

УДК 616.61 — 002.3 -007.271 -036.12 — 036.87

## МЕХАНІЗМИ ІНІЦІАЦІЇ РЕЦИДИВУ ХРОНІЧНОГО ОБСТРУКТИВНОГО ПІЄЛОНЕФРИТУ

**Барінов Е.Ф., Кравченко А.Н., Твердохліб Т.А., Баликіна А.О.**

*Донецький національний медичний університет (ДонНМУ);*

*barinoff@dsmu.edu.ua*

**Мета досліджень:** встановити моделюючу роль адреналіну при активації тромбоцитів в фазі рецидиву хронічного обструктивного пієлонефриту (ХОПН). В досліджах використовували периферичну венозну кров 18 пацієнтів при надходженні до стаціонару. Дослідження агрегації тромбоцитів (АТц) проводили на агрегометрі фірми Chrono — Log (США). Для оцінки функціонального статусу тромбоцитів використовували субпорогові концентрації агоністів (ФАТ, АДФ, адреналін). В фазу рецидиву ХОПН (8 пацієнтів) стимулюючий вплив адреналіну на тромбоцити був декілька вищим, ніж в фазу ремісії, але нижчим, ніж в контролі ( $p > 0,05$ ). АДФ відтворив ефект менший, ніж в контролі і в фазі ремісії ( $p < 0,05$ ). Не виявлено значимих відмінностей впливу адреналіну на АДФ-індуковану агрегацію тромбоцитів на відміну від фази ремісії ( $p > 0,05$ ). ФАТ відтворював АТц більше, ніж в контролі і в фазу ремісії захворювання ( $p < 0,01$ ). Синергізм дії адреналіну і ФАТ був максимально вираженим і перевищував такий в контролі в 3,5 рази і в фазу ремісії в 2,5 рази ( $p < 0,001$ ). Таким чином, при рецидиві ХОПН адреналін потенціює ефект ФАТ. Має місце зниження як ефекту АДФ на тромбоцити, так і потенційної дії адреналіну на АДФ-індуковану АТц, що дозволяє припустити обмеження активуючого впливу тромбоцитів на лейкоцити.

**Ключові слова:** *агрегація тромбоцитів, патогенез, хронічний обструктивний пієлонефрит.*

130

Традиційно тромбоцити розглядають як елемент первинної (судинно — тромбоцитарної) ланки гемостазу [1]. Однак, в останні роки акцент досліджень перенесений на з'ясування участі тромбоцитів у розвитку запалення [2,3], оскільки індукція запалення забезпечується взаємодією ендотелію судин, тромбоцитів і лейкоцитів [4]. Одним з механізмів такої взаємодії вважається секреція активованими тромбоцитами медіаторів (АДФ, ТхА2, серотоніну та ін.), які можуть змінювати (посилювати чи послаблювати) функцію лейкоцитів [5]. У цьому контексті залишаються не з'ясованими механізми стимуляції самих тромбоцитів при запаленні, насамперед роль у цьому процесі нейтрофілів, які продукують потужний медіатор запалення — ФАТ (фактор активації тромбоцитів). Залишається маловивченою роль гуморальних регуляторів, зокрема адреналіну, в модуляції функціональної активності тромбоцитів,

хоча адреналін розглядається як коактиватор агоністів, стимулюючих тромбоцити, в тому числі і ФАТ [6]. Встановлено, що б — і в — адренорецептори регулюють функцію нейтрофілів, секрецію ними ФАТ і цитокінів [7].

Дослідження ролі адреналіну в стимуляції тромбоцитів при хронічному обструктивному пієлонефриті (ХОПН) набуває особливого значення враховуючи особливості патогенезу, для якого характерно латентний перебіг хронічного запалення (фаза ремісії) на фоні активації симпатoadреналової системи (САС). Останнє обумовлено наявністю конкременту в місці або/і сечоводі, що періодично провокує обструкцію сечовивідних шляхів. Причини виникнення гострого запалення залишаються маловивченими. Можна припустити, що зростання рівня циркулюючих катехоламінів в крові і підвищення продукції ФАТ і АДФ в процесі нейтрофіл — тромбоцитарних взає-

мін змінюють функціональний стан тромбоцитів.

Мета дослідження: встановити модулюючу роль адреналіну при активації тромбоцитів у фазах ремісії і рецидиву хронічного обструктивного пієлонефриту.

### Матеріали і методи

У дослідженні використовували периферичну венозну кров 18 пацієнтів на момент надходження для стаціонарного лікування. Діагноз ХОПН був виставлений на основі скарг, анамнестичних даних, об'єктивного огляду, лабораторних та додаткових досліджень. У фазі ремісії у 10 пацієнтів (1-а група) були відсутні клінічні синдроми хронічного пієлонефриту, однак, могла зберігатися лейкоцитурія і діагностично не значима бактеріурія; в загальному аналізі крові були відсутні зміни, що характеризують гостре запалення. Діагноз фази рецидиву ХОПН (2-а група, 8 пацієнтів) був заснований на присутності, щонайменше, одного з трьох основних симптомів (лихоманка, біль в реберно — хребетному куті, інфекція сечових шляхів, ІСШ). Критеріями запалення були лейкоцитоз і рівень С-реактивного білка (СРБ). Лейкоцитурія або бактеріурія були допоміжними критеріями, що підтверджують наявність ІСШ. Аналіз крові виконувався на гемоаналізаторі АВХ Pentra XL 80 — HORIBA (Франція). Дослідження агрегації тромбоцитів (АТц) проводили на агрегометрі фірми Chrono — Log (США) Для оцінки функціонального статусу тромбоцитів використовували субпорогові концентрації агоністів, що викликають у контрольній групі агрегацію тромбоцитів не вище 10 %. Для ФАТ ЕС<sub>10</sub> склала 30 мкМ, АДФ — 0,5 мкМ і адреналіну — 0,1 мкМ. Модулюючий вплив адреналіну в активації тромбоцитів досліджували при їх спільній інкубації з адреналіном і кожним з агоністів (АДФ, ФАТ). Контрольна група представлена 5 донорами. Статистичну обробку здійснювали за допомогою пакета Med Stat.

### Результати та обговорення

У контрольній групі субпорогова концентрація адреналіну індукувала АТц на рівні  $8,7 \pm 1,0$  %. При спільній інкубації адреналін посилював ефект АДФ на 30,2 % ( $p < 0,05$ ) і не впливав на стимулюючий вплив ФАТ. У фазу ремісії ХОПН аналогічна концентрація адреналіну — 0,1 мкМ відтворювала АТц на 39,1 % менше ( $p < 0,05$ ), ніж у контролі (табл.). У разі попередньої блокади б2- адренорецепторів тромбоцитів йохімбіном (IC<sub>50</sub> 10 мкМ), ефект адреналіну скасовувався, що підтверджує участь б2- адренорецепторів у реєстрованому ефекті. Сам по собі факт зниження реакції тромбоцитів на адреналін — знаменний, оскільки підтверджує вплив конкременту на активність САС і підвищення рівня катехоламінів в циркулюючій крові, наслідком чого може бути десенситизація рецепторів тромбоцитів [8]. Не можна виключити, що в фазу ремісії ХОПН відбувається пошкодження у сигнальній системі Gi — цАМФ. Субпорогова концентрація АДФ відтворювала ефект на 77,3 % ( $p < 0,01$ ) більше, ніж адреналін. Для порівняння в контролі ефект АДФ перевищував такий адреналіну на 21,8 % ( $p = 0,08$ ), тобто при ремісії має місце домінування ролі АДФ в активації тромбоцитів. При інкубації тромбоцитів одночасно з адреналіном і АДФ у субпорогових концентраціях, ефект зростав і перевищував значення АТц- індукованої АДФ на 54,2 % ( $p < 0,01$ ). ФАТ -індукована АТц була вище, ніж у контролі на 40,3 % ( $p < 0,05$ ), що відображає прозапальну активацію тромбоцитів з боку нейтрофілів. Ефект ФАТ був порівнянний з таким АДФ, при цьому субпорогова концентрація адреналіну не впливала на АТц — індуковану ФАТ. Інкубація тромбоцитів спільно з адреналіном і АДФ відтворювала АТц на 36,8 % більше ( $p < 0,05$ ), ніж комбінація адреналіну і ФАТ.

Таким чином, якщо адреналін не посилює ефект ФАТ, а по суті не змінює вплив нейтрофілів на тромбоцити, але потенціює ефект АДФ на тромбоцити, то

**Агрегація тромбоцитів *in vitro* при інкубації з агоністами в субпороговій концентрації у пацієнтів з ХОПН**

Групи	Агоністи				
	Адреналін (0,1 мкМ)	АДФ (0,5 мкМ)	ФАТ (30 мкМ)	Адреналін (0,1 мкМ) + АДФ (0,5 мкМ)	Адреналін (0,1 мкМ) + ФАТ (30 мкМ)
1-а	5,3 ± 0,5**	9,4 ± 0,7	10,1 ± 0,8*	14,5 ± 1,3	10,6 ± 1,0
2-а	6,8 ± 0,9	7,3 ± 0,5*•	14,3 ± 1,0***••	18,5 ± 2,2	26,9 ± 1,6***•••
Контроль	8,7 ± 1,0	10,6 ± 1,1	7,2 ± 0,6	13,8 ± 0,9	7,7 ± 0,7

Примітки : \* — вірогідність розбіжностей від контролю  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$ ; \*\*\* —  $p < 0,001$ . • — вірогідність розбіжностей від 1 — ї групи  $p < 0,05$ , •• —  $p < 0,01$ , ••• —  $p < 0,001$

можна припустити, що в фазу ремісії адреналін може модулювати функцію лейкоцитів опосередковано через активацію тромбоцитів і формування тромбоцит-лейкоцитарних агрегатів. Розуміння сигналів, які впливають на лейкоцити з боку активованих тромбоцитів дозволить наблизитися до розуміння механізмів підтримання хронічного запалення і, в той же час, лімітування розвитку гострої запальної реакції.

У фазу рецидиву ХОПН стимулюючий вплив адреналіну на тромбоцити був трохи вище, ніж у фазу ремісії на 28,3 % ( $p > 0,05$ ), але нижче, ніж у контролі на 21,9 % ( $p > 0,05$ ). Більш демонстративною була динаміка АТц — індукованої АДФ, оскільки даний агоніст відтворював ефект на 31,1 % і 22,4 % менше, ніж відповідно у контролі та у фазі ремісії ( $p < 0,05$ ). При цьому ізольовані ефекти адреналіну і АДФ на тромбоцити були порівнянними ( $p > 0,1$ ). Чи означає це, що в фазу гострого запалення нівелюється роль АДФ в індукції тромбоцитів і нейтрофілів?

При спільній дії адреналіну і АДФ на тромбоцити — реєстрований ефект перевищував дію одного АДФ в 2,5 рази ( $p < 0,001$ ); для порівняння в фазу ремісії цей ефект, як уже зазначалося, становив 54,2 % ( $p < 0,01$ ). Тим не менш, в фазу рецидиву ХОПН не виявляється значущих відмінностей впливу адреналіну на АДФ-індуковану агрегацію тромбоцитів порівняно з фазою ремісії ( $p > 0,05$ ). Можна припустити, що при переході хронічного запалення в гостру фазу запалення знижується роль тромбоцитів у регуляції

лейкоцитів. Однак, при цьому чітко проявлявся стимулюючий ефект ФАТ на тромбоцити. Так, в фазу рецидиву захворювання ФАТ відтворював АТц більше, ніж у контролі приблизно в 2 рази і на 41,6 %

вище, ніж у фазу ремісії захворювання ( $p < 0,01$ ). Синергізм дії адреналіну і ФАТ був максимально вираженим і перевищував такий в контролі в 3,5 рази і в фазу ремісії в 2,5 рази ( $p < 0,001$ ).

Таким чином в фазу рецидиву ХОПН, адреналін потенціює ефект ФАТ, по суті, посилюється стимулюючий вплив нейтрофілів на тромбоцити, який, ймовірно, спрямований на посилення рекрутування лейкоцитів з крові в тканини. При цьому ми стикаємося зі зниженням як ефекту АДФ на тромбоцити, так і потенціювання дії адреналіну на АДФ, що дозволяє припустити обмеження активуючого впливу тромбоцитів на лейкоцити. Вірогідно, при рецидиві ХОПН можливе включення петлі негативного зворотного контролю, яка дозволяє при підвищенні рівня адреналіну одним сигналам посилюватися, а інші лімітувати, що й зумовлює ефективність взаємодії тромбоцитів і лейкоцитів у процесі розвитку гострого запалення.

**Література**

1. Michelson A. D. Platelets / A. D. Michelson. – San Diego, CA: Academic Press., 2006. – 520 p.
2. Platelet polyphosphates are proinflammatory and procoagulant mediators *in vivo* / Müller F., Mutch N. J., Schenk W. A., [et al.] // Cell. – 2009– Vol. 139(6). – P.1143 – 1156.
3. Role of platelets in neuroinflammation: a wide-angle perspective / Horstman L. L., Jy W., Ahn Y. S. [et al.] // Neuroinflammation. – 2010. – Vol. 3 (7). – P. 10.
4. Kaplan Z. S. The role of platelets in atherothrombosis / Kaplan Z. S., Jackson S. P. // Hematology – 2011. – P. 51– 61.

5. Michelson A.D. Platelets and leukocytes: aggregate knowledge / Michelson A. D., Newburger P. E. // Blood – 2007. – Vol. 110(3). – P. 794 –795
6. D'Elia J. A. The autonomic nervous system and renal physiology / D'Elia J. A., Weinrauch L. A. // International Journal of Nephrology and Renovascular Disease. – 2013. – Vol. 6. – P. 149 – 160.
7. Zarbock A. Platelet-neutrophil-interactions: Linking hemostasis and inyamnation / Zarbock A., Polanowska-Grabowska R. K., Ley K. // Blood Reviews. – 2007. – Vol. 21. – P. 99–111.
8. Benarroch E. E. Autonomic-mediated immunomodulation and potential clinical relevance // Neurology. – 2009. – Vol. 73 (3). – P. 236 – 242.

#### References

1. Michelson A. D. Platelets / A. D. Michelson. – San Diego, CA: Academic Press., 2006. – 520 p.
2. Platelet polyphosphates are proinflammatory and procoagulant mediators *in vivo* / M?ller F., Mutch N. J., Schenk W. A., [et al.] // Cell. – 2009– Vol. 139(6). – P.1143 – 1156.
3. Role of platelets in neuroinflammation:a wide-angle perspective / Horstman L. L., Jy W., Ahn Y. S. [et al.] // Neuroinflammation. – 2010. – Vol. 3 (7). – P. 10.
4. Kaplan Z. S. The role of platelets inatherothrombosis / Kaplan Z. S., Jackson S. P. // Hematology – 2011. – P. 51– 61.
5. Michelson A.D. Platelets and leukocytes: aggregate knowledge / Michelson A. D., Newburger P. E. // Blood – 2007. – Vol. 110(3). – P. 794 –795
6. D'Elia J. A. The autonomic nervous system and renal physiology / D'Elia J. A., Weinrauch L. A. // International Journal of Nephrology and Renovascular Disease. – 2013. – Vol. 6. – P. 149 – 160.
7. Zarbock A. Platelet-neutrophil-interactions: Linking hemostasis and inyamnation / Zarbock A., Polanowska-Grabowska R. K., Ley K. // Blood Reviews. – 2007. – Vol. 21. – P. 99–111.
8. Benarroch E. E. Autonomic-mediated immunomodulation and potential clinical relevance // Neurology. – 2009. – Vol. 73 (3). – P. 236 – 242.

#### Резюме

#### МЕХАНИЗМЫ ИНИЦИАЦИИ РЕЦИДИВА ХРОНИЧЕСКОГО ОБСТРУКТИВНОГО ПИЕЛОНЕФРИТА

*Баринов Э.Ф., Кравченко А.Н.,  
Твердохлеб Т.А., Балыкина А.О.*

*Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького*

Цель исследования: установить модулирующую роль Адреналина при активации тромбоцитов в фазе рецидива хронического обструктивного пиелонефрита (ХОПН). В исследовании использовали периферическую венозную кровь 18 пациентов при поступлении в стационар. Исследование агрегации тромбоцитов (АТц) проводили на агрегометре Chrono-Log (США). Для оценки функционального статуса тромбоцитов использовали субпороговые концентрации агонистов (ФАТ, АДФ, Адреналин). В фазу рецидива ХОПН (8 пациентов) стимулирующее влияние Адреналина на тромбоциты было несколько выше, чем в фазу ремиссии, но ниже, чем в контроле ( $p > 0,05$ ). АДФ воспроизводил эффект меньше, чем в контроле и в фазе ремиссии ( $p < 0,05$ ). Не обнаружено значимых различий воздействия Адреналина на АДФ-индуцируемую агрегацию тромбоцитов по сравнению с фазой ремиссии ( $p > 0,05$ ). ФАТ воспроизводил АТц больше, чем в контроле и в фазу ремиссии заболевания ( $p < 0,01$ ). Синергизм действия Адреналина и ФАТ был максимально выраженным и превышал таковой в контроле в 3,5 раза и в фазу ремиссии в 2,5 раза ( $p < 0,001$ ). Таким образом, при рецидиве ХОПН Адреналин потенцирует эффект ФАТ. Имеет место снижение как эффекта АДФ на тромбоциты, так и потенцирующего действия Адреналина на АДФ-индуцируемую АТц, что позволяет предположить ограничение активирующего воздействия тромбоцитов на лейкоциты.

**Ключевые слова:** агрегация тромбоцитов, патогенез, хронический обструктивный пиелонефрит.

**Summary**

**MECHANISMS OF RELAPSE INITIATION  
IN COURSE OF CHRONIC OBSTRUCTIVE  
PYELONEPHRITIS**

*Barinov E.F., Kravchenko A.N.,  
Tverdokhleba T.A., Balykina A.O.*

*M. Gorky Donetsk National Medical  
University*

Aim of research: evaluate modulating affect of adrenaline on platelets' activation during remission and relapse of chronic obstructive pyelonephritis (COP). Blood of 18 patients at the time of admission to hospital was used for investigation. Platelets' aggregation was performed at aggregometer Chrono-Log (USA) using subthreshold concentration of PAF, ADP, adrenaline, whose stimulation in control group did not exceed 10 % aggregation. During relapse of COP (8 patients), stimulating effect of adrenaline on platelets was somewhat higher than during remission, but still lower than in control ( $p < 0.05$ ). ADP induced an effect lower than

during remission and in control group. Simultaneous action of ADP and adrenaline exceeded action of ADP alone ( $p < 0.001$ ). Nevertheless, during relapse of COP no significant differences in adrenaline action on ADP-stimulated platelets as compared to remission phase was observed ( $p < 0.01$ ). PAF induced platelets' aggregation higher than in control and during remission ( $p < 0.01$ ). Synergism of action of adrenaline and PAF was most marked and exceeded that of control and remission phase group ( $p < 0.001$ ). Thus, during COP relapse, adrenaline potentiates PAF affect, while action of ADP on platelets decreases, as well as potentiating effect of adrenaline, which implies restriction of stimulatory effect of platelets on leukocytes.

**Key words:** *platelet aggregation, pathogenesis, chronic obstructive pyelonephritis, inflammation.*

*Впервые поступила в редакцию 24.04.2014 г.  
Рекомендована к печати на заседании  
редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 616-006.446.1-053.2-037

**АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИИ БЛАСТНЫХ КЛЕТОК С ЛЕЙКОЗ-  
АССОЦИИРОВАННЫМ ИММУНОФЕНОТИПОМ У ПАЦИЕНТОВ С  
ОСТРЫМ В-ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ**

*Вильчевская Е.В., Михайличенко В.Ю., Конашенкова В.В., Букалова  
Т.Н., Тетюра С.А., Бахчиванжи И.А.*

*ГУ «Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К.Гусака  
НАМН Украины», г. Донецк; e-mail:pancreas1978@mail.ru*

Мониторинг минимальной резидуальной болезни (МРБ) основан на выявлении популяции клеток с лейкоз-ассоциированным иммунофенотипом (ЛАИФ), характерным для опухолевых клеток и никогда не встречающийся на нормальных. В данной работе проанализирована экспрессия применяемых для мониторинга МРБ антигенов CD10, CD58, CD34, CD38 на бластных клетках В-лимфобластного лейкоза детского возраста до начала и в ходе антилейкемического лечения. Установлено, что данные антигены не всегда гомогенно экспрессированы на лимфобластах: встречаются варианты с отсутствием какого-либо антигена, а также с гетерогенной экспрессией. Популяция В-лимфоидных опухолевых клеток в начале заболевания неоднородна, существуют субпопуляции с различными физическими и функциональными характеристиками. В ходе антилейкемического лечения происходит снижение показателей средней интенсивности флюоресценции лейкоз-ассоциированных антигенов.

**Ключевые слова:** *острый лейкоз, лейкоз-ассоциированный иммунофенотип, минимальная резидуальная болезнь, средняя интенсивность флюоресценции*