

УДК 616.6-616.611-002-616.002.1+616-092

Є. А. Бурлака

Національний медичний університет  
імені О.О. Богомольця, Київ, Україна  
Каролінський інститут, Швеція

## ПОРУШЕННЯ В СИСТЕМІ КОНТРОЛЮ АПОПТОЗУ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТІ В ДІТЕЙ

**Ключові слова:** нефротичний синдром, гломерулосклероз, апоптоз, Вах, Vcl-xL, імуногістохімія.

**Резюме.** Метою дослідження було вивчення топічних особливостей рівнів факторів, контролюючих апоптоз, у тканини нирок у дітей з хронічними гломерулопатіями. 23 пацієнти віком 5-18 років з активною стадією нефротичної форми хронічного гломерулонефриту (ХГН) були включені в дослідження. Імуногістохімічно проведено дослідження рівнів проапоптозного фактора Вах, антиапоптозного фактора Vcl-xL, рівня апоптозу на зразках біопсії нирок. Аналіз рівня проапоптозного фактора Вах у зрізах нирок з морфологічної формою хронічного гломерулонефриту фокально-сегментарний гломерулосклероз з ознаками запалення показав наявність високих рівнів Вах в клубочковому і тубуло-інтерстиційному сегментах. Однак, вищий рівень імуносигналу зафіксований у клубочках з ФСГС I-II ст. у порівнянні з тубуло-інтерстицієм. При повному клубочковому склерозі спостерігається високий рівень Вах в навколишніх канальцях і інтерстиційному сегменті. Досліджено рівні антиапоптозного фактора Vcl-xL. У зрізах нирок, отриманих у дітей з морфологічної формою хронічного гломерулонефриту фокально-сегментарний гломерулосклероз з ознаками запалення, показано наявність певного рівня Vcl-xL в клубочках, канальцях і інтерстиції. Вищий рівень імуносигналу зареєстрований у канальцях, інтерстиційному сегменті в порівнянні з клубочками з ФСГС I-II ст. При повному склерозуванні клубочків відносно високий рівень імуносигналу Vcl-xL локалізований в оточуючих канальцях, інтерстиційному сегменті нирок при майже повній відсутності в клубочках. Кількісний аналіз рівня апоптозу в зрізах нирок у пацієнтів з нефротичним синдромом і ФСГС I-II ст. показав індекс апоптозу (IA) у клубочках на рівні  $22,29 \pm 0,86\%$  у канальцях і інтерстиційному сегменті -  $9,43 \pm 0,59\%$  ( $P0,01$ ). При ФСГС III-IV ст. високий IA був зафіксований у канальцях, інтерстиційному сегменті -  $29,27 \pm 1,18\%$ , у клубочках -  $4,7 \pm 0,54\%$  ( $P0001$ ). Таким чином, прогресування гломерулосклерозу при досліджуваних патологіях супроводжується підвищенням активності проапоптозного фактора Вах з одночасним зниженням рівня антиапоптозного фактора Vcl-xL. Залежність співвідношення рівнів топічної активності Вах і Vcl-xL від стадії ФСГС вказують на стадійний тип розвитку клубочкових і інтерстиційних ушкоджень під впливом протейнурії.

### Вступ

Захворюваність дітей на хронічне захворювання нирок (ХЗН) становить від 1,5 до 3,0 випадків на мільйон населення. Основними причинами ХЗН у дитячому віці є аномалії розвитку (вроджені аномалії нирок і сечовивідних шляхів), фокально-сегментарний гломерулосклероз (ФСГС), гемолітико-уремічний синдром (ГУС), імунно-комплексні захворювань і спадкові нефропатії, такі як хвороба Альпорта [1,2]. Загальним патоморфологічним результатом, що стосується пошкодження нирок при ХЗН є гломерулосклероз, склероз судин, тубуло-інтерстиційний фіброз. Адаптивні зміни нефронів після первинної травми перестають компенсуватися з часом, що в

кінцевому рахунку, призводить до незворотніх порушень, - утворення рубців, склерозування і подальшої втрати нефронів, що є причиною формування термінальної стадії ХЗН (ТСХЗН) [2].

Запалення відіграє важливу роль у розвитку та прогресуванні хронічних патологій нирок та є первинним та персистуючим порушенням, на якому базуються інші ланки патогенезу. Гістологічно при хронічно протікаючих патологіях нирок, в тому числі при ХГН тканини нирок характеризуються типовими ознаками запалення - інфільтрацією лейкоцитами, гіперемією, фіброзом. Крім того, запалення при ХГН, як і фіброз, супроводжуються активацією ренін-ангіотензин-альдостеронової системи та її основних ефектор-

них ланок, - ангіотензину II, окисним стресом, ендотеліальною дисфункцією та ін. [1-3]. Усі вищевказані патофізіологічні порушення супроводжуються та є індукторами високих рівнів апоптозу клітин нирок. Апоптоз є запрограмованою смертю клітини, який має місце при захворюваннях нирок і відіграє важливу роль в їх фізіології. Шкідливі ефекти апоптозу полягають в тому, що в результаті його активації відбувається втрата великої кількості клітин нирок під час або після ниркового запалення, утворення рубців, втрата функції нирок. [4,5]

Молекулярні механізми, які лежать в основі незворотніх пошкоджень нирок при ХГН у дітей та залежать від апоптозу їх корекція існуючих схемами терапії є недостатньо вивченими, що є необхідним для розробки подальших терапевтичних підходів.

### **Матеріал і методи**

Проведено дослідження матеріалу біопсії нирок 23 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 НАМН України» (клінічна база – ДКЛ №7 м. Києва) в 2008-2012 роках. 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 в крові хворих, показників рівня апоптозу, імуногістохімічну оцінку апоптозо-залежних гломерулярних та тубуло-інтерстиціальних пошкоджень.

Імуногістохімічне визначення рівнів факторів системи контролю апоптозу (Вах, Bcl-xL) визначали на біотичному матеріалі дітей з морфологічною формою хронічного гломерулонефриту фокальний сегментарний гломерулосклероз. Зрізи тканини нирок були відмиті від парафіну, дегідратовані. Як первинні антитіла використовували поліклональні анти-Bcl-xL (розведення 1:200), анти-Вах (розведення 1:200). Як вторинні флуоресцеїн-вмісні антитіла використовували Alexa 546 Ab та Alexa 488 (Invitrogen, USA, розведення 1:500). Ядра клітин візуалізували 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 ImmunoMount (Thermo Shandon, Midland, Canada).

TUNEL тест для визначення рівня апоптозу в біоптичному матеріалі нирок пацієнтів проводили на формалін-фіксованих парафінових зрізах

товщиною 5  $\mu$ m. Зрізи нирок обробляли протеїназою K (20 мкг/мл) протягом 20 хвилин при температурі 37°C. Ендогенна активність пероксидази зрізів нирок була заблокована інкубацією в 0,3%  $H_2O_2$  в фосфотному буфері (pH-7,4) протягом 10 хвилин. Для визначення апоптозу клітин використовували Peroxidase in Situ Apoptosis detection Kit (Chemicon International, Велика Британія). Зрізи контрастували гематоксилином Харріса (Richard Allan Scientific, США).

Отримання знімків проводилася з використанням Zeiss LSM 510 інвертованого скануючого лазерного конфокального мікроскопа з використанням x40/1.4 N.A. олійно-імерсійного об'єктива. Знімки були опрацьовані з використанням програмного забезпечення Zeiss. Оптична товщина зрізу становила 1-2 мкм.

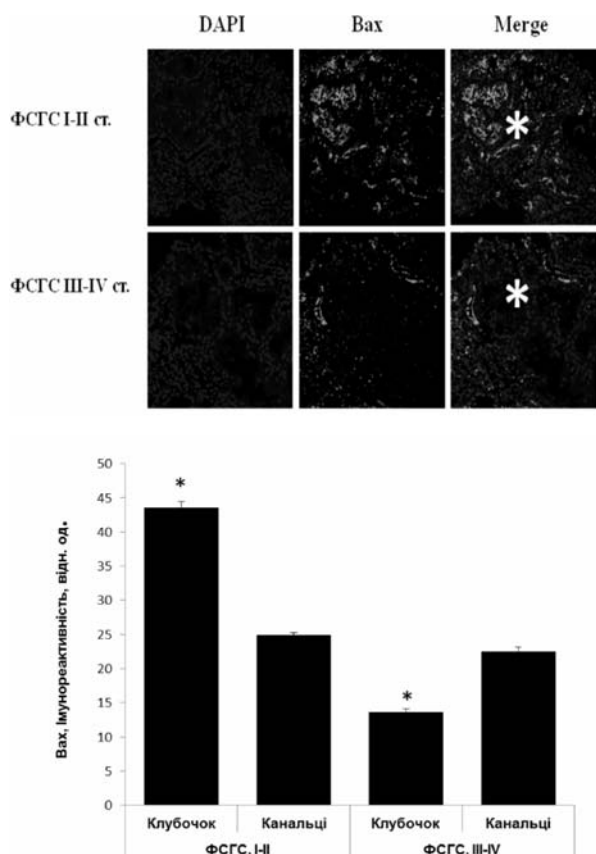
Матеріал опрацьовано з використанням методів варіаційної статистики (STATISTICA 6.0) та непараметричних статистичних підходів (Mann-Whitney test). Результати представлено як Mean $\pm$ SEM, статистично достовірним вважався рівень  $P < 0,05$ .

### **Обговорення результатів дослідження**

Було проаналізовано рівні експресії та топічну локалізацію проапоптозного фактора Вах у пацієнтів з морфологічним варіантом хронічного гломерулонефриту фокальний сегментарний гломерулосклероз, асоційованим із запаленням. Стадії ФСГС визначалися за рівнем склерозованої площі клубочка. Так, рівень склерозу при I ст. ФСГС складав  $\leq 25\%$  клубочка, при II ст. ФСГС - 25-50%, при III ст. ФСГС - 50-75%, при IV ст. - 75-100%.

Результати проведеного аналізу рівнів Вах у зрізах біопсійного матеріалу нирок дітей з морфологічною формою хронічного гломерулонефриту фокально-сегментарний гломерулосклероз з ознаками запалення виявив наявність високого рівня показника як в клубочку, так і в тубуло-інтерстиціальному сегменті. При цьому, вищий рівень імуносигналу був зафіксований в клубочках порівняно з тубуло-інтерстиціальним сегментом при ФСГС I-II ст. ( $43,57 \pm 0,88$  відн. од. проти  $24,9 \pm 0,41$  відн. од.,  $p < 0,01$ ). При повному склерозуванні клубочка високі рівні імуносигналу Вах локалізуються в оточуючому тубуло-інтерстиціальному сегменті ( $13,7 \pm 0,42$  відн. од. проти  $22,5 \pm 0,65$  відн. од.,  $p < 0,01$ ) (рис. 1).

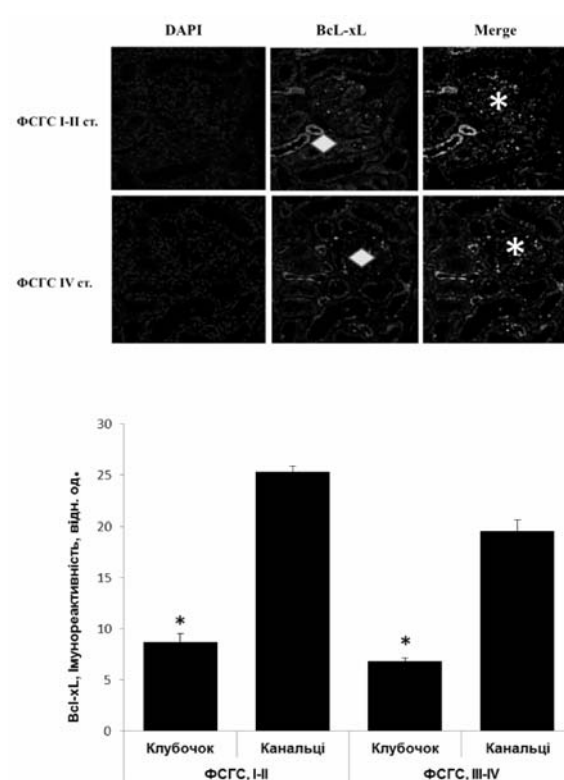
Важливу роль у розвитку апоптозу відіграє співвідношення рівня факторів Bcl-xL/Вах. Результати проведеного аналізу рівнів антиапоптозного фактора Bcl-xL у зрізах біопсійного матеріалу нирок дітей з морфологічною формою хронічного гломерулонефриту фокально-сегментарний гломерулосклероз з ознаками запалення вия-



**Рис. 1.** Топічна характеристика рівнів проапоптозного фактора Bax при різних ступенях ФГС, що розвивався в результаті нефротичного синдрому  
**Примітка:** DAPI – візуалізація ядер, Bax – імуносигнал Bax в тканині нирки, Merge – сумісне зображення, \* – клубочок

вив наявність певного рівня Bcl-xL як в клубочку, так і в тубуло-інтерстиційному сегменті. При цьому, вищий рівень імуносигналу був зафіксований в тубуло-інтерстиційному сегменті порівняно з клубочком з рівнем склерозу I-II ст. ( $25,29 \pm 0,55$  відн. од. проти  $8,71 \pm 0,8$  відн. од.,  $p < 0,01$ ). При повному склерозування клубочка відносно високі рівні імуносигналу Bcl-xL локалізуються в оточуючому тубуло-інтерстиційному сегменті при практично повній відсутності в клубочку ( $19,57 \pm 1,02$  відн. од. проти  $6,81 \pm 0,31$  відн. од.,  $p < 0,01$ ) (рис. 2).

Результати проведеного аналізу рівня апоптозу в зрізах біопсійного матеріалу нирок дітей з морфологічною формою хронічного гломерулонефриту фокально-сегментарний гломерулосклероз виявив наявність високого рівня апоптозних клітин. Більш того, показано, що в склерозованих клубочках з рівнем гломерулосклерозу II-III ст. переважна більшість апоптозних клітин локалізується в клубочках (рис. 3, А). При повному склерозування клубочка високий рівень апоптозу виявлено в оточуючому тубуло-інтерстиційному сегменті (рис. 3, Б). Кількісний аналіз показав, що в при ФГС I-II ст. індекс апоптозу в клубоч-

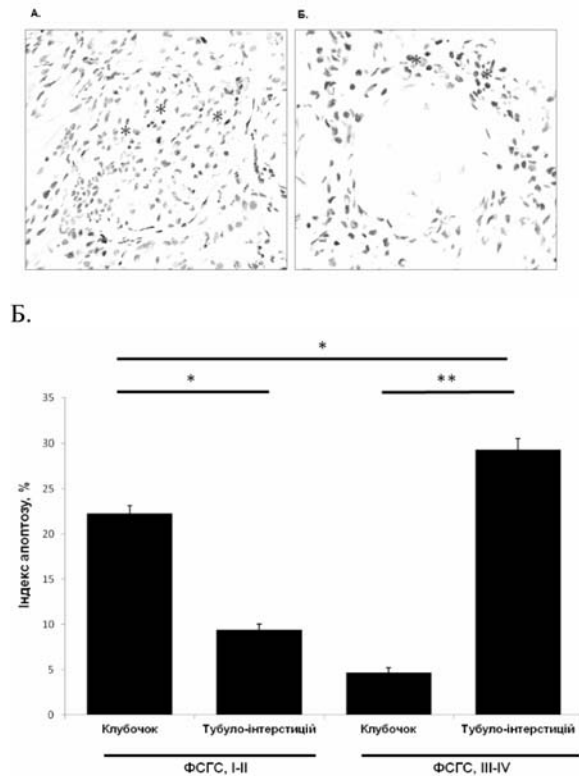


**Рис. 2.** Топічна локалізація рівнів антиапоптозного фактора Bcl-xL при різних ступенях ФГС, що розвивався в результаті нефротичного синдрому  
**Примітка.** DAPI – візуалізація ядер, Bcl-xL – імуносигнал Bcl-xL в тканині нирки, Merge – сумісне зображення, \* – клубочок, - канальці

как становив  $22,29 \pm 0,86\%$ , в тубуло-інтерстиційному компоненті –  $9,43 \pm 0,59\%$  ( $p < 0,01$ ). При високих рівнях склерозування розподіл апоптозних клітин був іншим. Високий індекс апоптозу (IA) виявлено в тубуло-інтерстиційному компоненті –  $29,27 \pm 1,18\%$ , в клубочках IA становив  $4,7 \pm 0,54\%$  ( $p < 0,001$ ) (рис. 3, В).

Контроль і регулювання сигнального шляху апоптозу відбувається за участю білків родини Bcl-2. Bcl-2 бере участь в регуляції проникності мембран мітохондрій та представлений, як проапоптозними, так і антиапоптозними білками. До антиапоптозних належать Bcl-2, Bcl-x, Bcl-XL, Bcl-XS, Bcl-W, BAG, до проапоптозних - Bcl-10, Bax, Bak, Bid, Bad, Bik, Blk. Зрушення балансу активності факторів даної родини в тий чи інший бік призводить до зниження чи зростання рівнів апоптозу, що є патологією [6,7].

Дисбаланс між процесом загибелі та проліферації клітин призводить до порушень того чи іншого характеру в структурі та функціонуванні нирок. Наприклад, переважання процесів проліферації клітин призводить до надмірного їх накопичення, - неоплазії, що є характерним для



**Рис. 3.** Рівні апоптозу в тканинах нирок при ХГН у дітей

проліферативних форм гломерулонефриту. Зростання рівнів загибелі клітин, зокрема за рахунок апоптозу, є причиною незворотності втрати тих чи інших функцій за рахунок нездатності до відновлення клітин. Апоптоз регулюється позаклітинними і внутрішньоклітинними молекулами-регуляторами, які є учасниками відповідних сигнальних шляхів. Загибель клітин, як правило, відбувається у відповідь на зміни в осередку (мікросередовищі), в якому виникає відсутність певних факторів (чинники виживання) або наявність проапоптозних факторів. Ініціальними факторами при цьому можуть бути навколишні клітини, медіатори і компоненти позаклітинного матриксу [7,8]. Процес загибелі клітин починається з активації внутрішньоклітинних факторів у відповідь на проапоптозні стимули мікрооточення клітини. Наявність Fas на клітинній поверхні є однією з детермінант чутливості клітини до Fas-індукованого апоптозу. Мезангіальні клітини, проксимально тубулярні клітини нирок, фібробласти експресують клітинні рецептори Fas. Наприклад, надмірна експресія проапоптозного фактора Вах індукує каспаза-незалежний механізм загибелі клітин.

Мітохондрії є ключовими учасниками апоптозу, що не мають зв'язку з рецепторами смерті, а мітохондріально-залежні порушення можуть сприяти загибелі клітин незалежно від активації рецепторів загибелі. Мітохондріальні зміни при апоптозі включають:

1) зникнення мітохондріального трансмембранного градієнта потенціалу ( $\Delta\Psi_m$ ) у зв'язку з відкриттям транзитних пор;

2) звільнення білків, таких як цитохром С, АІФ та SMAC/Diablo, з мітохондріального міжмембранного простору в цитозоль, де вони беруть участь в ефektorній фазі апоптозу, - безпосередній активації каспаз [9].

Основними механізмами дії антиапоптозних факторів родини Bcl-2 є наступні. Перший з них реалізується за рахунок інгібування прокаспаз в апоптосомі. При цьому Bcl-xL інгібує комплекс, утворений каспазою-9, Аraf-1 і цитохромом С, що в кінцевому результаті запобігає активації каспази-3. Другий сценарій полягає в закритті VDAC і запобігання виходу мітохондріальних апоптогенних факторів, таких як цитохрому С і АІФ в цитоплазму [9-11].

Таким чином, показано, що прогресування гломерулосклерозу при досліджених патологіях супроводжується зростанням активності про-апоптозного фактора Вах та одночасним зниженням рівня антиапоптозного фактора Bcl-cxL. Виявлено, залежність топичності рівнів Bcl-xL від ступеня ФСГС, що свідчить про етапність розвитку гломерулярних та тубуло-інтерстиційних пошкоджень під впливом протеїнурії. Виявлені відмінності в рівнях та їх співвідношення при ФСГС, що є результатом нефротичного синдрому та ІgА нефропатії, свідчить про безпосередню залежність рівня гломерулярних та тубулярних пошкоджень від рівня протеїнурії.

Протеїнурія є маркером пошкодження нирок, що відображає втрату селективності фільтраційного бар'єра. Крім того, протеїнурія є визначальним чинником при розвитку і прогресування пошкодження нирок за рахунок активації апоптозу, запалення, фіброзу [12]. Високі концентрації білка в ультрафільтраті викликають апоптоз проксимально тубулярних клітин. Апоптоз при цьому є результатом запально-асоційованих процесів та безпосереднього впливу білка. Активованій в проксимально тубулярних клітинах апоптоз призводить до тубулярної атрофії, виникнення атубулярних клубочків [12,13]. Наявність атубулярних клубочків визначає стан зміни функції нирок з однієї сторони, та прогресування тубулоінтерстиційних пошкоджень, з іншої [13]. Ініціаторами апоптозу можуть бути ряд факторів, - супероксидні радикали та їх метаболіти (радикальні форми кисню, РФК), гіпоксія, фактор росту фібробластів, ангіотензин II [4,5].

#### Перспективи подальших досліджень

Подальше дослідження молекулярних механізмів виникнення апоптозу при протеїнуричних захворюваннях нирок у дітей та створення

підходів до їх корекції є перспективним напрямком з точки зору попередження та уповільнення пошкодження нирок.

**Література.** 1. Fogo A.B. Mechanisms of progression of chronic kidney disease / A.B. Fogo // *Pediatr Nephrol.* – 2007. – 22 (12): 2011–2022. 2. Brantsma A.H. What predicts progression and regression of urinary albumin excretion in the nondiabetic population? / A.H. Brantsma, J. Athobari, S.J. Bakker // *J Am Soc Nephrol.* – 2007. – 18: 637. 3. Favalaro B., Allocati N., Graziano V., Di Ilio C., De Laurenzi V. Role of apoptosis in disease. *Aging* 2012; 4 (5): 330-349. 4. Christman J.W., Blackwell T.S., Juurlink B.H.J. Redox Regulation of Nuclear Factor Kappa B: Therapeutic Potential for Attenuating Inflammatory Responses. *Brain Pathology* 2000; 10: 153-162. 5. Abbate M., Zoja C., Remuzzi G. How does proteinuria cause progressive renal damage? *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2974–2984. 6. Takase O., Minto A.W., Puri T.S., Cunningham P.N., Jacob A., Hayashi M., Quigg R.J. Inhibition of NF-kappaB-dependent Bcl-xL expression by clusterin promotes albumin-induced tubular cell apoptosis. *Kidney Int* 2008; 73: 567–577. 7. Kinnally K.W., Antonsson B. A tale of two mitochondrial channels, MAC and PTP, in apoptosis. *Apoptosis* 2007; 12 (5): 857–868. 8. Brunelle J.K., Letai A. Control of mitochondrial apoptosis by the Bcl-2 family. *J Cell Sci* 2009; 122: 437-441. 9. Shimizu S., Narita M., Tsujimoto Y. Bcl-2 family proteins regulate the release of apoptogenic cytochrome c by the mitochondrial channel VDAC. *Nature* 1999; 399 (6735): 483-487. 10. Sun X.M., Bratton S.B., Butterworth M., MacFarlane M., Cohen G.M. Bcl-2 and Bcl-xL inhibit CD95-mediated apoptosis by preventing mitochondrial release of Smac/DIABLO and subsequent inactivation of X-linked inhibitor-of-apoptosis protein. *The Journal of biological chemistry* 2002; 277 (13): 11345-11351. 11. Trücherel E., Godin C., Louandre C., Benchitrit J., Poirot S., Mazure J.C., Massy Z.A., Galmiche A. Upregulation of BAD, a pro-apoptotic protein of the BCL2 family, in vascular smooth muscle cells exposed to uremic conditions. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 6: 417 (1): 479-483. 12. Chevalier R., Forbes M. Generation and Evolution of Atubular Glomeruli in the Progression of Renal Disorders. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 197-206. 13. Ruggenenti P., Perna A., Remuzzi G. Retarding progression of chronic renal disease: The neglected issue of residual proteinuria. *Kidney Int* 2003; 63: 2254–2261.

#### НАРУШЕНИЯ В СИСТЕМЕ КОНТРОЛЯ АПОПТОЗА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТЕ У ДЕТЕЙ

*Е.А.Бурлака*

**Резюме.** Целью исследования было изучение топических особенностей уровней факторов, контролирующих апоптоз, в ткани почек у детей с хроническими гломерулопатиями. 23 пациента в возрасте 5 - 18 лет с активной стадией нефротической формы хронического были включены в исследование. Иммуногистохимическое проведено исследование уровней проапоптозного фактора Вах, антиапоптозного фактора Bcl-XL, уровня апоптоза на образцах биопсии почек. Анализ уровня проапоптозного фактора Вах в срезах почек с морфологической формой хронического гломерулонефрита очаговый сегментарный гломерулосклероз с признаками воспаления показал наличие высоких уровней Вах в клубочковом и тубуло-интерстициальном сегментах. Однако высший уровень иммуносигнала зафиксирован в клубочках с ФСГС I-II ст. в сравнении с тубуло-интерстицием. При полном клубочковом склерозе наблюдается высокий уровень Вах в окружающих канальцах и интерстициальном сегменте. Исследованы уровни антиапоптозного фактора Bcl-xL. В срезах почек полученных у детей с морфологической формой хронического гломерулонефрита очаговый сегментарный гломерулосклероз с признаками воспаления показано наличие определенного уровня Bcl-xL и в клубочках, канальцах и интерстиции. Высший уровень иммуносигнала зарегистрирован в канальцах, интерстициальном сегменте в сравнении с клубочками с ФСГС I-II ст. При полном склерозировании клубочков относительно высокий уровень иммуносигнала Bcl-xL локализован в окружающих канальцах, интерстициальном сегменте почек при почти полном

отсутствии в клубочках. Количественный анализ уровня апоптоза в срезах почек у пациентов с нефротическим синдромом и ФСГС I-II ст. показал индекс апоптоза (ИА) в клубочках на уровне  $22,29 \pm 0,86\%$ , в канальцах и интерстициальном сегменте -  $9,43 \pm 0,59\%$  (P0,01). При ФСГС III-IV ст. высокий ИА был зафиксирован в канальцах, интерстициальном сегменте -  $29,27 \pm 1,18\%$ , в клубочках -  $4,7 \pm 0,54\%$  (P0001). Таким образом, прогрессирование гломерулосклероза при исследуемых патологиях сопровождается повышением активности проапоптозного фактора Вах с одновременным снижением антиапоптозного фактора Bcl-xL. Зависимость отношения уровней топической активности Вах и Bcl-xL от стадии ФСГС указывают на стадийный тип развития клубочковых и интерстициальных повреждений под воздействием протеинурии.

**Ключевые слова:** нефротический синдром, гломерулосклероз, апоптоз, Вах, Bcl-xL, иммуногистохимия.

#### VIOLATIONS IN APOPTOSIS CONTROL SYSTEM IN CHILDREN WITH CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS

*E.A.Burlaka*

**Abstract.** The objective of this paper was to study the topical features of factors controlling apoptosis activity levels in kidney tissue in children with chronic glomerular diseases. 23 patients aged 5-18 years with active stage of nephrotic type of chronic glomerulonephritis were included to the study. Immunohistochemical examination of proapoptotic factor Bax, antiapoptotic factor Bcl-xL levels, apoptosis evaluation on kidney biopsy specimens were done. Analysis of proapoptotic factor Bax levels in kidney slices obtained from children with morphological forms of chronic glomerulonephritis, focal segmental glomerulosclerosis with signs of inflammation, showed the presence of high levels of Bax in both glomerular and tubular-interstitial segments. However, higher immunosignal was recorded in glomeruli with FSGS I-II st. compared to tubular segment. When complete glomerular sclerosis observed high levels of Bax are localized in the surrounding tubuli and interstitial segment. Levels of anti-apoptotic factor Bcl-xL levels were studied. The presence of a certain level Bcl-xL in both glomeruli, tubuli and interstitium was found in kidney sections obtained from children with morphological forms of chronic glomerulonephritis, focal segmental glomerulosclerosis with signs of inflammation. Higher immunosignal was recorded in tubuli, interstitial segment compared to glomeruli with FSGS I-II st. In cases of a complete glomerular sclerosis relatively high immunosignal of Bcl-xL is localized in the surrounding tubuli, interstitial segment with almost complete absence of glomeruli. Quantitative analysis of apoptosis levels in kidney sections of patients with nephrotic syndrome and FSGS I-II st. revealed apoptotic index (AI) in glomeruli at level  $22,29 \pm 0,86\%$ , in the tubuli and interstitial component -  $9,43 \pm 0,59\%$  (p0,01). With FSGS III-IV st. high AI was found in tubuli, interstitial component -  $29,27 \pm 1,18\%$ , in the glomeruli -  $4,7 \pm 0,54\%$  (p0,001). Thus, the progression of glomerulosclerosis in the studied pathologies is accompanied by increased activity of proapoptotic factor Bax and simultaneous reduction of anti-apoptotic factor Bcl-cxL. The dependence of levels of topical Bax and Bcl-xL expression on stages of FSGS indicate the step-dependent manner of glomerular and interstitial injuries development under the influence of proteinuria.

**Keywords:** nephrotic syndrome, glomerulosclerosis, apoptosis, Bax, Bcl-xL, immunostaining.

**A.A. Bohomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine; Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden**

*Clin. and experim. pathol.* - 2013. - Vol.12, №4 (46).-P.44-48.

*Надійшла до редакції 01.12.2013*

*Рецензент – проф. Ю. С. Роговий*

*© С. А. Бурлака, 2013*