

УДК 616.611-002-053.2+612.013

РОЛЬ АПОПТОЗУ В ПРОГРЕСУВАННІ ХРОНІЧНОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТУ У ДІТЕЙ

В.Г. Майданник¹, Є.А. Бурлака^{1,2}, І.В. Багдасарова³,
С.П. Фомина³, В.М. Непомнящий³

¹ Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна
² Каролінський інститут (Karolinska Institutet, Department of Women's and Children's Health),
Стокгольм, Швеція ЗДУ «Інститут нефрології АМН України», Київ, Україна

Роль апоптоза в прогрессировании хронического гломерулонефрита у детей

Майданник В.Г.¹, Бурлака Е.А.^{1,2}, Багдасарова І.В.³, Фомина С.П.³, Непомнящий В.М.³

¹ Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

² Каролинский институт, Стокгольм, Швеция

³ ГУ «Институт нефрологии НАМН Украины», Киев, Украина

Целью настоящей работы явилось исследование состояния системы контроля апоптоза при хроническом гломерулонефрите (ХГН) у детей. Обследовано 50 детей (от 5 до 18 лет) с активной стадией нефротической формы ХГН и различной степенью нарушения функции почек - хронического заболевания почек (ХЗП). Исследование уровней фактора антиапоптозной защиты Bcl-xL и проапоптозного фактора Bax проводили с использованием метода Western Blotting в плазме крови и суспензии нейтрофилов. Иммуногистохимически определение экспрессии факторов системы контроля апоптоза определяли на биотическом материале почек детей с морфологической формой хронического гломерулонефрита фокальный сегментарный гломерулосклероз. Показано снижение уровня экспрессии антиапоптозного фактора Bcl-xL и повышение экспрессии проапоптозного фактора Bax у всех детей с ХГН. Обнаружена зависимость изменения уровней Bcl-xL и Bax от степени нарушения функции почек. При сохранной функции почек (ХЗП I) экспрессия Bcl-xL снижена до $75,1 \pm 2,2\%$, при ХЗП II-III ст. - до $60,1 \pm 1,8\%$ ($p < 0,01$ и $p < 0,001$, соответственно, в сравнении с группой Контроля). При ХЗП I ст. экспрессия Bax была повышена до $60,3 \pm 7,5\%$, при ХЗП II-III ст. - до $90,1 \pm 9,8\%$ ($p < 0,01$ и $p < 0,001$, соответственно, в сравнении с группой Контроля). У детей с ХГН и протеинурией, степень дисбаланса активности Bax и Bcl-xL был более выраженным в сравнении с пациентами без протеинурии. Иммуногистохимически обнаружено, что у пациентов с морфологическим вариантом ХГН фокальный сегментарный гломерулосклероз высокий уровень экспрессии Bax локализуется преимущественно в клубочках; экспрессия Bcl-xL отсутствует в клубочках с низким уровнем в канальцах. Таким образом, у детей с ХГН важную роль в развитии нарушений функции нефрона играет апоптоз, который возникает в результате нарушения баланса активности про- и антиапоптозных факторов. Выявлена зависимость степени нарушения баланса активности факторов системы контроля апоптоза от нарушения функции почек.

Ключевые слова: хронический гломерулонефрит, апоптоз, Bcl-xL, Bax.

Role of apoptosis in chronic glomerulonephritis progression in children

Maidanyk V.G.¹, Burlaka E.A.^{1,2}, Bagdasarova I.V.³, Fomina S.P.³, Nepomnyaschiy V.M.³

¹ A.A. Bohomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

² Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden

³ State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine

To investigate the condition of the system of apoptosis control in children with chronic glomerulonephritis (CG). The study involved 50 children (aged 5 to 18 years) with active stage of nephrotic type of chronic glomerulonephritis and different degrees of renal dysfunction - chronic kidney disease (CKD). Analysis of the anti-apoptotic factor Bcl-xL and proapoptotic factor Bax levels in plasma samples and suspensions of neutrophils has been performed using Western Blotting. Immunohistochemical analysis of expression of factors determining condition of system controlling apoptosis was done in kidneys biopsies of children with morphological form of CG - focal segmental glomerulosclerosis. Significantly decreased expression of the antiapoptotic factor Bcl-xL and increased expression of the apoptotic factor Bax in all children with chronic glomerulonephritis were determined. The dependence of Bcl-xL and Bax levels on stage of renal dysfunction has been evaluated. When preserved kidney function (CKD I) expression of Bcl-xL decreased to $75.1 \pm 2.2\%$, in CKD II-III group - up to $60.1 \pm 1.8\%$ ($p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively, compared to Control group). In CG and CKD I Bax expression was increased to $60.3 \pm 7.5\%$ compared to Controls, in CKD II-III group increase rate was $90.1 \pm 9.8\%$ ($p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively, compared to Control group). In children with CG and proteinuria the degree of imbalance of activity and Bax Bcl-xL was more pronounced compared to patients without proteinuria. Immunohistochemical studies revealed that patients with a morphological type of GN focal segmental glomerulosclerosis high level of proapoptotic factor Bax presented mainly in glomeruli, while antiapoptotic factor Bcl-xL is not present in glomeruli with low expression in tubuli. Thus in children with CG important role in development of nephron function disorders plays apoptosis, which occurs as a result of imbalance of pro- and antiapoptotic factors activity. The imbalance of activity of factors controlling apoptosis is dependent on degree of renal dysfunction.

Keywords: chronic glomerulonephritis, apoptosis, Bcl-xL, Bax.

Адреса для кореспонденції:

Бурлака Євгенія Анатоліївна – к.м.н., асистент кафедри педіатрії №4 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; evgenija.burlaka@rambler.ru

Апоптоз є запрограмованою смертю клітини та механізмом їх делеції, що за фізіологічних умов бере участь в процесах відновлення тканин, ембріогенезі, гормон-залежній атрофії. Процес розвитку апоптозу перебуває під контролем активаторних сигналів, які можуть діяти як позаклітинно (зовнішні індуктори) або внутрішньоклітинно (внутрішні індуктори). Позаклітинні сигнали включають в себе токсини, гормони, фактори росту, радикальні форми кисню (1).

Апоптоз супроводжує життєдіяльність усіх органів та систем організму. Його позитивний вплив реалізується, зокрема, при елімінації клітин в зонах гіперцелюлярності, що виникають при гострому запаленні, фізіологічному ремодельованні тканин. Рівні апоптозу зростають при ряді захворювань. При захворюваннях нирок, що супроводжуються хронічним запаленням, високі рівні апоптозу є причиною гіпоцелюлярного фіброзування, що призводить до порушення їх функції (1,2).

Контроль апоптозу визначається рівнем активності факторів про- та антиапоптозного впливу (3). Зміщення балансу у бік зростання активності проапоптозних факторів відбувається під впливом таких ініціальних чинників, як клітинна гіпоксія, окисний стрес, запалення (Рис.1).

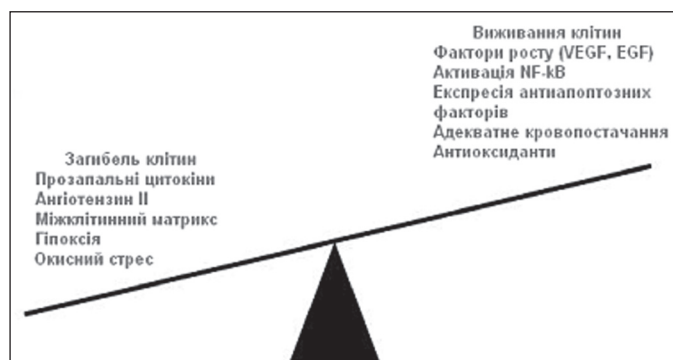


Рис. 1. Система контролю апоптозу.

Хронічний гломерулонефрит (ХГН) належить до патологій, що супроводжуються персистентним запаленням. Прогресування втрати функції нирок при гломерулярних захворюваннях залежить від факторів, що прискорюють порушення їх функції, зокрема - гіпертензія, протеїнурія, метаболічні порушення (4-6).

Протеїнурія при гломерулярних захворюваннях нирок є результатом пошкодження фільтраційного бар'єра. Крім того, вона є фактором, що безпосередньо сприяє прогресуванню пошкодження нирок, а не лише пасивним маркером гломерулярних пошкоджень (7). Протеїнурія може сприяти прогресивному пошкодженню нирок, викликаючи, крім гломерулярних пошкоджень, тубулоінтерстиційні пошкодження за рахунок ініціації ряду клітинних пошкоджень та змін їх оточення, зокрема апоптозу (7,8).

Найбільш ефективні заходи в лікуванні ХГН включають, головним чином, контроль артеріальної гіпертензії

та протеїнурії, зокрема блокада ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (РААС) та ангіотензин-перетворюючого ферменту (АПФ) та/або рецепторів ангіотензину 1 (АТ1) (9). Незважаючи на ці заходи, у багатьох хворих втрата функції нирок відбувається за рахунок як прогресування гломерулярних, так і тубулоінтерстиційних порушень під впливом протеїнурії. Дослідження молекулярних процесів, що лежать в основі порушення функції нирок під впливом протеїнурії, та морфологічних субстратів пошкодження, вимагають додаткового дослідження з метою створення нових підходів до лікування.

Мета роботи – дослідити стан системи контролю апоптозу при ХГН у дітей.

Матеріал та методи. Дизайн дослідження – одномоментне (cross-sectional study), об'єкт – 50 пацієнтів (віком від 5 до 18 років) з активною стадією нефротичної форми ХГН, які перебували на стаціонарному лікуванні в клініці дитячої нефрології ДУ «Інститут нефрології АМН України» (клінічна база – ДКЛ №7 м. Києва) в 2009-2011 роках. Стан КФ було оцінено з використанням стандартної формули Шварца в мл/хв/1,73 м².

Залежно від стану функції нирок хворі були розподілені на групи: ХЗН I (швидкість КФ ≥ 90 мл/хв/1,73 м²) – n=25, ХЗН II-III (швидкість КФ 30-89 мл/хв/1,73 м²) – n=17. Пацієнти зі швидкістю КФ < 30 мл/хв/1,73 м² були виключені з дослідження.

Комплекс обстеження, окрім загальноприйнятих методик (огляд, моніторинг артеріального тиску, загальний та біохімічний аналізи крові, визначення добової протеїнурії, вивчення сечового осаду та концентраційної спроможності нирок, УЗД органів черевної порожнини тощо), включав визначення показників у крові хворих, які є маркерами клітинної гіпоксії та хронічного запалення.

Визначення рівнів факторів антиапоптозного захисту Bcl-xL та проапоптозного фактора Bax проводили з використанням методу Western Blotting. Для підготовки зразків плазму та суспензію нейтрофілів хворих розводили в буфері (50 мМ Tris/HCl (pH 7,4), 50 мМ NaCl, 1 мМ EDTA, 0,5 мМ дитіотреїтол, 0,5% деоксихлорат натрію, 1,5% NP-40, 1 мМ фенілметилсульфоніла флюорит) у співвідношенні 1:100. До зразка додавали інгібітори протеаз (Protease cocktail inhibitor, Roche Diagnostics, USA) в співвідношенні 1:1000 до кінцевого об'єму. Розрахунок об'єму зразків при нанесенні в гель для електрофорезу виконано з урахуванням концентрації загального білка плазми обстежених та суспензії клітин за методом Бредфорда (Bio-Rad protein assay, США).

Електрофорез зразків проводили в 12,5% поліакриламідному гелі з наступним трансфером на полівінілдендифлюоридні мембрани та блокуванням мембран в 5% знежиреному молоці на TBS-T (136 мМ NaCl, 10 мМ Tris, 0,05% Tween 20). Інкубацію з первинними антитілами (Rabbit anti-Bax-3Ab, BD Transduction Laboratories, та

Rabbit anti-Bcl-xL Ab, Cell Signaling) у співвідношенні 1:500 проводили протягом 12 годин при температурі 4°C. В якості вторинних антитіл використовували Anti-mouse, anti-rabbit horseradish peroxidase Ab (GE Healthcare) в концентрації 1:3000 з інкубуванням протягом 1 години при кімнатній температурі. Після відмивання мембран за допомогою TBS-T проведено візуалізацію білків з використанням хемілюмінесцентного субстрату ECL (GE Healthcare). Для контролю об'єму зразків, нанесених в гель при електрофорезі, використано β-актин.

Імуногістохімічне визначення експресії факторів системи контролю апоптозу визначали на біотичному матеріалі дітей з морфологічною формою хронічного гломерулонефриту фокальний сегментарний гломерулосклероз. Зрізи тканини нирок були відмиті від парафіну, дегідратовані. В якості первинних антитіл використовували поліклональні анти-Bcl-xL (розведення 1: 200) та анти-Bax (розведення 1:200). В якості вторинних флуоресцеїн вмісних вторинних антитіл використовували Alexa 546 Ab (Invitrogen, USA, розведення 1:500). Ядра клітин візуалізувались за допомогою 4,6-діаміно-2-феніліндолу (DAPI, 1,5 мг/мл), що додавався з фосфатним буфером при останньому відмиванні зрізів. Перед мікроскопією скельця з клітинами покривались Immu-Mount (Thermo Shandon, Midland, Canada).

Отримання знімків проводилось з використанням Leica TCS SP інвертованого скануючого лазерного конфокального мікроскопа з використанням x40/1.4 N.A. олійно-імерсійного об'єктива. Знімки були опрацьовані з використанням програмного забезпечення Leica. Оптична товщина зрізу становила 1-2 мкм.

Матеріал опрацьовано з використанням методів варіаційної статистики (STATISTICA 6.0) та непараметричних статистичних підходів (Mann-Whitney test). Результати представлено як Mean±SEM, статистично достовірним вважався рівень P<0.05.

Результати та обговорення. Дослідження стану антиапоптозного захисту при ХГН у дітей виявило значне зниження рівня експресії фактора Bcl-xL. При цьому ступінь інгібування антиапоптозного захисту при ХГН залежить від наявності порушення функції нирок. Так, при збереженій функції (ХЗН I ст.) експресію Bcl-xL було знижено до 75.1±2.2%, порівняно з контролем. При зниженні КФ (ХЗН II-III ст.) спостерігалось зниження рівня показника до 60.1±1.8% (p<0.01 та p<0.001, відповідно, в порівнянні з групою контролю) (рис.1).

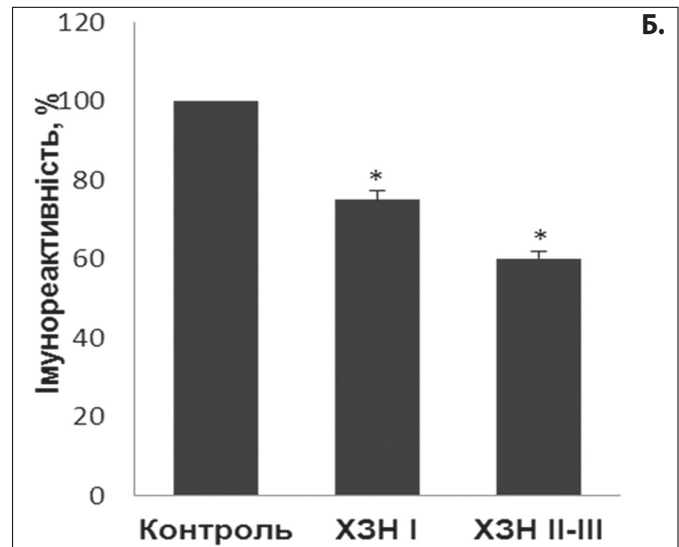
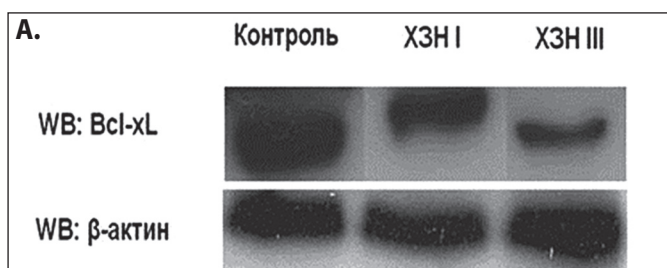


Рис. 1. Рівні антиапоптозного захисту у дітей з ХГН. А – рівні Bcl-xL; Б – імунореактивність Bcl-xL; * - P<0,05.

Дослідження рівня активації проапоптозного фактора при ХГН у дітей виявило значне підвищення експресії Bax. При цьому ступінь активації залежить від наявності порушення функції нирок. Так, при збереженій функції (ХЗН I ст.) експресія Bax була підвищена до 60.3±7.5%, порівняно з контролем. При зниженні КФ (ХЗН II-III ст.) спостерігалось підвищення рівня показника на 90.1±9.8% (p<0.01 та p<0.001, відповідно, в порівнянні з групою контролю) (рис. 2).

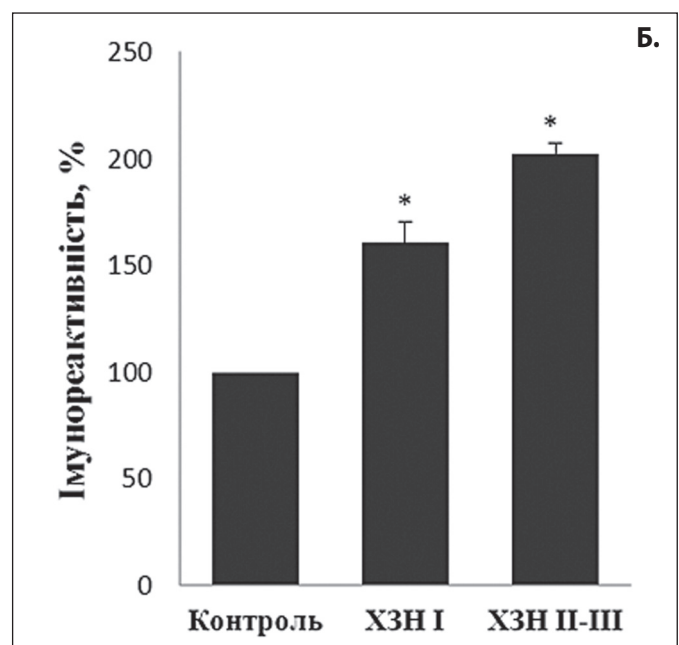
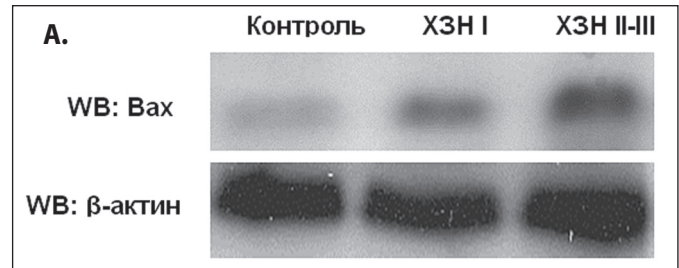


Рис. 2. Рівні активності Bax у дітей з ХГН. А – рівні Bax; Б – імунореактивність Bax; * - P<0,05.

Виявлено, що у дітей з ХНГ та наявністю протеїнурії, ступінь дисбалансу активності Вах та Bcl-xL був більш вираженим порівняно з пацієнтами, що не мали протеїнурію. Дані обстежених з протеїнурією нормалізовані до показників обстежених без протеїнурії (рис. 3).

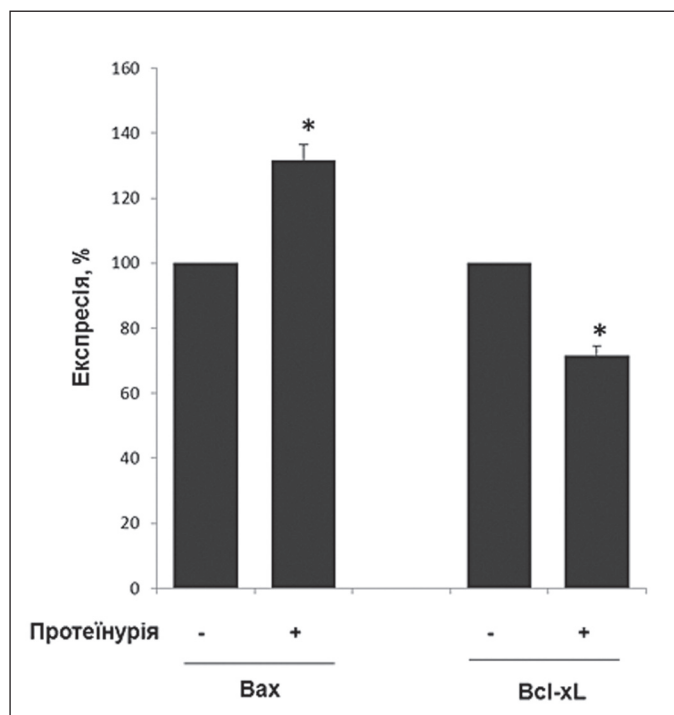


Рис.3. Показники про- та антиапоптозних факторів при ХНГ в залежності від протеїнурії.

Було проаналізовано рівні експресії та топічну локалізацію Вах та Bcl-xL у пацієнтів з морфологічним варіантом хронічного гломерулонефриту фокальний сегментарний гломерулосклероз. Виявлено високий рівень експресії проапоптозного фактора Вах переважно в клубочках (рис. 4А). При цьому експресія фактора антиапоптозного захисту Bcl-xL була відсутня в клубочках з низьким рівнем експресії в канальцях (рис. 4Б).

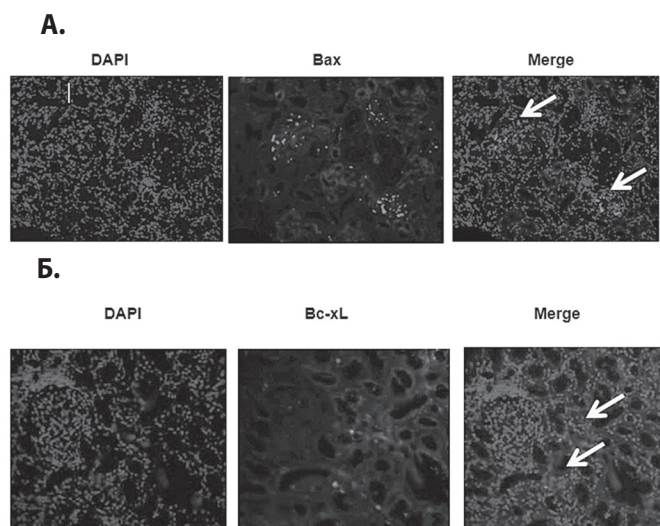


Рис.4. Експресія факторів системи контролю апоптозу у дітей з хронічним гломерулонефритом. DAPI – візуалізація ядер клітин. Merge – сумісне зображення.

Патоморфологічні зміни тканин нирок при прогресуванні хронічного гломерулонефриту характеризуються такими основними та взаємопов'язаними змінами, як фіброз, апоптоз, запалення (інфільтрація тканин нирки моноцитами і/або макрофагами). Всі вищеописані процеси супроводжуються синтезом вазоактивних речовин, цитокінів, факторів росту.

ХНГ супроводжується запаленням, рівень якого визначається стадією захворювання. Моноцити і/або макрофаги, що є клітинними ефекторами хронічного запалення, беруть участь в синтезі цитокінів. У відповідь на первинне пошкодження гіперекспресія макрофагами колоніестимулюючого фактора сприяє їх поширенню в пошкоджених тканинах (10). Ці клітини посилюють синтез цитокінів в ділянках їх інфільтрації, що сприяє фіброзоутворенню при хронічному процесі. Останній є індуктором апоптозу (10,11).

Особливе місце в виникненні апоптозу клітин клубочка відіграє мікрооточення клітин. Такі фактори, як колаген I, фібрoneктин, що є компонентами фіброзного матеріалу клубочка, виступають в ролі індукторів сигнальних шляхів апоптозу. Крім того, окисні модифікації компонентів фіброзного матрикса, що виникають в результаті асоційованих з хронічним запаленням окисних пошкоджень, виступають в ролі індукторів апоптозу (12, 13). Апоптоз клітин клубочка (мезангільних, подоцитів, ендотеліальних клітин) при гломерулонефриті є взаємопов'язаним. Наприклад, апоптоз мезангільних клітин може бути результатом порушення балансу активності про- та антиапоптозних факторів інших клітин клубочка (14).

Відомо, що протеїнурія при гломерулярних захворюваннях нирок сприяє розвитку тубулоінтерстиційних пошкоджень. Одним з механізмів пошкоджуючого впливу протеїнурії є надмірна реабсорбція білків клітинами проксимальних канальців, що може призвести до їх пошкодження і загибелі (15,16). У відповідь на надмірну лізосомальну деградацію білків або інших токсичних сполук, присутніх в ультрафільтраті, проксимально-тубулярні клітини виробляють різні прозапальні і профібротичні молекули (17).

Зокрема, інтерлейкін-8 (IL-8), фактор некрозу пухлини-α (ФНП-α), ендотелін, TGF-β і колаген (18, 19) сприяють розвитку проліферативних процесів, фіброзу. Початок інтерстиційного фіброзу характеризується інфільтрацією інтерстиція запальними клітинами, в основному макрофагами і Т-клітинами, які викликають активацію фібробластів. При цьому також зростає активність матриксних металопротеїназ, що сприяє ремоделюванню колагена I, III і IV, ламініна і фібрoneктину (19). Збільшення синтезу компонентів і ремоделювання позаклітинного матриксу призводить до його накопичення і фіброзу, що виступає в ролі активатора апоптозу (12,19).

Високі концентрації білка в ультрафільтраті безпосередньо викликають апоптоз проксимально тубулярних

клітин (5,6), що відіграє окрему роль в патогенезі прогресування втрати функції нирок при ХГН. Активованій в проксимально тубулярних клітинах апоптоз призводить до тубулярної атрофії, виникнення атубулярних клубочків. Наявність атубулярних клубочків визначає стан зміни функції нирок з одного боку, та прогресування тубулоінтерстиційних пошкоджень, з іншого - до втрати функції нирок (20).

Причиною критичної ролі проксимально-тубулярних клітин в розвитку атубулярних клубочків є їх надзвичайна чутливість до стресових факторів. Одночасно вони володіють високою здатністю до репарації за рахунок активації фактора антиапоптозного захисту Bcl-xL, що обумовлює їх репаративну здатність. Основними факторами, що спричиняють їх пошкодження, є протеїнурія, гіпоксія, токсини (21).

Процеси хронічного запалення, що мають місце при ХГН, супроводжуються розвитком хронічної гіпоксії. Гіпоксичні зміни посилюються паралельно з прогресування гломерулярних (протеїнурія) та тубулоінтерстиційних (фіброз, порушення кровотоку, епітеліально-мезенхімальна трансформація) пошкоджень. При цьому клітини проксимальних каналців за рахунок гіпоксично-активованої зміни балансу факторів про- та антиапоптозного захисту гинуть шляхом апоптозу (22,23). Узагальнена схема прогресування порушення функції нирок за рахунок апоптозо-залежних пошкоджень нефрона представлена на рис.5.

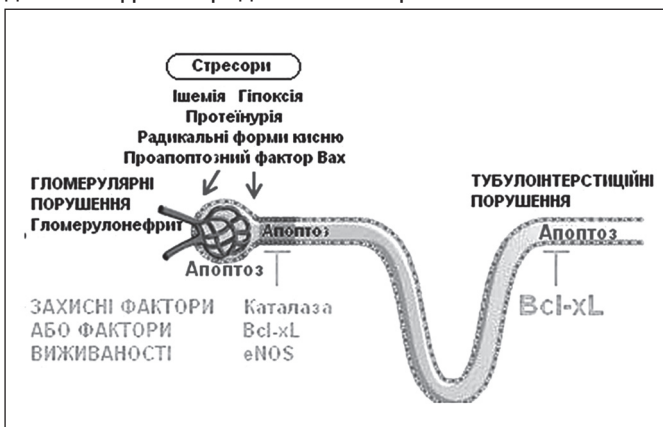


Рис.5. Схема механізму прогресування порушення функції нирок за рахунок апоптозо-залежних пошкоджень нефрона.

Таким чином, фізіологічна загибель клітин, що є есенціальною в тканинному гомеостазі і має важливе значення для видалення непотрібних або пошкоджених клітин, при хронічних патологіях нирок набуває пошкоджуючого характеру. Причиною розвитку апоптозу при хронічному гломерулонефриті є порушення балансу активності про- та антиапоптозних факторів системи Bcl. При цьому відбувається втрата нормальної клітинної популяції нефрона, що відбувається в результаті зростання активності проапоптозних факторів і зниження активності антиапоптозних регуляторів. Кінцевим результа-

том є зниження чисельності нормальних клітин нефрона.

Отримані дані створюють перспективу в створенні терапевтичних впливів, що можуть безпосередньо та опосередковано впливати на апоптоз. Зокрема, терапевтичні заходи, спрямовані на корекцію запалення (кортикостероїди, імуносупресори, антиоксиданти), забезпечать інгібування процесів запалення та його активуючий вплив на проапоптозні фактори прозапальних цитокінів. Фіброзне мікрооточення клітин, в першу чергу клубочків, виступає в якості проапоптозного стимула та може бути лімітоване з використанням засобів, що будуть сприяти зниженню фіброзу. До таких засобів належать інгібітори АПФ.

Висновки

1. Розвиток апоптозу при ХГН у дітей залежить від балансу активності про- та антиапоптозних факторів.
2. Високі рівні апоптозу беруть участь в порушенні функції нирок при ХГН, що відбувається як за рахунок гломерулярних, так і тубулоінтерстиційних пошкоджень.
3. Дослідження молекулярних механізмів та патоморфологічних субстратів апоптозо-залежних шляхів порушення функції нирок при ХГН є основою для створення нових терапевтичних підходів, спрямованих на зниження протеїнурії, модуляторів молекулярних процесів, пов'язаних з запаленням.

Література

1. Taylor R.C., Cullen S.P., Martin S.J. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2003; 9(3): 231–241.
2. Savill J. Apoptosis in disease. *Eur J Clin Invest.* 1994; 24:715–723.
3. Cory S., Adams J.M. *Nature Reviews Cancer.* The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. 2002;2: 647-656.
4. Remuzzi G., Bertani T. Pathophysiology of progressive nephropathies. *N Engl J Med.* 1998; 339:1448-1456.
5. Iseki K., Ikemiya Y., Iseki C. et al. Proteinuria and the risk of developing end-stage renal disease. *Kidney Int.* 2003; 63:1468-1474.
6. Praga M. Therapeutic measures in proteinuric nephropathy. *Kidney Int.* 2005; (Suppl.):137-141.
7. Eddy A.A., Giachelli C.M. Renal expression of genes that promote interstitial inflammation and fibrosis in rats with protein-overload proteinuria. *Kidney Int.* 1995; 47:1546-1557.
8. Morigi M., Macconi D., Zoja C. et al. Protein overload-induced NF-kappaB activation in proximal tubular cells requires H(2)O(2) through a PKC-dependent pathway. *J Am Soc Nephrol.* – 2002; 13: 179-1189.
9. Tikellis C., Bernardi S., Burns W.C. Angiotensin-

- converting enzyme 2 is a key modulator of the renin-angiotensin system in cardiovascular and renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2011; 20(1):62-68.
10. Wornle M., Schmid H., Merkle M. et al. Effects of chemokines on proliferation and apoptosis of human mesangial cells. *BMC Nephrol.* 2004;5:8-12.
 11. Kluth D.C., Erwig L-P., Rees A.J. Multiple facets of macrophages in renal injury. *Kidney Int.* 2004; 66:542-557.
 12. Mooney A., Jackson K., Bacon R. et al. Type IV collagen and laminin regulate glomerular mesangial cell susceptibility to apoptosis via beta(1) integrin mediated survival signals. *Am J Pathol.* 1999;155:599-606.
 13. Kochlatyi S., Gibbons N., Mattana J. Extracellular matrix oxidation modulates survival, NF-kappaB translocation, and MAPK activity in mesangial cells. *ExpMol Pathol.* 2002;73:191-197.
 14. Hughesa J., Savillb J.S. Apoptosis in glomerulonephritis. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension.* 2005;14: 389-395.
 15. Erkan E., De Leon M., Devarajan P. Albumin overload induces apoptosis in LLC-PK(1) cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2001; 280:1107-1114.
 16. Thomas M.E., Brunskill N.J., Harris K.P. et al. Proteinuria induces tubular cell turnover: A potential mechanism for tubular atrophy. *Kidney Int.* 1999; 55: 890-898.
 17. Eddy A.A. Molecular basis of renal fibrosis. *Pediatr Nephrol.* 2000;15: 290-301.
 18. Schiffer M., Bitzer M., Roberts I.S., et al. Apoptosis in podocytes induced by TGF-beta and Smad7. *J Clin Invest.* 2001;108: 807-816.
 19. Makino H., Sugiyama H., Kashihara N. Apoptosis and extracellular matrix-cell interactions in kidney disease *Kidney Int.* 2000; 58(Suppl 77): 67-75.
 20. Chevalier R., Forbes M. Generation and Evolution of Atubular Glomeruli in the Progression of Renal Disorders. *J Am Soc Nephrol.* 2008; 19:197-206.
 21. Zoja C., Morigi M., Remuzzi G. Proteinuria and Phenotypic Change of Proximal Tubular Cells. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14: 36-41.
 22. Theilig F. Spread of glomerular to tubulointerstitial disease with a focus on proteinuria. *Annals of Anatomy.* 2010; 192:125-132.
 23. Fine L. G., Norman J.T. Chronic hypoxia as a mechanism of progression of chronic kidney disease: from hypothesis to novel therapeutics. *Kidney Int.* 2008;74: 867-872.
 3. Cory S., Adams J.M. *Nature Reviews Cancer.* The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. 2002;2: 647-656.
 4. Remuzzi G., Bertani T. Pathophysiology of progressive nephropathies. *N Engl J Med.* 1998; 339:1448-1456.
 5. Iseki K., Ikemiya Y., Iseki C. et al. Proteinuria and the risk of developing end-stage renal disease. *Kidney Int.* 2003; 63:1468-1474.
 6. Praga M. Therapeutic measures in proteinuric nephropathy. *Kidney Int.* 2005; (Suppl.):137-141.
 7. Eddy A.A., Giachelli C.M. Renal expression of genes that promote interstitial inflammation and fibrosis in rats with protein-overload proteinuria. *Kidney Int.* 1995; 47:1546-1557.
 8. Morigi M., Macconi D., Zoja C. et al. Protein overload-induced NF-kappaB activation in proximal tubular cells requires H(2)O(2) through a PKC-dependent pathway. *J Am Soc Nephrol.* - 2002; 13: 179-1189.
 9. Tikellis C., Bernardi S., Burns W.C. Angiotensin-converting enzyme 2 is a key modulator of the renin-angiotensin system in cardiovascular and renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2011; 20(1):62-68.
 10. Wornle M., Schmid H., Merkle M. et al. Effects of chemokines on proliferation and apoptosis of human mesangial cells. *BMC Nephrol.* 2004;5:8-12.
 11. Kluth D.C., Erwig L-P., Rees A.J. Multiple facets of macrophages in renal injury. *Kidney Int.* 2004; 66:542-557.
 12. Mooney A., Jackson K., Bacon R. et al. Type IV collagen and laminin regulate glomerular mesangial cell susceptibility to apoptosis via beta(1) integrin mediated survival signals. *Am J Pathol.* 1999;155:599-606.
 13. Kochlatyi S., Gibbons N., Mattana J. Extracellular matrix oxidation modulates survival, NF-kappaB translocation, and MAPK activity in mesangial cells. *ExpMol Pathol.* 2002;73:191-197.
 14. Hughesa J., Savillb J.S. Apoptosis in glomerulonephritis. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension.* 2005;14: 389-395.
 15. Erkan E., De Leon M., Devarajan P. Albumin overload induces apoptosis in LLC-PK(1) cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2001; 280:1107-1114.
 16. Thomas M.E., Brunskill N.J., Harris K.P. et al. Proteinuria induces tubular cell turnover: A potential mechanism for tubular atrophy. *Kidney Int.* 1999; 55: 890-898.
 17. Eddy A.A. Molecular basis of renal fibrosis. *Pediatr Nephrol.* 2000;15: 290-301.
 18. Schiffer M., Bitzer M., Roberts I.S., et al. Apoptosis in podocytes induced by TGF-beta and Smad7. *J Clin Invest.* 2001;108: 807-816.

References

1. Taylor R.C., Cullen S.P., Martin S.J. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2003; 9(3): 231-241.
2. Savill J. Apoptosis in disease. *Eur J Clin Invest.* 1994; 24:715-723.

19. Makino H., Sugiyama H., Kashihara N. Apoptosis and extracellular matrix–cell interactions in kidney disease *Kidney Int.* 2000; 58(Suppl 77): 67–75.
20. Chevalier R., Forbes M. Generation and Evolution of Atubular Glomeruli in the Progression of Renal Disorders. *J Am Soc Nephrol.* 2008; 19:197-206.
21. Zoja C., Morigi M., Remuzzi G. Proteinuria and Phenotypic Change of Proximal Tubular Cells. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14: 36–41.
22. Theilig F. Spread of glomerular to tubulointerstitial disease with a focus on proteinuria. *Annals of Anatomy.* 2010; 192:125–132.
23. Fine L.G., Norman J.T. Chronic hypoxia as a mechanism of progression of chronic kidney disease: from hypothesis to novel therapeutics. *Kidney Int.* 2008;74: 867–872.

Відомості про авторів:

Майданник В.Г. – академік НАМН України, д.м.н., професор, зав. кафедри педіатрії №4 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; maidannyk@gmail.com

Бурлака Є.А. – к.м.н., асистент кафедри педіатрії №4 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; Каролінський інститут, Стокгольм, Швеція; evgenija.burlaka@rambler.ru

Багдасарова І.В. – д.м.н., професор, керівник відділу дитячої нефрології, ДУ «Інститут нефрології АМН України»;

Фоміна С.П. – пров.н.с., к.м.н., ДУ «Інститут нефрології АМН України»;

Непомнящий В.М. – с.н.с., к.м.н., зав. лабораторії патології ДУ «Інститут нефрології АМН України».

© В.Г. Майданник, Є.А. Бурлака, І.В. Багдасарова, С.П.

Фоміна, В.М. Непомнящий, 2012