

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ДОНЕЦКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М. ГОРЬКОГО»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ПЕРЕНЕСЕНКО АНАСТАСИЯ ОЛЕГОВНА

УДК 616.61-002.2-008.852/.853

**МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ТРОМБОЦИТАРНО-
ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ АГРЕГАТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ
ОБСТРУКТИВНОМ ПИЕЛОНЕФРИТЕ**

3.3.3. Патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной
степени кандидата медицинских наук

Донецк – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького» Министерства здравоохранения Российской Федерации (далее – ФГБОУ ВО ДонГМУ Минздрава России), г. Донецк

Научный
руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Баринов Эдуард Федорович

Официальные
оппоненты: **Золотухин Сергей Евгеньевич**, доктор медицинских наук, профессор, Республиканский травматологический центр Министерства здравоохранения Донецкой Народной Республики, заведующий отделом координации научных исследований и прогнозирования

Михайличенко Вячеслав Юрьевич, доктор медицинских наук, профессор, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского», заведующий кафедры общей хирургии, анестезиологии-реаниматологии и скорой медицинской помощи

Ведущая
организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «18» декабря 2023 года в 10:00 часов на заседании диссертационного совета 03.2.001.04 при ФГБОУ ВО ДонГМУ Минздрава России по адресу: 283003, РФ, ДНР, г. Донецк, пр. Ильича, 16. Тел.: (062) 244-41-51, факс: (062) 344-40-01, e-mail: spec-sovet-01-022-05@dnmu.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО ДонГМУ Минздрава России по адресу: 283003, РФ, ДНР, г. Донецк, пр. Ильича, 16 и на сайте организации <https://dnmu.ru>.

Автореферат разослан «___» _____ 2023 года.

Врио ученого секретаря
диссертационного совета 03.2.001.04
д.м.н., доцент

О.С. Антропова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В настоящее время продолжают поиски критериев, позволяющих дифференцировать фазы рецидива и ремиссии хронического обструктивного пиелонефрита (ХОПН) (Kogan M. I. et al., 2021). Причина заключается в субъективной оценке данных физикального осмотра пациента, «размытости» референтных диапазонов лабораторных критериев при остром и хроническом воспалении в мочевыводящих путях (МВП), отсутствием критериев перехода хронической воспалительной реакции в острую фазу (Zotova N. et al., 2023). В этом контексте перспективным представляется изучение индивидуальной реактивности организма при развитии воспалительной реакции. Критериями такой реактивности считаются лейкоцитоз, лейкоцитарная формула крови, скорость оседания эритроцитов (СОЭ), уровень С-реактивного белка (СРБ), интегральные лейкоцитарные индексы, лейкоцитурия (Gusev E. Y. et al., 2021). Характеристики тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов (ТЛА) продолжают обсуждаться в контексте поиска ранних маркеров развития воспаления (Ryan T. et al., 2022), поскольку открывается возможность управления воспалительной реакцией на самых ранних этапах. Известно, что системная регуляция гомеостаза сопровождается изменением активности клеток крови посредством стимуляции рецепторов, ассоциированных с различными внутриклеточными сигнальными путями (Xiao Q. et al., 2021), при этом в циркулирующей крови формируются ТЛА (Баринов Э.Ф. и соавт., 2022). Такое взаимодействие обеспечивает рекрутирование лейкоцитов (Лц) в ткани органов; регулирует автономные функции Лц, включая образование и освобождение внеклеточных ловушек нейтрофилов (Нф); а также поддерживают обратную связь, позволяющую ограничить тяжесть воспаления и защитить орган от повреждения, вызванного чрезмерной активацией иммунной системы (Pavlov O.V. et al., 2022). Пусковым моментом в формировании ТЛА является активация тромбоцитов (Тц), однако механизмы регуляции адаптационной реакции клеток крови и пути внутриклеточной сигнализации при развитии воспаления остаются малоизученными (Moenen Floor C. J. I. et al., 2020). Провоспалительный потенциал при активации Тц подтверждается их взаимодействием с моноцитами (Мц), Нф, эозинофилами (Эо), базофилами и Т-клетками (Finsterbusch M. et al., 2018). При дегрануляции Тц выделяют широкий спектр воспалительных и митогенных медиаторов. В α -гранулах Тц содержатся хемокины СХС и СС классов (Firat A. A., 2022). Стимуляция Тц и последующее формирование ТЛА связано с формированием провоспалительного фенотипа Лц (Hottz E. D. et al., 2021). Доказано, что адреналин и АДФ приводят к повышению образования ТЛА за счет усиления экспрессии CD11b, Р-селектина и гликопротеина Пв/Ша (Rossaint J. et al., 2018). Участие симпатoadреналовой системы (САС) в рекрутировании Лц представляется логичным, поскольку экспрессия α_2 -адренорецепторов на Тц, Лц и эндотелии создает оптимальные условия для формирования ТЛА при развитии пиелонефрита (Баринов Э.Ф. и соавт., 2022). Пуриновые P2Y-рецепторов (P2Y₁-рецептор, P2Y₁₂-рецептор) связаны с Gi- и Gq-

белком, сигнализация с которых обеспечивает повышение концентрации Ca^{2+} в клетках крови, следствием чего является индукция агрегации Тц и активация Лц (Barinov E.F., 2013). Доказана роль ФАТ в формировании ТЛА (Баринов Э. Ф. и соавт., 2022); фосфорилирование внеклеточной сигнально-регулируемой киназы (ERK), которое опосредовано фосфоинозитол-3-киназой, протеинкиназой С, фосфолипазой A_2 , фосфолипазой С и внеклеточным Ca^{2+} , считается ответственным за регуляцию процесса воспаления (Turunen A. et al., 2021). Очевидно, что отсутствие знаний, касающихся влияния системных и паракринных регуляторов на формирование и состав ТЛА при хронической и острой воспалительной реакции в МВП сдерживает совершенствование консервативной терапии у пациентов с нефролитиазом. Требуют исследования фенотипы клеток крови и механизмы формирования ТЛА в фазе ремиссии и рецидива ХОПН. Необходимо выяснить – как изменяется внутриклеточная сигнализация в Тц, при рекрутировании Лц из сосудистого русла; а также – в чем суть регуляции адаптационной реакции клеток крови в процессе формирования ТЛА при наличии острого и хронического воспалительного процесса в МВП.

Верификация молекулярных механизмов инициации и ограничения воспаления в МВП при ХОПН позволит оптимизировать схему консервативной терапии за счет модуляции внутриклеточной сигнализации, обеспечивающей реализацию функциональной активности клеток крови с учетом индивидуальной реактивности организма.

Степень разработанности темы исследования. Сложность дифференцирования фаз ремиссии и рецидива заключается в несоответствии достоверности лабораторных критериев клинической картине. Систематизация критериев валидности лабораторных индикаторов позволяет ответить на вопрос об эффективности их использования у пациентов с ХОПН при условии острого и хронического воспаления. В этом контексте ТЛА является возможным индикатором провоспалительной активации у пациентов с ХОПН. При анализе патогенетических механизмов формирования ТЛА в цельной крови до и после индукции агонистами различного механизма действия возможно проанализировать активацию кластеров рецепторов Тц и выделение фенотипов клеток крови с различной степенью реактивности. Изучение амплитудных характеристик Тц, которые детализируют скорость включения рецепторов и внутриклеточных реакций представляется перспективным. В этой связи, степень активации Тц может рассматриваться как наиболее ранний индикатор рекрутирования Лц, а агонисты (патогенетические факторы, индуцирующие активацию Тц) – как факторы риска развития острого воспаления. Кроме того, характеристики агрегатограммы (Slope, AUC) при активации Тц, вероятно, связаны с количеством и составом Лц, принимающих участие в воспалительной реакции. Следовательно, изучение агрегатограмм позволит идентифицировать внутриклеточную сигнализацию в Тц при рекрутировании Лц, а также механизмы взаимосвязи между ними.

Цель исследования – установить механизмы взаимодействия Тц и Лц при реализации воспалительной реакции у пациентов с ХОПН.

Задачи исследования:

1. Сопоставить диагностическую информативность лабораторных показателей воспаления и характеристик ТЛА (механизмы регуляции, количество и состав агрегатов) для дифференциальной диагностики фаз рецидива и ремиссии ХОПН.

2. Изучить влияние системного гуморального фактора (адреналина) и паракринных регуляторов (АДФ и ФАТ) на формирование и состав ТЛА у здоровых лиц, при хронической и острой воспалительной реакции в МВП.

3. Установить фенотипы клеток крови и механизмы формирования ТЛА в фазе ремиссии и рецидива ХОПН.

4. Исследовать пути внутриклеточной сигнализации Тц в процессе рекрутирования Лц из сосудистого русла при ХОПН.

5. Определить механизмы регуляции адаптационных реакций Тц в процессе формирования ТЛА при наличии хронического воспалительного процесса в МВП.

6. Верифицировать механизмы регуляции адаптационных реакций Тц в процессе формирования ТЛА при наличии острого воспалительного процесса в МВП.

Объект исследования: хронический обструктивный пиелонефрит (МКБ – 10-N11.1).

Предмет исследования: лабораторные показатели (лейкоцитоз, общий анализ крови, СОЭ, уровень СРБ, лейкоцитурия, циркулирующие ТЛА); рецепторный аппарат клеток крови в базальных условиях и при связывании с агонистами в концентрации EC_{50} (функциональная активность α_2 -адренорецептора, пуриновых P2Y-рецепторов, ФАТ-рецептора Тц); взаимодействие рецепторов при адаптационных реакциях клеток крови у пациентов с нефролитиазом; характеристики индуцированной агрегации Тц (амплитуда, Lag-time, Slope, AUC агрегатограмм).

Научная новизна полученных результатов. Доказано, что исследование клеток крови *in vitro* являются репрезентативной моделью для оценки развития воспалительной реакции, а также исследования механизмов регуляции взаимодействия клеток крови при нефролитиазе. Впервые доказано, что в фазе ремиссии и рецидива ХОПН рекрутирование Лц из сосудистого русла достигается посредством стимуляции α_2 -адренорецептора, пуриновых P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора. Впервые установлено, что индивидуальная реактивность организма при ХОПН проявляется наличием гипо-, нормо- и гиперреактивного фенотипов клеток крови, отличающихся реакцией на провоспалительные стимулы (адреналин, АДФ и ФАТ). Впервые идентифицированы пути внутриклеточной сигнализации, обеспечивающие модуляцию функциональной активности Тц на этапе формирования ТЛА, что предопределяет развитие воспалительной реакции

в МВП. Определена роль адренергической регуляции компенсаторной реакции Тц при наличии хронического воспалительного процесса в МВП. Впервые установлено участие пуринаргической сигнализации в Тц в механизмах рекрутирования Лц при остром пиелонефрите.

Теоретическая и практическая значимость работы. Проведенное исследование способствовало созданию концепции инициации и ограничения воспалительной реакции, обусловленной индивидуальной реактивностью организма у пациентов с ХОПН; позволило установить механизмы регуляции компенсаторных реакций клеток крови при развитии острого и хронического воспалительного процесса, а также обеспечило понимание роли внутриклеточной сигнализации Тц в механизмах формирования ТЛА и рекрутирования Лц. Разработанные методы исследования взаимодействия клеток крови при воспалении позволяют анализировать механизмы развития острой и хронической воспалительной реакции, состав агрегатов, контролировать и корректировать эффективность лечебных мероприятий у пациентов с ХОПН; прогнозировать риск развития острого пиелонефрита с учетом индивидуальной реактивности организма пациента. Полученные данные позволят улучшить уровень диагностических мероприятий и могут стать факторами прогнозирования риска инициации фаз ХОПН с учетом индивидуальной реактивности организма пациента.

Результаты диссертационной работы, отражающие молекулярные механизмы формирования ТЛА и фенотипы клеток крови, участвующие в воспалительной реакции при различной реактивности организма, могут быть внедрены в учебный процесс кафедр медико-биологического профиля.

Методология и методы исследования. Для решения сформулированных задач проведено открытое, наблюдательное, проспективное когортное исследование. Всем пациентам на этапе госпитализации проведено комплексное клиническое обследование по традиционной схеме, принятой для диагностики мочекаменной болезни (МКБ). При анализе гемограммы определяли количество форменных элементов, лейкоцитарную формулу и абсолютное количество Лц, оценивали СОЭ, уровень СРБ. Для оценки процесса рекрутирования Лц из сосудистого русла в ткани проводили микроскопию мазков крови, окрашенных по методу Паппенгейма; рассчитывали количество циркулирующих в крови ТЛА. Тц больных использовали в качестве модели для оценки функциональной активности α_2 -адренорецептора, пуриновых P2X₁ и P2Y₁₂ рецепторов, ФАТ-рецептора. Оценку агрегации Тц (АТц) проводили турбидиметрическим методом на анализаторе ChronoLog (США). Анализ агрегатограмм проводили по следующим параметрам: амплитуда агрегации Тц (%); максимальный наклон кривой (Slope, %/мин); площадь под кривой (AUC, U). Статистический анализ осуществлялся с использованием пакета MedCalc.

Положения, выносимые на защиту

1. Использование однофакторных моделей логистической регрессии позволяет повысить чувствительность и специфичность диагностических тестов оценки

хронического и острого воспаления в МВП путем определения критических значений лейкоцитоза, СОЭ, СРБ.

2. На этапе госпитализации пациентов информативным индикатором дифференцировки фаз ХОПН является количество циркулирующих в крови ТЛА.

3. Развитие воспалительной реакции, связанное с формированием ТЛА, регулируется активностью α_2 -адренорецептора, пуриновыми P2Y-рецепторами и ФАТ-рецептором.

4. Адренореактивные фенотипы клеток крови у пациентов в фазе ремиссии ХОПН и пуринергические фенотипы – в фазе рецидива ХОПН отражают индивидуальную реактивность организма, что позволяет персонифицировать противовоспалительную терапию при нефролитиазе.

5. Активность рецепторов Тц может рассматриваться как ранний индикатор выраженности рекрутирования Лц из сосудистого русла для реализации воспалительной реакции.

6. Идентификация путей внутриклеточной сигнализации *in vitro* на изолированных Тц позволяет конкретизировать механизмы взаимодействия клеток крови при формировании ТЛА в фазе ремиссии и рецидива ХОПН.

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

Апробация результатов исследований. Основные результаты диссертационной работы были доложены на научно-практических конференциях: «Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье» (Санкт-Петербург 2015, 2016, 2017, 2018), «VII Национальный конгресс патофизиологов Украины с международным участием «Патофизиология и фармация: пути интеграции»» (Харьков, 2016), «Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения»» (Санкт-Петербург, 2016), «XV чтения им. В.В. Подвысоцкого» (Одесса, 2016), «Неделя науки 2018: Международный молодёжный форум, посвященный 80-летию юбилею Ставропольского государственного медицинского университета» (Ставрополь, 2018, 2021), «Профилактическая медицина-2018: Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием» (Санкт-Петербург, 2018), «II Международная научно-практическая конференция» (Курск, 2021), «Донецкие чтения 2020: образование, наука, инновации, культура и вызовы современности» (Донецк, 2020-2022), «Международный медицинский форум Донбасса «Наука побеждать... болезнь» (Донецк, 2022).

Личный вклад соискателя. Вклад соискателя в результаты диссертационной работы является основным и заключается в проведении лабораторных исследований, статистической обработке данных, написании всех разделов диссертации, формулировании выводов. Автором проведена статистическая обработка результатов исследования. 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 Баринаова Э.Ф. Клиническое исследование проведено совместно с ассистентом кафедры урологии ФГБОУ ВО ДонГМУ Минздрава России, к.м.н. Григоряном Х.В. Диссертантом не были заимствованы результаты и идеи соавторов публикаций.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 26 научных работ, в том числе: 11 статей – в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Донецкой Народной Республики и Российской Федерации для публикации основных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук и 15 тезисов и статей – в материалах конгрессов, форумов и конференций.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 193 страницах печатного текста, состоит из «Введения», «Обзора литературы», «Материалов и методов исследования», трех глав собственных исследований, раздела «Анализ и обсуждение результатов исследования», «Выводов», «Практических рекомендаций», списка использованной литературы, насчитывающего 297 наименований (из них 80 отечественных и 217 – зарубежных источников). Диссертация содержит 33 таблицы и иллюстрирована 32 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ.

Материалы и методы исследований. Исследование носило проспективный характер и включало 195 пациентов с конкрементами верхней или средней трети мочеочника, которые находились на стационарном лечении в отделении рентген-ударно-волнового дистанционного дробления камней и эндоурологии ДОКТМО с 2020 по 2022 год. Средний возраст пациентов $52,9 \pm 1,2$ года (95% ДИ 50,5 – 55,4 года). Всем пациентам на этапе госпитализации проведено комплексное клиническое обследование по традиционной схеме, принятой для диагностики МКБ. Диагноз ХОПН был установлен на основании анамнестических данных, данных объективного осмотра, лабораторных и инструментальных исследований согласно клиническим рекомендациям по МКБ, утвержденным Министерством здравоохранения РФ (2020 г.).

Для контроля использованы данные обследования 15 пациентов, у которых не была выявлена патология почек и МВП, а также отсутствовали биомаркеры, отражающие наличие воспаления. Критериями исключения стали прием антиагрегантов и статинов в течение последних 6 месяцев; коагулопатия и

тромбоцитопения; онкологическая патология; менструация; острые и хронические воспалительные заболевания другой локализации.

В исследовании использовали периферическую венозную кровь пациентов с ХОПН, полученную на момент поступления в стационар. При анализе гемограммы определяли лейкоцитарную формулу.

Протокол исследования агрегационной способности Тц соответствует Европейским рекомендациям по стандартизации агрегатометрии. Оценку агрегации Тц проводили турбидиметрическим методом на анализаторе ChronoLog (USA). На Тц исследовали функциональную активность α_2 -адренорецептора, пуриновых P2Y-рецепторов, ФАТ-рецептора. В качестве агонистов использовали: АДФ (5,0, мкМ), адреналин (epinephrine, 5,0 мкМ), ФАТ (150,0, мкМ). Анализ агрегатограммы включал автоматическое определение: амплитуды агрегации (Amplitude, %), наклона кривой (Slope, % мин), площадь под кривой (Area under curve, AUC (U)), а также Lag-time (сек). При анализе механизмов формирования ТЛА использовалась цельная кровь, в которую добавлялись агонисты в концентрации EC50%. Для окраски мазков использовался метод Паппенгейма; микроскопия мазка проводилась при увеличении $\times 40$ и $\times 100$. При подсчете ТЛА оценивали наличие и морфологические характеристики агрегатов.

Обследование и лечение больных проводили в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (Сеул, 2008). Комиссией по этическим вопросам и биоэтике (протокол №1 от 22.02.2023 г.) определено, что все научные исследования с участием людей осуществлялись согласно регламентированных биоэтических норм.

Анализ полученных данных проведен с использованием статистического пакета MedCalc version 20.115 (MedCalcSoftware, 2022). Оценка величин, подлежащих анализу, проводилась путем расчета среднего арифметического признака (\bar{X}) или его медианы (Me), а также 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 (при нормальном законе распределения количественных характеристик) и критерии Вилкоксона и Манна-Уитни (при отличии закона распределения от нормального количественных характеристик), метод углового преобразования Фишера (при сравнении частоты качественных признаков). Для оценки диагностической значимости показателей использовали ROC-анализ с определением площади ROC-кривой и диагностической чувствительности и специфичности. Для выявления связи между признаками применяли методы множественного корреляционного анализа: рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона (r) (при нормальном законе распределения) или показатель ранговой корреляции Спирмена (при отличии закона распределения от нормального). Различие считалась статистически значимым при уровне $P < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. В настоящее время продолжаются поиски критериев, позволяющие дифференцировать фазы

рецидива и ремиссии ХОПН (Bagga N. et al., 2013). Это связано с субъективной оценкой данных физикального осмотра пациента, «размытостью» референтных диапазонов содержания Лц при остром и хроническом воспалении, отсутствием критериев перехода хронической воспалительной реакции в острую фазу. В этой связи необходимо было ответить на исследовательский вопрос – позволяют ли лабораторные гематологические показатели констатировать наличие острого и хронического воспаления в МВП у пациентов с МКБ?

При анализе традиционных индикаторов воспаления у пациентов с МКБ установлено, что абсолютное число Лц находилось на уровне $8,47 \pm 0,36 \times 10^9/\text{л}$ (95% ДИ $7,50 - 11,3 \times 10^9/\text{л}$), т. е. – в пределах референтного интервала ($4 - 9 \times 10^9/\text{л}$); по сути, это отражает отсутствие реакции клеток крови. При этом значения СРБ достигали $9,54 \pm 1,15 \text{ мг/л}$ (95% ДИ $6,0 - 12,0 \text{ мг/л}$), а СОЭ – $22,6 \pm 2,17 \text{ мм/ч}$ (95% ДИ $13,4 - 26,0 \text{ мм/ч}$), что позволяет констатировать наличие воспаления у пациентов с МКБ.

Позволяют ли традиционные индикаторы воспаления дифференцировать пациентов с ХОПН в фазе рецидива и ремиссии? Показатель абсолютного числа Лц у пациентов в фазе рецидива ХОПН был повышен и достигал $10,1 \pm 0,54 \times 10^9/\text{л}$ (95% ДИ $8,98 - 11,26 \times 10^9/\text{л}$). Примечательно, что 35 % пациентов имели уровень Лц в диапазоне «нормы» – $4 - 9 \times 10^9/\text{л}$. Уровень Лц в фазе ремиссии ХОПН составил $7,1 \pm 0,38 \times 10^9/\text{л}$ (95% ДИ $6,3 - 7,9 \times 10^9/\text{л}$). Ожидаемым была статистически значимая разница лейкоцитоза в фазе ремиссии и рецидива заболевания ($P = 0,001$). Показатель СОЭ находился на уровне $17,1 \pm 2,1 \text{ мм/ч}$ (95% ДИ $12,73 - 21,5 \text{ мм/ч}$) в фазе ремиссии ХОПН; повышение значений показателя были выявлены у 50% пациентов. В фазу рецидива ХОПН величина СОЭ превышала таковую в фазе ремиссии на 74,3% ($P = 0,003$) и составила $29,5 \pm 3,6 \text{ мм/ч}$ (95% ДИ $21,92 - 37,07 \text{ мм/ч}$), причем превышение данного индикатора встречалось у 75% больных. Уровень СРБ у пациентов с ХОПН в фазе ремиссии достигал $7,68 \pm 2,26 \text{ мг/л}$ (95% ДИ $0,0 - 12,0 \text{ мг/л}$), в фазе рецидива – $12,0 \pm 1,71 \text{ мг/л}$ (ДИ 95% $6,0 - 18,0 \text{ мг/л}$). Таким образом, в фазе рецидива ХОПН отмечается статистически значимое повышение уровня С-реактивного белка на 56,2% ($P = 0,01$). Значения данного показателя в существующем референтном диапазоне встречались у 50% пациентов в фазе ремиссии и у 5% пациентов в фазе рецидива ХОПН.

Причинами гетерогенности значений лабораторных показателей, отражающих развитие воспаления у пациентов с МКБ, являлась гендерная и возрастная реактивность организма пациентов. Установлено, что у мужчин младше 55 лет в фазу ремиссии ХОПН показатели общего анализа крови находятся в референтном диапазоне. Рецидив ХОПН у пациентов в возрастном диапазоне 55 – 65 лет характеризовался лейкоцитозом, нейтрофилоцитозом, повышением СОЭ ($P < 0,001$). В фазу ремиссии ХОПН у пациентов в возрастном диапазоне 55 – 65 лет и старше 65 лет не обнаружена статистически значимая реакция Лц. У мужчин старше 65 лет при рецидиве ХОПН, по сравнению с фазой ремиссии, выявлены лейкоцитоз, нейтрофилоцитоз ($P < 0,05$) и лимфоцитопения

($P < 0,05$). У женщин младше 55 лет в фазе ремиссии гематологические показатели находились в пределах референтных интервалов. В фазу рецидива ХОПН прирост Лц составил 87% ($P < 0,001$), показатель СОЭ повышался в 3 раза ($P < 0,001$), а содержание Лф уменьшилось на 19,5% ($P < 0,001$). В возрастном диапазоне 55 – 65 лет достоверных различий реактивности клеток крови выявлено не было. У женщин в возрасте старше 65 лет в фазу рецидива ХОПН выявлен прирост Лц, по сравнению с фазой ремиссии на 90% ($P < 0,001$), Нф на 20,8% ($P < 0,001$), Мц на 71,4% ($p < 0,01$), СОЭ на 31,6% ($P < 0,05$); содержание Лф уменьшилось в 2,8 раза ($P < 0,05$).

Гипотеза – если в физиологических условиях для поддержания тканевого гомеостаза происходит активация и миграция Лц, то в циркулирующей крови имеются агрегаты клеток крови, в частности ТЛА. Для обеспечения воспалительной реакции количество Лц и агрегатов в сосудистом русле должно увеличиться, в этом случае количество ТЛА может быть индикатором ранней стадии развития воспаления. На этапе госпитализации выявлено, что наиболее информативным индикатором наличия воспаления в МВП был уровень циркулирующих в крови ТЛА.

Установлено, что в фазе рецидива ХОПН количество ТЛА увеличилось в 2,6 раза ($P = 0,001$), по сравнению с контрольной группой и составило $8,22 \pm 1,72\%$ (95% ДИ 4,25 – 12,19%). В фазе ремиссии ХОПН количество ТЛА на 25,4 % ($P < 0,001$) превышало данный показатель в контрольной группе и достигало $3,91 \pm 0,31\%$ (95 % ДИ 3,21 – 4,611%). Анализ построенных однофакторных моделей логистической регрессии подтвердил, что на этапе госпитализации пациентов наиболее информативным индикатором фазы ХОПН является критический уровень циркулирующих в крови ТЛА. При значении показателя ($\text{ТЛА}_{\text{crit}} > 5\%$) у пациентов имела место фаза рецидива ХОПН, а при значении $\text{ТЛА}_{\text{crit}} \leq 5\%$ – фаза ремиссии заболевания. Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста составляет 96,3% (95% ДИ 81,0 – 99,9%) и специфичность – 93,3% (95% ДИ 68,1 – 99,8%); АUC – 0,965 (95% ДИ 0,858 – 0,998). Таким образом, количество ТЛА являлось информативным биомаркером острого и хронического воспаления в МВП у пациентов с ХОПН. Можно предположить, что формирование ТЛА зависит от спектра системных и локальных регуляторов, вызывающих активацию и торможение клеток крови при реализации воспаления.

Исследования *in vitro* на цельной крови позволяют моделировать влияния взаимодействия системных и паракринных регуляторов Тц в формировании ТЛА и рекрутировании Лц. У здоровых лиц при стимуляции α_2 -адренорецептора количество ТЛА не претерпевало значимых изменений ($P > 0,05$), по сравнению с таковым до стимуляции (базальный уровень). Активация Р2У-рецепторов на клетках крови сопровождалась увеличением количества ТЛА на 83,3% ($P = 0,001$), по сравнению с их уровнем до инкубации; при этом эффект превышал таковой при стимуляции α_2 -адренорецептора на 48,1% ($P = 0,021$). Стимуляция ФАТ-рецептора воспроизводила повышение численности ТЛА на 79,3% ($P = 0,001$), по сравнению с базальным уровнем. Стимулирующее воздействие α_2 -

адренорецептора и P2Y-рецепторов на формирование ТЛА было сопоставимым ($P > 0,05$).

Результаты морфометрического исследования мазков крови у пациентов в фазе ремиссии ХОПН свидетельствуют, что базальный уровень ТЛА соответствует таковому в контрольной группе ($P = 0,384$). В фазе рецидива содержание ТЛА в циркулирующей крови превышало их количество в контрольной группе и в фазе ремиссии в 2,08 раза ($P = 0,023$), что отражает наличие механизмов регуляции взаимодействия клеток крови, отличающихся от таковых у здоровых лиц и пациентов с ремиссией заболевания. В фазу ремиссии ХОПН при стимуляции $\alpha 2$ -адренорецептора, ФАТ-рецептора и P2Y-рецепторов количество ТЛА в мазке крови возросло на 29,6% ($P = 0,049$) относительно контрольной группы и на – 79,1% ($P = 0,003$), по сравнению с количеством ТЛА до инкубации (Таблица 1).

Таблица 1 – Количество ТЛА (%), сформировавшихся при стимуляции тромбоцитов и лейкоцитов *in vitro* у пациентов с ХОПН

Агонист	$X \pm m$	Min.–Max.	95% ДИ (левый–правый)	Достоверность различий
Фаза ремиссии ХОПН				
До стимуляции	3,909 \pm 0,31	1,0 – 5,0	3,207 – 4,611	
Адреналин	7,0 \pm 0,94	3,0 – 12,0	4,867 – 9,133	$P_1 = 0,003$
АДФ	6,33 \pm 2,33	2,0 – 10,0	3,25 – 9,25	$P_1 = 0,002$
ФАТ	9,2 \pm 1,775	2,0 – 20,0	5,184 – 13,2	$P_1 = 0,001$; $P_2 = 0,008$; $P_3 = 0,03$
Фаза рецидива ХОПН				
До стимуляции	8,118 \pm 0,528	6,0 – 13,0	6,999 – 9,236	$P_p = 0,02$
Адреналин	9,375 \pm 0,746	4,0 – 14,0	7,784 – 10,9	$P_1 = 0,049$; $P_p = 0,02$
АДФ	9,833 \pm 0,767	6,0 – 13,0	8,145 – 11,5	$P_1 = 0,028$; $P_p = 0,019$
ФАТ	12,1 \pm 1,162	8,0 – 22,0	9,633 – 14,6	$P_1 = 0,011$; $P_p = 0,04$

Примечание: P_1 — вероятность различий кол-ва ТЛА при стимуляции клеток крови, по сравнению с уровнем до инкубации; P_2 – по сравнению с кол-вом ТЛА после индукции адреналином; P_3 – по сравнению с кол-вом ТЛА после индукции АДФ; P_p – по сравнению кол-вом ТЛА в фазе ремиссии ХОПН.

При стимуляции P2Y-рецепторов количество ТЛА повысилось на 62,0% ($P = 0,002$) относительно их численности до инкубации и – не отличалось при индукции $\alpha 2$ -адренорецептора; отсутствовала значимая разница ТЛА, по сравнению с таковой у лиц контрольной группы. При стимуляции клеток крови ФАТ количество ТЛА возросло в 2,35 раза ($P = 0,001$) относительно их численности до стимуляции и превышало на 17,9% ($P = 0,01$) таковое в

контрольной группе. Обращает на себя внимание, что количество ТЛА, при индукции ФАТ-рецептора, превышает содержание агрегатов, образовавшихся при стимуляции $\alpha 2$ -адренорецептора и P2Y-рецепторов, соответственно, на 31,4% ($P=0,008$) и 46,0% ($P=0,03$).

Вариабельность количества циркулирующих ТЛА является отражением индивидуальной реактивности организма. Установлено, что наиболее информативным показателем, отражающим реактивность клеток крови в фазе ремиссии ХОПН являлась функциональная активность $\alpha 2$ -адренорецептора, что позволило распределить когорту пациентов на три группы – с гипoadренореактивным, нормoadренореактивным и гиперaдренореактивным фенотипом. При исследовании гипoadренореактивного фенотипа установлено, что реакция клеток крови на адреналин была ниже на 27,1% ($P<0,001$), АДФ на 12,5% ($P=0,039$) и ФАТ на 48,4% ($P<0,001$), по сравнению с таковой в контрольной группе. Корреляционный анализ позволил установить высокую связь между количеством ТЛА, сформировавшихся при инкубации клеток крови с АДФ и двумя другими агонистами ($r_{\text{АДФ-Адрен}}=0,916$; $r_{\text{АДФ-ФАТ}}=0,893$); а также между количеством ТЛА, сформировавшихся при инкубации клеток крови с ФАТ и адреналином ($r_{\text{ФАТ-Адрен}}=0,78$). Наличие данного фенотипа, вероятно, связано с ограничением компенсаторных реакций, направленных на усиление функциональной активности клеток крови, следствием чего является снижение количества ТЛА и рекрутирования Лц из сосудистого русла. Для нормoadренореактивного фенотипа была характерна более высокая чувствительность ФАТ-рецептора (на 44,4%; $P=0,043$) и низкая P2Y-рецепторов (на 19,6%; $p=0,027$), по сравнению с таковой в контрольной группе. При формировании ТЛА наиболее высокую реактивность проявлял ФАТ-рецептор, стимуляция которого сопровождалась увеличением количества агрегатов, по сравнению с P2Y-рецепторами и $\alpha 2$ -адренорецептором, на 75,5% и 58,0% ($P<0,05$) соответственно. У контингента больных с данным фенотипом мобилизация Лц для реализации воспаления обеспечивается посредством активации ФАТ-рецептора. При исследовании гиперaдренореактивного фенотипа реакция клеток крови на адреналин была выше на 57,4% ($P=0,001$), а на АДФ и ФАТ – ниже на 20,1% ($P<0,05$) относительно таковых в контрольной группе. Стимуляция $\alpha 2$ -адренорецептора воспроизводила максимальное формирование ТЛА, количество которых превышало на 40,5% и 41,7% ($P<0,01$) количество таковых при стимуляции пуриновых P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора соответственно. Корреляционный анализ выявил взаимосвязь между количеством ТЛА, сформировавшихся при инкубации клеток крови с адреналином, АДФ и ФАТ ($r_{\text{Адрен-АДФ}}=0,97$, $P<0,001$; $r_{\text{Адрен-ФАТ}}=0,96$; $P<0,001$; $r_{\text{АДФ-ФАТ}}=0,96$; $P<0,001$). Представленные данные свидетельствуют, что при гиперaдренореактивном фенотипе системная активация клеток крови посредством катехоламинов (САС) является доминирующей и поддерживает рекрутирование Лц для реализации острого воспаления в МВП; компенсаторные реакции клеток крови также регулируются посредством аутокринной и паракринной стимуляции.

В фазе рецидива ХОПН количество циркулирующих ТЛА в 2,08 раза выше ($P=0,023$), чем в фазе ремиссии заболевания. Количество агрегатов, индуцированных адреналином, превышало таковое в контрольной группе на 73,5% ($P=0,002$); по сравнению с базальным уровнем прирост составил 15,5% ($P=0,049$). Стимуляция P2Y-рецепторов также сопровождалась повышением количества ТЛА на 22,9% ($P=0,022$), по сравнению с таковым в контрольной группе и – на 21,2% ($P=0,028$), по сравнению с их базальным уровнем. Содержанием агрегатов в мазках крови при стимуляции $\alpha 2$ -адренорецептора и P2Y-рецепторов было сопоставимым ($P=0,471$). Относительно фазы ремиссии ХОПН, количество ТЛА при инкубации клеток крови с АДФ возросло на 56,0% ($P=0,019$). При внутриклеточной сигнализации с ФАТ-рецептора численность агрегатов возросла на 29,6% ($P=0,01$), по сравнению с базальным уровнем и – на 55,1% ($P=0,008$), по сравнению с таковым в контроле. Относительно фазы ремиссии заболевания можно констатировать увеличение реактивности ФАТ-рецептора на 31,9% ($P=0,04$). Формирование ТЛА при стимуляции ФАТ-рецептора, $\alpha 2$ -адренорецептора и P2-рецепторов у данной когорты больных не различалось.

Гипотеза: у пациентов в фазе рецидива (как и у пациентов в фазе ремиссии) присутствуют специализированные фенотипы клеток крови, обусловленные различной индивидуальной реактивностью Тц и Лц. Такие фенотипы могут быть индикаторами ограничения воспаления МВП (гипореактивный фенотип); компенсаторной реакции клеток крови, участвующих в поддержании гомеостаза тканей органов, путем рекрутирования Лц (нормореактивный фенотип); усиления тяжести воспалительной реакции (гиперреактивный фенотип). Для проверки данной гипотезы когорту пациентов с фазой рецидива ХОПН распределили на три группы в зависимости от количества циркулирующих ТЛА (с пониженным, физиологическим и повышенным количеством агрегатов). При выборе информативного индикатора, который позволил бы объективно разграничивать фенотипы клеток крови использовалась реактивность P2Y-рецепторов, поскольку внутриклеточная сигнализация сопряжена как с G_i -, так и с G_q -белками; в связи с этим, реактивность $\alpha 2$ -адренорецептора и ФАТ-рецептора является производной сигнализации P2Y-рецепторов. При исследовании гипопуринергического фенотипа клеток установлено, что реакция на адреналин была сопоставимой с таковой в контрольной группе ($P=0,784$), тогда как индукция АДФ и ФАТ воспроизводила меньшее количество агрегатов соответственно на 21,9% ($P<0,05$) и 21,2% ($P=0,019$), по сравнению с контролем. Обнаружена корреляционная связь между индуцирующим влиянием P2Y-рецептора и $\alpha 2$ -адренорецептора на формирование агрегатов ($r_{\text{АДФ-Адр}}=0,9$; $P<0,001$); P2Y-рецептора и ФАТ-рецептора ($r_{\text{ФАТ-АДФ}}=0,89$; $P<0,001$), а также между эффектами ФАТ-рецептора и $\alpha 2$ -адренорецептора ($r_{\text{ФАТ-Адр}}=0,98$; $P<0,001$). Следовательно, в фазе рецидива ХОПН имеются пациенты с десенситизацией P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора, что может быть причиной ограничения острых воспалительных реакций;

взаимодействие P2Y-рецепторов, ФАТ-рецептора и α 2-адренорецептора отражает возможность усиления рекрутирования Лц в ткани МВП.

При наличии нормопуринергического фенотипа клеток крови количество ТЛА увеличивалось при индукции адреналином на 78,6% ($P=0,001$), АДФ – на 25,0% ($P=0,048$) и ФАТ – на 45,0% ($P=0,005$), по сравнению с контрольной группой. Статистически значимых различий между количеством агрегатов при стимуляции P2Y-рецепторов, ФАТ-рецептора и α 2-адренорецептора выявлено не было. Установлены корреляционные связи между количеством ТЛА, индуцированных ФАТ-рецептором и α 2-адренорецептором ($r_{\text{ФАТ-Адрен}}=0,863$ $P<0,001$), P2Y-рецепторами и α 2-адренорецептором ($r_{\text{АДФ-Адр}}=0,542$; $P=0,03$). Представленные факты позволяют заключить, что данный фенотип клеток может при необходимости вовлекаться в реализацию острой воспалительной реакции посредством как системной, так и паракринной регуляции. Гиперпуринергический фенотип характеризовался повышенной реактивностью клеток крови, при этом стимуляция α 2-адренорецептора сопровождалась увеличением количества ТЛА на 98,0% ($P<0,001$), P2Y-рецепторов – на 54,1% ($P=0,005$) и ФАТ-рецептора – на 53,8% ($P<0,001$), по сравнению с контрольной группой. Численность ТЛА при стимуляции P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора была сопоставимой ($P=0,732$). Стимуляция α 2-адренорецептора воспроизводила меньше агрегатов, чем P2Y-рецепторы и ФАТ-рецептор на 23,3% и 20,0% ($p<0,05$) соответственно. Обнаружена положительная корреляционная связь между индуцирующим влиянием на клетки крови P2Y-рецепторов и α 2-адренорецептора ($r=0,899$; $P=0,001$); α 2-адренорецептора и ФАТ-рецептора ($r=0,847$; $P=0,001$) и P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора ($r=0,732$; $P=0,0250$). Полученные результаты свидетельствуют, что при наличии фазы рецидива ХОПН у пациентов с гиперпуринергическим фенотипом имеет место синергия P2Y-рецепторов, ФАТ-рецептора и α 2-адренорецептора, позволяющая увеличивать количество Лц, мигрирующих в инфильтрат, для поддержания острой воспалительной реакции в тканях МВП.

Гипотеза: если ТЛА являются индикатором развития воспалительной реакции при обструкции мочеточника, то можно предположить участие в формировании циркулирующих агрегатов как Лц, так и Тц. Полученные нами данные свидетельствуют, что процесс активации Лц может обеспечиваться посредством стимуляции пуриновых P2Y-рецепторов при секреции АДФ Тц (паракринная регуляция функциональной активности Лц). В литературе обсуждается участие Тц в воспалении, но отсутствует информация, конкретизирующая характеристики функциональной активности Тц при развитии воспаления (Kourenova M. et al., 2018)

Доказано, что формирование коопераций Тц и Лц обусловлено индивидуальной реактивностью пациентов с ХОПН; в фазе ремиссии заболевания данный феномен получил подтверждение в виде наличия гипо-, нормо-, гиперпуринергических фенотипов клеток крови, которые отличались выраженностью формирования ТЛА при стимуляции α 2-адренорецептора. В этом

контексте представляет интерес реактивность Тц на адреналин, АДФ и ФАТ, поскольку открывается возможность не только уточнить триггер воспалительной реакции, но и идентифицировать пути внутриклеточной сигнализации которые лежат в основе стимуляции Тц при их взаимодействии с Лц. У пациентов с гипoadренореактивным фенотипом при изучении функциональной активности Тц было выявлена десенситизация α_2 -адренорецептора, P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора, что сопровождается снижением влияния системной активации (САС), аутокринной (АДФ) и паракринной стимуляции (ФАТ) на Тц (Рисунок 1а).

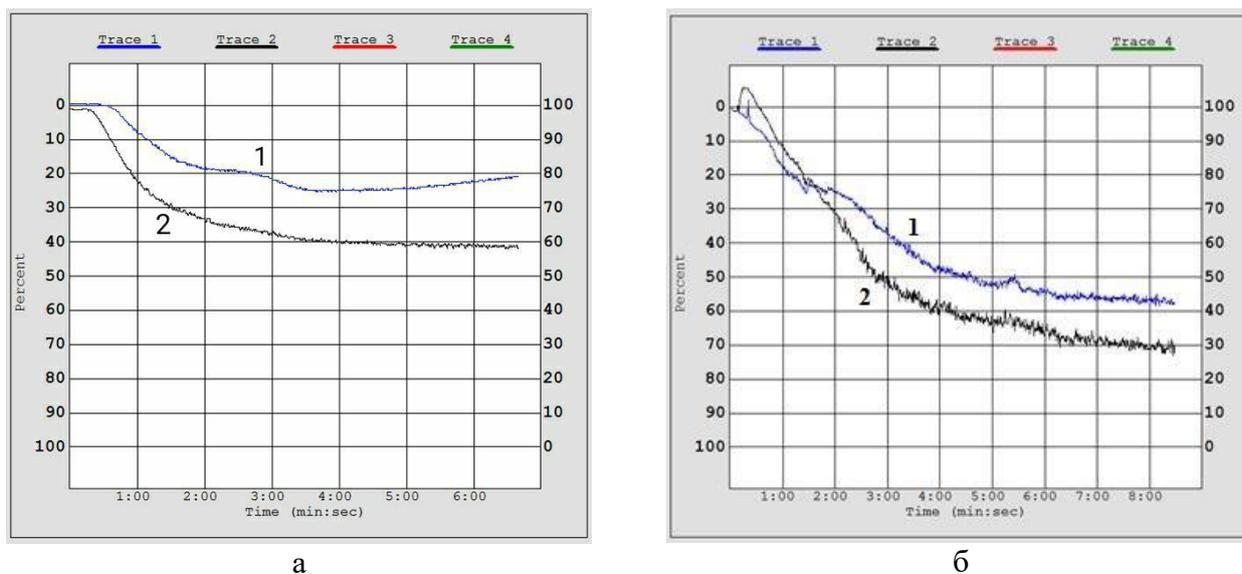


Рисунок 1 – Агрегатограммы при гипо- (а) и гиперадренореактивном (б) фенотипах клеток крови у пациентов с фазой ремиссии ХОПН. ЕС50% – адреналин (1) и АДФ (2)

Амплитуда агрегации, индуцированная адреналином, оказалась на 43,7% ($P=0,004$), АДФ – на 21,6% ($P<0,001$) и ФАТ на 53,1% ($P=0,001$) меньше, чем аналогичные показатели, зарегистрированные в контрольной группе. При этом стимуляция P2Y-рецепторов воспроизводила амплитуду агрегации на 44,1% больше ($P=0,02$), чем α_2 -адренорецептор и на 67,5% больше чем ФАТ-рецептор ($P<0,001$). Таким образом, по результатам анализа амплитуды агрегации можно прийти к заключению, что ведущим агонистом регуляции функции Тц у данного контингента больных является АДФ. Скорость внутриклеточной сигнализации (Slope) при индукции Тц адреналином была снижена на 58,3% ($P=0,008$), АДФ – на 29,0% ($P=0,003$), а ФАТ – на 48,3% ($P<0,001$), по сравнению с контрольными значениями. При связывании P2Y-рецепторов с АДФ скорость сигнализации была на 68,0% быстрее, чем при стимуляции α_2 -адренорецептора ($P<0,001$) и на 80,0% ($P=0,004$) быстрее, чем таковая при стимуляции ФАТ-рецептора. Количество Тц, участвующих в агрегации (AUC) при индукции адреналином на 66,0% ($P=0,013$) меньше, чем в контрольной группе. При стимуляции P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора значения показателя AUC были, соответственно, на 86,6% и в 2,2 раза меньше, чем в контрольной группе ($P<0,001$). Количество Тц, участвующих в адгезии с Лц было сопоставимо при стимуляции α_2 -адренорецептора, P2Y-

рецепторов и ФАТ-рецептора. Наличие корреляционной связи между значениями AUC агрегатограмм при индукции Тц адреналином, АДФ и ФАТ ($r_{\text{Адр}}=0,987$, ($P<0,001$), $r_{\text{АДФ}}=0,895$ ($P=0,008$), $r_{\text{ФАТ}}=0,709$ ($P=0,041$)) и количеством ТЛА, сформировавшихся при стимуляции $\alpha 2$ -адренорецептора, P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора, одновременно на Тц и Лц, позволяет заключить, что Тц участвуют в формировании ТЛА, а адреналин, АДФ и ФАТ могут быть факторами риска восстановления воспалительной реакции в почке. Таким образом, наличие гипoadренореактивного фенотипа клеток крови в фазе ремиссии ХОПН обусловлено десенситизацией рецепторов и является отражением функционирования защитных механизмов, ограничивающих функциональную активность Тц, следствием чего является снижение количества циркулирующих ТЛА и рекрутирования Лц из сосудистого русла в ткани почки и МВП.

У пациентов с нормoadренореактивным фенотипом выявлена нормореактивность пуриновых P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора, что свидетельствует о поддержании физиологической регуляции Тц посредством на катехоламинов, аутокринной и паракринной стимуляции. Значения AUC при стимуляции $\alpha 2$ -адренорецептора находились на уровне значений в контрольной группе ($P=0,361$); при стимуляции P2Y-рецепторов показатель был меньше на 64,1% и – ФАТ-рецептора больше на 38,31% ($P = 0,001$), чем в контрольной группе. Следовательно, у пациентов, находящихся в фазе ремиссии ХОПН с физиологической адренореактивностью клеток крови имеет место снижение компенсаторной реакции в ответ на стимуляцию пуриновых P2Y-рецепторов, что обуславливает ограничение количества Тц, способных участвовать во взаимодействии с Лц. Переход к острой воспалительной реакции (рецидив ХОПН) обеспечивается активными Лц, которые секретируют ФАТ и индуцируют Тц, что способствует формированию новых пулов ТЛА. У пациентов с гиперадренореактивным фенотипом выявлена чрезмерная стимуляция P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора, что свидетельствует о функционировании механизмов, повышающих функциональную активность Тц (Рисунок 1б).

Амплитуда АТц при стимуляции $\alpha 2$ -адренорецептора была выше на 37,9% ($P<0,001$), P2Y-рецепторов на 20,3% ($P=0,006$) и ФАТ-рецептора на 19,5% ($P<0,001$), чем в контрольной группе. Показатель AUC при индукции тремя агонистами статистически значимо не различался. По сравнению с контрольной группой выявлено увеличение AUC при индукции адреналином на 46,7% ($P=0,009$) и ФАТ – на 42,2% ($P=0,003$); статистически значимых различий показателя при стимуляции P2Y-рецепторов – не выявлено. Обнаружена корреляционная связь между AUC и Slope – при индукции адреналином таковая составила $r=0,882$ ($P=0,0007$), АДФ – $r=0,671$ ($P=0,023$) и ФАТ – $r=0,631$ ($P=0,037$), что отражает влияние внутриклеточной сигнализации, связанной с Gi- и Gq-белком на вовлечение в процесс агрегации новых Тц. Таким образом, компенсаторные механизмы Тц, связанные со стимуляцией $\alpha 2$ -адренорецептора, P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора, обеспечивают максимальное вовлечение Тц в мобилизацию Лц для поддержания острой воспалительной реакции в МВП.

Доказано, что в фазе рецидива ХОПН при реализации воспаления в клетках крови функционирует пуринергическая сигнализация, влияние которой на формирование ТЛА характеризуется гипо-, нормо- и гиперреактивным фенотипами. При гипопуринергическом фенотипе выявлена десенситизация рецепторов, амплитуда активации $\alpha 2$ -адренорецептора, P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора была соответственно на 34,7% ($P=0,003$), 29,62% ($P<0,001$) и 43,6% ($P<0,001$) меньше, чем в контрольной группе. Значения AUC при индукции Тц адреналином не отличались от таковых в контрольной группе, тогда как АДФ и ФАТ активировали меньше Тц соответственно на 36,6% ($P <0,001$) и 32,5% ($P = 0,021$). Обращает на себя внимание, что AUC при стимуляции $\alpha 2$ -адренорецептора и ФАТ- рецептора была сопоставимой ($P=0,2$). Значения AUC при стимуляции P2Y-рецепторов превышали таковые в случае активации $\alpha 2$ -адренорецептора на 16,2% ($P= 0,001$) и ФАТ-рецептора – на 29,6% ($P= 0,026$). Таким образом, наличие гипопуринергического фенотипа в фазе рецидива ХОПН связано с десенситизацией рецепторов клеток крови, при этом сниженная пуринергическая сигнализация ограничивает триггерную функцию Тц, следствием чего является снижение количества циркулирующих ТЛА и рекрутирования Лц из сосудистого русла в ткани почки и МВП. Стимуляция $\alpha 2$ -адренорецептора может быть фактором риска восстановления острой воспалительной реакции в МВП. При исследовании агрегатограмм у пациентов с нормопуринергическим фенотипом амплитуда агрегации, индуцированная АДФ, адреналином и ФАТ, статистически значимо не различалась и была сопоставима со значениями контрольной группы, т.е. находилась в диапазоне нормореактивности. Количество Тц, участвующих в агрегации (AUC) при индукции АДФ, адреналином и ФАТ не отличалось от таковых в контроле. Однако, значения AUC при стимуляции P2Y-рецепторов были больше на 25,5% ($P=0,014$), чем таковые при стимуляции $\alpha 2$ -адренорецептора и на 36,5% ($P=0,011$) при стимуляции ФАТ-рецептора, что обусловлено особенностями внутриклеточной сигнализации. У данного контингента больных при сохранении пуринергической сигнализации в клетках крови на физиологическом уровне поддерживается компенсаторная реакция организма, направленная на вовлечение необходимого количества Тц в формирование ТЛА для поддержания структурного гомеостаза. Переход к острой воспалительной реакции (рецидив ХОПН) может обеспечиваться как локальными (активные Лц), так системными регуляторами (САС).

У пациентов с гиперпуринергическим фенотипом клеток выявлена повышенная активность трех изученных рецепторов. При инкубации Тц с адреналином, АДФ и ФАТ амплитуда агрегации Тц была сопоставимой и превышала контрольные значения соответственно на 26,4% ($P =0,004$), 26,2% и 23,5% ($P<0,001$). Скорость внутриклеточной сигнализации (Slope) при стимуляции P2Y-рецептора была на 35,01% ($P = 0,001$) выше таковой в контрольной группе. При этом значения Slope в случае связывания агониста с $\alpha 2$ -адренорецептором и ФАТ-рецептором находились на уровне таковых в контрольной группе. Можно констатировать повышение скорости

внутриклеточной сигнализации в Тц, что способствует усилению компенсаторной реакции клеток крови. Количество Тц, участвующих в агрегации (AUC) индуцированной АДФ возросло на 22,42% ($P=0,003$) относительно контрольных значений. Значения AUC при стимуляции $\alpha 2$ -адренорецептора и ФАТ-рецептора статистически значимо не отличались от таковых в контроле и были сопоставимы между собой. Величина AUC при АДФ-индуцированной агрегации превышала таковую при индукции Тц адреналином и ФАТ соответственно на 67,4% и 56,4% ($P<0,001$). Таким образом, компенсаторные механизмы Тц, связанные с пуринаргической сигнализацией обеспечивают максимальное вовлечение Тц в рекрутирование Лц из сосудистого русла для поддержания острой воспалительной реакции в МВП. Аддитивными механизмами активации Тц могут быть связаны с чрезмерной стимуляцией $\alpha 2$ -адренорецептора и ФАТ-рецептора.

Анализ молекулярных механизмов инициации и ограничения воспаления в МВП при ХОПН позволит оптимизировать схему консервативной терапии за счет модуляции внутриклеточной сигнализации, обеспечивающей реализацию функциональной активности клеток крови с учетом индивидуальной реактивности организма.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.

1. Анализ количества ТЛА в циркулирующей крови у пациентов с ХОПН позволяет оценить индивидуальную выраженность воспалительной реакции в МВП.

2. Исследование активности ФАТ-рецептора, $\alpha 2$ -адренорецептора и P2Y-рецепторов *in vitro* на выделенных из крови Тц позволяет контролировать механизмы регуляции рекрутирования Лц из сосудистого русла в зону воспаления.

3. Установление фенотипов клеток крови, отличающихся реакцией на адреналин и АДФ, способствует пониманию особенностей развития хронической и острой воспалительной реакции при ХОПН; позволяет контролировать эффективность противовоспалительной терапии и при необходимости корректировать схему лечения.

4. Численность ТЛА при стимуляции $\alpha 2$ -адренорецептора на клетках крови у пациентов с фазой ремиссии является индикатором влияния стресс-реакции на развитие воспаления при ХОПН.

5. У пациентов с фазой рецидива ХОПН, можно прогнозировать исход пиелонефрита путем сопоставления количества ТЛА в крови и активности пуринового P2Y-рецептора.

6. Модуляция функциональной активности Тц при медикаментозной терапии у пациентов с МКБ, изменяющей внутриклеточную сигнализацию, сопряженную с Gi – и Gq-белками, позволяет управлять процессом рекрутирования Лц в зону воспаления.

ВЫВОДЫ

В диссертации проведен анализ влияния нефролитиаза на функциональную активность клеток крови и достигнуто решение актуальной задачи в области патологической физиологии – изучить молекулярные механизмы инициации и ограничения воспаления, обусловленные индивидуальной реактивностью организма, у пациентов с ХОПН, что позволит персонифицировать схему консервативной терапии посредством модуляции внутриклеточной сигнализации Тц и Лц.

1. Анализ построенных однофакторных моделей логистической регрессии подтвердил, что на этапе госпитализации пациентов наиболее информативным индикатором фазы ХОПН является критический уровень циркулирующих в крови ТЛА. При значении показателя (TLA_{crit}) $>5\%$ у пациентов имела место фаза рецидива ХОПН, а при значении $TLA_{crit} \leq 5\%$ – фаза ремиссии заболевания. Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста составляет $96,3\%$ (95% ДИ $81,0 - 99,9\%$) и специфичность – $93,3\%$ (95% ДИ $68,1 - 99,8\%$), АUC – $0,965$ (95% ДИ $0,858 - 0,998$).

2. У здоровых лиц формирование ТЛА обеспечивается паракринными механизмами секреции АДФ и ФАТ. При ХОПН рекрутирование Лц из сосудистого русла достигается путем стимуляции $\alpha 2$ -адренорецептора, пуриновых P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора. Наиболее выраженный эффект формирования ТЛА воспроизводит ФАТ, эффект которого в фазе ремиссии превосходит влияние адреналина и АДФ соответственно на $31,4\%$ и $46,0\%$ ($P < 0,05$); в фазе рецидива заболевания соответственно на $29,6\%$ и $23,5\%$ ($P < 0,05$).

3. Индивидуальная реактивность организма пациентов с ХОПН проявляется наличием гипо-, нормо- и гиперреактивного фенотипов клеток крови, отличающихся реакцией на провоспалительные стимулы (адреналин, АДФ и ФАТ). В фазе ремиссии ХОПН информативным показателем фенотипа является реактивность $\alpha 2$ -адренорецептора. При гипoadренореактивном фенотипе стимуляция $\alpha 2$ -адренорецептора воспроизводила меньше ТЛА, чем ФАТ-рецептор и P2Y-рецепторы ($P = 0,001$); при нормoadренореактивном – эффект $\alpha 2$ -адренорецептора сопоставимым с таковым P2Y-рецепторов и на $26,8\%$ ($P < 0,05$) меньше, чем ФАТ-рецептора; при гиперадренореактивном фенотипе – индуцирующее влияние $\alpha 2$ -адренорецептора на формирование ТЛА выше, чем при стимуляции P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора ($P < 0,01$).

4. В фазе рецидива ХОПН наиболее информативным индикатором реактивности клеток крови является активность пуриновых P2Y-рецепторов, сопряженных с Gi-, и Gq-белками. Анализ активности P2Y-рецепторов позволяет выделять гипо-, нормо- и гиперпуринореактивные фенотипы клеток крови. При нормопуринергическом фенотипе эффект P2Y-рецепторов сопоставимым с таковым $\alpha 2$ -адренорецептора и меньше чем ФАТ-рецептора ($P < 0,05$); при гипо- и гиперпуринергическом фенотипах стимуляция P2Y-рецепторов индуцировала такое же количество ТЛА, как ФАТ-рецептор, но больше, чем $\alpha 2$ -адренорецептор ($P < 0,01$).

5. Активность рецепторов может рассматриваться как ранний индикатор провоспалительной функции Тц, связанной с формированием ТЛА. При гипoadренореактивном фенотипе клеток крови у пациентов с фазой ремиссии ХОПН снижение активности рецепторов Тц обеспечивает ограничение рекрутирования Лц; при нормoadренореактивном – стимуляция ФАТ-рецептора воспроизводит доминирующий вид сигнализации в Тц; при гиперadренореактивном фенотипе компенсаторная реакция Тц, связанная со стимуляцией $\alpha 2$ -адренорецептора, P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора, обеспечивают максимальное вовлечение Тц в формирование ТЛА.

6. В фазе рецидива ХОПН у пациентов с гипопуринергическим фенотипом клеток крови регистрируется десенситизация рецепторов, при этом сниженная внутриклеточная сигнализация ограничивает триггерную функцию Тц, следствием чего является снижение количества ТЛА. При нормо- и гиперпуринергическом фенотипах компенсаторные реакции Тц, связанные с пуринергической сигнализацией, обеспечивают вовлечение Тц в рекрутирование Лц из сосудистого русла для поддержания острой воспалительной реакции в МВП.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК

1. Баринов Э.Ф. Анализ факторов риска осложнений, индуцированных литотрипсией / Э.Ф. Баринов, А.Н. Кравченко, Т.А. Твердохлеб, **А.О. Балыкина** // Український журнал хірургії. – 2014. – № 1(24). – С. 123-127. *(Диссертант провела анализ развития осложнений у пациентов с уролитиазом после литотрипсии).*

2. Баринов Э.Ф. Гендерные особенности лейкоцитопоеза при хроническом обструктивном пиелонефрите / Э.Ф. Баринов, А.Н. Кравченко, Т.А. Твердохлеб, **А.О. Балыкина** // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2014. – №2 (15) – С. 258-260. *(Диссертант провела морфометрическое исследование лейкоцитарной формулы с хроническим воспалением).*

3. Баринов Э.Ф. 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 геронтол. – 2014. – Т. 27. – № 3. – С. 472–476. *(Диссертант проанализировала клеточный состав тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов у мужчин и женщин).*

4. Баринов Э.Ф. Механизмы формирования тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов при хроническом обструктивном пиелонефрите / Э.Ф. Баринов, **А.О. Балыкина**, А.Н. Кравченко // Клиническая нефрология. – 2015. – № 5-6. – С. 3-7. *(Диссертант выполнила исследование формирования ТЛА при индукции агонистами и оценила результаты морфометрически).*

5. Баринов Э.Ф. Молекулярные механизмы индивидуальной реактивности тромбоцитов при гематурии, ассоциированной с литотрипсией / Э.Ф. Баринов, Т.А., Твердохлеб, А.Н. Кравченко, **А.О. Балыкина**, Н.А. Черкасова // Урология. – 2016. – № 5. – С. 4-8. *(Диссертант провела исследование агрегационной способности тромбоцитов у пациентов с уролитиазом).*

6. Баринов Э.Ф. Взаимодействие адреналина и АДФ в регуляции функциональной активности тромбоцитов при хронической ишемии мозга / Э. Ф. Баринов, С. А. Мамедалиева, Т. А. Твердохлеб, **А.О. Балыкина** // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2017. – № 2. – С.51-55. *(Диссертант подготовила фрагмент о сигнальных путях при молекулярной активации адренорецепторов).*

7. Баринов Э.Ф. Тромбоцитарно-лейкоцитарные агрегаты циркулирующей крови как ранний индикатор рецидива хронического обструктивного пиелонефрита / Э. Ф. Баринов, Х.В. Григорян, **А.О. Балыкина**, Т.И. Фабер // Клиническая нефрология. – 2017. – № 4. – С. 37 – 41. *(Диссертант провела морфометрическое исследование формирования межклеточных агрегатов при индукции ФАТ).*

8. Баринов Э.Ф. Молекулярные основы тромбоцитарной активации / Э.Ф. Баринов, **А.О. Балыкина**, Т.И. Фабер, Х.В. Григорян // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2018. – том 27 (2). – С. 79 – 84. *(Диссертант подготовила фрагмент по молекулярным путям активации и межклеточным взаимодействия тромбоцитов).*

9. Баринов Э.Ф. Молекулярная активация и формирование тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов при реализации острого и хронического воспаления в мочевыводящих путях / Э.Ф. Баринов, **А.О. Перенесенко**, Х.В. Григорян // Университетская клиника. – 2019. – № 2 (31). – С. 12-19. *(Диссертант провела морфометрическое исследование и выполнила статистическую обработку полученных данных).*

10. Баринов Э. Ф. Молекулярные механизмы регуляции функциональной активности клеток крови: совершенствование таргетной противовоспалительной терапии / Э.Ф. Баринов, Х.В. Григорян, Т.И. Фабер, В.С. Сохина, **А.О. Перенесенко** // Врач. – 2019. – Т. 30. № 11. – С. 15-22. *(Диссертант подготовила фрагмент о регуляции пуриновых рецепторов лейкоцитов).*

11. Баринов Э. Ф. Циркулирующие тромбоцитарно-лейкоцитарные агрегаты – индикатор раннего этапа лейкоцитурии после контактной уретеролитотрипсии / Э.Ф. Баринов, Ю.Ю. Малинин, Х.В. Григорян, **А.О. Перенесенко** // Университетская клиника. – 2022. – № 2 (43). – С. 5-10. *(Диссертант выполнила исследование агрегационной активности тромбоцитов).*

Материалы конгрессов, форумов и конференций

1. Баринов Э.Ф. Особенности реакции клеток крови у женщин при хроническом обструктивном пиелонефрите/ Э.Ф. Баринов, Т.А. Твердохлеб, А.Н. Кравченко, **А.О. Балыкина**, М.Э. Барина // Journal of Health Sciences. – Radom, Poland. – 2014. –4(2) – С. 201-218.

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

3. **Балыкина А.О.** Влияние литотрипсии на формирование тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов / А.О. Балыкина, А.Н. Кравченко // Теоретические основы клинической и профилактической медицины: Научно-практическая конференция XIV–е чтения им. В.В. Подвысоцкого. – Одеса. – 2015. – Стр. 17-18.

4. Barinov E.F. Effect of epinephrine on ADP-induced platelet aggregation at chronic brain ischemia / E.F. Barinov, S. Mamedaliyeva, **А.О. Balykina**, T.A. Tverdokhlebl // Journal of Health Sciences. – 2015. – Vol. 5. – № 6. – P. 11–18.

5. **Балыкина А.О.** Роль показателя лейкоцитарного индекса интоксикации в диагностике хронического обструктивного пиелонефрита // Материалы XIX международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье». – Санкт-Петербург. – 2016. – Т. 9. – С. 53-54.

6. Баринов Э.Ф. Анализ причинно-следственных связей, формирующихся при агрегации тромбоцитов / Э.Ф. Баринов, О.И. Николенко, А.Н. Кравченко, Т.А. Твердохлеб, **А.О. Балыкина** // Бюллетень XV чтений им. В.В. Подвысоцкого. – Одесса. – 2016. – С. 21-22.

7. Баринов Э. Ф. Почему преклонный возраст может быть фактором риска рецидива при хроническом обструктивном пиелонефрите? / Э.Ф. Баринов, **А.О. Балыкина**, Т.И. Фабер, Х.В. Григорян // Journal of Education, Health and Sport. –2017. – №7(12). – С. 644-655.

8. **Балыкина А.О.** Гендерные отличия формирования межклеточных коопераций у пациентов с уролитиазом // Фундаментальная наука и клиническая медицина — Человек и его здоровье: тезисы XXI. Международной медико-биологической конференции молодых исследователей. — СПб.: Изд-во СПбГУ. – 2018. — С. 49.

9. Баринов Э.Ф. Информативность и специфичность лабораторных показателей в диагностике фаз хронического обструктивного пиелонефрита / Э.Ф. Баринов, **А.О. Балыкина**, Т.И. Фабер, А.С. Юрьева // Профилактическая медицина-2018: сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 29–30 ноября 2018 года / под ред. д-ра мед. наук, проф. С.А. Сайганова. Ч. 1. — СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова. – 2018. — 308 с.

10. **Балыкина А.О.** Кинетика формирования межклеточных коопераций крови у пациентов с хроническим обструктивным пиелонефритом / А.О. Балыкина, Т.И. Фабер, А.С. Юрьева // Материалы Международного молодежного форум, посвященного 80-летию юбилею Ставропольского государственного медицинского университета. Ставрополь: Изд-во СтГМК. – 2018. – С. 426-427.

11. **Перенесенко А.О.** Анализ адренореактивности тромбоцитов у пациентов с хроническим обструктивным пиелонефритом / А. О. Перенесенко, А.С. Юрьева // Материалы 81-го медицинского конгресса молодых ученых «Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины». – Донецк. – 2019. – С. 224-225.

12. **Баринов Э.Ф.** Определение функциональной активности тромбоцитов и лейкоцитов в группе здоровых лиц. / Э.Ф. Баринов, О.И. Николенко, Н.А. Черкасова, **А.О. Перенесенко**, Д.И. Гиллер // Донецкие чтения 2020: образование, наука, инновации, культура и вызовы современности. Материалы V Международной научной конференции. Под общей редакцией С.В. Беспаловой. – 2020. – С. 332-334.

13. **Перенесенко А.О.** Анализ гипореактивного фенотипа тромбоцитов и лейкоцитов у пациентов с хроническим обструктивным пиелонефритом // Донецкие чтения 2021: образование, наука, инновации, культура и вызовы современности. Материалы VI Международной научной конференции. – Донецк. – 2021. – С. 289-291.

14. **Баринов Э.Ф.** Определение провоспалительной активности тромбоцитов у пациентов с хроническим обструктивным пиелонефритом / Э.Ф. Баринов, **А.О. Перенесенко**, Е.Д. Крахоткина, С.А. Ахундова // «От фундаментальных знаний к тонкому владению скальпелем», посвященная памяти профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого. Сборник научных трудов по материалам II Международной научно-практической конференции. – Курск. – 2021. – С. 56-57.

15. **Баринов Э.Ф.** Определение амплитудных характеристик агрегации тромбоцитов здоровых лиц / А.С. Юрьева, Э.Ф. Баринов, Е.Д. Крахоткина, **А.О. Перенесенко** // Донецкие Чтения 2022: Образование, Наука, Инновации, Культура И Вызовы Современности Материалы VII Международной научной конференции, посвящённой 85-летию Донецкого национального университета. Том 3. Под общей редакцией С.В. Беспаловой. Донецк. – 2022. – С.267-269.

АННОТАЦИЯ

Перенесенко Анастасия Олеговна. Механизмы формирования тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов при хроническом обструктивном пиелонефрите. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология – «Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Донецк, 2023.

Диссертационная работа посвящена решению актуальной задачи в области патологической физиологии – изучить молекулярные механизмы инициации воспаления при условии индивидуальной реактивности у пациентов с хроническим обструктивным пиелонефритом (ХОПН) в фазе ремиссии и

рецидива. В исследование включено 195 пациентов с верифицированным диагнозом ХОПН. Диагноз ХОПН был установлен на основании анамнестических данных, данных объективного осмотра, лабораторных (общеклинический и биохимический анализ крови) и инструментальных исследований. Пациенты были обследованы в урологическом отделении ДОКТМО (г. Донецк). Для анализа реактивности тромбоцитов и анализа формирования тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов (ТЛА) использовали агонисты АДФ (Технология стандарт), адреналин, ФАТ (Sigma-Aldrich) в дозе, соответствующей EC50%. Оценку агрегации тромбоцитов (АТц) проводили турбидиметрическим методом на анализаторе ChronoLog (США). Статистический анализ осуществлялся с использованием пакетов MedCalc. Установлено, что наиболее информативным индикатором фаз ХОПН на этапе госпитализации пациентов является критический уровень количества циркулирующих в крови ТЛА. В фазе ремиссии и рецидива ХОПН рекрутирование Лц крови достигается посредством стимуляции α 2-адренорецептора, пуриновых P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора. Индивидуальная реактивность организма в когорте больных с ХОПН проявляется наличием гипо-, нормо- и гиперреактивного фенотипов клеток крови, отличающихся реакцией на провоспалительные стимулы (адреналин, АДФ и ФАТ). В фазе ремиссии ХОПН информативным показателем фенотипа является функциональная активность α 2-адренорецептора на клетках крови. В фазе рецидива ХОПН наиболее информативным индикатором реактивности клеток крови является функциональная активность P2Y-рецепторов. Активность рецепторов тромбоцитов может рассматриваться как ранний индикатор провоспалительной функции тромбоцитов, связанной с формированием ТЛА.

Ключевые слова: хронический обструктивный пиелонефрит, тромбоциты, функциональная активность рецепторов, тромбоцитарно-лейкоцитарные агрегаты, инициация воспаления, индивидуальная реактивность.

ANNOTATION

Perenesenko Anastasiia Olegovna. Mechanisms of platelet-leukocyte aggregates' formation in chronic obstructive pyelonephritis. – The manuscript.

Dissertation for the degree of Candidate of Medical Sciences in the specialty – 3.3.3. Pathological physiology – Federal state budgetary educational institution of higher professional education «M. Gorky Donetsk state medical university» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Donetsk, 2023.

The research work is devoted to solving an actual problem in pathological physiology sphere – to study the molecular mechanisms of inflammation initiation under the condition of individual reactivity in patients with chronic obstructive pyelonephritis (COPN) in phase of remission and recurrence. The study included 195 patients with verified diagnosis of COPN. The diagnosis of COPN was established because of anamnestic data, objective examination data, laboratory (general clinical and biochemical blood analysis) and instrumental studies. The patients were examined in urological department of DOCTMO (Donetsk). Agonists such as ADP (Technology

Standard), epinephrine, PAF (Sigma-Aldrich) at a dose corresponding to the EC50% were used to analyze the formation of platelet-leukocyte aggregates (PLA) and platelet reactivity. Platelet aggregation (PA) was evaluated by turbidimetric method on the ChronoLog analyzer (USA). Statistical analysis was carried out using MedCalcSoftware. It was found that the most informative indicator of COPN phases at the stage of patients' hospitalization is the critical level of circulating PLAs' amount in blood. In phase of remission and recurrence of COPN, the recruitment of leukocytes in blood is achieved by stimulating $\alpha 2$ -adrenoreceptor, P2Y-receptors and PAF-receptor. Individual reactivity of organism in a cohort of patients with COPN is manifested by the presence of hypo-, normo- and hyperreactive phenotypes of blood cells, differing in response to proinflammatory stimuli (epinephrine, ADP and PAF). In remission phase of COPN, an informative indicator of phenotype is functional activity of $\alpha 2$ -adrenoreceptor on blood cells. In the phase of recurrence of COPN, the most informative indicator of blood cells' reactivity is functional activity of P2Y-receptors. The activity of platelet receptors can be considered as an early indicator of the proinflammatory function of platelets associated with the formation of PLA.

Keywords: chronic obstructive pyelonephritis, platelets, functional activity of receptors, platelet-leukocyte aggregates, initiation of inflammation, individual reactivity

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АДФ	– аденозинмонофосфат
Атц	– агрегация тромбоцитов
ДИ	– доверительный интервал
Лц	– лейкоцит
Лф	– лимфоцит
МВП	– мочевыводящие пути
МКБ	– мочекаменная болезнь
Мц	– моноцит
Нф	– нейтрофил
САС	– симпатoadреналовая система
СРБ	– С-реактивный белок
СОЭ	– скорость оседания эритроцитов
ТЛА	– тромбоцитарно-лейкоцитарные агрегаты
Тц	– тромбоцит
ФАТ	– фактор активации тромбоцитов
ХОПН	– хронический обструктивный пиелонефрит
Эо	– эозинофил
AUC	– площадь под кривой
P2Y	– пуриновые рецепторы