

УДК 616.61-002-053.2

ТОПІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РІВНІВ ФАКТОРІВ СИСТЕМИ КОНТРОЛЮ АПОПТОЗУ ПРИ ФОКАЛЬНО-СЕГМЕНТАРНОМУ ГЛОМЕРУЛОСКЛЕРОЗІ У ДІТЕЙ

Є.А. Бурлака

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна;
Каролінський інститут (Karolinska Institutet, Department of Women's and Children's Health),
Стокгольм, Швеція

Features of topic expression of the apoptosis controlling factors in children with focal segmental glomerulosclerosis

Burlaka E.A.

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

The objective. To study the topical features of factors controlling apoptosis activity levels in kidney tissue in children with chronic glomerular diseases.

Patients and methods. 28 patients aged 5 - 18 years with active stage of nephrotic type of chronic glomerulonephritis and IgA nephropathy were included to the study. Immunohistochemical examination of proapoptotic factor Bax, antiapoptotic factor Bcl-xL levels, apoptosis evaluation on kidney biopsy specimens were done.

Results. Analysis of the level 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 ($43,57 \pm 0,88$ a.u. vs $24,9 \pm 0,41$ a.u., $P < 0.01$). When complete glomerular sclerosis observed high levels of Bax are localized in the surrounding tubuli and interstitial segment ($13,7 \pm 0,42$ a.u. vs $22,5 \pm 0,65$ a.u., $P < 0.01$). The nature of the distribution of Bax levels in IgA-nephropathy was evaluated. High levels of immunosignal were recorded in the glomeruli with sclerosis III-IV st. ($41,7$ a.u. vs $16,0$ a.u., $P < 0.01$). Along with a high level of glomerular sclerosis high level of Bax immunosignal is localized in the surrounding tubuli and interstitial segment. Levels of anti-apoptotic factor Bcl-xL levels were studied. In kidney sections obtained from children with morphological forms of chronic glomerulonephritis, focal segmental glomerulosclerosis with signs of inflammation the presence of a certain level Bcl-xL in both glomeruli, tubuli and interstitium was found. Higher immunosignal was recorded in tubuli, interstitial segment compared to glomeruli with FSGS I-II st. ($25,29 \pm 0,55$ a.u. vs $8,71 \pm 0,8$ a.u. $P < 0.01$). When complete glomerular sclerosis relatively high immunosignal of Bcl-xL is localized in the surrounding tubuli, interstitial segment with the almost complete absence of glomeruli ($19,57 \pm 1,02$ a.u. vs $6,81 \pm 0,31$ a.u. $P < 0.01$). In case of IgA nephropathy higher levels of immunosignal was recorded in tubuli, interstitial segment compared to sclerotic glomeruli with FSGS I-II st. ($75,67 \pm 1,74$ a.u. vs $31,71 \pm 1,37$ a.u., $P < 0.01$). Along with a high level of glomerular sclerosis high immunosignal of Bcl-xL is localized in the surrounding tubuli, interstitial segment ($39,7 \pm 1,94$ a.u. vs $23,65 \pm 1,2$ a.u., $P < 0.01$). 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 - $9,43 \pm 0,59\%$ ($p < 0,01$). With FSGS III-IV st. high AI was found in tubuli, interstitial component - $29,27 \pm 1,18\%$, in the glomeruli - $4,7 \pm 0,54\%$ ($p < 0,001$).

Conclusion. The progression of glomerulosclerosis in the studied pathologies accompanied by increased activity of proapoptotic factor Bax and simultaneous reduction of anti-apoptotic factor Bcl-xL. 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, IgA nephropathy, glomerulosclerosis, apoptosis, Bax, Bcl-xL, immunostaining.

Топическая характеристика уровней факторов системы контроля апоптоза при фокально-сегментарном гломерулосклерозе у детей

Бурлака Е.А.

**Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина;
Каролинский институт (Karolinska Institutet, Department of Women's and Children's Health),
Стокгольм, Швеция**

Цель. Изучение топических особенностей уровней факторов, контролирующих апоптоз в ткани почек у детей с хроническими гломерулопатиями.

Пациенты и методы. 28 пациентов в возрасте 5-18 лет с активной стадией нефротической формы хронического гломерулонефрита и IgA нефропатией были включены в исследование. Иммуногистохимически проведено исследование уровней проапоптозного фактора Вах, антиапоптозного фактора Bcl-XL, уровня апоптоза на образцах биопсии почек.

Результаты. 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 ($43,57 \pm 0,88$ от.ед. против $24,9$ от. ед., $P < 0,01$). При полном клубочковом склерозе наблюдается высокий уровень Вах в окружающих канальцах и интерстициальном сегменте ($13,7 \pm 0,42$ от.ед. против $22,5$ от.ед., $P < 0,01$). Проведено исследование характера распределения уровней Вах при IgA-нефропатии. Высокий уровень иммуносигнала зарегистрирован в клубочках с склерозом III-IV ст. в сравнении с тубуло-интерстицием ($41,7$ от.ед. против $16,0$ от.ед., $P < 0,01$). При высоком уровне гломерулосклероза значительный уровень Вах локализован в окружающих канальцевом и интерстициальном сегментах.

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. ($25,29 \pm 0,55$ от.ед. против $8,71$ от.ед., $P < 0,01$). При полном склерозировании клубочков относительно высокий уровень иммуносигнала Bcl-xL локализован в окружающих канальцах, интерстициальном сегменте почек при почти полном отсутствии в клубочках ($19,57 \pm 1,02$ от.ед. против $6,81$ от.ед., $P < 0,01$). В случае IgA-нефропатии более высокие уровни сигнала определены в канальцах, интерстициальном сегменте в сравнении со склеротическими клубочками с ФСГС I-II ст. ($75,67 \pm 1,74$ от.ед. против $31,71$ от. ед., $P < 0,01$). При полном гломерулосклерозе высокий уровень Bcl-xL локализован в окружающем канальцевом и интерстициальном сегментах ($39,7 \pm 1,94$ от.ед. против $23,65$ от.ед., $P < 0,01$). 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 - $9,43 \pm 0,59\%$ ($P < 0,01$). При ФСГС III-IV ст. высокий ИА был зафиксирован в канальцах, интерстициальном сегменте - $29,27 \pm 1,18\%$, в клубочках - $4,7 \pm 0,54\%$ ($P < 0001$).

Заключение. 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-X L от стадии ФСГС указывают на стадийный тип развития клубочковых и интерстициальных повреждений под воздействием протеинурии.

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

Адреса для корреспонденції:

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

Хронічна хвороба нирок (ХХН) зустрічається у всіх вікових групах. Захворюваність дітей становить від 1,5 до 3,0 випадків на мільйон населення. Основними причинами ХХН у дитячому віці є аномалії розвитку (врожені аномалії нирок і сечовивідних шляхів), фокально-сегментарний гломерулосклероз (ФСГС), гемолітико-уремічний синдром (ГУС), імунно-комплексні захворювання і спадкові нефропатії, такі як хвороба Альпорта [1,2]. Загальним патоморфологічним результатом, що стосується пошкодження нирок при ХХН є гломерулосклероз, склероз судин, тубуло-інтерстиційний фіброз. Адаптивні зміни нефронів після первинної травми перестають компенсуватись з часом, що в кінцевому рахунку призводить до незворотних порушень, - утворення рубців, склерозування і подальшої втрати нефронів. Всі ці процеси створюють так зване "замкнуте коло порушень", яке призводить до формування термінальної стадії ХХН (ТСХХН) [2].

Запалення відіграє важливу роль у розвитку та прогресуванні хронічних патологій нирок та є первинним і 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 ефекторних 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 та відіграє важливу роль в їх фізіології. Позитивні функції апоптозу в нирках забезпечують ремоделювання тканин і відновлення нормальної структури та функції нефрона, видалення пошкоджених клітин в ділянці запалення або гіперклітинності клубочків. 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].

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

Матеріал та методи. Проведено дослідження матеріалу біопсії нирок 28 пацієнтів (віком від 5 до 18 років) з активною стадією нефротичної форми ХГН, та IgA нефропатією, 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-інтерстиційних пошкоджень.

Імуногістохімічне визначення рівнів факторів системи контролю апоптозу (Bax, Bcl-xL) визначали на біотичному матеріалі дітей з морфологічною формою хронічного гломерулонефриту фокальний сегментарний гломерулосклероз та з IgA нефропатією. Зрізи тканини нирок були відмиті від парафіну, дегідратовані. В якості первинних антитіл використовували поліклональні анти-Bcl-xL (розведення 1:200), анти-Bax (розведення 1:200). В якості вторинних флуоресцеїн вмісних антитіл використовували Alexa 546 Ab та Alexa 488 (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).

TUNEL тест для визначення рівня апоптозу в біотичному матеріалі нирок пацієнтів проводили на формалін-фіксованих парафінових зрізах товщиною 5 μ 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% H₂O₂ в фосфатному буфері (pH-7,4) протягом 10 хвилин. Для визначення апоптозу клітин використовували Peroxidase in Situ Apoptosis detection Kit (Chemicon International, Велика Британія). Зрізи контрастувались гематоксиліном Харріка (Richard Allan Scientific, США).

Отримання знімків проводилась 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.

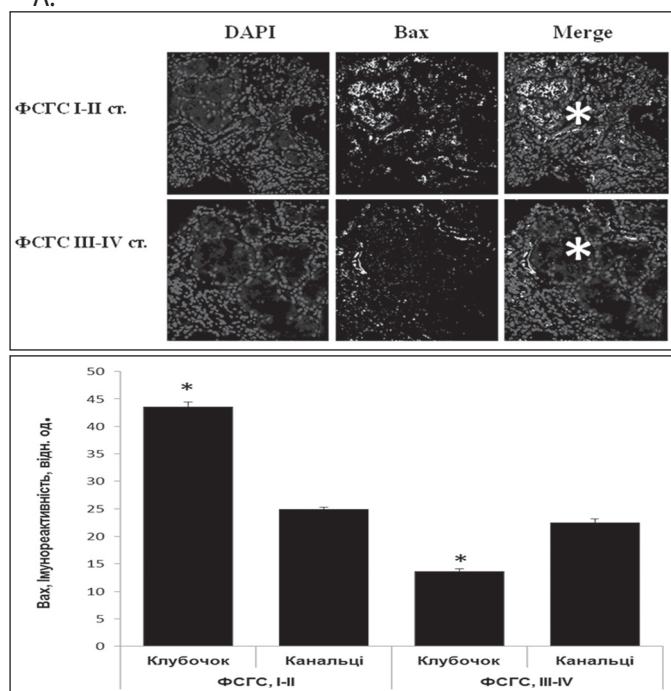
Матеріал опрацьовано з використанням методів варіаційної статистики (STATISTICA 6.0) та непараметричних статистичних підходів (Mann-Whitney test). Результати представлено як Mean \pm SEM, статистично достовірним вважався рівень P<0,05.

Результати дослідження та їх обговорення. Було проаналізовано рівні експресії та топічну локалізацію рівнів Bax у пацієнтів з морфологічним варіантом хронічного гломерулонефриту фокальний сегментарний гломерулосклероз, асоційованим з запаленням. Стадії ФСГС визначались 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 проапоптозного фактора Bax в зрізах біопсійного матеріалу нирок дітей з морфологічною формою хронічного гломерулонефриту фокально-сегментарний гломерулосклероз з ознаками запалення виявив наявність високого рівня Bax як в клубочку, так і в тубуло-інтерстиційному сегменті. При цьому вищий рівень імуносигналу був зафіксований в клубочках порівняно з тубуло-інтерстиційним 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-інтерстиційному сегменті ($13,7 \pm 0,42$ відн. од. проти $22,5 \pm 0,65$ відн. од., $p < 0,01$) (рис. 1А). Досліджено характер розподілу рівня Вах при ІgА-нефропатії. Вищий рівень імуносигналу був зафіксований в клубочках з рівнем склерозу III-IV ст. ($41,7$ відн. од. проти 16 відн. од., $p < 0,01$). Одночасно при високому рівні склерозування клубочка високий рівень імуносигналу Вах локалізується в оточуючому тубуло-інтерстиційному сегменті (рис. 1Б).

А.



Б.

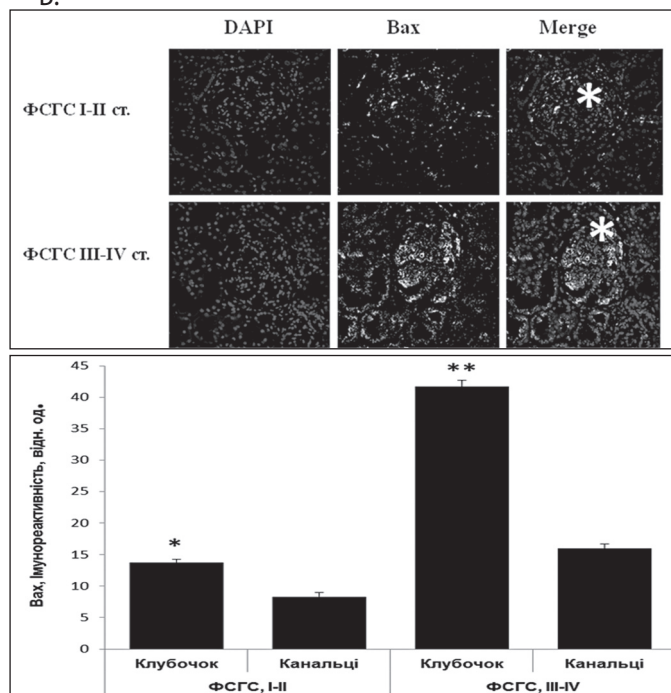


Рис. 1. Топічна характеристика рівнів проапоптозного фактора Вах при різних ступенях ФГС, що розвивався в результаті нефротичного синдрому (А) та ІgА нефропатії (Б).

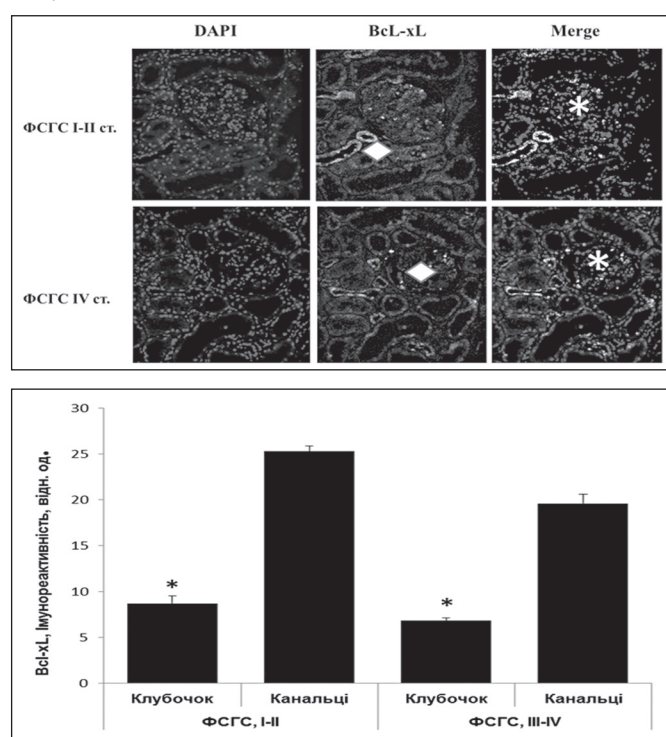
Примітка: DAPI – візуалізація ядер, Вах – імуносигнал Вах в тканині нирки, Merge – сумісне зображення, * - клубочок.

Таким чином, прогресування гломерулосклерозу при досліджених патологіях супроводжується зростанням активності проапоптозного фактора Вах. Виявлено залежність топічної активності Вах від ступеня ФГС, що свідчить про етапність розвитку гломерулярних та тубуло-інтерстиційних пошкоджень під впливом протеїнурії.

Важливу роль в розвитку апоптозу відіграє співвідношення Bcl-xL/Bax. Результати проведеного аналізу рівнів антиапоптозного фактора Bcl-xL в зрізах біопсійного матеріалу нирок дітей з морфологічною формою хронічного гломерулонефриту фокально-сегментарний гломерулосклероз з ознаками запалення виявив 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 склерозуванні клубочка відносно високий рівень імуносигналу Bcl-xL локалізується 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. 2А). Досліджено характер розподілу рівня Bcl-xL при ІgА-нефропатії. Вищий рівень імуносигналу був зафіксований в тубуло-інтерстиційному сегменті порівняно з клубочками при гломерулосклерозі I-II ст. ($75,67 \pm 1,74$ відн. од. проти $31,71 \pm 1,37$ відн. од., $p < 0,01$). Одночасно при високому рівні склерозування клубочка високий рівень імуносигналу Bcl-xL локалізується в оточуючому тубуло-інтерстиційному сегменті ($39,7 \pm 1,94$ відн. од. проти $23,65 \pm 1,2$ відн. од., $p < 0,01$) (рис. 2Б).

А.



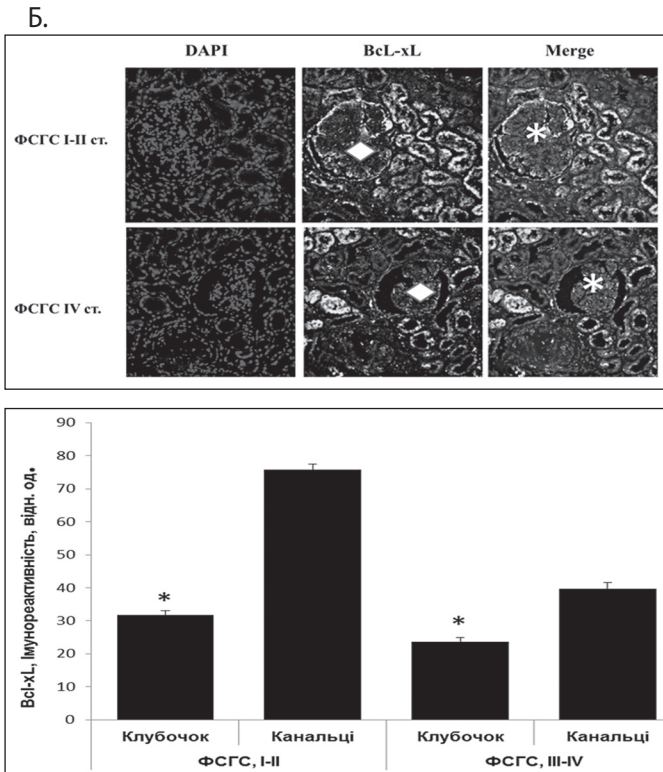


Рис.2. Топічна локалізація рівнів антиапоптозного фактора Bcl-xL при різних ступенях ФСГС, що розвивався в результаті нефротичного синдрому (А) та IgA нефропатії (Б).

Примітка: DAPI – візуалізація ядер, Bcl-xL – імуносигнал Bcl-xL в тканині нирки, Merge - сумісне зображення, * - клубочок, - канальці.

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. Більше того, показано, що в склерозованих клубочках з рівнем гломерулосклерозу II-III ст. переважна більшість апоптозних клітин локалізується в клубочках (рис.3А). При повному склерозуванні клубочка високий рівень апоптозу виявлено в оточуючому тубуло-інтерстиційному сегменті (рис. 3Б).

Кількісний аналіз показав, що в при ФСГС І-ІІ ст. індекс апоптозу в клубочках 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 (ІА) виявлено в тубуло-інтерстиційному компоненті – $29,27 \pm 1,18\%$, в клубочках ІА становив $4,7 \pm 0,54\%$ ($p < 0,001$) (рис. 3В).

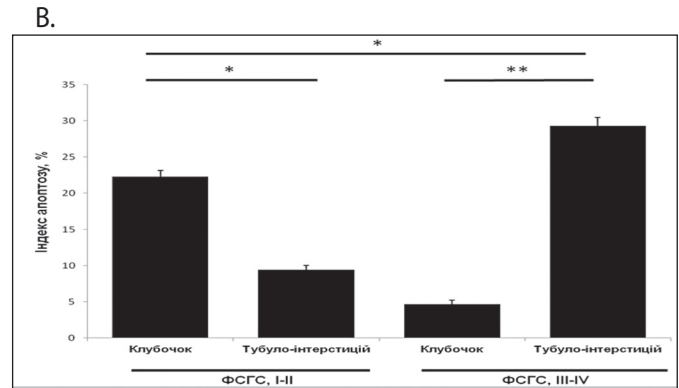
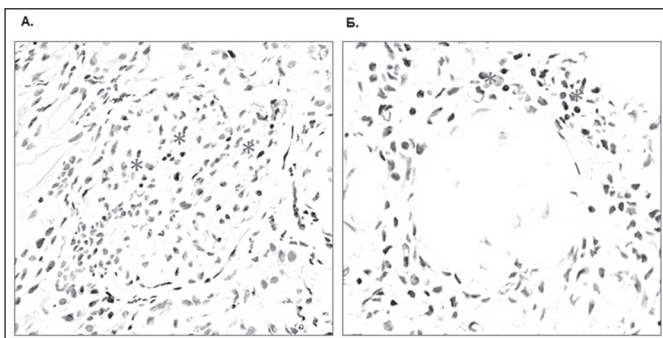


Рис. 3. Рівні апоптозу в тканинах нирок при ХГН у дітей

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, Вах, Вах, Bid, Bad, Вік, Blk. Зрушення балансу активності факторів даної родини в той 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 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].

Одні і ті ж молекули можуть служити як факторами виживання, так і загибелі для різних клітин. Основними цитокінами, які активують мембранні рецептори загибелі (FasL), є представники родини TNF. TNF і FasL є досить вивченими в нирках. В нирках цитокіни можуть бути синтезовані лейкоцитами, що проникли, та самими клітинами нирок. TNF і FasL можуть індукувати апоптоз мезангіальних клітин, проксимально тубулярних клітин, ендотеліальних клітин, фібробластів нирок. Однак чутливість цих типів клітин варіює в залежності від їх мікрооточення.

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, фіброласти експресують клітинні рецептори Fas. (рис.4). Наприклад, надмірна експресія проапоптозного фактора Вах індукує каспаза-незалежний механізм загибелі клітин. Механізми дії проапоптозного фактора Вах включає в себе:

- 1) обов'язкове інгібування антиапоптозних факторів Bcl-2 та Bcl-XL, що призводить до активації каспаз;
- 2) індукція відкриття мітохондріальних пор, що сприяє виходу мітохондріальних проапоптозних факторів в цитоплазму.

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 транзиторних пор;
- 2) звільнення білків, таких як цитохром c, AIF та SMAC/Diablo, з мітохондріального міжмембранного простору в цитозоль, де вони беруть участь у ефекторній фазі апоптозу - безпосередній активації каспаз [9].

Після виходу цитохрома з мітохондрій відбувається активація Araf-1 за рахунок його олігомеризації разом з каспазою-9. При цьому активується білковий комплекс, що носить назву апоптосомі. Каспази-8 і -10 є ініціатором активації каспази-3 – кінцевого фактора сигнального шляху розвитку апоптозу.

Фактори виживання	Про-апоптозні фактори	
Bcl-2	Bax	Bid
Bcl-x ¹	Bax	Bad
Bcl-w	Bok/Mtd	Bik/Nbk/Blk
Bcl-B	Bcl-x ₃	Bim/Bod
Bcl-2L1		Hrk/DP5
A1/Dfl-1		Noxa
NR13		Bcl-G
Mcl1		BNIP3/NIP3
1		NIX/BNIP3L

Рис. 4. Система факторів контролю апоптозу

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, Araf-1 і цитохромом C, що в кінцевому результаті запобігає активації каспази-3. Другий сценарій полягає в закритті VDAC і запобіганні виходу мітохондріальних апоптогенних факторів, таких як цитохрому C і AIF 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-xL. 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 IgA нефропатії, свідчать 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 прогресуванні 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 одного боку, та прогресування тубулоінтерстиційних пошкоджень, з іншого [13-15]. Ініціаторами апоптозу можуть бути ряд факторів - супероксидні радикали та їх метаболіти (радикальні форми кисню, РФК), гіпоксія, фактор росту фіброblastів, ангіотензин II [4,5]. Таким чином, 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. *Pediatr Nephrol* 2007; 22 (12): 2011–2022.
2. Brantsma A.H., Athobari J., Bakker S.J. What predicts progression and regression of urinary albumin excretion in the nondiabetic population? *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 637.
3. Favaloro 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. Tr cherel E., Godin C., Louandre C., Benchitrit J., Poirot S., Mazi re 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.
14. Eddy A.A. Molecular basis of renal fibrosis. *Pediatr Nephrol* 2000; 15: 290-301.
15. Shankland S.J. The podocyte's response to injury: role in proteinuria and glomerulosclerosis. *Kidney Int* 2006; 69(12): 2131-2147.

Відомості про автора:

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

© Є.А. Бурлака, 2013