

Barinov Edward F, Kravchenko Artem N, Sulaieva Oksana N. Функциональное состояние тромбоцитов у пациентов с уролитиазом после литотрипсии = Functional state of platelets among patients with urolythiasis after lithotripsy. Journal of Health Sciences. 2014;04(01):151-160. ISSN 1429-9623 / 2300-665X.

The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1107. (17.12.2013).

© The Author (s) 2014;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Radom University in Radom, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

Conflict of interest: None declared. Received: 29.11.2013. Revised 21.12.2013. Accepted: 15.01.2014.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТРОМБОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С УРОЛИТИАЗОМ ПОСЛЕ ЛИТОТРИПСИИ

Эдуард Ф. Баринов, Артем Н. Кравченко, Оксана Н. Сулаева

**Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, Донецкий национальный
медицинский университет им. М. Горького, Украина**

Functional state of platelets among patients with urolythiasis after lithotripsy

Edward F Barinov, Artem N Kravchenko, Oksana N Sulaieva

**Department of histology, cytology and embryology, M. Gorky Donetsk national medical
university, Ukraine**

Corresponding author: Edward F Barinov

Phone: +380505710577

Corresponding author: Edward F Barinov

Phone: +380505710577

Email addresses:

EFB: barinoff@dsmu.edu.ua

ANK: kravch-art@mail.ru

ONS: oksanahistology@gmail.com

ABSTRACT

Introduction

The functional state of platelets in patients with urolithiasis was estimated to establish whether platelets reactivity is important in determination of hemorrhage development after lithotripsy.

Methods

Platelets aggregation, induced by collagen (1 μ M), ADP (5 μ M), epinephrine (5 μ M) and PAF (150 μ M), was measured by aggregometer 490-2D (Chrono-log, USA) at hospital admission and 1 day after lithotripsy in 67 patients with urolithiasis. Data analysis was performed using MedCalc version 12.3 statistical software.

Results

Patients with urolithiasis demonstrated low platelet aggregation, induced with collagen and PAF ($p < 0,001$), was related with inflammatory reaction of organism in negative manner: patients with leukocytosis demonstrated decrease reactivity of platelets ($10,3 \pm 9,6\%$) where as in patients without signs of inflammatory reaction this value was $30,9 \pm 3,8\%$ ($p < 0,05$). We did not find relation between platelet aggregation, induced by collagen, PAF and epinephrine with risk of hemorrhage after lithotripsy. However ADP-stimulated platelet aggregation was related with risk of haematuria ($p = 0,026$) after lithotripsy.

Conclusions

Urolithiasis is accompanied with reduction of platelet response to collagen and PAF. Additional decrease of ADP-induced aggregation is associated with risk of hemorrhage after lithotripsy.

Key words: urolithiasis, lithotripsy, hemorrhage, platelets.

Введение

По данным мировой статистики, мочекаменная болезнь (МКБ) занимает лидирующее место в структуре урологических заболеваний [5]. В различных странах мира МКБ регистрируют у 1,5-3% населения. Несмотря на значительные успехи в изучении патогенеза и разработке методов лечения МКБ в высоком проценте случаев уrolитиаз ведет к обструкции мочевых путей [3]. Данное состояние требует экстренного

восстановления оттока мочи, для чего наиболее часто используется литотрипсия [1, 9]. Общеизвестный в мире метод контактной литотрипсии позволяет эффективно и надежно разрушать конкременты разной локализации и химического состава, однако, в ряде случаев сопровождается развитием осложнений, связанных с травмирующим действием уретероскопа и волновой энергии литотриптера на слизистую оболочку мочевыводящих путей и паренхиму почки [11]. Наиболее частым симптомом повреждения органов мочевой системы при этом является микро- или макрогематурия [4, 10]. При этом выраженность и длительность гематурии варьирует у пациентов с уролитиазом, в зависимости от размера, локализации и плотности камня [3]. Феномен гематурии может быть связан как с повреждением слизистой оболочки мочевыводящих путей, так и с нарушением механизмов гемостаза. Поэтому возникает закономерный вопрос: в каком функциональном состоянии находятся тромбоциты пациентов с уролитиазом, и влияет ли исходный статус тромбоцитов на развитие гематурии у пациентов после литотрипсии.

Цель работы: установить, как исходное функциональное состояние тромбоцитов влияет на развития гематурии после проведения литотрипсии.

Методы

В исследование были вовлечены 67 пациентов с уролитиазом (табл. 1). Средний возраст пациентов составил $58 \pm 1,7$ лет. В данной выборке находилось 25 мужчин и 42 женщины, между которыми не выявлено статистически значимых возрастных различий ($55 \pm 2,2$ против $59 \pm 2,4$ лет, $p=0,246$). Критериями включения в исследование были: наличие конкремента, подтвержденное инструментальными методами исследования, и показаний к проведению литотрипсии. Критерии исключения: возраст старше 80 лет, наличие онкологической патологии, острые воспалительные заболевания другой локализации, простатит, осложнения после предыдущих процедур литотрипсии, коагулопатии, тромбоцитопатии, тромбоцитопения, аневризма аорты, менструация, кавернозный туберкулез почки, опухоль почки, нарушения сердечной деятельности – искусственный водитель ритма, мерцательная аритмия, легочно-сердечная недостаточность, нарушения экскреторной функции почки.

Всем больным проводили стандартное обследование: экскреторная урография, ультразвуковое исследование почек (УЗИ) и малого таза, лабораторные исследования

(клинический и биохимический анализы крови, общий анализ мочи). Кавитационную контактно-фрезную ультразвуковую литотрипсию производили с помощью аппарата Karl Storz - Calcuson 27610020. При дроблении конкрементов использовали визуальный контроль с использованием видеокамеры Karl Storz telekam SL pal 202120 20 (Германия); рентген контроль (мобильный рентген С-Арка Siemens Siremobil 2002, Германия), УЗИ контроль (My lab five, Италия). Все пациенты до и после литотрипсии получали анальгетики, антибактериальную и противовоспалительную терапию.

При анализе причинно-следственных связей в развитии исхода учитывали возраст и пол пациентов, локализацию и размер камня, данные клинического анализа крови и мочи – наличие признаков острого воспалительного ответа и воспаления мочевыводящих путей перед проведением литотрипсии [3]. В качестве конечной точки исследования использовали гематурию, верифицируемая по количеству эритроцитов в моче. На основании этого оценивали следующие исходы: благоприятный (отсутствие эритроцитов в моче или 1-2 эритроцита в моче, выявленные при микроскопии на 100 клеток в поле зрения); развитие микрогематурии (3 и более эритроцитов в моче в поле зрения); макрогематурия (видимая гематурия, подтвержденная наличием 1/2 поля зрения и более эритроцитов в моче) [10].

Тромбоциты выделяли путем центрифугирования из цитратной периферической крови, полученной за 24 ч до- и через 24 ч после литотрипсии. Для оценки функционального состояния тромбоцитов использовали следующие индукторы и концентрации: 1) коллаген - мощный стимулятор адгезии, стимулирующий секрецию и последующую агрегацию тромбоцитов (АТр); 2) АДФ (5 мкМ) – вторичный агонист, стимулирующий агрегацию; 3) адреналин (5 мкМ) – слабый агонист, стимулирующий агрегацию, и отражающий специфику реактивности организма при активации симпатoadреналовой системы; 4) фактор активации тромбоцитов (ФАТ, 150 мкМ), мощный стимулятор агрегации тромбоцитов, секретируемый в условиях *in vivo* преимущественно лейкоцитами [6]. Таким образом, анализ функционального статуса тромбоцитов у пациентов с уролитиазом предполагал оценку их ответа на стимуляторы адгезии, агрегации, адаптирующие регуляторные стимулы и провоспалительные агенты.

Для достижения цели исследования была проведена оценка ответа тромбоцитов по следующему алгоритму: 1) динамическая оценка до и после литотрипсии; 2) сравнительная оценка агрегации у пациентов с наличием признаков гематурии и при благоприятном исходе; 3) оценка роли вмешивающихся факторов в показатели агрегационной активности тромбоцитов; 4) исследование роли реактивности

тромбоцитов к разным агонистам в детерминации развития гематурии. Полученные результаты обрабатывали в пакете MedCalc [8].

Результаты и обсуждение

На первом этапе работы были проанализирована роль вмешивающихся факторов в детерминации развития такого осложнения литотрипсии, как гематурия (табл. 2).

Как видно из таблицы, пол и возраст не влияли на вероятность развития гематурии. Не оказывали влияние на развитие макро- и микрогематурии такие факторы как локализация конкремента в почке ($p=0,868$) и размер конкремента ($p=0,23$). Более значимым представляется фактор воспаления. Показатель, отражающий локальное воспаление (в мочевой системе) – лейкоцитурия, не отличался статистически значимо в группах с разным исходом. Несколько иной оказалась ситуация с системными признаками воспалительной реакции, к которым относятся лейкоцитоз, СОЭ и абсолютное количество полиморфноядерных лейкоцитов (нейтрофилов). Эти показатели имели тенденцию к различиям в группах с разными исходами после литотрипсии. Однако в силу широкой вариабельности показателей, различия между группами оказались статистически незначимыми. В рамках данной работы (в условиях ограниченной выборки) трудно ответить на вопрос, насколько значимо влияние выявленных факторов на риск развития осложнений после литотрипсии. Однако данные вмешивающиеся факторы были учтены при анализе функциональной активности тромбоцитов.

Так, у пациентов на момент госпитализации индуцированная агрегация тромбоцитов характеризовалась низким ответом на коллаген, что может быть результатом приема нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВС). Однако при этом общий ответ тромбоцитов на АДФ среди пациентов с уролитиазом был в рамках референтных значений, хотя и характеризовался широкой вариабельностью, вероятно отражая компенсаторную роль АДФ и пуриновых рецепторов в поддержании механизмов гемостаза в условиях ингибирования циклооксигеназы-1 и продукции тромбоксана A_2 участвующего в эффектах коллагена при назначении НПВС.

Интересно, что после литотрипсии показатели коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов значимо повышались, вероятно, являясь реакцией на повреждение тканей вследствие деструкции камня и слизистой оболочки мочевых путей ($p<0,05$). В отличие от этого, ответ тромбоцитов на адреналин, не претерпел значимых изменений до и после процедуры литотрипсии.

Неожиданным оказался низкий ответ тромбоцитов на столь мощный стимулятор агрегации, как ФАТ (табл. 3). Инкубация с ФАТ вызывала агрегацию $28 \pm 8,5\%$ у до и $17,4 \pm 3,3\%$ после литотрипсии ($p=0,28$). Зарегистрированная гипореактивность тромбоцитов к ФАТ может быть результатом предсуществующего хронического воспаления [7], польку у большинства пациентов выборки имел место хронический обструктивный пиелонефрит. Учитывая данный факт, в работе была проанализирована роль иммунологической реактивности в изменении чувствительности к ФАТ и коллагену.

С этой целью проведено сравнение показателей индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов с разными значениями количества лейкоцитов в периферической крови (в рамках референтных значений 4-9 Г/л и с лейкоцитозом выше 9 Г/л). Было выяснено, что развитие острой воспалительной реакции проявляющейся лейкоцитозом сопровождается существенным снижением ответа тромбоцитов на ФАТ ($30,9 \pm 3,8\%$ при нормальном уровне лейкоцитов до $10,3 \pm 9,6\%$ у пациентов с лейкоцитозом, $p < 0,05$). Данный феномен может быть результатом десенситизации рецепторов тромбоцитов к ФАТ вследствие активации острой воспалительной реакции, сопровождающейся генерацией и мощным освобождением ФАТ.

Аналогичная зависимость была выявлена и в отношении коллаген-индуцированной АТр: у пациентов с нормальным количеством лейкоцитов в периферической крови, коллаген вызывал агрегацию на уровне $32,6 \pm 6,4\%$, тогда как у больных с лейкоцитозом данный показатель составил $10,7 \pm 6,9\%$ ($p < 0,01$). Говорить о механизмах такой взаимосвязи пока сложно, но биологический смысл зарегистрированного феномена, вероятно, заключается в профилактике синдрома гиперкоагуляции на фоне инфекционно-воспалительного процесса [7]. При этом закономерен вопрос: влияет ли исходная реактивность тромбоцитов на развитие геморрагических осложнений после литотрипсии? Ответ на данный вопрос был получен в результате сравнения АТр в подгруппах с разным исходом (табл. 3).

Как видно из данных табл. 4, статистически значимые различия между группами пациентов с разным исходом были зарегистрированы только для АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов. Действительно, из 19 пациентов с АДФ-стимулированной АТр ниже 40%, у 15 больных (73,7%) имела место гематурия. Проведение дисперсионного анализа не выявило влияния коллаген-, ФАТ- и адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов на риск развития гематурии, но подтвердило роль АДФ-стимулированной АТр в развитии данного осложнения ($p=0,026$).

Выводы

У пациентов с уролитиазом имеет место сохранение чувствительности к АДФ, переменный ответ на адреналин и снижение реакции тромбоцитов на ФАТ и коллаген, в зависимости от наличия острой воспалительной реакции организма (лейкоцитоза). Проведение литотрипсии сопровождалось повышением реакции на коллаген. Исходно низкий ответ тромбоцитов на АДФ (ниже 40%) ассоциирован с риском развития гематурии после литотрипсии.

Таблицы

Таблица 1

Характеристика обследованных пациентов с мочекаменной болезнью

| Показатели | Значение $Me \pm m$ (ДИ) |
|--------------------------|-------------------------------------|
| Пол: Мужчины | 25 (37,3 \pm 5,9) |
| Женщины | 42 (62,7 \pm 5,9) |
| Возраст | 58 \pm 1,7 |
| Локализация камня: | |
| 1) слева | 28 (41,8 \pm 6) |
| 2) справа | 23 (34,3 \pm 5,8) |
| 3) с двух сторон | 6 (8,9 \pm 3,5) |
| Расположение конкремента | |
| 1) в почке | 27 (40,3 \pm 5,9) |
| 2) в мочеточнике | 35 (52,2 \pm 6,1) |
| 3) сочетание | 5 (7,5 \pm 3,2) |
| Размер конкремента | 39,2 \pm 7,1 мм (ДИ 25,0-53,5 мм) |

Таблица 2

Демографическая и клинико-инструментальная характеристика пациентов с наличием и отсутствием гематурии после литотрипсии

| Показатели | Без гематурии | Микрогематурия | Макрогематурия |
|---|----------------|----------------|----------------|
| Количество пациентов в подгруппе | 22 (32,8±5,7) | 25 (37,3±5,9) | 20 (29,8±5,6) |
| Из них мужчины | 8 (36,4±10,3) | 9 (36±9,6) | 8 (40±10,9) |
| Из них женщины | 14 (63,6±10,3) | 16 (64±9,6) | 12 (60±10,9) |
| Средний возраст, годы | 56±3,4 | 59±4 | 60±3,5 |
| Количество пациентов в возрасте до 65 лет | 15 (68,2±9,9) | 15 (60±9,8) | 16 (80±8,9) |
| Количество пациентов в возрасте более 65 | 7 (40,9±10,5) | 10 (40±9,8) | 4 (20±8,9) |
| Локализация конкремента в почке | 8 (36,4±10,3) | 7 (28±8,9) | 10 (50±11,2) |
| Локализация конкремента в мочеточнике | 12 (54,5±10,6) | 12 (48±10) | 10 (50±11,2) |
| Сочетанные конкременты | 2 (9,1±6,1) | 6 (24±8,5) | 0 |
| Размер конкремента, мм | 14±4,9 | 20±12 | 35±12,3 |
| Лейкоциты крови, 10 ⁹ /л | 7,90±0,8 | 7,5±0,6 | 9,5±1,2 |
| СОЭ, мм/ч | 10±4,4 | 16±3,2 | 20±3,5 |
| Нф % | 71±5,4 | 66±2,9 | 69±3,3 |
| Нф асб, 10 ⁹ /л | 4,1±0,9 | 4,9±0,6 | 5,3±1,2 |
| Количество лейкоцитов в моче, в поле зрения | 14±4,3 | 20±6,7 | 10±8,9 |

Таблица 3

Динамики индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов с уролитиазом до и после литотрипсии

| Агонисты | Агрегация тромбоцитов до литотрипсии | Агрегация тромбоцитов после литотрипсии |
|-----------|--------------------------------------|---|
| Коллаген | 10,7±7,9 | 31±4,5* |
| АДФ | 41±4,1 | 49±4,9 |
| Адреналин | 30,9±4,4 | 32,3±4,7 |
| ФАТ | 28±8,5 | 17,4±3,3 |

* - достоверность различий на уровне значимости $p < 0,05$

Таблица 4

Показатели исходной индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов с наличием и отсутствием гематурии после литотрипсии

| Агонисты | Без гематурии | Микрогематурия | Макрогематурия |
|-----------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
| Коллаген | 32,3±18,2 (2-100) | 29±19,79 (1-100) | 21,7±16,0 (4-48) |
| АДФ | 47,1±7,7 (33-56) | 30,5±11,3 (15-65) | 28±4,2 (1-40)* |
| Адреналин | 42±9,5 (17-51) | 18,1±13,2 (6,5-63) | 33,3±12,57 (20-89,6) |
| ФАТ | 20,9±17,76 (9,6-100) | 37,55±12,9 (8,1-79,7) | 18,1±17,8 (0-65,9) |

* - демонстрирует достоверность различий на уровне $p < 0,05$ по отношению к группе с благоприятным исходом.

Библиография

1. Cohen J, Cohen S, Grasso M. Ureteropyeloscopic treatment of large, complex intrarenal and proximal urethral calculi. *BJU Int* 2013, 111:127-131.
2. Goggs R, Poole AW. Platelet signaling-a primer. *J Vet Emerg Crit Car* 2012, 22(1):5-29.
3. Inci MF, Ozkan F, Bozkurt S, Sucakli MH, Altunoluk B, Okumus M. Correlation of volume, position of stone, and hydronephrosis with microhematuria in patients with solitary urolithiasis. *Med Sci Monit* 2013, 19:295-299.
4. Legrand F, Idrissi Kaitouni M, Roumeguère T. [Medical complications of extracorporeal lithotripsy]. *Rev Med. Brux* 2013, 34(3):163-69.
5. Marickar YM, Salim A. Temporary risk identification in urolithiasis. *Urol Res* 2009, 37(6):377-380.
6. Michelson A. Methods for the measurement of platelet function. *Am J Cardiol.* 2009, 103:20A-26A.
7. O'Brien M. The reciprocal relationship between inflammation and coagulation. *Top Companion Anim Med.* 2012, 27(2):46-52.
8. Petrie A, Sabin C. *Medical Statistics at a Glance.* 2nd ed. Blackwell Publishing. 2005.
9. Ricchiuti DJ, Smaldone MC, Jacobs BL, Smaldone AM, Jackman SV, Averch TD. Staged retrograde endoscopic lithotripsy as alternative to PCNL in select patients with large renal calculi. *J Endourol.* 2007, 21(12):1421-1424.
10. Yeoh M, Lai NK, Anderson D, Appadurai V. Macroscopic haematuria--a urological approach. *Aust Fam Physician.* 2013, 42(3):123-126.
11. Zhou DQ, Wang J. [Hemorrhage during and after percutaneous nephrolithotomy via standard nephrostomy tract]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 2010, 30(12):2768-2769.