

УДК 616-008.853.4 + 576.315.42 + 616-076.5 + 616.611-002
 © Камінський В.Я., 2012

ОЦІНКА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ХРОМАТИНУ НЕЙТРОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТІВ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ХРОНІЧНОЮ ХВОРОБОЮ НИРОК, ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ Камінський В.Я.

Івано-Франківський національний медичний університет

Поширення в світі хронічної хвороби нирок (ХХН) вважається тихою епідемією, оскільки приблизно кожен десятий житель планети в дорослому віці має вказану патологію [4], хоча досить часто вона клінічно не проявляється. Значну частину ХХН складає гломерулонефрит (ГН) [6], який залишається актуальною проблемою нефрології. В його розвитку та прогресуванні вагому роль відіграють імункомпетентні клітини, в тому числі й нейтрофільні гранулоцити [5]. Вивчення функціонального стану хроматину (ФСХ) нейтрофільних гранулоцитів є важливим етапом встановлення тяжкості перебігу та прогнозування захворювання [1], але при хронічному ГН таке дослідження не проводилося.

Метою даної роботи стало вивчення особливостей ФСХ нейтрофільних гранулоцитів пацієнтів із ХХН, ГН за індексами хроматизації, статевого хроматину, ядерцевим та морфологічно змінених ядер.

Матеріал і методи дослідження. Обстежено 75 хворих на ХХН, ГН (38 чоловіків та 37 жінок) віком від 19 до 64 років, середній вік становив (38,7±9,8) року. Діагноз встановлювали згідно з рекомендованими критеріями (наказ МОЗ України № 593 від 12.12.2004 року). Для верифікації морфологічної форми захворювання хворим проводили пункційну біопсію нирки за допомогою біопсійного пістолету та одноразових голок фірми Bard Magnum з наступним дослідженням ниркового біоптату методиками світлової й електронної мікроскопії та імуногістохімії. До контрольної групи ввійшли 30 практично здорових людей, відповідних за віком та статтю до групи хворих.

Для цитогенетичного дослідження виготовляли мазки периферійної крові, які після ви-

сушування і фіксації забарвлювали за Фольгеном у відповідній модифікації [2]. Виявлення змін ФСХ нейтрофільних гранулоцитів проводили за аналізом інтерфазних ядер. Препарати досліджували методом світлової мікроскопії за допомогою оптико-електронного комплексу Метаскан-2. У кожному препараті вивчали по 100 інтерфазних ядер з наступною оцінкою їх структурних характеристик: 1) індекс хроматизації (ІХ) – співвідношення кількості ядер із перевагою еухроматину до таких із перевагою гетерохроматину; 2) ядерцевий індекс (ЯІ) – відсоток клітин із ядерцем; 3) індекс статевого хроматину (СХ) – відсоток клітин із гетеропікнотичною Х-хромосомою; 4) індекс морфологічно змінених ядер (МЗЯ) – відсоток клітин із морфологічними змінами каріоплазми та/або каріолеми.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою пакета прикладних програм Statistica 6.1. Нормальність розподілу кількісних ознак перевіряли з використанням критерію Шапіро-Уїлка. Для ознак, що мають розподіл, відмінний від нормального, обчислювали медіани й інтерквартильні інтервали. Дані в таблиці представлені у вигляді медіани, 25-го й 75-го квантилів – Me (25 %; 75 %). Для порівняння двох незалежних груп за однією ознакою застосовували непараметричний критерій Манна-Уїтні. Для вивчення взаємозв'язку двох ознак використали кореляційний аналіз за Спірменом. Критичний рівень статистичної значущості вважали рівним 5 %.

Результати дослідження та їх обговорення. Порівняльним аналізом показників ФСХ нейтрофільних гранулоцитів у хворих на ХХН, ГН та у практично здорових людей було виявлено низку статистично значущих відмінностей (табл. 1).

Таблиця 1. Цитологічні показники нейтрофільних гранулоцитів крові обстежених пацієнтів, Me (25 %; 75 %)

Індекси	Практично здорові			Хворі на хронічну хворобу нирок, гломерулонефрит		
	обидві статі (n=30)	чоловіки (n=15)	Жінки (n=15)	обидві статі (n=75)	чоловіки (n=38)	Жінки (n=37)
Хроматизації, ум.од.	1,17 (0,88; 1,29)	1,23 (0,89; 1,37)	1,02 (0,81; 1,27)	0,81 (0,63; 1,16) *	0,81 (0,62; 1,16) *	1,04 (0,83; 1,19) #
Ядерцевий, %	5,83 (4,12; 8,26)	7,08 (4,05; 8,26)	5,49 (4,12; 8,43)	11,88 (8,61; 13,18) ***	11,68 (8,61; 13,18) ***	8,32 (7,06; 11,68) ##
Статевого хроматину, %	–	6,26 (4,29; 7,97)	37,28 (25,64; 41,29)	–	1,25 (6,83; 17,71) **	22,93 (17,94; 26,44) *** ##
Морфологічно змінених ядер, %	8,37 (4,15; 10,07)	8,45 (3,85; 9,86)	8,29 (4,28; 11,72)	28,55 (20,84; 42,61) ***	29,09 (20,84; 42,84) ***	30,79 (18,71; 39,68) ***

Примітки: 1. Статистична значущість відмінностей показників згідно статі у групі хворих порівняно з групою практично здорових: * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001. 2. Статистична значущість відмінностей показників у чоловіків порівняно з жінками у групі хворих на ХХН, ГН: # p<0,05; ## p<0,01; ### p<0,001.

Відомо, що стан компактизації хроматину є цитологічним відображенням функції геному [3]. Так, ІХ вказує на активність транскрипції – першого етапу реалізації спадкової інформації. У практично здорових людей процеси деконденсації хроматину переважали у чоловіків. У пацієнтів також спостерігався статевий диморфізм щодо ІХ: порівняно із практично здоровими особами у хворих чоловіків – статистично значуще зниження, тоді як у жінок вірогідних змін не виявлено. Зафіксовані зміни можна пояснити за рахунок більш виражених компенсаторних можливостей метаболізму клітин у хворих жінок порівняно із такими у чоловіків.

Другим етапом дослідження було вивчення активності ядерцевого апарату. ЯІ у практично здорових людей також виявився вищим у чоловіків, аніж у жінок, що вказує на узгодженість у кожній статі між транскрипцією та синтезом поліпептиду. У хворих на ХХН, ГН виявлено статистично значуще підвищення ЯІ порівняно з практично здоровими особами, причому в чоловіків більш виражене, ніж у жінок. Оскільки у хворих чоловіків спостерігалось гальмування деконденсації хроматину,

що опосередковано вказує на швидкість зчитування інформації з ДНК, то компенсаторно для забезпечення необхідної для клітини кількості білка активуються трансляційні процеси (посилюється активність ядерця).

Водночас доведено зниження індексу СХ у жінок і його підвищення у чоловіків, що може бути свідченням порушення контролю експресії генів на основі пригнічення регуляторних сайтів Х-хромосоми в усіх обстежених пацієнтів.

Реалізація спадкової інформації безпосередньо залежить і від цілісності каріолеми, наявності внутрішньоядерних везикул, тобто від морфологічних змін компонентів ядра. Індекс МЗЯ статистично значуще підвищувався в усіх пацієнтів порівняно з практично здоровими особами, що в результаті змінювало конденсацію хроматину та процеси транскрипції. Однак за даним індексом вірогідної різниці між статями не спостерігалось.

При поділі хворих на дві групи залежно від наявного у них синдрому (сечового або нефротичного) також було виявлено статистично значущі відмінності ФСХ нейтрофільних гранулоцитів (табл. 2).

Таблиця 2. Цитологічні показники нейтрофільних гранулоцитів крові пацієнтів залежно від клінічного синдрому, Me (25 %; 75 %)

Індекси	Хворі із сечовим синдромом			Хворі із нефротичним синдромом		
	обидві статі (n=46)	чоловіки (n=22)	Жінки (n=24)	обидві статі (n=29)	Чоловіки (n=16)	Жінки (n=13)
Хроматизації, ум.од.	1,05 (0,80; 1,29)	0,98 (0,71; 1,29)	1,05 (0,84; 1,27)	0,82 (0,62; 1,12) ** @	0,65 (0,51; 0,97) ** @@	1,04 (0,82; 1,16) #
Ядерцевий, %	11,15 (7,61; 12,68) ***	12,46 (8,61; 13,36) ***	8,41 (7,20; 11,68) ** #	10,23 (7,30; 12,09) ***	11,16 (8,52; 12,38) ***	7,91 (7,04; 12,05) *
Статевого хроматину, %	–	7,35 (5,31; 16,09)	24,24 (21,23; 28,57) * ###	–	16,15 (9,36; 23,42) *** @@	17,63 (12,98; 21,68) ** @@
Морфологічно змінених ядер, %	28,51 (14,71; 37,53) ***	28,41 (18,51; 39,51) ***	29,11 (13,88; 35,55) ***	38,92 (22,64; 46,81) *** @	38,35 (22,25; 47,64) ***	38,92 (24,62; 44,76) ***

Примітки: 1. Статистична значущість відмінностей показників згідно статі у кожній групі хворих порівняно з групою практично здорових: * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001; 2. Статистична значущість відмінностей показників у чоловіків порівняно з жінками у кожній групі хворих: # p<0,05; ## p<0,01; ### p<0,001; 3. Статистична значущість відмінностей показників згідно статі у групах хворих із різними синдромами: @ p<0,05; @@ p<0,01.

У пацієнтів із сечовим синдромом вірогідних змін ІХ зафіксовано не було. Водночас у хворих на нефротичний синдром статистично значуще зниження цього індексу спостерігалось лише у чоловіків. Порівнянням ІХ у пацієнтів із різними синдромами не виявлено вірогідної різниці у жінок, а у чоловіків із нефротичним синдромом вказаний показник значуще зменшувався порівняно із таким при сечовому синдромі. Отримані зміни ІХ пов'язані з важчим станом хворих на нефротичний синдром і відповідно вираженішими у них порушеннями процесів декомпактизації хроматину з наступною транскрипцією.

Статистично вагоме підвищення ЯІ відзначалося у пацієнтів з обома синдромами, причому суттєвіше при сечовому синдромі. Це може свідчити про певне виснаження компен-

саторної активації біосинтетичних процесів у хворих на нефротичний синдром. При обох синдромах більш значущі зміни ЯІ спостерігалися у чоловіків, аніж у жінок.

Індекс СХ статистично вагомо відрізнявся від практично здорових людей у жінок із сечовим синдромом та у пацієнтів обох статей із нефротичним синдромом. Водночас значущу різницю між чоловіками та жінками було відзначено лише у хворих на сечовий синдром та при порівнянні статей з різними синдромами.

Статистично більш значуще підвищення індексу МЗЯ зафіксовано у пацієнтів із нефротичним синдромом, що зумовлено вираженішими порушеннями організму та важчим ураженням структур нирок при нефротичному синдромі порівняно із сечовим.

Підсумовуючим етапом роботи було про-

ведення кореляційного аналізу між різними показниками ФСХ. Так, у хворих чоловіків виявлено негативний кореляційний зв'язок середньої сили між ІХ та ЯІ ($r=-0,48$; $p<0,01$), що свідчить про компенсаторну узгодженість між гетерохроматизацією та активністю ядерцевого апарату. У цих же пацієнтів спостерігалось порушення контролюючої функції відповідних локусів Х-хромосоми, що доводить середня позитивна кореляція між ЯІ та СХ ($r=0,40$; $p<0,05$). У хворих жінок зафіксовано позитивний кореляційний зв'язок середньої сили між ЯІ та МЗЯ ($r=0,37$; $p<0,05$), що підтверджує компенсаторне зростання ролі ядерцевого апарату при збільшенні кількості морфологічно змінених ядер.

Висновки: У хворих на ХХН, ГН виявлено зміни усіх цитогенетичних характеристик нейтрофільних гранулоцитів. Цитологічне дослідження забезпечує отримання об'єктивної

оцінки біосинтетичних процесів, їх особливостей залежно від статі пацієнтів та переважаючого синдрому захворювання. Пригнічення декомпактизації хроматину, виявлене за зменшенням ІХ, компенсувалося зростанням активності ядерцевого апарату, що засвідчено негативною кореляцією між цими показниками. Встановлено статистично вагоме збільшення кількості МЗЯ в усіх обстежених пацієнтів порівняно з таким у здорових людей, що гальмувало функціональну активність генотипу клітин.

Перспективи подальших досліджень полягатимуть у пошуку нових лікарських засобів, які би могли позитивно впливати на зміненій ФСХ нейтрофільних гранулоцитів у хворих на ХХН, ГН, та на основі вже отриманих базових показників оцінювати ефективність лікування.

ЛІТЕРАТУРА:

1. **Кукурудз Н.І.** Вивчення порушень функціонального стану геному нейтрофільних гранулоцитів периферійної крові у хворих на генералізований пародонтит та їх корекція амізоном / Н. І. Кукурудз, Л. Є. Ковальчук, В. І. Герелюк // Гал. лік. вісник. – 2006. – Т. 13, № 4. – С. 43–45.
2. Раціоналізаторська пропозиція № 30/2319. Виявлення ДНК в цитологічних препаратах / Л.Є. Ковальчук, Н.В. Ковальчук, В.І. Ілик. – Івано-Франківськ, 1997.
3. **Тепляков А.И.** Топография интерфазного хроматина нейтрофильных гранулоцитов при атеросклерозе: еще одно подтверждение экспрессии генов для завершения ими функциональной про-

граммы // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2004. – № 2. – С. 40–43.

4. **Daivids M.R.** Chronic kidney disease – the silent epidemic // Continuing Medical Education. – 2007. – Vol. 25, № 8. – P. 378–382.

5. **Mayadas T.N.** Neutrophils: game changers in glomerulonephritis? / T. N. Mayadas, F. Rosetti, T. Hernandez // Trends in Molecular Medicine. – 2010. – Vol. 16 (8). – P. 368–378.

6. **McGrogan A.** The incidence of primary glomerulonephritis worldwide: a systematic review of the literature / A. McGrogan, F. M. Franssen, S. V. Corinne // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2011. – № 26. – P. 414–430.

Камінський В.Я. Оцінка функціонального стану хроматину нейтрофільних гранулоцитів у пацієнтів із хронічною хворобою нирок, гломерулонефритом // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 3. – С. 83–85.

Провівши аналіз функціонального стану хроматину нейтрофільних гранулоцитів у хворих на хронічну хворобу нирок, гломерулонефрит, ми виявили його порушення залежно від статі пацієнтів та переважаючого синдрому захворювання.

Ключові слова: нейтрофільні гранулоцити, хроматин, цитологічне дослідження, хронічна хвороба нирок, гломерулонефрит.

Каминский В.Я. Оценка функционального состояния хроматина нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с хронической болезнью почек, гломерулонефритом // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 3. – С. 83–85.

При проведенні аналізу функціонального стану хроматина нейтрофільних гранулоцитів у больних хронічною болезнью почек, гломерулонефритом обнаружено его нарушения в зависимости от пола пациентов и преобладающего синдрома заболевания.

Ключевые слова: нейтрофильные гранулоциты, хроматин, цитологическое исследование, хроническая болезнь почек, гломерулонефрит.

Kaminsky V.Ya. Evaluation of the functional state of neutrophils' chromatin in patients with chronic kidney disease, glomerulonephritis // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 3. – С. 83–85.

After spending analysis of the functional state of neutrophils' chromatin in patients with chronic kidney disease, glomerulonephritis we found its violations, depending on the patient's sex and the predominant syndrome of the disease.

Key words: neutrophils, chromatin, cytological study, chronic kidney disease, glomerulonephritis.

Надійшла 13.03.2012 р.
Рецензент: проф. Ю.Г.Бурмак