

довностями рекомбінації пере-
дує складна реорганізація хро-
матину [8; 9]. У зв'язку з цим,
виявлені в результаті дослі-
дження послідовності cRSS
можуть відігравати роль сиг-
налів, що «мовчать». Вони
фактично можуть не бути до-
ступними білкам RAG1/2, не
дивлячись на те, що в цілому
структура їх гептамерів і нано-
мерів припускає (теоретично)
значну спорідненість до них.
Проте, оскільки сьогодні при-
чини утворення розривів ДНК
системою V(D)J-рекомбінації
зовні локусів Ig, TCR генів не
розкриті, цілком безумовно
можна стверджувати, що ви-
явлені нами в геномі миші cRSS
можуть виступати як потен-
ційні мішені цього молекуляр-
но-генетичного апарату при по-
рушенні його функціонування.

Висновки

Одержані під час дослі-
дження результати показують,
що в геномі миші зовні локусів
Ig, TCR генів локалізована ве-
лика кількість ділянок, які мо-
жуть бути сайтами-мішенями
білків RAG1/2, структура яких

припускає високий рекомбіна-
ційний потенціал. Вважаємо,
що при порушенні регуляції си-
стеми V(D)J-рекомбінації, ви-
явлені нами в білоккодуєчих
генах 12cRSS і 23cRSS, мо-
жуть опосередкувати їх ушко-
дження. Проведене нами ре-
гельне дослідження геному
миші дозволяє не тільки по-
значити ділянки можливих
розривів ДНК, але і виділити
групу генів, у яких існування
конкретних делецій і/чи інвер-
сій екзонів можна перевірити
експериментально. Це дає
можливість розширити існуючі
уявлення про масштаб хромо-
сомних аберацій, які пов'язані
з порушенням функціонування
розглянутого рекомбінаційного
апарату.

ЛІТЕРАТУРА

1. Patrick C. Swanson. The bounty of RAGs: recombination signal complexes and reaction outcomes // Immunological Reviews. — 2004. — Vol. 200. — P. 90-114.
2. Disruption of the human SCL locus by "illegitimate" V-(D)-J recombinase activity / Peter D. Aplan, Donald P. Lombardi, Ann M. Ginsberg et al. // Science. — 1990. — Vol. 256. — P. 1428-1429.

3. Involvement of illegitimate V(D)J recombination or microhomology-mediated nonhomologous end-joining in the formation of intragenic deletions of the Notch1 gene in mouse thymic lymphomas / Hideo Tsuji, Hiroko Ishii-ohba, Takanori Katsube et al. // Cancer Research. — 2004. — Vol. 15. — P. 8882-8890.

4. Susanna M. Lewis, Joanne E. Hesse. Cutting and closing without in V(D)J joining // The EMBO Journal. — 1991. — Vol. 10. — P. 3631-3639.

5. Губський А. Ю. Структурний аналіз сигнальних послідовностей рекомбінації трьох типів V-, D-, J-сегментів генів імуноглобулінів і T-клітинних рецепторів людини // Одес. мед. журнал. — 2005. — Т. 5. — С. 10-12.

6. Essential residues in V(D)J recombination signals / Yoshiko Akamatsu, Naoyo Tsurushita, Fumikiyo Nagawa et al. // Journal of Immunology. — 1994. — Vol. 153. — P. 4520-4529.

7. Mouse RSS spacer sequences affect the rate of V(D)J recombination / Liam Fanning, Alison Connor, Kristen Baetz et al. // Immunogenetics. — 1996. — Vol. 40. — P. 146-150.

8. Craig H. Bassing, Wojciech Swat, Frederick W. Alt. The mechanism and regulation of chromosomal V(D)J-recombination // Cell. — 2002. — Vol. 109. — P. 45-55.

9. Hesslein D. G., Schatz D. G. Factors and forces controlling V(D)J recombination // Adv. Immunol. — 2001. — Vol. 78. — P. 169-232.

УДК 616.61-092-07.08

Ю. Є. Роговий, Л. Г. Архіпова, М. В. Дікал, І. Л. Муравйова,
Л. О. Філіпова, К. М. Міль, О. В. Бойко

ПАТОФІЗІОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ДОСЛІДЖЕННЯ БІОХІМІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ТУБУЛОІНТЕРСТИЦІЙНОГО СИНДРОМУ ПРИ ХРОНІЧНОМУ НЕФРИТІ МАЗУГІ ЗА ДОПОМОГОЮ ВЕГЕТАТИВНОГО РЕЗОНАНСНОГО ТЕСТУ «ІМЕДИС-ТЕСТ+»

Буковинський державний медичний університет, Чернівці

Відомо, що розвиток хронічного нефриту Мазугі характеризується формуванням ту-
булоінтерстиційного синдро-

му, який є основою швидко прогресуючого хронічного пато-
логічного процесу в нирках [1; 2]. Останнім часом все

більше зростає інтерес до можливостей застосування вегетативного резонансного тесту «ІМЕДИС-ТЕСТ+» [3; 4]

для дослідження біохімічних параметрів, особливо в кірковій ділянці нирок, що комплексно характеризують тубулоінтерстиційний синдром. Тим же часом вегетативний резонансний тест «ІМЕДИС-ТЕСТ+» практично не застосовувався для визначення біохімічних параметрів, що комплексно характеризують розвиток цього синдрому в кірковій ділянці нирок за умов хронічного нефриту Мазугі [5; 6].

Мета дослідження — провести патофізіологічний аналіз можливостей застосування вегетативного резонансного тесту «ІМЕДИС-ТЕСТ+» для дослідження біохімічних параметрів у кірковій ділянці нирок, що комплексно характеризують тубулоінтерстиційний синдром за хронічного нефриту Мазугі.

Матеріали та методи дослідження

Досліди проведено на 42 білих нелінійних щурах-самцях масою 0,16–0,18 кг за умов гіпонатрієвого раціону харчування. Експериментальне моделювання нефриту Мазугі здійснювали шляхом 2-кратного внутрішньочеревинного введення кролячої нефротоксичної сироватки з титром протиниркових антитіл у реакції зв'язування комплекменту не нижче 1 : 1024. Дослідження проводили на 45-ту добу, що відповідало розвитку хронічного нефриту Мазугі зі сформованим тубулоінтерстиційним синдромом [7]. Евтаназію тварин виконували шляхом декапітації під ефірною анестезією. Нирки заморожували в рідкому азоті. При аналізі фрагментів кіркової ділянки нирок масою 50–100 мг користувалися вегетативним резонансним тестом «ІМЕДИС-ТЕСТ+». Вміст досліджуваних речовин визначали через репрезентативну біологічно активну точку добровольця за умов безпосереднього його контакту з електро-

дом приладу. Проби кіркової речовини нирок у пробірках з тонкого органічного скла розміщували в контейнері апарата «ІМЕДИС БРТ ПК». Використовували програмні засоби (Реєстраційне посвідчення на виріб медичної техніки № ФС 022а3066/0414-04, видане Федеральною службою за наглядом у сфері охорони здоров'я і соціального розвитку Російської Федерації від 8 липня 2004 р.) для визначення за шкалою біоіндексу: ангіотензину 2, інтерлейкіну 1 β , тромбоксану А₂, оксипроліну, простагландину Е₂, альдостерону, інтерлейкіну 10, гепарину, фактора росту фібробластів, інтерферону γ , інтерлейкіну 4, трансформувального фактора росту β_1 , білка р53, тромбоцитарного фактора росту [8–10]. Електронні копії всіх речовин, що визначалися, зберігаються в селекторі апарата «ІМЕДИС БРТ ПК», для отримання яких використовувалися досліджувані речовини високого ступеня очищення. Показники шкали біоіндексу від 1 до 21 прийняті за умовні одиниці.

Статистичну обробку даних із використанням кореляційного та регресійного аналізу проводили за допомогою комп'ютерних програм "Statgraphics" та "Excel 7.0".

Результати дослідження та їх обговорення

Як показали результати наших досліджень, на 45-ту добу хронічного нефриту Мазугі в кірковій ділянці нирок виявлено зростання вмісту ангіотензину 2, альдостерону, тромбоксану А₂, оксипроліну, інтерлейкіну 1 β , інтерферону γ , інтерлейкіну 4, фактора росту фібробластів, трансформувального фактора росту β_1 , тромбоцитарного фактора росту, білка р53 за зниження вмісту простагландину Е₂, гепарину, а також відсутність змін з боку протизапального цитокіну інтерлейкіну 10 (табл. 1).

За хронічного нефриту Мазугі тромбоксан А₂ виявляв прямі кореляційні залежності з фактором росту фібробластів, трансформувальним фактором росту β_1 , тромбоцитарним фактором росту. Ангіотензин 2 був зв'язаний прямою кореляційною залежністю з проапоптичним білком р53. Крім того, з білком р53 позитивно корелював маркер колагену в кірковій ділянці нирок — оксипролін. Між собою виявляли прямі кореляційні залежності фактор росту фібробластів і тромбоцитарний фактор росту та трансформувальний фактор росту β_1 і тромбоцитарний фактор росту. Інтерферон γ позитивно корелював з трансформувальним фактором росту β_1 (табл. 2). Найбільш цікаві кореляційні залежності між ангіотензином 2 і білком р53 та оксипроліном подаються у вигляді регресійного аналізу (рисунок).

Тлумачення отриманих результатів полягає в такому. Ушкодження проксимального відділу нефрону за хронічного нефриту Мазугі супроводжується загрозою втрати іонів натрію з організму, що спричинює активацію ренін-ангіотензин-альдостеронової системи за механізмом тубулогломерулярного зворотного зв'язку [11–13]. Це підтверджено зростанням вмісту ангіотензину 2 і альдостерону в кірковій речовині нирок. Ішемія кіркової ділянки нирок за даних умов супроводжується активацією реакцій пероксидного окиснення ліпідів, що приводить до підвищення вмісту тромбоксану А₂ у цій ділянці нирок. Зростання вазоконстрикторного колагенезостимулювального потенціалу ангіотензину 2, альдостерону і тромбоксану А₂ на фоні зниження вазодилататорного антинефросклеротичного впливу простагландину Е₂ сприяє розростанню колагену в цій ділянці нирок, що підтверджено збільшенням вмісту маркера колагену ок-

Таблиця 1

Дослідження біохімічних параметрів
тубулоінтерстиційного синдрому в кірковій ділянці нирок
при хронічному нефриті Мазугі за допомогою
вегетативного резонансного тесту «ІМЕДИС-ТЕСТ+», $x \pm Sx$

Показники	Контроль, n=6	Хронічний нефрит Мазугі, n=8
Ангіотензин 2, ум. од.	11,50±0,22	16,80±0,37 P < 0,001
Інтерлейкін 1β, ум. од.	6,330±0,210	15,00±0,38 P < 0,001
Тромбоксан A ₂ , ум. од.	10,50±0,34	15,40±0,41 P < 0,001
Оксипролін, ум. од.	6,830±0,307	15,00±0,32 P < 0,001
Простагландин E ₂ , ум. од.	11,80±0,48	7,870±0,226 P < 0,001
Альдостерон, ум. од.	9,660±0,211	15,40±0,18 P < 0,001
Інтерлейкін 10, ум. од.	5,330±0,211	5,370±0,375
Гепарин, ум. од.	5,500±0,223	4,370±0,182 P < 0,01
Фактор росту фібробластів, ум. од.	5,170±0,307	8,000±0,626 P < 0,01
Інтерферон γ, ум. од.	4,500±0,341	9,120±0,226 P < 0,001
Інтерлейкін 4, ум. од.	4,830±0,477	9,40±0,32 P < 0,001
Трансформувальний фактор росту β ₁ , ум. од.	4,330±0,210	15,50±0,38 P < 0,001
Білок p53, ум. од.	1,500±0,223	6,370±0,263 P < 0,001
Тромбоцитарний фактор росту, ум. од.	5,330±0,211	9,120±0,226 P < 0,001

Примітка. P — вірогідність кореляційного зв'язку; n — кількість спостережень.

сипроліну. Зростання вмісту прозапальних цитокінів інтерлейкіну 1β, інтерлейкіну 4 на фоні відсутності змін з боку протизапального інтерлейкіну 10 зумовлено наявністю активно-го запального процесу в нирках при хронічному нефриті Мазугі. Збільшення вмісту інтерферону γ за цих умов можна розцінювати як підсилення фагоцитарної активності макрофагів з подальшою реалізацією макрофагально-фібробластичної взаємодії та розвитку тубулоінтерстиційного фіброзу. Допомагає цьому процесу і зниження вмісту антикоагулянту гепарину, що зумовлює відкладання фібрину з подальшим його заміщенням на колаген. Зростання вмісту фактора росту фібробластів, трансформувального фактора росту β₁ [14], тромбоцитарного фактора росту можна розцінювати як прояв надмірного розростання сполучної тканини за цих умов. Інтерстиційний фіброз супроводжується атрофією каналців нефрону, що підтверджено зростанням вмісту проапоптичного білка p53.

Позитивні кореляційні залежності між вмістом вазоконстрикторного колагенезостимулювального фактора тромбоксану A₂ і фактора росту фібробластів, трансформувального фактора росту β₁, тромбоцитарного фактора ро-

Таблиця 2

Пари кореляційних зв'язків між біохімічними параметрами в кірковій ділянці нирок за формування тубулоінтерстиційного синдрому при хронічному нефриті Мазугі, які оцінювалися за допомогою вегетативного резонансного тесту «ІМЕДИС-ТЕСТ+»

Пари кореляційних зв'язків		Коефіцієнт кореляції r	Вірогідність кореляційного зв'язку P
Тромбоксан A ₂	Фактор росту фібробластів	0,814	< 0,02
Ангіотензин 2	Білок p53	0,881	< 0,01
Тромбоксан A ₂	Трансформувальний фактор росту β ₁	0,731	< 0,05
Тромбоксан A ₂	Тромбоцитарний фактор росту	0,868	< 0,01
Оксипролін	Білок p53	0,829	< 0,02
Фактор росту фібробластів	Тромбоцитарний фактор росту	0,880	< 0,01
Інтерферон γ	Трансформувальний фактор росту β ₁	0,729	< 0,05
Трансформувальний фактор росту β ₁	Тромбоцитарний фактор росту	0,729	< 0,05

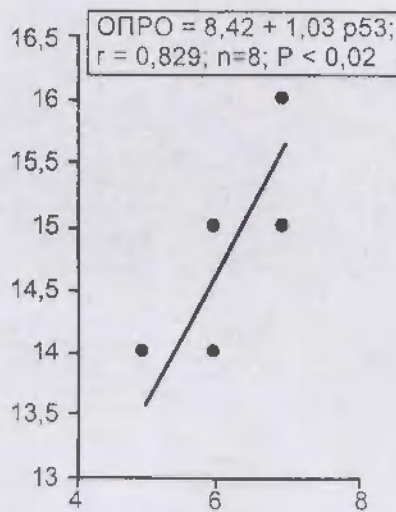
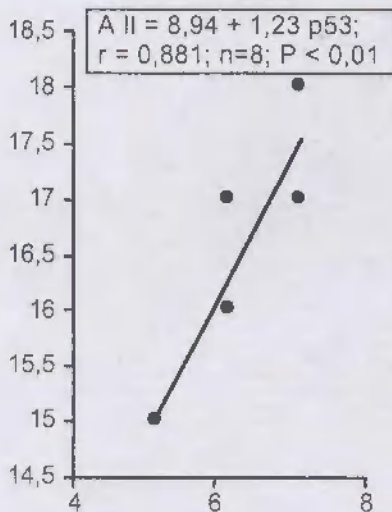


Рисунок. Регресійний аналіз між ангіотензином 2, оксипроліном і білком р53 в кірковій ділянці нирок за формування тубулоінтерстиційного синдрому при хронічному нефриті Мазугі, які оцінювалися за допомогою вегетативного резонансного тесту «ІМЕДИС-ТЕСТ+»: r — коефіцієнт кореляції; n — кількість спостережень; P — вірогідність кореляційного зв'язку

сту пояснюються тим, що розростання сполучної тканини в кірковій речовині нирок при хронічному нефриті Мазугі реалізується через ці ростові фактори. Пряма кореляційна залежність між ангіотензином 2 і білком р53 спричинена тим, що розростання сполучної тканини під впливом ангіотензину 2 призводить до атрофії каналців нефрону внаслідок активації апоптозу зі зростанням проапоптичного білка р53. Аналогічно пояснюється позитивна кореляційна залежність між маркером колагену — оксипроліном і білком р53. Прямі кореляційні залежності між ростовими факторами зумовлені тим, що їх вплив синхронізований щодо надмірного розростання сполучної тканини. Пряма кореляційна залежність між інтерфероном γ і трансформувальним фактором росту β_1 зумовлена тим, що активація фагоцитозу макрофагів сприяє більш ефективній реалізації макрофагально-фібробластичної взаємодії з підсиленням розростанням колагену.

Висновки

У досліджах на статевозрілих щурах-самцях при доспі-

дженні методом вегетативного резонансного тесту «ІМЕДИС-ТЕСТ+» показано, що зростання вазоконстрикторних колагеностимулювальних факторів тромбоксану A_2 , ангіотензину 2 та прозапальних інтерлейкінів 1β , 4, інтерферону γ в кірковій ділянці нирок за умов хронічного нефриту Мазугі супроводжується активним запальним процесом і підсиленням розростанням сполучної тканини зі збільшенням вмісту маркера колагену оксипроліну та розвитком атрофічних процесів каналців внаслідок зростання проапоптичного білка р53.

ЛІТЕРАТУРА

1. Пішак В. П., Гоженко А. І., Роговий Ю. Є. Тубулоінтерстиційний синдром. — Чернівці: Медакадемія, 2002. — 221 с.
2. Роговий Ю. Є. Механізми розвитку тубулоінтерстиційних ушкоджень при патології нирок (експериментальне дослідження): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.03.04 / Буковинська держ. мед. академія. — Одеса, 2000. — 36 с.
3. Махонькіна Л. Б., Сазонова И. М. Резонансний тест возможности диагностики и терапии. — М.: Изд-во Рос. ун-та Дружбы народов, 2000. — 740 с.
4. Готовский Ю. В., Косарева Л. Б. «ІМЕДИС-ТЕСТ+» — новый метод

электропунктурной диагностики и контроля за проводимой терапией // 1-й Міжнар. конгрес-круз «Медицина третього тисячоліття». 10-14 жовтня 2003 р., борт теплоходу «Принцеса Дніпра», круз Одеса — Київ. — 2003. — С. 72-74.

5. Влияние различных терапевтических режимов на морфогенез тубуло-стромально-сосудистых изменений при хронических гломерулонефритах / О. В. Синяченко, Г. А. Игнатенко, И. В. Мухин и др. // Нефрология. — 2005. — Т. 9, № 3. — С. 75-80.

6. Шейман Д. А. Патологическая физиология почки. — М.: Вост. книж. компания, 1997. — 224 с.

7. Пахмурный Б. А. Стадии нефрита Мазуги // Материалы 5-й Всесоюз. конф. по физиологии почек и водно-солевого обмена. — Л., 1978. — С. 179.

8. Декл. патент 11298 Україна, МКВ А 61 В 5/00. Спосіб діагностики біологічних параметрів у тканинах органів експериментальних тварин / Ю. Є. Роговий, Л. Г. Архіпова, І. Л. Муравйова, О. В. Бойко, І. А. Палагнюк, А. В. Бочаров (Україна). — № 200506074. Заявл. 21.06. 2005 р.; Опубл. 15.12.2005. — Бюл. № 12. — 2 с.

9. Позитивне рішення про видачу Декл. пат. України на корисну модель від 19 грудня 2005 р., № 19124/1 Спосіб діагностики концентрації речовин у біологічних рідинах: G01J1/42, G01N27/00 / Ю. Є. Роговий, Л. Г. Архіпова, І. Л. Муравйова, Г. Б. Попович, О. В. Бойко, В. Г. Савка. — № 200509006. Заявл. 23.09.2005.

10. Анализ защитного влияния препарата GA-40 на течение сулемовой нефропатии с помощью вегетативного резонансного теста «ІМЕДИС-ТЕСТ+» / В. П. Пішак, Ю. Є. Роговий, И. И. Сидорчук и др. // Нефрология. — 2005. — Т. 9, № 3. — С. 88-91.

11. Пішак В. П., Білококий В. В., Роговий Ю. Є. Універсальність ушкодження проксимального каналця при захворюваннях нирок // Клін. та експерим. патологія. — 2005. — Т. 4, № 1. — С. 72-76.

12. Angiotensin I conversion to angiotensin II stimulates cortical collecting duct sodium transport / P. Kamloli, A. L. Fusion, A. Fintha et al. // Hypertension. — 2003. — Vol. 42, N 2. — P. 195-199.

13. AT1 receptor blockade improves vasorelaxation in experimental renal failure / P. Koobi, J. Kalliovalkama, P. Jolma et al. // Hypertension. — 2003. — Vol. 41, N 6. — P. 1364-1371.

14. Bottinger E. P., Bitzer M. TGF-beta signaling in renal disease // J. Amer. Soc. Nephrol. — 2002. — Vol. 13, N 10. — P. 2600-2610.