

## **APOPTOSIS AND PROLIFERATION OF CELLS OF HYPERTROPHIC AND YOUNG KELOID SCARS**

©Yu.R. Baranovskiy, V.M. Segalov, A.U. Kosenko

*Crimean State Medical University by S.I. Heorhiyevsky*

**SUMMARY.** At 15 patients of surgical department of Crimea Clinical Hospital named by N.A. Semashko being on stationary treatment in connection with the necessity to perform the different repeated operative interferences in the place of preceding operation, a postoperative keloid was intraoperatively excised. Epidermis and dermis cells proliferation was studied by the monoclonal antibodies Ki-67 (MIB-1). Monoclonal antibodies to the Fas-receptors (CD 95 / Apo 1) and Bcl-2 were used for the estimation of processes of the programmed cellular death in keloid scars. Protein p53 was used for determination of number of cells being in the stage of apoptosis. In the epidermis of hypertrophy scars the processes of apoptosis are oppressed on a background increased proliferation of epidermocytes, that results in hypertrophy. Maintenance of negative regulator of apoptosis of Bcl-2 not allowing Fas-induced keratinocytes to enter into an apoptosis. In the epidermis of young keloid scars, not looking on the active processes of proliferation, keratinocytes are actively eliminated by apoptosis, that restrains the hypertrophy of epidermis. There is active proliferation of cells in the area of growth of young keloid scars. Apoptosis here is inhibited by Bcl-2.

**KEY WORDS:** keloid scar, hypertrophy scars, apoptosis, proliferation.

УДК 616.61–018.834:591.4+616.617–007.271]:599.323.4.084.1–028.77

## **МОРФОЛОГІЯ ВНУТРІШНЬОЇ МОЗКОВОЇ РЕЧОВИНИ НИРКИ ЩУРІВ З ГІПОРЕАКТИВНІСТЮ АНГІОТЕНЗИНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ І ТИПУ ЗА УМОВ ОБСТРУКЦІЇ СЕЧОВОДУ**

©Е.Ф. Баринов, В.В. Волошин, Є.В. Черешнева

*Донецький державний медичний університет ім. М. Горького*

**РЕЗЮМЕ.** Проведено дослідження структурно-функціонального стану внутрішньої мозкової речовини нирки у щурів зі зниженою реактивністю протягом місяця після усунення обструкції лівого сечоводу. Встановлено, що в медулі гіпосенситивних щурів розвивається виражена запальна реакція та альтерація тубулярних структур в ранні терміни, склеротична трансформація, хронізація запалення, та пролонгування дистрофічних змін в епітелії збиральних трубочок та петель Генле до кінця місяця, що може призвести до порушення механізмів концентрування сечі.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** нирка, мозкова речовина, ангіотензин II.

**Вступ.** Однією з патогенетичних подій за умов порушення пасажу сечі, що супроводжує різноманітні урологічні захворювання, є активація ренін ангіотензинові системи [1]. При цьому існують індивідуальні особливості реакції організму [2], що відбиваються як на амплітуді продукції реніну та конвертації ангіотензину I на ангіотензин II (АнгII), так й на ступені реакції клітин-мішеней на дію АнгII (опосередковану переважно I-типом рецепторів - AT1) [3]. Враховуючи профіброгенний, проапоптогенний, вазорегуляторний та прозапальний ефекти цього регулятора [4], проблема вивчення реакції структур нирки на порушення уродинаміки набуває не тільки теоретичного, але й практичного значення, оскільки дозволяє за сенситивністю AT1-рецепторів прогнозувати ступінь ушкодження ниркових структур та використовувати адекватні методи корекції ренальних дисфункцій. Це твердження, в першу чергу, стосується внутрішньої мозкової

речовини (ВМР) нирки, де реалізуються механізми концентрування сечі.

**Мета дослідження** - визначення морфологічного стану внутрішньої мозкової речовини нирки щурів зі зниженою реактивністю AT1 рецепторів за умов односторонньої обструкції сечоводу (ООС).

**Матеріал і методи дослідження.** Дослідження виконані на дорослих білих щурах-самцях вагою ( $220 \pm 25$ ) г, що мали вільний доступ до води та їжі. З метою визначення сенситивності AT1-рецепторів використовували тест *in vitro*: індукували агрегацію тромбоцитів інкубацією з АнгII. Шляхом аналізу розподілу EC50 АнгII (ефективна концентрація АнгII, яка підвищує агрегацію тромбоцитів на 50%), були відібрані щури з низькою сенситивністю AT1 (гіпореактивні,  $n=21$ ), для яких EC50 знаходилася в межах ( $1,30 \pm 0,10$ ) мкМ. Групу порівняння склали 10 нормореактивних тварин, EC50 АнгII для яких скла-

дала  $0,95 \pm 0,05$  мкМ. Порушення уродинаміки відтворювали на моделі ООС. Для цього після анестезії шляхом внутрішньочеревного введення 1% розчину гексеналу виконували середню лапаротомію, розсікали стінку сечового міхура й через отвір лівого сечоводу в його просвіт вводили катетер. Катетер проводили під шкірою, вільний кінець виводили на шийку й приєднували до пластикової пробірки для збору сечі. Стінку черевної порожнини пошарово ушивали. Через 2 доби після операції катетер закривали на 48 г, що забезпечувало моделювання гострого порушення пасажу сечі. Потім відновлювали транспорт сечі з лівої нирки. Морфологічне дослідження лівої нирки експериментальних тварин проводили через 7, 10-14 днів і 1 місяць після ООС. Гістологічні зрізи товщиною ( $5 \pm 1$ ) мкм забарвлювали гематоксиліном та еозином, за методами ван Гізону та Браше, а також толуїдиновим синім для оцінки вмісту сульфатованих глікозаміногліканів (сГАГ). Під час морфометричного аналізу проводили облік питомого обсягу (ПО) та діаметру тубулярних структур, судин, інфільтратів, ПО клітин та міжклітинної речовини. Крім того, підраховували відсоток каналців з нормальною будовою, з вакуолізацією цитоплазми, зруйновані та з ознаками регенерації. Отримані дані обробляли статистично.

**Результати й обговорення.** У гіпореактивних тварин через 7 діб після ООС у ВМР визначено дилатацію каналців, переважно збірних трубочок (ЗТ). В них спостерігалися дистрофічні зміни у вигляді вираженої вакуолізації (ПО був на 21,46%,  $p < 0,01$  вище, ніж у нормореактивних). Частина клітин мала зморщене ядро та фрагментовану в апікальній частині цитоплазму, в деяких випадках за рахунок цього відбувалося пролабування ядра клітин в сечовий просвіт. Канальців із зруйнованими клітинами було на 14,3% ( $p < 0,05$ ), більше ніж в групі порівняння. Інтерстицій характеризувався нерівномірним кровонаповненням судин, різким зниженням метакроматичної реакції міжклітинної речовини (що свідчить про зменшення вмісту сГАГ і, відповідно, кортикомедулярного концентраційного градієнту), набряком та периваскулярною інфільтрацією, об'єм якої був на 19,23% вище, ніж у нормореактивних тварин. Отримані дані свідчать на користь того, що висока активність РАС та рівень АнгII призводять до більш вираженої альтерації тубулярних структур, мабуть, за рахунок прямої дії АнгII на епітеліоцити, а також завдяки більш вираженій ішемії та стимуляції запальної реакції.

На 10-14 добу визначено зниження відсотка ушкоджених каналців у нирках гіпореактивних

тварин, але при цьому ПО структур з дистрофічними змінами виявився на 15,57% ( $p < 0,01$ ) вище, а каналців з нормальною будовою та ознаками регенерації, відповідно, на 7,25% та 8,32% нижче ( $p < 0,05$ ), ніж у нормореактивних щурів. В інтерстиції спостерігалася слабка й неоднорідна реакція на сГАГ, об'єм інфільтратів залишався на 12,5% вище, а ПО інтерстиційних клітин - на 16,2% нижче, ніж в групі порівняння. Враховуючи роль інтерстиційних клітин в регуляції ниркових функцій, а також можливість загибелі клітин шляхом апоптозу за умов ішемії, осмотичного стресу, дії високих концентрацій АнгII [3] та ін., зменшення їх кількості в постобструктивній нирці може розцінюватися як фактор ризику незворотного порушення структурно-функціональної організації ВМР та формування схильності до гіпертензії [1].

Через 1 місяць у тварин основної групи визначено збереження альтеративних та дистрофічних змін каналців на фоні залишків лімфогістіоцитарної інфільтрації строми, низької реакції інтерстицію на сГАГ та нерівномірного кровонаповнення судин. При цьому зареєстроване вірогідне зростання ПО інтерстицію (на 8,27%,  $p < 0,05$ ) на фоні накопичення колагенових волокон і розширення простору між структурами протитечійно-множильного апарату. Отримані дані свідчать про ушкоджуючий ефект АнгII на ВМР в патогенезі розвитку постобструктивної нефропатії, що в пізні терміни реалізуються у вигляді пролонгування локальних осередків запалення, склерозування інтерстицію та збереження дистрофічних змін в епітеліоцитах каналців. Зміна об'єму та хімічного складу інтерстицію, з одного боку, є результатом апоптозу, фіброгенної трансформації інтерстиційних клітин до дії високого рівню АнгII та тривалої запальної реакції [4], а з іншого - може розглядатися як причина порушення кортико-медулярного концентраційного градієнту, блокування тубуло-судинних відносин в реалізації транспортних процесів та дефіциту простагландинів [1], що мають цитопротекторний та ангіотрофічний ефекти.

**Висновки.** Таким чином, в щурів зі зниженою сенситивністю АТ1 рецепторів у ВМР нирки в ранні терміни після ООС спостерігається виражена альтерація тубулярних структур та пролонгована запальна реакція. Наслідком цього є зміна хімічного складу інтерстицію ВМР, зниження концентраційного градієнту, склерозування ниркового сосочка, пролонгування дистрофічних процесів в епітелії каналців та зміна тубуло-васкулярних взаємовідносин через місяць після усунення ООС, що може призвести

до тривалого порушення концентраційної функції органа.

**Перспективи подальших досліджень.** Визначення параметрів реактивності організму

може лежати в основі розробки системи індивідуалізації діагностичного обстеження та терапевтичної тактики в урологічній та нефрологічній практиці.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Chevalier R.L. Pathogenesis of renal injury in obstructive uropathy // *Curr. Opin. Pediatr.* – 2006. – V. 18, № 2. – P. 153-160.

2. Hunyady L., Catt J.K. Pleiotropic AT<sub>1</sub> Receptor Signaling Pathways Mediating Physiological and Pathogenic Actions of Angiotensin II // *Mol. Endocr.* – 2005. – V. 20, № 5. – P. 953-970.

3. Klahr S., Morrissey J. Obstructive nephropathy and renal fibrosis // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2002. – Vol. 283, №5. – P. 861-875.

4. Salivon I., Polina N. Constitution and reactivity of the organism // *J. Physiol. Anthropol. Appl. Human Sci.* – 2005. – V. 24, № 4. – P. 497-502.

## MORPHOLOGY OF RENAL INNER MEDULLA IN RATS WITH HYPOREACTIVITY OF TYPE I ANGIOTENSIN RECEPTORS UNDER URETERAL OBSTRUCTION

©E.F. Barynov, V.V. Voloshyn, Ye.V. Cheresheva

*Donetsk State Medical University by M. Horky*

**SUMMARY.** The renal inner medulla structural and functional state was analysed in rats with decreased sensitivity of AT<sub>1</sub> receptors during 1 month after left ureteral obstruction. It was shown that the intensive inflammatory reaction and tubular alteration takes place in renal medulla in early terms after obstruction. To the end of the 1 month the chronization of inflammation and sclerotic transformation of interstitium are observed and it can result in dystrophic changes of medullar tubules prolongation, which can be a reason of urinary concentration mechanisms alteration.

**KEY WORDS:** kidney, inner medulla, angiotensin II.

УДК 591.461.2:599.323.4+616.379–008.64:001.891.57

## МОРФОГЕНЕЗ НИРКОВИХ ТІЛЕЦЬ У ЩУРІВ З РІЗНОЮ ПОТУЖНІСТЮ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ NO-СИНТАЗИ ЗА УМОВ МОДУЛЮВАННЯ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Е.Ф. Баринів, В.М. Гузенко, Х.В. Григорян

*Донецький державний медичний університет ім. М. Горького*

**РЕЗЮМЕ.** В роботі проведено аналіз структурно-функціонального стану ниркових тілець у щурів з нормальною та зниженою активністю NO-синтази в динаміці розвитку діабетичної нефропатії. Продемонстровано, що низький рівень продукції NO є фактором ризику раннього (14 доба) розвитку гломерулопатії, що супроводжується ураженням фільтраційного бар'єру з розвитком протеїнурії на фоні зміни клітинного стану судинного клубочка: втрати подоцитів та активації проліферації й секреторної активності мезангіальних клітин.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** нирка, судинний клубочок, синтаза оксиду азоту.

**Вступ.** Провідною ланкою патогенезу діабетичної нефропатії (ДН) є ендотеліальна дисфункція, що певною мірою обумовлена порушенням продукції оксиду азоту (NO) [1]. Досвід дослідників останніх років свідчить про те, що одним з причинних факторів цього є генетично детермінована експресія гену ендотеліальної NO-синтази (eNOS) [2], яка визначає адаптаційні реакції ендотелію за умов дії несприятливих факторів, зокрема дизметаболических розладів при дефіциті інсу-

ліну: гіперглікемії, дизліпідемії та ін. Таким чином, індивідуальні особливості експресії eNOS та продукції NO значною мірою детермінують стан мікроциркуляторного русла органів, в тому числі й нирки, порушення якого може бути предиктором розвитку ускладнень цукрового діабету (ЦД), зокрема ДН [3]. Але, на жаль, в сучасній літературі немає чіткої системи уявлень щодо взаємозв'язків між станом eNOS та вірогідністю, термінами і швидкістю прогресування гломерулопатії за умов ЦД.