

УДК 616.61-003.7+615.276:615.155.2:577.1
EDN: ZQFSBM
<https://doi.org/10.15275/ssmj2001097>

Оригинальная статья

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ РАЗЛИЧНОЙ СЕНСИТИВНОСТИ ЦИКЛООКСИГЕНАЗЫ К НЕСТЕРОИДНЫМ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ У ПАЦИЕНТОВ С НЕФРОЛИТИАЗОМ

Э. Ф. Баринов, Д. И. Гиллер, С. А. Ахундова, А. С. Юрьева, Б. П. Терещук.

ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького» Минздрава России, Донецк, Россия

EFFICIENCY OF PLATELET AGGREGATION WITH DIFFERENT SENSITIVITY OF CYCLOOXYGENASE TO NON-STEROID ANTI-INFLAMMATORY DRUGS IN PATIENTS WITH NEPHROLITHIASIS

E. F. Barinov, D. I. Giller, S. A. Akhundova, A. S. Yureva, B. P. Tereshchuk

Donetsk State Medical University, Donetsk, Russia

Для цитирования: Баринов Э. Ф., Гиллер Д. И., Ахундова С. А., Юрьева А. С., Терещук Б. П. Эффективность агрегации тромбоцитов при различной чувствительности циклооксигеназы к нестероидным противовоспалительным препаратам у пациентов с нефролитиазом. Саратовский научно-медицинский журнал. 2024; 20 (1): 97–102. EDN: ZQFSBM. <https://doi.org/10.15275/ssmj2001097>

Аннотация. Цель: установить зависимость эффективности агрегации тромбоцитов (Тц) от crosstalk-сигнальных путей, связанных со стимуляцией ТР-рецептора и пуриновых Р2-рецепторов, при различной активности циклооксигеназы (ЦОГ) на фоне назначения нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) у пациентов с нефролитиазом (НЛТ). **Материал и методы.** Исследование носило проспективный характер и включало 60 пациентов с НЛТ, которым для анальгезии назначались неселективные НПВП в составе литокINETической терапии (ЛКТ). Когорту пациентов распределили на две группы — с эффективным (1-я группа, $n=30$) и неэффективным (2-я группа, $n=30$) ингибированием ЦОГ. Активность ТР-рецептора, пуриновых Р2-рецепторов (Р2X₁- и Р2Y-рецепторов) Тц оценивали на анализаторе ChronoLog (США). Агонисты (аденозинтрифосфат, аденозиндифосфат и арахидоновую кислоту) использовали в концентрациях EC₅₀ и EC₁₀. **Результаты.** В 1-й группе через 72 ч ЛКТ активность ТР-рецептора, Р2-рецепторов Тц снижалась до уровня гипореактивности. Регуляция компенсаторной реакции Тц в ответ на гематурию обеспечивалась посредством синергизма Р2X₁- и Р2Y-рецепторов, ТР-рецептора и Р2X₁-рецепторов. Во 2-й группе через 72 ч ЛКТ сохранялась гиперреактивность ТР-рецептора и Р2-рецепторов. Максимальное повышение агрегации Тц достигалось при синергизме ТР-рецептора и Р2Y-рецепторов. **Заключение.** Эффективность агрегации Тц при гематурии у пациентов с НЛТ на фоне введения НПВП определяется внутриклеточной сигнализацией, связанной с ТР-рецептором и Р2-рецепторами.

Ключевые слова: нефролитиаз, гематурия, нестероидные противовоспалительные препараты, рецепторы тромбоцитов

For citation: Barinov EF, Giller DI, Akhundova SA, Yureva AS, Tereshchuk BP. Efficiency of platelet aggregation with different sensitivity of cyclooxygenase to non-steroid anti-inflammatory drugs in patients with nephrolithiasis. Journal of Medical Scientific Research. 2024; 20 (1): 97–102. EDN: ZQFSBM. <https://doi.org/10.15275/ssmj2001097> (In Russ.)

Abstract. *Objective:* to establish the dependence of thrombocyte (Tc) aggregation efficiency on crosstalk-signaling pathways associated with stimulation of TR-receptor and purine P2-receptors, with different cyclooxygenase (COX) activity against the background of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) administration in patients with nephrolithiasis (NLT). *Material and methods.* The study was prospective and included 60 patients with NLT who received non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs) for analgesia as part of lithokinetic therapy (LKT). The cohort of patients was divided into two groups, with effective (group 1, $n=30$) and ineffective (group 2, $n=30$) COX inhibition. The activity of TP receptors, purine P2 receptors (P2X₁ and P2Y receptors) of platelets was assessed on a ChronoLog analyzer (USA). Agonists (ATP, ADP and Arachidonic acid) were used at EC₅₀ and EC₁₀ concentrations. *Results.* In the 1st group, after 72 hours of LKT, the activity of the TR receptor, P2 receptors of Tc decreased to the level of hyporeactivity. The regulation of the compensatory reaction of Tc in response to hematuria was provided through the synergism of the P2 receptors, and the TP receptor and the P2X₁ receptor. In 2nd group hyperreactivity of the TP receptor and P2 receptors persisted. Optimal modulation of the compensatory reaction of Tc was provided by the synergism of the TP receptor and P2Y receptors. *Conclusion.* The efficiency of Tc aggregation during NSAIDs administration is determined by intracellular signalling associated with TR receptor and P2 receptors.

Keywords: nephrolithiasis, hematuria, non-steroid anti-inflammatory drugs, platelet receptors

Введение. До настоящего времени отсутствует понимание причин различной функциональной активности тромбоцитов (Тц) при длительном назначении нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП). Более того, недостаточность знаний, касающихся механизмов регуляции тромбоцитарного звена гемостаза при блокаде циклооксигеназы (ЦОГ), предопределяет высокий риск геморрагии у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Выраженность гематурии у пациентов с нефролитиазом (НЛТ), вероятно, связана с различной чувствительностью фермента ЦОГ к НПВП, которые назначаются для анальгезии у пациентов с нефролитиазом (НЛТ). При продолжительном назначении пациентам высоких доз неселективных НПВП для купирования почечной колики возможна гетерогенность активности рецепторов Тц в силу как индивидуальной реактивности (резистентности) организма, так и «ускользания» ЦОГ от ингибирующего воздействия фармпрепаратов [1]. В физиологических условиях активация ЦОГ-1 и синтез тромбоксана А₂ (ТхА₂) обеспечивают агрегацию Тц, при этом секреция АДФ из α -гранул усиливает индуцирующий сигнал рецептора тромбоксана (ТР-рецептора) [2]. Данный феномен обусловлен сопряженностью ТР-рецептора и пуриновых Р2Y-рецепторов с Gq-белком сигнального пути, обеспечивающего повышение внутриклеточного содержания Ca²⁺. При нарушении гемостаза, вызванного назначением неселективных НПВП, ограничение геморрагии возможно путем включения компенсаторных механизмов Тц. Однако не понятно: связана ли эффективность агрегации Тц с оптимизацией внутриклеточной сигнализации при ингибировании ЦОГ. В контексте расшифровки механизмов оптимизации путей сигнализации при компенсаторной реакции привлекает внимание синергия рецепторов Тц. Особый интерес вызывает взаимодействие ТР-рецептора и пуриновых Р2-рецепторов, поскольку возможен crosstalk-сигнальных путей, связанных со стимуляцией ТР-рецептора (через Gq- и Gq_{12/13}-белки), Р2Y-рецепторов (через Gi- и Gq-белки) и Р2X₁-рецептора (АДФ-зависимый ионный канал).

Цель — установить зависимость эффективности агрегации Тц от crosstalk-сигнальных путей, связанных со стимуляцией ТР-рецептора и пуриновых Р2-рецепторов, при различной активности ЦОГ на фоне назначения неселективных НПВП у пациентов с НЛТ.

Материал и методы. Исследование включало 60 пациентов с визуализационными признаками наличия конкрементов в мочевыводящих путях. Всем пациентам на этапе госпитализации проведено комплексное клиническое обследование по традиционной схеме, принятой для диагностики мочекаменной болезни: жалобы, сбор анамнеза, физикальный осмотр, клинко-инструментальные исследования, ультразвуковое обследование и компьютерная томография почек, микробиологический посев мочи, лабораторные исследования крови и мочи. Критерии включения: мужчины и женщины в возрасте ≥ 18 лет с наличием конкремента в мочевыводящих путях. Критерии исключения: прием антиагрегантов и статинов в течение последних 6 мес; коагулопатия, тромбоцитопения, менструация; острые сосудистые осложнения давностью менее 6 мес; наличие

искусственного водителя ритма или клапана сердца, стенозов коронарных сосудов; тяжелая сопутствующая патология. Средний размер конкремента составил $13,4 \pm 1,1$ мм (min-max 8,0–30,0 мм). Стандартная литокINETическая терапия (ЛКТ) включала неселективный НПВП (диклофенак натрия, 100–150 мг/сут), α_{1A} -адреноблокатор (тамсулозин, 0,4 мг/сут) и антибиотики. Когорту пациентов распределили на две группы в зависимости от достигнутого уровня остаточной активности ЦОГ через 72 ч проведения ЛКТ; в 1-й группе ($n=30$) с эффективным ингибированием ЦОГ воспроизводилась гипореактивность ТР-рецептора (агрегация тромбоцитов, индуцированная арахидоновой кислотой (АК) $<45\%$) и во 2-й группе ($n=30$) с неэффективным ингибированием — регистрировалась гиперреактивность ТР-рецептора (усиление агрегации Тц $>55,0\%$). Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького» Минздрава России. Протокол исследования агрегационной способности Тц соответствует Европейским рекомендациям по стандартизации агрегатометрии [3]. Анализ функциональной активности рецепторов проводили *in vitro* на суспензии Тц в течение 5 сут ЛКТ, для чего из периферической крови путем центрифугирования выделяли обогащенную Тц плазму; содержание Тц в 1 мкл составляло $200\,000 \pm 20\,000$. Для определения способности НПВП ингибировать ЦОГ Тц предварительно инкубировали с ацетилсалициловой кислотой, после чего добавляли АК. В данном тесте критерием остаточной активности ЦОГ является чувствительность рецептора к ТхА₂, синтез которого при метаболизме АК зависит от ингибирующего влияния ацетилсалициловой кислоты. Исследовали активность пуриновых Р2Y-рецепторов (Р2Y₁-и Р2Y₁₂-), чувствительность которых отражает эффективность аутокринной реакции Тц. Оценку агрегации Тц проводили турбидиметрическим методом на анализаторе ChronoLog (США). В качестве индукторов использовали аденозинтрифосфат (АДФ), аденозиндифосфат (АТФ) и АК. В работе применяли пороговые и субпороговые концентрации агонистов, которые в контрольной группе (5 здоровых доноров) вызывали агрегацию Тц, соответственно на уровне 50,0% (ЕС₅₀) и 10,0% (ЕС₁₀). Использование агониста в концентрации ЕС₅₀ продиктовано необходимостью оценивать чувствительность рецептора Тц (нормо-, гипо- и гиперреактивность), тогда как ЕС₁₀ позволяет анализировать взаимодействие нескольких рецепторов (синергизм), которое проявляется потенцированием показателей агрегации Тц при стимуляции каждого рецептора. Характеристики агрегатограмм оценивались по амплитуде агрегации тромбоцитов (АТц, %), максимальному наклону кривой (Slope, %/мин) и площади под кривой (AUC, U). Микрогематурию определяли при наличии трех и более эритроцитов в поле зрения путем микроскопии осадка мочи; выделяли легкую степень — 3–10 э/пз, среднюю — 11–49 э/пз и тяжелую степень микрогематурии — 50–100 э/пз.

Распределение признаков в выборках оценивали по критерию Шапиро — Уилка. В зависимости от распределения признаков применяли *t*-критерий Стьюдента, *U*-критерий Манна — Уитни или *W*-критерий Вилкоксона. Во всех случаях отличия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистический анализ осуществлялся с использованием пакета MedCalc Version 20.019. Данные представлены в виде среднего значения ($\bar{X}$) и стандартного отклонения

($\pm SD$) или минимального и максимального значения показателя (min-max) в случае нормального закона распределения, а также медианного значения (Me) и интерквартильного размаха ($Q_I - Q_{III}$) в случае закона распределения, отличного от нормального.

Результаты. Через 72 ч проведения ЛКТ выраженность гематурии в 1-й группе была в 3 раза выше, чем во 2-й группе, соответственно, $54,4 \pm 1,3$ э/пз и $18,2 \pm 1,2$ э/пз ($p < 0,001$). Активность ТР-рецептора уменьшилась на 33,8% ($p < 0,001$) по сравнению с исходным сроком наблюдения, как следствие, воспроизводилась гипореактивность рецептора ($42,0 \pm 1,8\%$). Активность P2X₁-рецептора и P2Y-рецепторов также снизилась, соответственно, на 44,4% и на 31,5% ($p < 0,001$) по сравнению с исходным уровнем и достигала уровня гипореактивности ($30,2 \pm 1,0$ и $37,6 \pm 1,5\%$). Во 2-й группе активность ТР-рецептора понизилась на 13,4% ($p = 0,008$), при этом сохранялась гиперреактивность рецептора ($59,7 \pm 0,5\%$), что может быть связано с резистентностью ЦОГ к действию НПВП. Активность P2X₁-рецептора уменьшилась ($p < 0,001$) на 13,4% и P2Y-рецепторов — на 10,6%, но оставалась в диапазоне гиперреактивности (соответственно $60,8 \pm 0,4$ и $61,7 \pm 0,7\%$). Через 5 сут выраженность гематурии в 1-й группе была в 2 раза выше, чем во 2-й группе ($p < 0,001$) соответственно, $45,6 \pm 1,9$ э/пз ($20,0 - 64,0$ э/пз) и $22,3 \pm 1,2$ э/пз ($12,0 - 32,0$ э/пз), что может быть связано с различной эффективностью агрегации Тц у пациентов при назначении НПВП. В 1-й группе наблюдалось увеличение активности ТР-рецептора (на 18,3% по сравнению со сроком наблюдения 72 ч; $p < 0,001$) до уровня нормореактивности, что может трактоваться как компенсаторная

реакция Тц, направленная на ограничение гематурии; значения последней снизились — на 16,2% ($p = 0,044$) по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. Активность P2X₁- и P2Y-рецепторов повысилась (соответственно на 37,1%; $p = 0,028$ и 10,9%; $p = 0,037$), оставаясь в диапазоне гипореактивности. Во 2-й группе через 5 сут чувствительность ТР-рецептора поддерживалась на уровне гиперреактивности ($58,2 \pm 0,7\%$). Активность P2-рецепторов снизилась (на 8,0%; $p < 0,001$ по сравнению со сроком наблюдения 72 ч) и оставалась в диапазоне гиперреактивности (P2X₁-рецепторов — $55,9 \pm 0,6\%$ и P2Y-рецепторов — $56,8 \pm 0,5\%$).

Исследовательский вопрос — отличается ли эффект потенцирования пуриновых P2-рецепторов и ТР-рецептора при различной чувствительности ЦОГ-1 к НПВП?

В 1-й группе через 5 сут ЛКТ установлено, что селективная стимуляция P2X₁-рецептора, P2Y-рецепторов и ТР-рецептора (агонисты АТФ, АДФ и АК) воспроизводила сходные ($p > 0,05$) значения амплитуды АТц, Slope и AUC (таблица). При одновременной стимуляции нескольких рецепторов максимальный эффект агрегации воспроизводился при взаимодействии P2X₁- и P2Y-рецепторов. Так, значения амплитуды, Slope и AUC превышали таковые при изолированной стимуляции P2Y-рецепторов соответственно на 40,0; 54,5 и 54,0% ($p < 0,001$), а при изолированной стимуляции P2X₁-рецептора — на 51,0; 54,5 и 66,2% ($p < 0,001$). При одновременной стимуляции P2X₁-рецептора и ТР-рецептора значения амплитуды, Slope и AUC превышали таковые при изолированной стимуляции P2X₁-рецепторов

Характеристика параметров агрегации тромбоцитов при разной активности циклооксигеназы у пациентов с нефролитиазом при введении неселективных нестероидных противовоспалительных препаратов

Агонисты ЕС ₁₀	Показатели агрегатограммы		
	амплитуда агрегации, %	Slope, %/мин	AUC (U)
1-я группа			
АДФ	11,0 $\pm$ 0,5 (9,9–12,1)	13,2 $\pm$ 0,8 (11,4–15,0)	17,6 $\pm$ 1,1 (15,2–20,0)
АК	10,4 $\pm$ 0,4 (9,4–11,4)	13,5 $\pm$ 0,8 (11,7–15,3)	17,1 $\pm$ 1,1 (14,7–19,5)
АТФ	10,2 $\pm$ 0,4 (9,3–11,1)	13,2 $\pm$ 0,7 (11,7–14,7)	16,3 $\pm$ 0,8 (14,5–18,1)
АДФ + АТФ	15,4 $\pm$ 0,6 (14,0–16,7)	20,4 $\pm$ 0,8 (18,6–22,1)	27,1 $\pm$ 1,2 (24,5–29,6)
АТФ + АК	12,8 $\pm$ 0,6* (11,3–14,3) $P = 0,011$	17,5 $\pm$ 0,7* (15,1–18,9) $P = 0,011$	21,9 $\pm$ 0,8** (20,2–23,5) $P = 0,001$
АДФ + АК	10,9 $\pm$ 0,4* (9,9–11,8)	15,2 $\pm$ 0,5** (14,1–16,3)	18,6 $\pm$ 0,8** (16,9–20,2)
2-я группа			
АДФ	11,9 $\pm$ 0,5 (10,7–13,1)	16,1 $\pm$ 0,9 (14,3–18,1) $P = 0,023$	24,2 $\pm$ 0,9 (22,1–26,3) $P = 0,011$
АК	10,8 $\pm$ 0,4 (9,8–11,7)	15,8 $\pm$ 1,0 (13,6–18,0) $P = 0,005$	20,8 $\pm$ 1,0 (18,4–23,1) $P = 0,023$
АТФ	10,1 $\pm$ 0,4 (9,2–11,0)	12,7 $\pm$ 0,9* (10,7–14,7)	13,6 $\pm$ 0,6*** (12,2–15,0) $P = 0,016$
АДФ + АК	17,5 $\pm$ 0,5 (16,5–18,5) $P < 0,001$	22,4 $\pm$ 0,6 (21,2–23,6) $P < 0,001$	34,6 $\pm$ 0,7 (33,0–36,1) $P < 0,001$

Агонисты EC ₁₀	Показатели агрегатограммы		
	амплитуда агрегации, %	Slope, %/мин	AUC (U)
АТФ + АК	14,3±0,3*** (13,9–15,1)	17,9±0,5* (16,8–19,1)	25,2±0,7*** (23,8–26,7) P=0,003
АДФ + АТФ	14,4±0,5 (13,4–15,3)	16,5±0,5 (15,5–17,5) P<0,001	21,3±0,9 (19,5–23,1) P<0,001

Примечание. Данные представлены в виде среднего значения ($\bar{X}$) и стандартного отклонения ($\pm SD$), а также интерквартильного размаха ($Q_1 - Q_3$). * — различие значений показателя агрегатограммы при комбинации агонистов на уровне $p < 0,05$; ** — на уровне $p < 0,01$; *** — на уровне $p < 0,001$ по сравнению со значениями предыдущей комбинации агонистов. P — статистически значимые различия показателя во 2-й группе по сравнению со значениями в 1-й группе.

соответственно на 25,5% ($p=0,006$), 32,6% ($p=0,002$) и 34,3% ($p<0,004$); а при изолированной стимуляции TP-рецептора — на 23,1% ($p=0,007$), 29,6% ($p=0,005$) и 28,1% ($p=0,003$). Необходимо отметить, что значения амплитуды, Slope и AUC при одновременной стимуляции P2X₁-рецептора и TP-рецептора были меньше таковых при стимуляции P2Y-рецепторов и P2X₁-рецептора соответственно на 16,9% ($p=0,040$), 14,2% ($p=0,043$) и 19,2% ($p=0,035$). Показатели агрегации при одновременной стимуляции TP-рецептора и P2Y-рецепторов были сопоставимы с эффектом изолированной стимуляции TP-рецептора и P2Y-рецепторов ($p>0,05$). Значения амплитуды, Slope и AUC при одновременной стимуляции TP-рецептора и P2Y-рецепторов были меньше таковых при одновременной стимуляции P2Y-рецепторов и P2X₁-рецептора, соответственно, на 29,2; 25,5 и 31,4% ($p<0,001$), а также — на 14,9% ($p=0,041$), 13,4% ($p=0,039$) и 15,1% ($p=0,020$) меньше, чем при одновременной стимуляции P2X₁-рецептора и TP-рецептора.

Во 2-й группе через 5 сут ЛКТ при изолированной стимуляции Tц, судя по количеству Tц, участвующих в агрегации (значения AUC агрегатограмм), ранжирование активности рецепторов может быть представлено следующим образом: P2Y-рецепторов > TP-рецептора > P2X₁-рецептора. При стимуляции P2Y-рецепторов значения AUC были на 16,3% ($p=0,029$) больше, чем при стимуляции TP-рецептора, тогда как значения амплитуды и Slope агрегации совпадали. Минимальный эффект агрегации воспроизводился при стимуляции P2X₁-рецептора — значения Slope и AUC меньше таковых при изолированной стимуляции P2Y-рецепторов соответственно на 21,1 и 43,8% ($p=0,033$ и $p=0,010$) и TP-рецептора — на 19,6% ($p=0,038$) и 34,6% ($p=0,017$). По сравнению с 1-й группой значения Slope и AUC оказались больше: при стимуляции P2Y-рецепторов соответственно на 22,0% ($p=0,025$) и 37,5% ($p=0,016$) и TP-рецептора — на 17,0% ($p=0,024$) и 21,6% ($p=0,039$); при стимуляции P2X₁-рецептора значения AUC были меньше на 16,6% ($p=0,043$). При одновременной стимуляции P2Y-рецепторов и TP-рецептора значения амплитуды, Slope и AUC превышали таковые при изолированной стимуляции P2Y-рецепторов соответственно на 47,1; 39,1 и 43,0% ($p<0,001$), а при изолированной стимуляции TP-рецептора — на 62,0; 41,8 и 66,3% ($p<0,001$). Значения амплитуды, Slope и AUC при одновременной стимуляции P2X₁-рецептора и TP-рецептора были меньше таковых при стимуляции P2Y-рецепторов и TP-рецептора соответственно на 18,3% ($p=0,041$), 20,0% ($p=0,013$) и 27,2% ($p=0,029$). Минимальный эффект агрегации зарегистрирован при взаимодействии P2Y-рецепторов

и P2X₁-рецептора. Показатели агрегации при одновременной стимуляции этих рецепторов были сопоставимы с эффектом изолированной стимуляции P2Y-рецепторов ($p>0,05$), то есть сигнализация через Gi-, Gq-белки не усиливалась. Относительно параметров изолированной стимуляции P2X₁-рецептора значения амплитуды, Slope и AUC были выше соответственно на 42,6; 29,9 и 56,6% ($p<0,001$), что свидетельствует об усилении эффекта агрегации, связанного с открытием Ca²⁺-канала в случае одновременной активации P2X₁-рецептора и P2Y-рецепторов. По сравнению с 1-й группой при стимуляции TP-рецептора и P2Y-рецепторов значения амплитуды, Slope и AUC превышали таковые соответственно на 60,5% ($p=0,010$), 47,4% ($p=0,020$) и 86,0% ($p<0,001$); при стимуляции P2X₁-рецептора и TP-рецептора значения AUC выше на 15,1%, чем в 1-й группе ($p=0,030$); при стимуляции P2Y-рецепторов и P2X₁-рецептора Slope и AUC оказались меньше соответственно на 19,1 и 21,4% ($p<0,001$), чем в 1-й группе. Различия потенцирования рассмотренных комбинаций рецепторов обусловлены тем, что во 2-й группе при сохранении ЦОГ-зависимой сигнализации: (а) проявлялся синергизм TP-рецептора с P2Y-рецепторами и P2X₁-рецептором, благодаря чему достигались максимально значимые показатели агрегации; (б) не регистрировалось взаимодействие путей сигнализации пуриновых P2-рецепторов, вероятно, вследствие разнонаправленных изменений активности (сенситивность P2Y-рецепторов повышалась, а P2X₁-рецептора — снижалась).

Обсуждение. Сенситивность пациентов к неселективным НПВП является предметом дискуссий [4]. Несмотря на доказанный риск геморагии в случае ингибирования ЦОГ-1, причины разной выраженности гематурии у пациентов с НЛТ остаются не изученными. Отсутствие интереса урологов к проблеме регуляции функциональной активности Tц объясняется спонтанным прекращением гематурии в течение нескольких суток после отмены НПВП. Проведенное исследование позволило верифицировать выраженность гематурии, а также установлен факт восстановления активности ЦОГ при введении высоких доз неселективных НПВП. Ранее [5] обнаружили выраженное снижение активности ЦОГ-1 через 10 ч после введения низких доз аспирина и повышение через 24 ч, однако практическая значимость данного факта осталась открытой. Логично предположить то, что увеличение активности фермента ЦОГ при длительном введении НПВП сопровождается усилением агрегации и ограничением гематурии. Что касается пациентов с наличием гематурии при сохранении избыточной реактивности TP-рецептора у пациентов с резистентностью к НПВП, то следует признать

влияние ингибирования ЦОГ на эффективность функционирования путей сигнализации в Тц. Последняя определяется синергизмом рецепторов, обеспечивающих повышение уровня внутриклеточного Ca^{2+} в Тц. В связи с этим представляет интерес исследование crosstalk-сигнальных путей TR-рецептора, связанного с Gq- и $\text{Gq}_{12/13}$ -белками, P2X_1 -рецептора, являющегося ионотропным каналом и P2Y -рецепторов, ассоциированных с Gi — Gq-белком.

В 1-й группе при восстановлении активности ЦОГ на фоне введения НПВП воспроизводились компенсаторные реакции Тц с участием TR-рецептора и пуриновых P2 -рецепторов, которые проявлялись увеличением скорости внутриклеточной сигнализации (Slope) и количества Тц, участвующих в агрегации (AUC). Выявлен синергизм TR-рецептора с P2X_1 -рецептором и пуриновых P2X_1 - и P2Y -рецепторов. Поскольку эффект синергизма проявлялся при одновременной стимуляции TR-рецептора и P2X_1 -рецептора и отсутствовал при стимуляции TR-рецептора и P2Y -рецепторов, логично предположить ключевую роль P2X_1 -рецептора (АТФ-зависимого ионного канала) в повышении содержания Ca^{2+} . Взаимодействие пуриновых P2X_1 - и P2Y -рецепторов проявлялось наиболее выраженным эффектом усиления агрегации, следовательно, оптимальная сигнализация в Тц достигалась при одновременном функционировании АТФ-зависимого канала, P2Y_1 — P2Y_{12} -рецепторов. Доказано, что P2X_1 -рецептор усиливает повышение уровня внутриклеточного Ca^{2+} в Тц, вызванное P2Y_1 -рецептором [6]. Вероятно, P2X_1 -зависимая амплификация сигнализации, связанная с Gq-белком, происходит в результате потенцирования инозитол-1,4,5-трифосфатных рецепторов и/или фосфолипазы C. Усиление влияния внеклеточного АТФ на агрегацию Тц при введении НПВП может отражать пластичность пуринергической сигнализации, обеспечивающей оптимизацию путей сигнализации, в зависимости от остаточной активности ЦОГ. Сохранение гематурии на фоне достигнутой оптимизации путей сигнализации свидетельствует о том, что (а) изменение синтеза TxA_2 может искажать ответ на другие агонисты; (б) сигнализация, связанная с функционированием TR-рецептора, P2X_1 -рецептор, P2Y_1 - и P2Y_{12} -рецепторов, не обеспечивает восстановление проагрегантного статуса Тц. Исследование синергизма других рецепторов Тц, участвующих в агрегации (в частности, GPVI -рецептора к коллагену), позволит разработать новые пути поддержания гемостаза у больных при ингибировании ЦОГ.

Во 2-й группе регуляция реактивности Тц при резистентности ЦОГ к НПВП (сохранении нормореактивности TR-рецептора) характеризуется более высокими параметрами агрегации Тц, вызванными стимуляцией P2Y -рецепторов, TR-рецептора и меньшими значениями при стимуляции P2X_1 -рецептора по сравнению с таковыми в 1-й группе, когда воспроизводилось ингибирование ЦОГ (достигалась гипореактивность TR-рецептора). Синергизм TR-рецептора с пуриновыми P2Y -рецепторами воспроизводил усиление агрегации Тц, тогда как одновременная стимуляция TR-рецептора и P2X_1 -рецептора значимо не изменяла характеристики агрегации. Следовательно, (а) отсутствие значимого эффекта при одновременной стимуляции P2X_1 - и P2Y -рецепторов позволяет заключить то, что открытие АТФ-зависимого ионного канала и сигнализация, связанная с Gi-, Gq-белками не обеспечивает критического повышения

уровня внутриклеточного Ca^{2+} в Тц, позволяющего увеличить агрегацию Тц. Вероятно, при чрезмерной стимуляции рецепторов (гиперреактивности рецепторов) достигнутый уровень сигнализации не претерпевает последующих изменений; (б) усиление агрегации достигается посредством сигнализации, связанной с $\text{Gq}_{12/13}$ -белком, Gi-, Gq-белками. Таким образом, взаимодействие путей сигнализации, связанных с Gi-белком (P2Y -рецептор) и $\text{Gq}_{12/13}$ -белком (TR-рецептор), играет ключевую роль в повышении агрегации Тц при резистентности ЦОГ к неселективному НПВП. Ранее [7] установили, что аналог TxA_2 (U46619) вызывает фосфорилирование тирозина различных белков, включая FAK (focal adhesion kinase), Src и Syk-киназы, независимо от сигналов, исходящих от интегрина $\alpha\text{IIb}\beta_3$ или P2Y -рецепторов. Синергизм TR-рецептора и тримерных рецепторов, связанных с G-белком, реализуется посредством активации ERK2 (extracellular signal-regulated kinase) [8], а также Rho-киназы независимо от MAP-киназы p38 (p38 mitogen-activated protein kinase) [9]. Доказано, что сигнализация через $\text{Gq}_{12/13}$ -белок необходима для активации фермента ERK2, модулирующего усиление агрегации Тц [10].

Заключение. На фоне введения НПВП агрегация Тц может обеспечиваться одновременно несколькими путями сигнализации, связанными с открытием АТФ-зависимого Ca^{2+} -канала (P2X_1 -рецептор), G- и Gq-белками (P2Y -рецепторы) и Gq-, $\text{Gq}_{12/13}$ -белками (TR-рецептор к TxA_2). В 1-й группе (эффективное ингибирование ЦОГ) через 72 ч ЛКТ активность TR-рецептора, пуриновых P2X_1 -рецептора и P2Y -рецепторов Тц снижалась и достигала уровня гипореактивности; на фоне введения НПВП восстановление активности TR-рецептора до уровня нормореактивности наблюдалось через 5 сут; активность P2X_1 - и P2Y -рецепторов оставалась в диапазоне гипореактивности. Ключевую роль в усилении агрегации Тц играет P2X_1 -рецептор, при стимуляции которого возрастает эффективность функционирования путей сигнализации, связанных как с P2Y -рецепторами, так и TR-рецептором. Взаимодействие пуриновых P2X_1 - и P2Y -рецепторов оказывало более выраженный индуцирующий эффект на параметры агрегации, чем одновременная стимуляция TR-рецептора и P2X_1 -рецептора. Во 2-й группе при резистентности ЦОГ на фоне введения НПВП сохранялась гиперреактивность TR-рецептора и P2 -рецепторов. Регуляция агрегации Тц на 5-е сутки при резистентности ЦОГ к НПВП (сохранении гиперреактивности TR-рецептора) характеризуется более высокими параметрами агрегатограммы при стимуляции P2Y -рецепторов, TR-рецептора и меньшими значениями при стимуляции P2X_1 -рецептора по сравнению с таковыми в 1-й группе, когда воспроизводилось ингибирование ЦОГ (гипореактивность TR-рецептора). Увеличение скорости внутриклеточной сигнализации (Slope) и количества Тц, участвующих в агрегации (AUC), воспроизводились при синергизме TR-рецептора с P2Y -рецепторами и P2X_1 -рецептором. Оптимальная модуляция компенсаторной реакции Тц в ответ на гематурию обеспечивалась посредством синергизма TR-рецептора и P2Y -рецепторов. Приведенные данные подтверждают возможность усиления агрегации Тц посредством стереотипных механизмов сигнализации, связанных со стимуляцией P2Y -рецепторов (через Gi- и Gq-белки) и TR-рецептора (через Gq- и $\text{Gq}_{12/13}$ -белки) в случае интактного синтеза TxA_2 в Тц. Сложность взаимодействий

между путями сигнализации TP-рецептора и пуриновых P2-рецепторов, определяющая агрегационную активность тромбоцитов в условиях блокады ЦОГ-1 и ЦОГ-2, позволяет установить перспективные направления фармакологической коррекции, направленной на профилактику гематурии при НЛТ.

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

References (Список источников)

1. Yassin AS, Abubakar H, Mishra T, et al. Aspirin resistance: Cardiovascular risk game changer. *Am J Ther.* 2019; 26 (5): 593–9. DOI: 10.1097/MJT.0000000000000780
2. Zhang T, Huang X, Gao X, et al. Effect of pathological high shear exposure time on platelet activation and aggregation. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2023; 84 (2): 125–39. DOI: 10.3233/CH-221567x
3. Harrison P, Mackie I, Mumford A, et al.; British Committee for Standards in Hematology. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. *Br J Haematol.* 2011; 155 (1): 30–44. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2011.08793.x
4. Cortellini G, Raiteri A, Galli M, et al. Acetylsalicylic acid challenge or desensitization in sensitive patients with

cardiovascular disease. *J Thromb Thrombolysis.* 2023; 55 (4): 762–9. DOI: 10.1007/s11239-023-02782-1

5. Liani R, Simeone PG, Tripaldi R, et al. Kinetics of circulating extracellular vesicles over the 24-hour dosing interval after low-dose aspirin administration in patients at cardiovascular risk. *Clin Pharmacol Ther.* 2023; 113 (5): 1096–106. DOI: 10.1002/cpt.2865
6. Gachet C, Hechler B. Platelet purinergic receptors in thrombosis and inflammation. *Hamostaseologie.* 2020; 40 (2): 145–52. DOI: 10.1055/a-1113-0711
7. Inamdar VV, Reddy H, Dangelmaier C, et al. The protein tyrosine phosphatase PTPN7 is a negative regulator of ERK activation and thromboxane generation in platelets. *J Biol Chem.* 2019; 294 (33): 12547–54. DOI: 10.1074/jbc.RA119.007735
8. Roger S, Pawlowski M, Habib A. Costimulation of the Gi-coupled ADP receptor and the Gq-coupled TXA2 receptor is required for ERK2 activation in collagen-induced platelet aggregation. *FEBS Lett.* 2004; 556 (1-3): 227–35. DOI: 10.1016/s0014-5793 (03) 01430-1433
9. Iida Y, Doi T, Tokuda H, et al. Rho-kinase regulates human platelet activation induced by thromboxane A2 independently of p38 MAP kinase. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2015; (94): 73–81. DOI: 10.1016/j.plefa.2014.11.006
10. Lei W, Huang Y, Zhang Y, et al. The frog trefoil factor Bm-TFF2 activates human platelets via Gq and G12/13 signaling pathway. *Toxicon.* 2012; 59 (1): 104–9. DOI: 10.1016/j.toxicon.2011.10.018

Статья поступила в редакцию 10.09.2023; одобрена после рецензирования 03.10.2023; принята к публикации 29.02.2024. The article was submitted 10.09.2023; approved after reviewing 03.10.2023; accepted for publication 29.02.2024.

Информация об авторах:

Эдуард Федорович Баринов — заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии, профессор, доктор медицинских наук, barinov.ef@gmail.com, ORCID 0000-0002-8070-2242; **Дина Игоревна Гиллер** — ассистент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, dina7670@mail.ru, ORCID 0000-0002-0279-1294; **Сабина Акбер кызы Ахундова** — ассистент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, barkova.sabina@bk.ru, ORCID 0009-0001-8400-6500; **Алина Сергеевна Юрьева** — ассистент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Alina777Y@yandex.ru, ORCID 0009-0008-3926-4042; **Богдан Петрович Терещук** — доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, доцент, кандидат медицинских наук, disthist@mail.ru, ORCID 0009-0009-6226-5745.

Information about the authors:

Edward F. Barinov — Head of the Department the Histology, Cytology and Embryology, Professor, DSc, barinov.ef@gmail.com, ORCID 0000-0002-8070-2242; **Dina I. Giller** — Instructor of the Department the Histology, Cytology and Embryology, dina7670@mail.ru, ORCID 0000-0002-0279-1294; **Sabina A. Akhundova** — Instructor of the Department the Histology, Cytology and Embryology, barkova.sabina@bk.ru, ORCID 0009-0001-8400-6500; **Yureva S. Alina** — Instructor of the Department the Histology, Cytology and Embryology, Alina777Y@yandex.ru, ORCID 0009-0008-3926-4042; **Bogdan P. Tereshchuk** — Assistant Professor of the Department the Histology, Cytology and Embryology, Associate Professor, PhD, disthist@mail.ru, ORCID 0009-0009-6226-5745.