

Надійшла 03.02.2021

Акцептована 03.03.2021

УДК 616.61-002.16-092:616.397-008.64

DOI 10.26641/2307-5279.25.1.2021.231362

Рівень фрагментації тканинної ДНК – діагностичний та лікувальний скринінг гострого пієлонефриту і цукрового діабету в експерименті

С.О. Борисов, ORCID: 0000-0002-9872-1839

К.О. Борисов, ORCID: 0000-0003-1979-5299

Одеський національний медичний університет

Keywords:

acute pyelonephritis, blood cells, kidney tissue, apoptosis, DNA, diabetes mellitus, etiotropic-pathogenetic influence

Для цитування:

ДСТУ 8302 2015:

Борисов С.О., Борисов К.О. Рівень фрагментації тканинної ДНК – діагностичний та лікувальний скринінг гострого пієлонефриту і цукрового діабету в експерименті. *Урологія*. 2021. Т. 25, № 1. С. 32–39. DOI: 10.26641/2307-5279.25.1.2021.231362.

APA:

Borisov, S.O., & Borisov, K.O. (2021). Riven' frahmentatsiyi tkanynnoyi DNK – diahnostychnyy ta likuval'nyy skryninh hostroho piyelonefrytu i tsukrovoho diabetu v eksperymenti [The level of tissue DNA fragmentation – diagnostic and therapeutic screening of acute pyelonephritis and diabetes in the experiment]. *Urolohiya – Urologiya*, 25(1), 32–39. DOI: 10.26641/2307-5279.25.1.2021.231362 [in Ukrainian].

Адреса для листування:

С.О. Борисов

E-mail: borisov-urol@ukr.net

SUMMARY

The level of tissue DNA fragmentation – diagnostic and therapeutic screening of acute pyelonephritis and diabetes in the experiment

S.O. Borisov, K.O. Borisov

Biochemical and electron microscopic studies indicate the participation of apoptosis in the pathogenesis of many pathological conditions, which makes it possible to classify programmed cell death as a universal general pathological process of early development of numerous diseases and syndromes with the entire complex of clinical manifestations. Features of the pathways of internal apoptotic signals and changes in intracellular processes contribute to the development of destructive processes in the cell, which ends with the destruction of genomic DNA with further cellular phagocytosis. The aim of the work was to study the level of nuclear DNA fragmentation in peripheral blood cells and kidneys of rats under the conditions of the experiment.

Compared with the data of the norm, it should be noted that in rats with AP in the hyperglycemic state, the level of DNA fragmentation was higher with etiotropic drug exposure than with the use of etiotropic-pathogenetic drug exposure. So, with EME, the level of fragmented DNA in AP against the diabetes melitus of a type I model was increased in blood leukocytes by 163.0% and in kidney tissue by 80.1%, and in type II diabetes in leukocytes by 122.6%, and in kidneys by 56.3%. Whereas with the use of EPMV, the indicator of DNA fragmentation in AP with type I diabetes was increased in blood leukocytes by 98.8% and in kidney tissue by 41.4%, and in the model of type II diabetes in leukocytes by 42.7%, and in kidneys by 20.4%. It should be emphasized that the use of EPMV in animals with AP and a concomitant prototype of diabetes in relation to the data with EMV turned out to be effective, significantly reducing the level of fragmented DNA, reducing this indicator in models of type I and II diabetes in the kidneys by 21.5% and 22.9%, respectively, compared with the result of etiotropic drug exposure.

ВСТУП

Сучасна концепція апоптозу (А) базується головним чином на результатах біохімічних та електронно-мікроскопічних досліджень [1, 2, 3, 4, 5]. Отримані дані свідчать про участь апоптозу в патогенезі багатьох патологічних станів [5, 6, 7]. Останнє дозволяє класифікувати А як універсальний загальнопатологічний процес раннього розвитку численних захворювань та синдромів із наявністю всього комплексу клінічних проявів [6, 7, 8]. Незважаючи на різноманітність індукторів (А), особливості шляхів його внутрішньоклітинної сигналізації та зміни у внутрішньоклітинних мішенях сприяють розвитку деструктивних процесів у клітині і завершуються руйнуванням геномної ДНК з подальшим клітинним фагоцитозом [9, 11, 12]. Руйнування ДНК відбувається шляхом розщеплення її подвійного ланцюжка на фрагменти між нуклеосомами. Останні можливо виявити за допомогою гелелектрофорезу у вигляді дискретних смуг, що широко використовуються для ідентифікації апоптозу [10, 12, 18].

Встановлено, що (А) відбувається, як у структурно неушкоджених здорових тканинах, так і при наявності патологічного процесу, що робить адаптивну роль А цілковито очевидною [12, 19]. Наводяться дані про те, що при інфекційно-запальному процесі (Самуїлов В.Д., 2010; Едранов С.С., 2012) певну роль у клітинній загибелі відіграють ферментні системи (наспаза-3 і каспаза-9), які активують процес фрагментації ДНК та призводять до незворотного розпаду ДНК на нуклеосомальні фрагменти [Самуїлов В.Д., 2010; Едранов С.С., 2012; 13; 14; 15; 19]. З огляду на вищевикладене, у наш час увага дослідників привертається не лише до вивчення чинників індукції або інгібіції (А) та механізмів, що його регулюють, а й до пошуку сполук або їх комбінацій, здатних впливати на інтенсивність та напрямок апоптичних процесів при моделюванні різних патологічних станів. Беручи до уваги те, що ступінь фрагментації ДНК є важливим маркером ранньої стадії апоптозу при розвитку патологічних станів метою даної роботи було вивчення рівня фрагментації ядерної ДНК у клітинах периферичної крові і нирках шурів при медикаментозному впливі на перебіг гострого пієлонефриту та супутнього йому гіперглікемічного стані (прототип цукрового діабету) в умовах експерименту.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальні дослідження проводились на 122 щурах лінії Вістар, вагою 200–300 г у

віком 8–9 міс. Експеримент був здійснений відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», які схвалені 3-м Національним конгресом (Київ, 2007) і відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших цілей» (Страсбург, 1986).

Тварини були розподілені на 8 груп: контрольна група – норма (n=14), тварини з гострим пієлонефритом (ГП) (n=18), дві групи тварин з ГП та ЦД I типу (n=15) та II типу (n=16), дві групи тварин з ГП та ЦД I типу (n=16) та II типу (n=14) з етіотропним медикаментозним впливом (ЕМВ), дві групи тварин з ГП та ЦД I типу (n=14) та II типу (n=15) з етіопатогенетичним медикаментозним впливом (ЕПМВ). Воду та їжу протягом всього експерименту тварини отримували *ad libitum*.

Прототип цукрового діабету II типу викликали шляхом інтраперітонеальної ін'єкції стрептозотоцином в 10 мМ цитратному буфері (рН 4,5) дворазово в дозі 35 мг на 1 кг протягом тижня, а модель діабету I типу одноразовою дозою 55 мг на 1 кг ваги (Байрашева В.К., 2015). При моделюванні стрептозотоцинового діабету II типу тварини отримували висококалорійну жирову їжу. Загальний стан тварин оцінювали кожного дня, а рівень глюкози в плазмі крові тварин контролювали через добу протягом експерименту та реєстрували помірну гіперглікемію, появу надлишкової ваги, дисліпідемію та альбумінурію. Модель ЦД I типу характеризувалася вираженою гіперглікемією >30 ммоль/л. Інсулін вводився діабетичним тваринам з метою запобігання смертності та зниження ваги за умови тільки критичної гіперглікемії [16, 17]. Модель гострого пієлонефриту відтворювали за методикою Авер'янової Н.К., 2008. Щурам одноразово ректально вводили ізолят *Escherichia coli* (ступінь бактеріурії в 1 мл 10⁷ КОЕ), отриманий з сечі пацієнта з клінічною картиною гострого пієлонефриту. На другу добу тварини підлягали холодовому стресу при температурі 0+2 °С протягом 2 годин. Експериментальна модель ГП максимально наближена до перебігу гострого пієлонефриту в клінічних умовах.

У період стабільної гіперглікемії у тварин, моделювали гострий пієлонефрит за вище наведеною методикою. Через 4 доби після початку моделювання ГП, застосовували етіотропний медикаментозний вплив (ЕМВ) та етіотропно-патогенетичний медикаментозний вплив (ЕПМВ).

При ЕМВ у групах тварин з діабетом I та II типів при ГП застосовували внутрішньом'язово

антибіотик «Гепациф» в дозі 60 мг/кг ваги тварини на добу протягом 14 днів після моделювання ГП.

При ЕПМВ у групах тварин при ГП на тлі моделі цукрового діабету I та II типу, крім внутрішньом'язового введення антибіотика «Гепациф» у дозі 60 мг/кг ваги тварини на добу, отримували метаболізм коригуючі лікарські засоби: перорально препарат «Нуклекс» (кислота рибонуклеїнова) з розрахунку по 21 мг/кг на добу та внутрішньом'язово препарат «Армадин» (інгібітор вільнорадикальних процесів та мембранопротектор 2-етил-6-метил-3-гідроксіпірідін-сукцинат) 4,5 мг/кг ваги на добу протягом 14 днів після моделювання гострого пієлонефриту.

Через 28 діб після початку моделювання цукрового діабету, потім гострого пієлонефриту, щурів виводили з експерименту в стані глибокого наркозу з попередньою анестезією тіопенталом натрію (50 мг препарату на кг ваги).

У лейкоцитах, виділених з гепаризованої крові, та в тканині нирок спектрофотометрично визначали рівень фрагментованої ДНК. Венозну кров відбирали у пробірки з попередньо внесеним антикоагулянтом – 1%-вий розчин гепарину об'ємом 0,05 мл.

Визначення ступеня апоптозу проводили з використанням дифеніламінового тесту. Тканину нирок гомогенізували в сахарозному середовищі виділення (0,25 М сахарози, 1 мМ ЕДТА, рН = 7,4) при температурі 0 +4 °С. Після центрифугування гомогенату супернатант з ДНК некротичних клітин відокремлювали. До осаду ядер додавали лізис-буфер (5мМ TrisHCl, 20 мМ ЕДТА, рН = 8, 0,5% TritonX-100) у співвідношенні 1:9 (об'єм:об'єм).

Кожну пробу центрифугували протягом 15 хвилин при 13 000 г для відокремлення інтакт-

ного хроматину (осад) від фрагментованої ДНК (надосадова рідина). Після цього проби ресуспензували в 0,5 мл буфера (10 мМ TrisHCl, 1 мМ ЕДТА, рН = 8) і вносили 0,6 мл 12%-вої трихлороцтової кислоти при пониженій температурі.

Далі проби центрифугували при 4000 г протягом 10 хв. і супернатант відокремлювали. До пробірок з осадом додавали по 0,3 мл 5%-вого розчину трихлороцтової кислоти і проводили гідроліз на водяній бані при 90 °С протягом 10 хв. Після чого проби центрифугували і відбирали депротейнізовану надосадову рідину. Після охолодження в пробірки з надосадовою рідиною додавали дифеніламіновий реагент (100 мг дифеніламіна, 10 мл крижаної оцтової кислоти, 0,28 мл сірчаної кислоти) в об'ємному співвідношенні 1:2 і проводили інкубацію протягом 17 год. при температурі +30 °С.

Інтенсивність забарвлення розчину прямо пропорційна вмісту ДНК в пробі. Оптичну щільність розчину вимірювали при довжині хвилі 570 нм проти контролю (дифеніламіновий реагент з додаванням 5%-вого розчину трихлороцтової кислоти).

Кількість фрагментованої ДНК розраховували у відсотках як відношення кількості екстрагованої ДНК до загальної кількості ДНК в пробі.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми Statistica.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Нами встановлено, що рівень фрагментованої ДНК в лейкоцитах крові та в нирках щурів з гострим пієлонефритом суттєво зростав на 65,4% та 42,0% відповідно порівняно з нормою (табл. 1). При моделюванні ГП при супутньому гіперглікемічному стані у щурів виявлено більш значне зростання рівня фрагментації ДНК

ТАБЛИЦЯ 1. Вміст фрагментованої ДНК в лейкоцитах крові і тканині нирки щурів з гострим пієлонефритом (%)

Статистичні показники	Умови експерименту			
	Норма	ГП	Норма	ГП
	Лейкоцити		Тканина нирки	
n	14	18	14	18
M	12,36	20,45	8,23	11,69
m	1,20	1,95	0,74	0,82
p	–	<0,01	–	<0,01
%	100,0	165,4	100,0	142,0
p ₁	–	–	–	–
% ₁	–	100,0	–	100,0

Примітки: p – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до норми; p₁ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «ГП».

відносно норми (при моделюванні ГП на тлі моделі ЦД I типу в лейкоцитах крові на 197,9% та нирках на 96,6%), а при ГП на тлі моделі ЦД II типу в лейкоцитах крові на 158,7% та нирках на 175,2%), а також по відношенню до групи тварин з ГП (при моделюванні ГП ускладненого моделлю ЦД I типу в лейкоцитах крові на 80,0% та нирках на 38,4%), а при ГП на тлі прототипу ЦД II типу в лейкоцитах крові на 56,4% та нирках на 23,4%) (табл. 2–5).

Таким чином, звертаючи увагу на отримані результати, нами встановлено, що рівень фрагментованої ДНК в лейкоцитах крові, і в тканинах нирки у тварин з ГП більш високий при супутньому ЦД I типу в порівнянні з моделлю ЦД II типу.

Застосування ЕПМВ у тварин з ГП, ускладненим моделлю супутнього цукрового діабету I і II типів, на відміну від ЕМВ (виявлена лише тенденція до зниження), викликало вірогідне зменшення рівня фрагментації ДНК у тканині нирок по відношенню до групи без МВ – при моделі ЦД I типу зниження рівня фрагментованої ДНК в лейкоцитах крові на 33,3% та в нирках на 28,1%, при моделі ЦД II типу зниження рівня фрагментованої ДНК в лейкоцитах крові на 44,8% та в нирках на 31,3%.

Порівнюючи з відповідними даними норми, слід зауважити, що у щурів з ГП при гіперглікемічному стані рівень фрагментованості ДНК був більш високим при ЕМВ, ніж при застосуванні ЕПМВ. Так, при ЕМВ рівень фрагментова-

ТАБЛИЦЯ 2. Вміст фрагментованої ДНК в лейкоцитах крові щурів з гострим пієлонефритом в умовах супутньої моделі цукрового діабету I типу та при медикаментозному впливі (%)

Статистичні показники	Норма	Умови експерименту		
		Без МВ	ГП +ЦД I типу ЕМВ	ЕПМВ
n	14	15	16	14
M	12,36	36,82	32,51	24,57
m	1,20	3,40	3,08	2,23
p ₁	–	<0,001	<0,001	<0,001
% ₁	100,0	297,9	263,0	198,8
p ₂	–	–	>0,05	<0,01
% ₂	–	100,0	88,3	66,7
p ₃	–	–	–	<0,05
% ₃	–	–	100,0	75,6

Примітки: p₁ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до норми; p₂ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «без МВ»; p₃ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи тварин з ЕМВ.

ТАБЛИЦЯ 3. Вміст фрагментованої ДНК в тканині нирок щурів з гострим пієлонефритом в умовах супутньої моделі цукрового діабету I типу та при медикаментозному впливі (%)

Статистичні показники	Норма	Умови експерименту		
		Без МВ	ГП +ЦД I типу ЕМВ	ЕПМВ
n	14	15	16	14
M	8,23	16,18	14,82	11,64
m	0,74	1,54	1,20	0,78
p ₁	–	<0,001	<0,001	<0,01
% ₁	100,0	196,6	180,1	141,4
p ₂	–	–	>0,05	<0,05
% ₂	–	100,0	91,6	71,9
p ₃	–	–	–	<0,05
% ₃	–	–	100,0	78,5

Примітки: p₁ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до норми; p₂ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «без МВ»; p₃ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи тварин з ЕМВ.

ТАБЛИЦЯ 4. Вміст фрагментованої ДНК в лейкоцитах крові щурів з гострим пієлонефритом в умовах супутньої моделі цукрового діабету II типу та при медикаментозному впливі (%)

Статистичні показники	Норма	Умови експерименту		
		Без МВ	ГП + ЦД II типу	
			ЕМВ	ЕПМВ
n	14	16	14	15
M	12,36	31,98	27,51	17,64
m	1,20	2,86	2,57	1,62
p ₁	—	<0,001	<0,001	<0,05
% ₁	100,0	258,7	222,6	142,7
p ₂	—	—	>0,05	<0,001
% ₂	—	100,0	86,0	55,2
p ₃	—	—	—	<0,01
% ₃	—	—	100,0	64,1

Примітки: p₁ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до норми; p₂ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «без МВ»; p₃ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи тварин з ЕМВ.

ТАБЛИЦЯ 5. Вміст фрагментованої ДНК в тканині нирок щурів з гострим пієлонефритом в умовах супутньої моделі цукрового діабету II типу та при медикаментозному впливі (%)

Статистичні показники	Норма	Умови експерименту		
		Без МВ	ГП + ЦД II типу	
			ЕМВ	ЕПМВ
n	14	16	14	15
M	8,23	14,42	12,86	9,91
m	0,74	1,03	0,94	0,62
p ₁	—	<0,001	<0,001	<0,05
% ₁	100,0	175,2	156,3	120,4
p ₂	—	—	>0,05	<0,01
% ₂	—	100,0	89,2	68,7
p ₃	—	—	—	<0,05
% ₃	—	—	100,0	77,1

Примітки: p₁ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до норми; p₂ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «без МВ»; p₃ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи тварин з ЕМВ.

ної ДНК при ГП на тлі моделі ЦД I типу був підвищений в лейкоцитах крові на 163,0% і в нирках на 80,1%, а при ЦД II типу у лейкоцитах на 122,6%, і в нирках на 56,3%. Тоді як при застосуванні ЕПМВ показник фрагментованості ДНК при ГП з ЦД I типу був підвищений в лейкоцитах крові на 98,8% і в нирках на 41,4%, а при моделі ЦД II типу в лейкоцитах на 42,7%, і в нирках на 20,4%.

Слід підкреслити, що застосування ЕПМВ у тварин з ГП та супутнім прототипом ЦД відносно даних при ЕМВ виявилось ефективним, суттєво знижуючи рівень фрагментованої ДНК: при ЦД I типу в лейкоцитах крові на 24,4% і нирках на 21,5%, при ЦД II типу в лейкоцитах крові на 35,9% і нирках на 22,9% (p<0,05).

Таким чином, беручи до уваги результати наших попередніх біохімічних [22] і морфологічних [20, 21] досліджень можна стверджувати, що розвиток експериментального гострого пієлонефриту, особливо на тлі супутнього гіперглікемічного стану супроводжується морфо-біохімічними змінами, характерними для апоптотичної форми клітинної загибелі. Підвищення рівня низькомолекулярних фрагментів ДНК свідчить про те, що апоптотичні процеси в лейкоцитах крові та нирках спостерігались у групі тварин з ГП, а супутній ЦД обумовлював більш суттєві їх прояви, які, у свою чергу, були виражені більшою мірою при прототипі ЦД I типу, ніж при його II типі.

Застосування ЕМВ та особливо ЕПМВ сприяло розвитку нормалізації рівня фрагментації

ДНК у лейкоцитах крові та тканині нирок шурів при гострому пієлонефриті із супутнім гіперглікемічним станом, що свідчить про ефективність етіопатогенетично орієнтованого медикаментозного впливу щодо ниркових ускладнень ЦД при гострому пієлонефриті в експериментальних умовах.

ВИСНОВКИ

1. При експериментальному гострому пієлонефриті, встановлено суттєве підвищення рівня вмісту фрагментованої ДНК в лейкоцитах крові на 65,4%, і в нирках шурів на 42,0% відносно норми. У тварин з гострим пієлонефритом та супутньою гіперглікемією виявлено збільшення рівня фрагментованої ДНК в лейкоцитах крові (при моделі ЦД I типу на 197,9% і при моделі ЦД II типу на 158,7%) і в нирках шурів (при моделі ЦД I типу на 96,6% і при моделі ЦД II типу на 75,2%) порівняно з нормою.

2. Встановлено, що при гострому пієлонефриті супутній прототип ЦД I типу обумовлював більш виражені патохімічні зміни рівня фрагментованої ДНК, ніж при моделі ЦД II типу: в лейкоцитах крові на 80,0% при ЦД I типу і на 56,4% при супутньому ЦД II типу, в нирках на 38,4% при ЦД I типу і на 23,4% при ЦД II типу, порівнюючи з відповідними даними групи тварин з ГП.

3. Застосування етіопатогенетичного медикаментозного впливу у тварин з ГП та супутнім гіперглікемічним станом сприяло розвитку нормалізації рівня фрагментованої ДНК, знижуючи цей показник при супутньому ЦД I і II типів у нирках на 21,5% і на 22,9% відповідно, порівняно з результатом етіотропного медикаментозного впливу. Відповідні зміни рівня фрагментованої ДНК в лейкоцитах крові при ГП і супутньому ЦД I типу (зменшення на 24,4%) та II типі (зменшення на 35,9%) відносно даних при етіотропному медикаментозному впливі свідчать про більшу ефективність корекції значених патологічних змін стану ДНК при ГП і супутньому ЦД II типу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Программированная клеточная гибель: под ред. проф. В.С. Новикова. СПб: Наука, 1993. 276 с.

2. Туманский В.А., Шебеко Ю.А. Патогенно-индуцированный апоптоз гепатоцитов при хроническом вирусном гепатите: молекулярные механизмы и микроскопическая диагностика. *Патология*. 2008. Т. 5, № 3. С. 29–33.

3. Сухонос Н.К. Роль апоптоза при сочетанном течении хронического обструктивного заболевания легких и сахарного диабета 2-го типа. *Міжнар. мед. журн.* 2017. № 3. С. 22–27.

4. Глухов А.И., Грызунова Г.К., Усай Л.И. и др. Роль апоптоза в патогенезе некоторых критических состояний. *Общая реаниматология*. 2019. Т. 15, № 2. С. 79–98. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-2-79-98.

5. Wang Ch., Youle R.J. The Role of Mitochondria in Apoptosis. *Annu. Rev. Genet.* 2009. Vol. 43. P. 95–118. DOI: 10.1146/annurev-genet-102108-134850.

6. Elliott M.R., Ravichandran K.S. Clearance of apoptotic cells: implications in health and disease. *J. Cell Biol.* 2010. Vol. 189. P. 1059–1070.

7. Walsh C.M., Edinger A.L. The complex interplay between autophagy, apoptosis, and necrotic signals promotes T-cell homeostasis. *Immunol. Rev.* 2010. Vol. 236. P. 95–109.

8. Srichai M.B., Hao Ch., Davis L. et al. Apoptosis of the Thick Ascending Limb Results in Acute Kidney Injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2008. Vol. 19. P. 1538–1546.

9. Комаревцева И.А., Холина Е.А. Содержание фрагментированной ДНК в лимфоцитах больных лимфомами. *Український журнал екстремальної медицини ім. Г.О. Можаяєва*. 2007. Т. 8, № 4. С. 94–95.

10. Белоус Ю. А. Индуцированный ренальный апоптоз и его регуляция при повреждении почки: автореферат дис. ... д-ра мед. наук: 14.03.03. М: [б. и.], 2010. 38 с.

11. Finucane D.M., Waterhouse N.J., Amarante-Mendes G.P. Collapse of the inner mitochondrial transmembrane potential is not required for apoptosis of HL60 cells. *Exp. Cell Res.* 1999. Vol. 251, No. 1. P. 166–174.

12. Орлова Е.А., Комаревцева И.А., Петров Е.Г., Деркач Л.С. О роли оксидантного стресса в развитии апоптоза при экспериментальной острой почечной недостаточности. *Укр. мед. альманах*. 2003. Т. 6, № 1. С. 83–85.

13. Едранов С.С. Апоптоз как фактор организации посттравматического воспаления. *Тихоокеанский мед. журн.* 2012. №2(48). С. 100–104.

14. Дятлова А.С., Дудко А.В., Линькова Н.С., Хавинсон В.Х. Молекулярные маркеры каспаза-зависимого и митохондриального апоптоза: роль в развитии патологии и в процессах клеточного старения. *Успехи современной биологии*. 2018. Т. 138, № 2. С. 126–137.

15. Орлова Е.А., Комаревцев В.Н. Определение фрагментации ДНК в клетках почечной ткани. *Актуальні проблеми акушерства і гінекології. клінічної імунології та медичної генетики*. 2001. № 6. С. 206–207.

16. Байрашева В.К. Моделирование сахарного диабета и диабетической нефропатии в экспе-

рименте. *Современные проблемы науки и образования*. 2015. № 4. DOI: 10.17513/spno.127-21024.

17. Zhang M., Lv X.-Y., Li J., Xu Z.-G., Chen L. The Characterization of High-Fat Diet and Multiple Low-Dose Streptozotocin Induced Type 2 Diabetes Rat Model. *Exp. Diabetes Res*. 2008. DOI: 10.1155/2008/704045.

18. Комаревцева И.А., Холина Е.А. Содержание фрагментированной ДНК в лимфоцитах больных с лимфомами. *Укр. журн. клінічної та лабораторної медицини*. 2008. Т. 3, № 1. С. 67–69.

19. Messmer U.K., Briner V.A., Pfeilschifter J. Basic Fibroblast Growth Factor Selectively Enhances TNF- α – Induced Apoptotic Cell Death in Glomerular Endothelial Cells: Effects on Apoptotic Signaling Pathways. *J. Am. Soc. Nephrol*. 2000. Vol. 11. P. 2199–2211.

20. Borysov S.O., Kostyev F.I., Borysov O.V., Molchanyuk N.I. Electron microscopic diagnostics of apoptosis processes under simulation conditions in the experiment of acute pyelonephritis and concomitant diabetes mellitus type I and II. *Reports of Morphology*. 2018. Vol. 24, No. 1. P. 39–46. DOI: 10.31393/morphology-journal-2018-24(1)-07.

21. Borysov S.O., Kostyev F.I., Borysov O.V., Molchanyuk N.I. Possibility of the treatment effects on the dynamics of apoptosis processes in tissues of kidneys in acute pyelonephritis and comparative diabetes mellitus in the experiment. *Reports of Morphology*. 2018. Vol. 24, No. 2. P. 57–65. DOI: 10.31393/morphology-journal-2018-24(2)-09.

22. Борисов С.О., Костев Ф.І., Борисов О.В. Дослідження активності ферментів антиоксидантної системи в крові та тканинах нирок щурів при моделюванні гострого пієлонефриту та супутнього цукрового діабету II типу. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2019. № 1/1. С. 92–97

REFERENCES

1. Wang Ch., Youle R.J. The Role of Mitochondria in Apoptosis. *Annu. Rev. Genet*. 2009. Vol. 43.

РЕФЕРАТ

Рівень фрагментації тканинної ДНК – діагностичний та лікувальний скрінінг гострого пієлонефриту і цукрового діабету в експерименті

С.О. Борисов, К.О. Борисов

Біохімічні та електронно-мікроскопічні дослідження свідчать про участь апоптозу в патогенезі багатьох патологічних станів, що дозволяє класифікувати програмовану клітинну загибель,

P. 95–118. DOI: 10.1146/annurev-genet-102108-134850.

2. Elliott M.R., Ravichandran K.S. Clearance of apoptotic cells: implications in health and disease. *J. Cell Biol*. 2010. Vol. 189. P. 1059–1070.

3. Walsh C.M., Edinger A.L. The complex interplay between autophagy, apoptosis, and necrotic signals promotes T-cell homeostasis. *Immunol. Rev*. 2010. Vol. 236. P. 95–109.

4. Srichai M.B., Hao Ch., Davis L. et al. Apoptosis of the Thick Ascending Limb Results in Acute Kidney Injury. *J. Am. Soc. Nephrol*. 2008. Vol. 19. P. 1538 – 1546.

5. Finucane D.M., Waterhouse N.J., Amarante-Mendes G.P. Collapse of the inner mitochondrial transmembrane potential is not required for apoptosis of HL60 cells. *Exp. Cell Res*. 1999. Vol. 251, No. 1. P. 166–174.

6. Zhang M., Lv X.-Y., Li J., Xu Z.-G., Chen L. The Characterization of High-Fat Diet and Multiple Low-Dose Streptozotocin Induced Type 2 Diabetes Rat Model. *Exp. Diabetes Res*. 2008. DOI: 10.1155/2008/704045.

7. Messmer U.K., Briner V.A., Pfeilschifter J. Basic Fibroblast Growth Factor Selectively Enhances TNF- α – Induced Apoptotic Cell Death in Glomerular Endothelial Cells: Effects on Apoptotic Signaling Pathways. *J. Am. Soc. Nephrol*. 2000. Vol. 11. P. 2199–2211.

8. Borysov S.O., Kostyev F.I., Borysov O.V., Molchanyuk N.I. Electron microscopic diagnostics of apoptosis processes under simulation conditions in the experiment of acute pyelonephritis and concomitant diabetes mellitus type I and II. *Reports of Morphology*. 2018. Vol. 24, No. 1. P. 39–46. DOI: 10.31393/morphology-journal-2018-24(1)-07.

9. Borysov S.O., Kostyev F.I., Borysov O.V., Molchanyuk N.I. Possibility of the treatment effects on the dynamics of apoptosis processes in tissues of kidneys in acute pyelonephritis and comparative diabetes mellitus in the experiment. *Reports of Morphology*. 2018. Vol. 24, No. 2. P. 57–65. DOI: 10.31393/morphology-journal-2018-24(2)-09.

РЕФЕРАТ

Уровень фрагментации тканевой ДНК – диагностический и лечебный скрининг острого пиелонефрита и сахарного диабета в эксперименте

С.А. Борисов, К.А. Борисов

Биохимические и электронно-микроскопические исследования свидетельствуют об участии апоптоза в патогенезе многих патологических состояний, что позволяет классифицировать програм-

як універсальний загальнопатологічний процес раннього розвитку численних захворювань та синдромів з наявністю всього комплексу клінічних проявів. Особливості шляхів апоптичної внутрішньоклітинної сигналізації та зміни у внутрішньоклітинних мішенях сприяють розвитку деструктивних процесів у клітині і завершуються руйнуванням геномної ДНК з подальшим клітинним фагоцитозом. Метою роботи було вивчення рівня фрагментації ядерної ДНК у клітинах периферичної крові і нирках щурів при медикаментозному впливі на перебіг гострого пієлонефриту та супутнього йому гіперглікемічного стану (прототип цукрового діабету) в умовах експерименту.

Порівнюючи з даними норми, слід зауважити, що у щурів з ГП при гіперглікемічному стані рівень фрагментованості ДНК був більш високим при етіотропному медикаментозному впливі, ніж при застосуванні етіотропно-патогенетичного медикаментозного впливу. Так, при ЕМВ рівень фрагментованої ДНК при ГП на тлі моделі ЦД I типу був підвищений в лейкоцитах крові на 163,0% і в нирках на 80,1%, а при ЦД II типу в лейкоцитах на 122,6%, і в нирках на 56,3%. Тоді як при застосуванні ЕПМВ показник фрагментованості ДНК при ГП з ЦД I типу був підвищений в лейкоцитах крові на 98,8% і в нирках на 41,4%, а при моделі ЦД II типу в лейкоцитах на 42,7%, і в нирках на 20,4%.

Слід підкреслити, що застосування ЕПМВ у тварин з ГП та супутнім прототипом ЦД відносно даних при ЕМВ виявилось ефективним, суттєво знижуючи рівень фрагментованої ДНК, знижуючи цей показник при моделях ЦД I і II типів у нирках на 21,5% і на 22,9% відповідно, порівняно з результатом етіотропного медикаментозного впливу.

Ключові слова: гострий пієлонефрит, клітини крові, тканина нирки, апоптоз, ДНК, цукровий діабет, етіотропно-патогенетичний вплив.

мируемую клеточную смерть, как универсальный общепатологический процесс раннего развития многочисленных заболеваний и синдромов с наличием всего комплекса клинических проявлений. Особенности путей апоптических внутренних сигналов и изменений во внутриклеточных процессах способствуют развитию деструктивных процессов, в клетке, завершается разрушением геномной ДНК с дальнейшим клеточным фагоцитозом. Целью работы было изучение уровня фрагментации ядерной ДНК в клетках периферической крови и почках крыс при медикаментозном воздействии на течение острого пиелонефрита и сопутствующего ему гипергликемического состояния (прототип сахарного диабета) в условиях эксперимента.

По сравнению с данными нормы, следует заметить, что у крыс с ОП при гипергликемическом состоянии уровень фрагментированности ДНК был более высоким при этиотропном медикаментозном воздействии, чем при применении этиотропно-патогенетического медикаментозного воздействия. Так, при ЭМВ уровень фрагментированной ДНК при ОП на фоне модели СД I типа был повышен в лейкоцитах крови на 163,0% и в ткани почек на 80,1%, а при СД II типа в лейкоцитах на 122,6%, и в почках на 56,3%. Тогда как при применении ЕПМВ показатель фрагментированности ДНК при ОП с СД I типа был повышен в лейкоцитах крови на 98,8% и в ткани почек на 41,4%, а при модели СД II типа в лейкоцитах на 42,7%, и в почках на 20,4%. Следует подчеркнуть, что применение ЕПМВ у животных с ОП и сопутствующим прототипом СД относительно данных при ЭМВ оказалось эффективным, существенно снижая уровень фрагментированной ДНК, снижая этот показатель при моделях СД I и II типов в почках на 21,5% и на 22,9% соответственно по сравнению с результатом этиотропного медикаментозного воздействия.

Ключевые слова: острый пиелонефрит, клетки крови, ткань почки, апоптоз, ДНК, сахарный диабет, этиотропно-патогенетическое влияние.