3. – P. 1243–1251.
24. A multicentre, prospective, randomized trial: comparative efficacy of tamsulosin and nifedipine in medical expulsive therapy for distal ureteric stones with renal colic / Z. Ye, H. Yang, H. Li [et al.] // *BJU Int.* – 2011. – Vol. 108, N 2. – P. 276–279.
25. A new world revealed early experience with digital ureteroscopy / M.R. Humphreys, N.L. Miller, J.C. Williams [et al.] // *J Urol.* – 2008. – Vol.179, №3. – P. 970–975.
26. A nomogram predicting severe adverse events after ureteroscopic lithotripsy: 12 372 patients in a Japanese national series / T. Sugihara, H. Yasunaga, H. Horiguchi [et al.] // *BJU Int.* – 2013. – Vol.111. – P. 459–466.
27. A paracrine mechanism involving renal tubular cells, adipocytes and macrophages promotes kidney stone formation in a simulated metabolic syndrome environment / L. Zuo, K. Tozawa, A. Okada [et al.] // *JUrol.* – 2014. – Vol.191, №6. – P. 1906–1912.
28. ACC/AHA/SCAI 2005 guideline update for percutaneous coronary intervention: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/SCAI Writing Committee to Update 2001 Guidelines for Percutaneous Coronary Intervention) / S.C. Smith, T.E. Feldman, J.W. Hirshfeld [et al.] // *Circulation.* – 2006. – Vol. 113. – P. 166-286
29. Activation of G_i-coupled receptors releases a tonic state of inhibited platelet aggregation // S. Maayani, T. Schwarz, R. Martinez, T.M. Tagliente // *Platelets.* – 2001. – Vol.12, №2. – P.94–98.
30. Activation of the alpha_{2A}-adrenoreceptor mediates deceleration of the deaggregation component of the response to ADP or 5-HT in human platelets in

- vitro / S. Maayani, T. Schwarz, B. Craddock-Royal, T.M. Tagliente // *Platelets*. – 2001. – Vol.12, № 6. – P. 359-375.
31. Ahluwalia, K. Anti-platelet therapy: present status and its future directions / K. Ahluwalia, S. Bhanwra // *Int J Basic Clin Pharmacol*. – 2014. – Vol.3. – P. 260-268.
 32. Antibiotic prophylaxis in the prevention of urinary tract infection in patients with sterile urine before extracorporeal shock wave lithotripsy / H. Shafi, M. Ilkhani, Z. Darabi Ahangar, M. Bayani // *Caspian J Intern Med*. – 2018. – Vol.9, №3. – P. 296–298.
 33. Antibiotic utilization before endourological surgery for urolithiasis: endourological society survey results / E.C. Carlos, R.F. Youssef, A.G. Kaplan [et al.] // *J Endourol*. – 2018. – Vol.32, №10. – P. 978–985.
 34. Anticoagulation and antiplatelet therapy in urological practice: ICUD/AUA review paper / D.J. Culkin, E.J. Exaire, D. Green [et al.] // *J Urol*. – 2014. – Vol.192, №4. – P. 1026–1034.
 35. Association between use of antithrombotic medication and hematuria-related complications / C. D.Wallis, T. Juvet, Y. Lee [et al.] // *JAMA*. – 2017– Vol.3, № 318(13) – P. 1260-1271.
 36. Anti-inflammatory renoprotective effect of clopidogrel and irbesartan in chronic renal injury / X. Tu, X. Chen, Y. Xie [et al.] // *J Am Soc Nephrol*. – 2008. – Vol. 19, №1. – P. 77–83.
 37. Antiplatelet activity of nifedipine is mediated by inhibition of NF- κ B activation caused by enhancement of PPAR β - γ activity / C.Y. Shih, I.H. Lin, J.C. Ding [et al.] // *Br J. Pharmacol*. – 2014. – Vol.171, №6. – P. 1490–1500.
 38. Antiplatelet agents for chronic kidney disease / S.C. Palmer, L. Di Micco, M. Razavian [et al.] // *Cochrane Database Syst Rev*. – 2013. – P. 282.
 39. Antiplatelet and anticoagulative medication during shockwave lithotripsy / M.J. Schnabel, M. Gierth, J. Bründl [et al.] // *J Endourol*. – 2014. – Vol. 28, №9. – P. 1034–1039.

40. Antiplatelet medications in haemodialysis patients: a systematic review of bleeding rates / S. Hiremath, R.M. Holden, D. Fergusson [et al.] // Clin J Am SocNephrol. – 2009. – Vol. 4, №8. – P. 1347–1355.
41. Assessment of patient and surgical variables including residency training level on adverse events after ureteroscopy for ureteral stones: a multivariate analysis / C. Johans, W. Smelser, C. De Roche [et al.] // J Endourol. – 2018. – Vol.32, №2. – P. 144–147.
42. Bennett, J.S. Exposure of platelet fibrinogen receptors by ADP and epinephrine / J.S. Bennett, G. Vilaire // J Clin Invest. – 1979. – Vol.64, №5. – P. 1393–1401.
43. Bevers, E.M. Phospholipid scramblase: an update / E.M. Bevers, P.L. Williamson // FEBS Lett. – 2010. – Vol.584, №13. – P. 2724–2730.
44. Bilen, Y. High-grade inflammation in renal failure patients, according to mean platelet volume, improves at the end of two years after transplantation / Y. Bilen, E. Çankaya // Transplant Proc. – 2015. – Vol.47, №5. – P. 1373–1376.
45. Blockade of the purinergic P2Y₁₂ receptor greatly increases the platelet inhibitory actions of nitric oxide / N.S. Kirkby, M.H. Lundberg, M.V. Chan [et al.] // ProcNatlAcadSci USA. – 2013. – Vol.110, №39. – P. 15782–15787.
46. Blood platelets are concentrated near the wall and red cells in the center in flowing blood / P.A. Aarts, S.A. van den Broek, G.W. Prins [et al.] // Arteriosclerosis. – 1985. – Vol.8. – P. 819–824.
47. Blood transfusion, embolisation and nephrectomy after percutaneous nephrolithotomy (PCNL) / S.R. Keoghane, R.J. Cetti, A.E. Rogers [et al.] // BJU Int. – 2013. – Vol.111. – P.628–632.
48. Boehlen, F. Platelet chemokines and their receptors: What is their relevance to platelet storage and transfusion practice? / F. Boehlen, K. J. Clemetson // Transfus Med. – 2001. – Vol.11. – P.403–417.
49. Born, G.V. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal / G.V. Born // Nature. – 1962. – Vol.194. – P. 927–929.
50. Brandt, E. Neutrophils can generate their activator neutrophil-activating peptide 2 by proteolytic cleavage of platelet-derived connective tissue-activating peptide III

- / E. Brandt, J. Van Damme, H.D. Flad // *Cytokine*. – 1991. – Vol.3, №4. – P. 311–321.
51. Budnik, I. Synergistic effect of signaling from receptors of soluble platelet agonists and outside-in signaling in formation of a stable fibrinogen–integrin $\alpha\text{IIb}\beta 3$ –actin cytoskeleton complex / I. Budnik, B. Shenkman, N. Savion // *Thromb Res*. – 2015. – Vol.135, №1. – P. 114–120.
 52. Calcium–dependent phospholipid scrambling by TMEM16F / J. Suzuki, M. Umeda, P.J. Sims, S Nagata // *Nature*. – 2010. – Vol.468, №7325. – P. 834–838.
 53. Cell signalling through thromboxane A_2 receptors / J.S. Huang, S.K. Ramamurthy, X. Lin, G.C. Le Breton // *Cell Signal*. – 2004. – Vol.16, №5. – P. 521–533.
 54. Cell–derived microparticles in haemostasis and vascular medicine / L. Burnier, P. Fontana, B.R. Kwak, A. Angelillo-Scherrer // *Thromb. Haemost.* – 2009. – Vol.101, №3. – P.439–451.
 55. Changing patterns in iatrogenic ureteral injuries / V. Romero, H. Akpınar, J.J. Smith [et al.] // *Rev in urology*. – 2011. – Vol.13. – P. 179–183.
 56. Chaturvedi, S. Slit2–Robo signaling in inflammation and kidney injury / S. Chaturvedi, L.A. Robinson // *BMC Immunol.PediatrNephrol*. – 2015. – Vol. 30, №4. – P. 561–566.
 57. Chen, L.W. Different pathways leading to activation of extracellular signal–regulated kinase and p38 MAP kinase by formyl–methionyl–leucyl–phenylalanine or platelet activating factor in human neutrophils / L.W. Chen, M.W. Lin, C.M. Hsu // *J Biomed Sci*. – 2005. – Vol.12, №2. – P. 311–319.
 58. Circulating activated platelets exacerbate atherosclerosis in mice deficient in apolipoprotein E / Y.Huo, A. Schober, S.B. Forlow [et al.] // *Nat Med*. – 2003. – Vol.9. – P.61–67.
 59. Clinical characteristics and risk factors for septic shock in patients receiving emergency drainage for acute pyelonephritis with upper urinary tract calculi / Y. Yamamoto, K. Fujita, S. Nakazawa [et al.] // *BMC Urology*. – 2012. – Vol.12, №4. – P.1–5.

60. Co-activation of Gi and Gq proteins exerts synergistic effect on human platelet aggregation through activation of phospholipase C and Ca²⁺ signalling pathways / B.H. Shah, A. Siddiqui, K.A. Qureshi [et al.] // *ExpMol Med.* – 1999. – Vol. 31(1). – P.42-46.
61. Comparative study of the treatment of 20–30 mm renal stones with miniaturized percutaneous nephrolithotomy and flexible ureterorenoscopy in obese patients / H.Q. Chen, Z.Y. Chen, F. Zeng [et al.] // *World J Urol.* – 2018. – Vol. 36, №8. – P. 1309-1314.
62. Comparison of antegrade percutaneous versus retrograde ureteroscopic lithotripsy for upper ureteric calculus for stone clearance, morbidity, and complications / A. Bhat, V. Singh, M. Bhat [et al.] // *Indian J Urol.* – 2019. – Vol. 35, №1. – P. 48–53.
63. Comparison of effects of alpha-receptor blockers on endothelial functions and coagulation parameters in patients with benign prostatic hyperplasia / C. Alan, B. Kırılmaz, H. Koçoğlu [et al.] // *Urology.* – 2011. – Vol.77, №6. – P. 1439–1443.
64. Complications of 2735 retrograde semirigid ureteroscopy procedures: a single-center experience / P. Geavlete, D. Georgescu, G. Niță [et al.] // *J. Endourol.* – 2006. – Vol. 20, N 3. – P. 179–185.
65. Contact ultrasound lithotripsy during ureterolithiasis therapy. An analysis of late postoperative complications / R. Stetsyshyn, D. Schukin, O. Tsyganenko [et al.] // *Georgian Med News.* – 2018. – Vol. 282. – P. 25–29.
66. Conversion of platelets from a proaggregatory to a proinflammatory adhesive phenotype: role of PAF in spatially regulating neutrophil adhesion and spreading / S. Kulkarni, K.J. Woollard, J.W. McPhail [et al.] // *Blood.* – 2007. – Vol.110, №6. – P. 1879–1886.
67. Coughlin, S.R. How the protease thrombin talks to cells / S.R. Coughlin // *Blood.* – 2010. – Vol.116, №22. – P. 4684–4692.
68. Crisman, J.M. Chemokine expression in the obstructed kidney / J.M. Crisman, L.L. Richards, D.P. Valach, D.F. Franzoni // *ExpNephrol.* – 2001. – Vol. 9. – P. 241–248.

69. Critical review of current definitions of urinary tract infections and proposal of an EAU/ESIU classification system / T. Johansen, E. Bjerklund, H. Botto [et al.] // Urogenital infections, EAU/ICUD. – 2010. – Vol.16, №1. – P. 980–991.
70. Cross-sectional imaging of iatrogenic complications after extracorporeal and endourological treatment of urolithiasis / T. Massimo, F. Villa, S. Ippolito [et al.] // – 2014. – Vol. 5, №6. – P. 677–689.
71. Daleke, D.L. Regulation of transbilayer plasma membrane phospholipid asymmetry / D.L. Daleke // J Lipid Res. – 2003. – Vol.44, №2. – P. 233–242.
72. Davì, G. Platelet activation and atherothrombosis / G. Davì, C. Patrono // N Engl J Med. – 2007. – Vol.357, №24. – P. 2482–2494.
73. Dell'Atti, L. Ten-year experience in the management of distal ureteral stones greater than 10 mm in size / L. Dell'Atti, S. Papa // G Chir. – 2016. – Vol.37, №1. – P. 27–30.
74. Diagnostic utility of light transmission platelet aggregometry: results from a prospective study of individuals referred for bleeding disorder assessments / C.P. Hayward, M. Pai, Y. Liu [et al.]// J ThrombHaemost. – 2009. – Vol.7, №4. – P. 676–684.
75. Dimitrov, S. Selective mobilization of cytotoxic leukocytes by epinephrine / S. Dimitrov, T. Lange, J. Born // J Immunol. – 2010. – Vol.184, №1. – P. 503–511.
76. Drugs for pain management in shock wave lithotripsy / C. Bach, F. Zaman, S. Kachrilas [et al.] // Pain Research and Treatment – 2011. – Vol. 11. – P. 1–10.
77. Dynamic visualization of thrombopoiesis within bone marrow / T. Junt, H. Schulze, Z. Chen [et al.] // Science. – 2007. – Vol. 317, №5845. – P. 1767–1770.
78. Early steroid treatment improves the recovery of renal function in patients with drug-induced acute interstitial nephritis / E. González, E. Gutiérrez, C. Galeano [et al.] // Grupo Madrileño De Nefritis Intersticiales.Kidney Int. – 2008. – Vol. 73, №8. – P. 940–946.
79. Early stone manipulation in urinary tract infection associated with obstructing nephrolithiasis / M.L. Swonke, A.M. Mahmoud, E.J. Farran [et al.] // Case Rep Urol. – 2018. – P. 42-46.

80. EAU guidelines on interventional treatment for urolithiasis / C. Turk, A. Petřík, K. Sarica [et al.] // Urol. – 2016. – Vol.69, №3. – P. 475–482.
81. Ebell, M.H. NSAIDs vs. opiates for pain in acute renal colic / M.H. Ebell // Am. Fam. Physician. – 2004. – Vol. 70, № 9. – P. 1682.
82. Effects of flexible ureteroscopy on renal blood flow: a prospective evaluation / T.E. Sener, Y. Tanidir, S. Bin Hamri [et al.] // Scand J Urol. – 2018. – Vol. 20. – P. 1–6.
83. Effects of the NO/soluble guanylatecyclase/cGMP system on the functions of human platelets / S. Makhoul, E.Walter, O. Pagel [et al.] // Nitric Oxide. – 2018. – Vol. 76. – P. 71–80.
84. Efficacy and safety of complete intra-ureteral stent placement versus conventional stent placement in relieving ureteral stent-related symptoms: A randomized, prospective, single-blinded, multicenter clinical trial / T. Yoshida, T. Inoue, M. Taguchi [et al.]// J Urol. – 2019. – Vol.202, № 1. – P.164-170.
85. Efficacy of alpha-blockers for the treatment of ureteral stones / J.K. Parsons, L.A. Hergan, K. Sakamoto, C. Lakin // J. Urol. – 2007. – Vol. 177, № 3. – P. 983–987.
86. Ellis, G. Novel anticoagulants and antiplatelet agents; a guide for the urologist / G. Ellis, A. J. Camm, S.N. Datta // BJU Int. – 2015. – Vol.116, №5. – P. 687–696.
87. Evaluation of the effect of aspirin on platelet aggregation: methodological recommendations for aspirin–drug interaction studies / A.C. Kruithof1, M. Moerland, E.A. Anastasopoulou [et al.] // Biomedical Science and Engineering. – 2015. – Vol. 8. – P. 40–45.
88. Emergency ureteral stone treatment score predicts outcomes of ureteroscopic intervention in acute obstructive uropathy secondary to urolithiasis / T.Y. Tran, N.H. Bustos, A. Kambadakone [et al.] // J Endourol. – 2017. – Vol. 31, №9. – P. 829–834.
89. Engeler, D.S. The ideal analgesic treatment for acute renal colic–theory and practice / D.S. Engeler, S. Schmid, H.P. Schmid // Scand. J. Urol. Nephrol. – 2008. – Vol. 42, № 2. – P. 137–142.

90. Epinephrine enhances platelet–neutrophil adhesion in whole blood in vitro / N.A. Horn, D.M. Anastase, K.E. Hecker [et al.] // *AnesthAnalg.* – 2005. – Vol.100, 2. – P.520–526.
91. Epinephrine-mediated protein kinase C and Rap1b activation requires the co-stimulation of G_z-, G_q-, and G_i-coupled receptors / P. Lova, G.F. Guidetti, I. Canobbio [et al.] // *ThrombHaemost.* – 2011. – Vol.105, № 3. – P.479-486.
92. Extracellular DNA traps promote thrombosis / T.A. Fuchs, A. Brill, D.Duerschmied [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2010. – Vol.107, №36. – P. 15880–15885.
93. Extracorporeal lithotripsy in patients with hemophilia / T. Becopoulos, H. Baccouche, S. Mahjoub, N. Ben Romdhane // *Eur. Urol.* – 1988. – Vol. 14, № 4. – P. 343–345.
94. Extracorporeal shockwave lithotripsy in patients with coagulation disorders / Ruiz F.J. Marcellan, A.M. Cunill, P. C. Fabré [et al.] // *Arch. Esp. Urol.* – 1992. – Vol. 45, № 2. – P. 135–137.
95. Fibrinogen deposition at the postischemic vessel wall promotes platelet adhesion during ischemia–reperfusion in vivo / S. Massberg, G. Enders, F.C. Matos [et al.] // *Blood.* – 1999. – Vol.94, №11. – P. 3829–3838.
96. Floyd, C.N. Antiplatelet drug resistance: Molecular insights and clinical implications / C.N. Floyd, A. Ferro // *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* – 2015. – Vol.120. – P. 21–27.
97. Forbes, S.H. The role of platelets in the prognosis of renal disease / S.H. Forbes, N. Ashman, M.M. Yaqoob // *OA Nephrology.* – 2013. – Vol.1, № 2. – P.17.
98. Furuichi, K. Chemokine/chemokine receptor–mediated inflammation regulates pathologic changes from acute kidney injury to chronic kidney disease / K. Furuichi, S. Kaneko, T. Wada // *ClinExpNephrol.* – 2009. – Vol. 13, №1. – P. 9–14.
99. Garabedian, T. High residual platelet reactivity on clopidogrel: its significance and therapeutic challenges overcoming clopidogrel resistance / T. Garabedian, S. Alam // *Cardiovasc Diagn Ther.* – 2013. – Vol.3 (1) – P. 37.

100. Gawaz, M. Platelets in inflammation and atherogenesis / M. Gawaz, H. Langer, A.E. May // *J Clin Invest.*—2005. — Vol.115, №12. —P. 3378–8334.
101. Gleissner, C.A. Platelet chemokines in vascular disease / C.A. Gleissner, P. von Hundelshausen, K. Ley // *ArteriosclerThrombVasc Biol.* — 2008. — Vol.28, №11. —P.1920–1927.
102. Grabe, M. Antibiotic prophylaxis in urological surgery, a European viewpoint / M. Grabe // *Int J Antimicrob Agents.* — 2011. — Vol.38. — P. 58–63.
103. Gravas, S. Postoperative infection rates in low risk patients undergoing percutaneous nephrolithotomy with and without antibiotic prophylaxis: a matched case control study / S. Gravas, E. Montanari, P. Geavlete // *J Urol.* — 2012. — Vol. 188, №3. — P. 843–847.
104. Gremmel, T. Chronic kidney disease is associated with increased platelet activation and poor response to antiplatelet therapy / T. Gremmel, M. Müller // *Nephrol Dial Transplant.* — 2013. — Vol.28, №8. — P. 2116–2122.
105. Gresele, P. Potentiation and priming of platelet activation: a potential target for antiplatelet therapy / P. Gresele, E. Falcinelli, S. Momi // *Trends Pharm Sci.* — 2008. — Vol.29. — P. 352–360.
106. Guidelines on Interventional Treatment for Urolithiasis / C. Türk, A. Petřík, K. Sarica [et al.] // *Eur Urol.* — 2016. —69(3). — P. 475–482.
107. Gupta, M. Treatment of stones associated with complex or anomalous renal anatomy / M. Gupta, M.W. Lee // *Urol Clin North Am.* — 2007. — Vol. 34, № 3. — P. 431-441.
108. Haaland, H.D. Potentiation by adrenaline of agonist-induced responses in normal human platelets in vitro / H.D. Haaland, H. Holmsen, R.T. Dorsam // *Platelets.* — 2011. — Vol.22, №5. — P. 328–337.
109. Hamburger, S. A. GMP-140 mediates adhesion of stimulated platelets to neutrophils / S. A. Hamburger, R. P. McEver // *Blood.* — 1999. — Vol.75. — P. 550–554.

110. Hantgan, R.R. Fibrin protofibril and fibrinogen binding to ADP-stimulated platelets: evidence for a common mechanism / R.R. Hantgan // *BiochimBiophysActa*. – 1988. – Vol.968, №1. – P. 24–35.
111. Harrison, P. Platelet function analysis / P. Harrison // *Blood Reviews*. – 2005. – Vol.19. – P. 111–123.
112. Hayes, C. Decreased threshold of aggregation to low-dose epinephrine is evidence of platelet hyperaggregability in patients with thrombosis / C. Hayes, S. Kitahara, O. Tcherniantchouk // *Hematol Rep*. – 2014. – Vol.6, №3. – P. 5326.
113. Hemostatic changes in dogs with naturally occurring sepsis / A.M. De Laforcade, L.M. Freeman, S.P. Shaw [et al.] // *J Vet Intern Med*. – 2003. – Vol.17. – P. 674–679.
114. High platelet reactivity on clopidogrel therapy correlates with increased coronary atherosclerosis and calcification: a volumetric intravascular ultrasound study / A.P. Chirumamilla, A. Maehara, G.S. Mintz [et al.] // *JACC Cardiovasc Imaging*. – 2012. – Vol. 5. – P. 540-549.
115. Holdgate, A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) versus opioids for acute renal colic / A. Holdgate, T. Pollock // *Cochrane Database Syst Rev*. – 2004. – Vol. 1. –P. 1-7.
116. Holdgate, A. Systematic review of the relative efficacy of non-steroidal anti-inflammatory drugs and opioids in the treatment of acute renal colic / A. Holdgate, T. Pollock // *BMJ*. – 2004 Jun. – Vol. 328, № 7453. – P. 1401.
117. Hundelshausen, P. Platelet-mediated enhancement of leukocyte adhesion / P. von Hundelshausen, R.R. Koenen, C. Weber // *Microcirculation*. – 2009. – Vol.16, №1. – P.84–96.
118. Identification of the platelet ADP receptor targeted by antithrombotic drugs / G. Hollopeter, H.M. Jantzen, D. Vincent [et al.] // *Nature*. – 2001. –Vol. 409, №6817. – P. 202–207.
119. Increased platelet-leukocyte aggregates are associated with myocardial no-reflow in patients with st elevation myocardial infarction / F. Ren, N. Mu, X. Zhang [et al.] // *Am J Med Sci*. – 2016. –Vol. 352, № 3. –P. 261-266.

120. Increased platelet–monocyte aggregates and cardiovascular disease in end–stage renal failure patients / N. Ashman, M.G. Macey, S.L. Fan [et al.] // *Nephrol Dial Transpl.* – 2003. – Vol.18, №10. –P. 2088–2096.
121. Interleukin–12 is synthesized by mesangial cells and stimulates platelet–activating factor synthesis, cytoskeletal reorganization, and cell shape change / B. Bussolati, F. Mariano, L. Biancone [et al.] // *Am J Pathol.* – 1999. – Vol.154, №2. – P. 623–632.
122. Is the mean platelet volume a predictive marker for the diagnosis of acute pyelonephritis in children? / M. Tekin, C. Konca, A. Gulyuz [et al.] // *ClinExpNephrol.* – 2015. – Vol. 19, №4. – P. 688–693.
123. Isolated deficiency of platelet procoagulant activity / H.J. Weiss, W.J. Vicic, B.A. Lages [et al.] // *Am J Med.* –1979. – Vol.67, №2. – P. 206–213.
124. Ito, K. Renal damage progresses despite improvement of renal function after relief of unilateral ureteral obstruction in adult rats / K. Ito, J. Chen, M. E. Chaar // *The American Journal of Physiology – Renal Physiology.* – 2004. – Vol. 287, №6. – P. 1283–1293.
125. Jackson, S.P. The growing complexity of platelet aggregation / S.P. Jackson // *Blood.* – 2007. – Vol.109, №12. – P. 5087–5095.
126. Jansen, M.P. Release of extracellular DNA influences renal ischemia reperfusion injury by platelet activation and formation of neutrophil extracellular traps / M.P. Jansen, D. Emal, G.J. Teske // *Kidney Int.* – 2017. – Vol. 91, №2. – P. 352–364.
127. Jenne, C.N. Platelets in inflammation and infection / C.N. Jenne, P. Kubes // *Platelets.* – 2015. – Vol.26, №4. – P. 286–292.
128. John, T.T. Adjunctive tamsulosin improves stone free rate after ureteroscopic lithotripsy of large renal and ureteric calculi: a prospective randomized study / T.T. John, S. Razdan//*Urology.* – 2010. – Vol.75, №5. – P. 1040–1042.
129. Johnson, J.R. Acute pyelonephritis in adults / J.R. Johnson, T.A. Russo // *N Engl J Med.* – 2018. – Vol. 378, № 1. – P. 48–59.

130. Junctional adhesion molecule (JAM) is phosphorylated by protein kinase C upon platelet activation / H. Ozaki, K. Ishii, H. Arai [et al.] // *BiochemBiophys Res Commun.* – 2000. – Vol.276, №3. – P. 873–878.
131. Kaushansky, K. Thrombopoietin / K. Kaushansky // *N Engl J Med.* – 1998. – Vol. 339, №11. – P. 746–754.
132. Khan, N. Investigation of cyclooxygenase and signaling pathways involved in human platelet aggregation mediated by synergistic interaction of various agonists / N. Khan, A.D. Farooq, B. Sadek // *Drug Des DevelTher.* – 2015. – Vol.9. – P. 3497–3506.
133. Klahr, S. Obstructive nephropathy and renal fibrosis / S. Klahr, J. Morrisseyam // *J Physiol Renal Physiol.* – 2002. – Vol. 283. – P. 861–875.
134. Klahr, S. The role of growth factors, cytokines, and vasoactive compounds in obstructive nephropathy / S. Klahr, J. Morrissey // *SeminNephrol.* – 1998. – Vol. 18. – P. 622–632.
135. Koenen, R.R. Platelet-derived chemokines in vascular remodeling and atherosclerosis / R.R. Koenen, C. Weber // *SeminThrombHemost.* – 2010. – Vol.36, №2. – P. 163–169.
136. Krishnan N. Drug-induced acute interstitial nephritis: pathology, pathogenesis, and treatment / N. Krishnan, M.A. Perazella, J. Iran // *Kidney Dis.* – 2015. – Vol. 9, №1. – P. 3–13.
137. Lambert, M.P. Platelets in liver and renal disease / M.P. Lambert // *Hematology Am SocHematolEduc Program.* – 2016. – Vol.2, №1. – P. 251–255.
138. Langer, H.F. Platelet-vessel wall interactions in atherosclerotic disease / H.F. Langer, M. Gawaz // *ThrombHaemost.* – 2008. – Vol.99, №3. – P. 480–486.
139. Leukocyte engagement of platelet glycoprotein Ib-alpha via the integrin Mac-1 is critical for the biological response to vascular injury / Y. Wang, M. Sakuma, Z. Chen [et al.] // *Circulation.* – 2005. – Vol.112. – P. 2993–3000.
140. Leventis, P.A. The distribution and function of phosphatidylserine in cellular membranes / P.A. Leventis, S. Grinstein // *Annu Rev Biophys.* – 2010. – Vol.39. – P. 407–427.

141. Libby, P. Inflammation in atherosclerosis: From pathophysiology to practice / P. Libby, P.M. Ridker, G.K. Hansson // *JAmCollCardiol.* – 2009. – Vol.54, №23. – P. 2129–2138.
142. Loscalzo, J. Nitric oxide insufficiency, platelet activation, and arterial thrombosis / J. Loscalzo // *Circ Res.* – 2001. – Vol.88. – P.756–762.
143. Lynch, M.F. Percutaneous nephrostomy and ureteric stent insertion for acute renal deobstruction. Consensus based guidelines / M.F. Lynch, K.M. Anson, U. Patel // *Br. J. Med. Surg. Urol.* – 2008. – Vol. 1, № 3. – P. 120–125.
144. Major bleeding in haemodialysis patients / R.M. Holden, G.J. Harman, M. Wang [et al.] // *CJASN.* – 2008. – Vol.3, №1. – P. 105–110.
145. Mean platelet volume: a link between thrombosis and inflammation? / A.Y. Gasparyan, L. Ayvazyan, D.P. Mikhailidis [et al.] // *Curr Pharm Des.* – 2011. – Vol. 17, № 1. – P. 47–58.
146. Medical therapy of urolithiasis / S. Micali, M. Grande, M.C. Sighinolfi [et al.] // *J. Endourol.* – 2006. – Vol. 20, № 11. – P. 841–847.
147. Medical therapy to facilitate the passage of stones: What Is the Evidence? / C. Seitz, E. Liatsikos, F. Porpiglia [et al.] // *Eur. Urol.* – 2009. – Vol. 56, № 3(4). – P. 55–71.
148. Meta-analysis of postoperatively stenting or not in patients underwent ureteroscopic lithotripsy / T. Song, B. Liao, S. Zheng [et al.] // *Urol. Res.* – 2012. – Vol. 40, №1. – P. 67–77.
149. Meta-Analysis of Stenting versus Non-Stenting for the Treatment of Ureteral Stones / H. Wang, L. Man, G. Li [et al.] // *PLoS One.* – 2017. – Vol.12, №1. – P. 1–18.
150. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo / M. von Brühl, K. Stark, A. Steinhart [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2012. – Vol.209, №4. – P. 819 – 835.
151. Montezano, A.C. Reactive oxygen species and endothelial function – role of nitric oxide synthase uncoupling and Nox family nicotinamide adenine dinucleotide

- phosphate oxidases / A.C. Montezano, R.M. Touyz // *Basic ClinPharmacolToxicol.* – 2012. – Vol. 110, №1. – P. 87–94.
152. Muller, W. A. Leukocyte–endothelial–cell interactions in leukocyte transmigration and the inflammatory response / W. A. Muller // *Trends Immunol.* – 2003. – Vol.24. – P. 326–334.
 153. Neutrophil extracellular traps kill bacteria / V. Brinkmann, U. Reichard, C. Goosmann [et al.] // *Science.* – 2004. – Vol.303, №5663. – P. 1532–1535.
 154. Neutrophil rolling, arrest, and transmigration across activated, surface–adherent platelets via sequential action of P-selectin and the beta 2-integrin CD11b/CD18 / T. G. Diacovo, S.J. Roth, M. Buccola [et al.] // *Blood.* – 1996. – Vol.88. – P. 146–157.
 155. Ng, K. L. Assessment and clinical significance of haematuria in malaysian patients – relevance to early cancer diagnosis / K. L. Ng, T.H. Htun, N. Dublin // *Asian Pacific J Cancer Prev.* – 2012. – Vol 13. – P.2515–2518.
 156. Nieswandt, B. Platelet–collagen interaction: is GPVI the central receptor? / B. Nieswandt // *Blood.* – 2003. – Vol.102, №2. – P. 449–461.
 157. Nonsteroidal anti–inflammatory drugs (NSAIDs) and non–opioids for acute renal colic / K. Afshar, S. Jafari, A.J. Marks [et al.] // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2015. – Vol.29, №6. – P. 85-120.
 158. Nonsteroidal anti–inflammatory drugs in–vitro and in–vivo treatment and Multidrug Resistance Protein 4 expression in human platelets / F.Temperilli, M. Di Franco, I. Massimi [et al.] // *VasculPharmacol.* – 2016. – Vol. 76. – P.11–17.
 159. Obstructive nephropathy in the mouse: progressive fibrosis correlates with tubulointerstitial chemokine expression and accumulation of CC chemokine receptor 2– and 5–positive leukocytes / V.Vielhauer, H.J. Anders, M. Mack, J.Cihak [et al.] // *J Am SocNephrol.* – 2001. – Vol. 12. – P. 1173–1187.
 160. Oligomerization of RANTES is required for CCR1–mediated arrest but not CCR5–mediated transmigration of leukocytes on inflamed endothelium / T. Baltus, K.S. Weber, Z. Johnson [et al.] // *Blood.* – 2003. – Vol.102, №6. – P. 1985–1988.

161. Ośmiałowska, Z. Effect of nifedipine monotherapy on platelet aggregation in patients with untreated essential hypertension / Z. Ośmiałowska, M. Nartowicz-Słoniewska, J.M. Słomiński // *EurJClinPharmacol.* – 1990. – Vol.39, №4. – P. 403–404.
162. Outcomes of stenting after uncomplicated ureteroscopy: systematic review and meta-analysis / G. Nabi, J. Cook, J. N'Dow[et al.]/*BMJ.* – 2007. – Vol. 334, № 7593. – P. 2–13.
163. Pathan, S.A. A systematic review and meta-analysis comparing the efficacy of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, opioids, and paracetamol in the treatment of acute renal colic / S.A.Pathan, B.Mitra, P.A.Cameron // *Eur Urol.* – 2018. – Vol.73, №4. – P. 583–595.
164. Percutaneous nephrolithotomy during uninterrupted aspirin therapy in high-cardiovascular risk patients: preliminary report / D.A. Leavitt, N. Theckumparampil, D.M. Moreira [et al.] // *Urology.* – 2014. –Vol.84, №5. – P. 1034–1038.
165. Percutaneous nephrolithotomy for complex caliceal calculi and staghorn stones in children less than 5 years of age / T. Manohar, A.P. Ganpule, S. Mishra, M.R. Desai // *J Endourol.* – 2006. – Vol.20. – P. 547–51.
166. Percutaneous nephrolithotomy in patients on chronic anticoagulant/antiplatelet therapy / R.B. Nerli, M. N. Reddy, S. Devaraju [et al.] // *Chonnam. Med. J.* – 2012. – Vol. 48. – P. 103-107.
167. Persistence of platelet thrombus formation in arterioles of mice lacking both von Willebrand factor and fibrinogen / H. Ni, C.V. Denis, S. Subbarao [et al.] // *J Clin Invest.* – 2000. – Vol.106, №3. – P. 385–392.
168. Pettersen, A.A. A brief review on high on-aspirin residual platelet reactivity / A.A. Pettersen, H. Arnesen, I.Seljeflot // *VasculPharmacol.* – 2015. – Vol.67, №69. – P. 6–9.
169. Pilot study to determine optimal stent duration following ureteroscopy: three versus seven days / C.J. Paul, N.A. Brooks, ·G.M.Ghareeb // *Curr Urol.* – 2018. –Vol.11, №2. – P.97–102.

170. Platelet aggregometry testing: molecular mechanisms, techniques and clinical implications / K. Koltai, G. Kesmarky, G. Feher [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2017. – Vol. 18, №8. – P. 2–21.
171. Platelet CD40L mediates thrombotic and inflammatory processes in atherosclerosis / D. Lievens, A. Zernecke, T. Seijkens [et al.] // *Blood.* – 2010. – Vol. 116, №20. – P. 4317–4327.
172. Platelet derived CXC chemokines: Old players in new games / E.Brandt, A. Ludwig, F. Petersen, H.D. Flad // *Immunol Rev.* – 2000. – Vol. 177. – P. 204–216.
173. Platelet function in acute myocardial infarction treated with direct angioplasty / M. Gawaz, F.J. Neumann, I.Ott [et al.] // *Circulation.* – 1996. – Vol.93, №2. – P. 229–237.
174. Platelet function parameters in management of hepatic hydatid disease: a case–controlled study / B. Dinc, S. Dusen, N. Ay [et al.] // *Int J ClinExp Med.* – 2015. – Vol. 15, № 8(3). – P. 3869–3875.
175. Platelet residual reactivity to predict long-term clinical outcomes after clopidogrel loading in patients with acute coronary syndromes: comparison of different cutoff values by light transmission aggregometry from the responsiveness to clopidogrel and stent thrombosis 2-acute coronary syndrome (RECLOSE 2-ACS) study / R. Valenti, R. Marcucci, D. Capodanno [et al.] // *J Thromb Thrombolysis.* – 2015. – №40 (1). – P. 76-82.
176. Platelet function tests: a comparative review / R. Paniccia, R. Priora, A.A. Liotta, R. Abbate // *Vasc Health Risk Manag.* – 2015. – Vol.11. – P. 133–148.
177. Platelet function and blood coagulation system status in childhood essential thrombocythemia / D.M. Polokhov, N.M. Ershov, A.A. Ignatova // *Platelets.* – 2019. – №19. – P. 1-11.
178. Platelet functions beyond haemostasis / S.S. Smyth R.P. McEver, A.S. Weyrich [et al.] // *J ThrombHaemost.* – 2009. – Vol.7, №11. – P. 1759–1766.

179. Platelet glycoprotein α IIb/3a is a counterreceptor for the leukocyte integrin Mac-1 (CD11b/CD18) / D.I. Simon, Z. Chen, H. Xu [et al.] // *J Exp Med.* – 2000. – Vol.192, №2. – P. 193–204.
180. Platelet mediated modulation of adaptive immunity: A communication link between innate and adaptive immune compartments / B. D. Elzey, J. Tian, R.J. Jensen [et al.] // *Immunity.* – 2003. – Vol.19. – P. 9–19.
181. Platelet microparticles: a transcellular delivery system for RANTES promoting monocyte recruitment on endothelium / S.F. Maiese, P. von Hundelshausen, A.Zernecke [et al.] // *ArteriosclerThrombVasc Biol.* – 2005. – Vol.25, №7. – P.1512–1518.
182. Platelet parameters in children with upper urinary tract infection: is there a specific response? / F. Catal, N. Bavbek, O.Bayrak [et al.] // *Ren Fail.* – 2008. – Vol. 30, № 4. – P. 377–381.
183. Platelet P-selectin is required for pulmonary eosinophil and lymphocyte recruitment in a murine model of allergic inflammation / S.C. Pitchford, S. Momi, S. Giannini [et al.] // *Blood.* – 2005. – Vol.105. – P. 2074–2081.
184. Platelet/polymorphonuclear leukocyte interaction: P-selectin triggers protein-tyrosine phosphorylation-dependent CD11b/CD18 adhesion: Role of PSGL-1 as a signaling molecule / V. Evangelista, S. Manarini, R. Sideri [et al.] // *Blood.* – 1999. – Vol. 93. – P. 876–885.
185. Platelet-derived CD40L: the switchhitting player of cardiovascular disease / P. André, L. Nannizzi-Alaimo, S.K. Prasad [et al.] // *Circulation.* – 2002. – Vol.106, №8. – P. 896–899.
186. Platelet-leukocyte aggregation under shear stress: differential involvement of selectins and integrins / H. Hu, D.Varon, P.Hjemdahl [et al.]// *ThrombHaemost.* – 2003. – Vol. 90, №4. – P. 679–687.
187. Platelet-leukocyte interactions in thrombosis / C.Cerletti, C.Tamburrelli, B.Izzi [et al.] // *Thromb Res.* – 2012. – Vol. 129, № 3. – P. 263-266.

188. Platelets are essential for leukocyte recruitment in allergic inflammation / S.C. Pitchford, H. Yano, R. Lever [et al.] // *Jour Allergy ClinImmunol.* – 2003. – Vol.112. – P. 109–18.
189. Post-percutaneous nephrolithotomy extensive hemorrhage: a study of risk factors / A.R. El-Nahas, A.A. Shokeir, A.M. El-Assmy [et al.] // *J Urol.* – 2007. – Vol.177. – P. 576–579.
190. Post-percutaneous nephrolithotomy septic shock and severe hemorrhage: a study of risk factors / Y Wang, F. Jiang, Y. Wang [et al.] // *Urol Int.* – 2012. – Vol.88. – P.307–310.
191. Prediction of morbidity and mortality after percutaneous nephrolithotomy by using the Charlson Comorbidity Index / A. Unsal, B. Resorlu, A.F. Atmaca [et al.] // *Urology.* – 2012. – Vol.79. – P. 55–60.
192. Predictive Accuracy of Urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) for renal parenchymal involvement in Children with Acute Pyelonephritis / Gh. Kambiz [et al.] // *Electron Physician.* – 2016. – Vol. 8, №2. – P. 1911–1917.
193. Preminger, G.M. Guideline for the management of ureteral calculi / G.M. Preminger, H.G. Tiselius, D.G. Assimos // *Eur Urol.* – 2007. – Vol. 52, № 6. – P.1610–1631.
194. Prestenting improves ureteroscopic stone-free rates / R.A. Rubenstein, L.C. Zhao, S. Loeb [et al.] // *J. Endourol.* – 2007. – Vol. 21, № 11. – P. 1277–1280.
195. Procalcitonin determined at emergency department as an early indicator of progression to septic shock in patient with sepsis associated with ureteral calculi / Y.H. Ko, Y.S. Ji, S.Y. Park [et al.] // *IntBraz J Urol.* – 2016. – Vol.42(2). – P. 270–276.
196. Prognostic factors and percutaneous nephrolithotomy morbidity: a multivariate analysis of a contemporary series using the Clavien classification / J.J. de la Rosette, J.R. Zuazu, P. Tsakiris [et al.] // *J Urol.* – 2008. – Vol.180, №6. – P. 2489–2493.

197. P-selectin anchors newly released ultralarge von Willebrand factor multimers to the endothelial cell surface / A. Padilla, J.L. Moake, A. Bernardo [et al.] // *Blood*. – 2004. – Vol.103. – P. 2150–2156.
198. P-Selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1) is expressed on platelets and can mediate platelet–endothelial interactions in vivo / P.S. Frenette, C.V. Denis, L. Weiss [et al.] // *J Exp Med*. – 2000. – Vol.191. – P. 1413–1422.
199. Rao, A.K. Inherited platelet function disorders: overview and disorders of granules, secretion, and signal transduction / A.K. Rao // *HematolOncolClin North Am*. – 2013. – Vol.27, №3. – P. 585–611.
200. Recommendations for the Standardization of Light Transmission Aggregometry: A Consensus of the Working Party from the Platelet Physiology Subcommittee of SSC/ISTH / M. Cattaneo, C. Cerletti, P. Harrison // *J ThrombHaemost*. – 2013. – Vol. 11, № 6. – P. 1183-1189.
201. Recovery following relief of unilateral ureteral obstruction in the neonatal rat / R.L. Chevalier, R.L. Chevalier, S. Goyal, B.A. Thornhill // *Kidney International*. – 1999. – Vol.55, №3. – P. 793–807.
202. Relation of body mass index to high on-treatment platelet reactivity and of failed clopidogrel dose adjustment according to platelet reactivity monitoring in patients undergoing percutaneous coronary intervention / N. Bonello-Palot, S. Armero, F. Paganelli [et al.] // *Am J Cardiol*. – 2009. – Vol. 104. – P. 1511-1515.
203. Release of extracellular DNA influences renal ischemia reperfusion injury by platelet activation and formation of neutrophil extracellular traps / M.P. Jansen, D. Emal, G.J. Teske [et al.] // *KidneyInt*. – 2017. – Vol.91, №2. – P. 352–364.
204. Rendu, F. The platelet release reaction: granules constituents, secretion and functions / F.Rendu, B.Brohard–Bohn // *Platelets*. – 2001. – Vol.12, №5. – P. 261–273.
205. Rho–GTPase–dependent platelet–neutrophil interaction affected by HMG–CoA reductase inhibition with altered adenosine nucleotide release and function / N.C. Kaneider, P. Egger, S. Dunzendorfer, C.J. Wiedermann // *ArteriosclerThrombVasc Biol*. – 2002. – Vol.22, №6 – P. 1029–1035.

206. Risk factors for ureteral damage in ureteroscopic stone treatment: results of the german prospective multicentre benchmarks of ureterorenoscopic stone treatment—results in terms of complications, quality of life, and stone-free rates project / S. Lebentrau, P.F. Müller, A. Miernik [et al.] // *UrolInt.* – 2019. – Vol.102, №2. – P.187–193.
207. Risk factors for uroseptic shock in patients with urolithiasis-related acute pyelonephritis / H. Kakinoki, S. Tobu, Y. Kakinoki [et al.] // *Urol Int.* – 2018. – Vol.100(1). – P. 37–42.
208. Role of platelet α 2-adrenoreceptor in biological low response to Clopidogrel for patients with non-cardioembolic ischemic stroke or transient ischemic attack / J. Varvat, M. Epinat, A. Montmartin [et al.] // *Am J Transl Res.* – 2018. – Vol.15, №10 (8) – P. 2712-2721.
209. Rossaint, J. Acute kidney injury: definition, diagnosis and epidemiology / J.Rossaint, A.Zarbock // *Minerva UrolNefrol.* – 2016. – Vol.68, №1. – P.49–57.
210. Ruggeri, Z.M. Glanzmann thrombasthenia: deficient binding of von Willebrand factor to thrombin stimulated platelets / Z.M. Ruggeri, R. Bader, L. de Marco // *ProcNatlAcadSci U S A.* – 1982. – Vol. 79, №19. – P. 6038–6041.
211. Ruggeri, Z.M. Platelet adhesion under flow / Z.M. Ruggeri // *Microcirculation.* – 2009. – Vol.16, №1. – P.58–83.
212. Saeed, S.A. Calcium-dependent synergistic interaction of platelet activating factor (PAF) and epinephrine in human platelet aggregation / S.A. Saeed, H. Rasheed // *ActaPharmacol Sin.* – 2003. – Vol.24, №1. – P. 31–36.
213. Scharf, R.E. Drugs that affect platelet function / R.E. Scharf // *SeminThrombHemost.* – 2012. – Vol.38, №8. – P. 865–883.
214. Schnabel, M.J. Perioperative antibiotic prophylaxis for stone therapy / M.J. Schnabel, M.E. Wagenlehner, L. Schneidewind // *CurrOpin Urol.* – 2019. – Vol.29, №2. – P.89–95.
215. Spiliopoulos, S. Current status of high on-treatment platelet reactivity in patients with coronary or peripheral arterial disease: Mechanims, evaluation and clinical

- implication / S. Spiliopoulos, G. Pastromas // *World J Cardiol.* – 2015. – Vol. 7, №12. – P. 912-921.
216. Splicing of platelet resident pre-mRNAs upon activation by physiological stimuli results in functionally relevant proteome modifications / G. Nassa, G. Giurato, G. Cimmino [et al.] // *Sci Rep.* – 2018. – Vol.8, №1. – P. 498.
 217. Stone treatment and coagulopathy / H.C. Klingler, G. Kramer, M. Lodde [et al.] // *Eur. Urol.* – 2003. – Vol. 43, N 1. – P. 75–79.
 218. Surgical management of urolithiasis– a systematic analysis of available guidelines / V. Zumstein, P. Betschart, D. Abt [et al.] // *BMC Urol.* – 2018. – Vol.18, №1. – P. 25.
 219. Systematic evaluation of ureteral occlusion devices: insertion, deployment, stone migration, and extraction / M.Ahmed, R.N. Pedro, S. Kieley [et al.] // *Urology.* – 2009. – Vol. 73, № 5. – P. 976–980.
 220. Targeting platelet–leukocyte interactions: Identification of the integrin Mac–1 binding site for the platelet counter receptor glycoprotein Ib-alpha / R. Ehlers, V. Ustinov, Z. Chen [et al.] // *J Exp Med.* – 2003. – Vol.198. – P. 1077–1088.
 221. The ATP–gated P2X1 receptor plays a pivotal role in activation of aspirin–treated platelets by thrombin and epinephrine / M. Grenegård, K. Vretenbrant-Oberg, M. Nylander [et al.] // *J Biol Chem.* – 2008. – Vol.283, №27. – P. 8493–8504.
 222. The automation of routine light transmission platelet aggregation / A.S. Lawrie, K. Kobayashi, P.J. Lane [et al.] // *Int J Lab Hematol.* – 2014. – Vol.36, №4. – P. 431–438.
 223. The CD40/CD40 ligand system: linking inflammation with atherothrombosis / C. Antoniades, C. Bakogiannis, D. Tousoulis [et al.] // *J Am CollCardiol.* – 2009. – Vol.54, №8. – P. 669–77.
 224. The clinical research office of the endourological society ureteroscopy global study: indications, complications, and outcomes in 11885patients; CROES URS Study Group / J.de la Rosette, J. Denstedt, P. Geavlete [et al.] // *J. Endourol.* – 2014. – Vol. 28, N2. – P.131–139.

225. The efficacy of flexible ureteroscopylithotripsyand miniaturized percutaneous nephrolithotomy for the treatment of renal and proximal ureteral calculi of ≤ 2 cm: A retrospective study / B. Jiao, S. Lai, X.Xu [et al.] // *Medicine (Baltimore)*. – 2019. – Vol. 98, №11. – P. 1–5.
226. The future of platelet function testing to guide therapy in clopidogrel low and enhanced responders / I. Bernlochner, R.A. Byrne, A. Kastrati // *Expert Rev Cardiovasc Ther.* – 2011. – Vol. 9. – P. 999-1014.
227. The impact of preoperative α -adrenergic antagonists on ureteral access sheath insertion force and the upper limit of force required to avoid ureteral mucosal injury: a randomized controlled study / K.C. Koo, J.H. Yoon, N.C. Park [et al.] // *J Urol.* – 2018. – Vol.199, №6. – P. 1622–1630.
228. The inflammatory action of CD40 ligand (CD154) expressed on activated human platelets is temporally limited by coexpressed CD40 / V. Henn, S. Steinbach, K. Büchner [et al.] // *Blood.* – 2001. – Vol.54, №98 (4). – P. 1047–1054.
229. The junctional adhesion molecule 3 (JAM-3) on human platelets is a counterreceptor for the leukocyte integrin Mac-1 / S. Santoso, J.H. Ulrich, I. Sachs [et al.] // *J Exp Med.* – 2002. – Vol.196, №5. – P.679– 91.
230. The learning curve in the training of percutaneous nephrolithotomy / O.Tanriverdi, U. Boylu, M. Kendirci [et al.] // *EurUrol.* – 2007. –Vol.52, №1. – P. 206 –211.
231. The utility of noncontrast computed tomography in the prompt diagnosis of postoperative complications after percutaneous nephrolithotomy / E. Gnessin, J.A. Mandeville, S.E. Handa, J.E. Lingeman // *J Endourol.* – 2012. – Vol.26. – P.347–350.
232. The value of mean platelet volume in the determination of community acquired pneumonia in children / E. Karadag–Oncel, Y. Ozsurekci, A.Kara [et al.] // *Ital J Pediatr.* – 2013. – Vol. 8, № 39. – P. 16.
233. Thrombocytosis accompanying urinary tract infection suggests obstruction or abscess / O.N. Gofrit, A. Shapiro, D.Rund [et al.] // *Am J Emerg Med.* – 2006. – Vol.24, №1. – P. 118–121.

234. Transforming growth factor- β in human platelets. Identification of a major storage site, purification, and characterization / R.K. Assoian, A. Komoriya, C.A. Meyers [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1983. – Vol.258, №11. – P. 7155–7160.
235. Traxer, O. Prospective evaluation and classification of ureteral wall injuries resulting from insertion of a ureteral access sheath during retrograde intrarenal surgery / O. Traxer, A. Thomas // *Urol.* – 2013. – Vol.189. – P.580–584.
236. Treatment of ureteral lithiasis with tamsulosin: literature review and metaanalysis / M. Arrabal-Martin, F. V. Guardia, M.A. Arrabal-Polo [et al.] // *Urol. Int.* — 2010. — Vol. 84, № 3. — P. 254–9.
237. Two distinct pathways regulate platelet phosphatidylserine exposure and procoagulant function / S.M. Schoenwaelder, Y. Yuan, E.C. Josefsson [et al.] // *Blood.* – 2009. – Vol.114, №3. – P.663–666.
238. Tynngård, N. Assays of different aspects of haemostasis – what do they measure? / N. Tynngård, T. L Lindahl, S. Ramström // *Thromb J.* – 2015. – Vol. 13, №8. – P.1–10.
239. Weber, C. Neutrophil accumulation on activated, surface-adherent platelets in flow is mediated by interaction of Mac-1 with fibrinogen bound to α IIb β 3 and stimulated by platelet-activating factor / C. Weber, T.A. Springer // *J Clin Invest.* – 1997. – Vol.100, №8. – P. 2085–2093.
240. Youn J.H. Efficacy and safety of emergency ureteroscopic management of ureteral calculi / J.H.Youn // *Korean J Urol.* – 2012. – Vol. 53, № 9. – P.632–635.
241. Zernecke, A. MicroRNAs in the regulation of immune cell functions – implications for atherosclerotic vascular disease / A. Zernecke // *ThrombHaemos.* – 2012. – Vol.107, №4. – P. 626–633.
242. Zhou, L. Platelet aggregation testing in platelet-rich plasma: description of procedures with the aim to develop standards in the field / L. Zhou, A.H. Schmaier // *Am J ClinPathol.* – 2005. – Vol.123, №2. – P. 172–183.