

© Майданник В.Г., Бурлака Є.А., Багдасарова І.В., Фоміна С.П., 2012

УДК 616.611-002-036.2-053.2:616-001.8

МАЙДАННИК В.Г.¹, БУРЛАКА Є.А.^{1,2}, БАГДАСАРОВА І.В.³, ФОМІНА С.П.³
РОЛЬ КЛІТИННОЇ ГІПОКСІЇ В ПРОГРЕСУВАННІ ХРОНІЧНОГО
ГЛОМЕРУЛОНЕРИТУ У ДІТЕЙ

MAIDANNYK V.G.¹, BURLAKA E.A.^{1,2}, BAGDASAROVA I.V.³, FOMINA S.P.³

ROLE OF CELL HYPOXIA IN CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS PROGRESSION IN CHILDREN

¹Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна; ²Каролінський інститут, Стокгольм, Швеція; ³ДУ «Інститут нефрології АМН України», Київ, Україна

Ключові слова: хронічний гломерулонефрит, нефротичний синдром, прогресування, клітинна гіпоксія, O_2 -, запалення, апоптоз, Bcl-xL.

Резюме. Показатели хронического воспаления, клеточной гипоксии и апоптоза изучены у 48 больных детей с нефротической формой гломерулонефрита. Установлено, что развитие заболевания сопровождается ростом скорости генерирования супероксидных радикал-анионов нейтрофильными гранулоцитами, повышением уровня индуцированного гипоксией фактора HIF-1 α и снижением активности фактора системы антиапоптотической защиты Bcl-xL, а степень выявленных изменений достоверно зависит от интенсивности протеинурии и наличия нарушения фильтрационной функции почек. Доказана целесообразность использования изученных показателей в качестве предикторов неблагоприятного течения гломерулонефрита. С учетом выявленных изменений представлен механизм формирования индуцированных гипоксией поврежденных почек при прогрессировании гломерулонефрита у детей.

Summary. Indicators of chronic inflammation, cellular hypoxia and apoptosis were studied in 48 nephrotic children. It was found that the disease course is accompanied by increased speed of superoxide radical-anions generation by neutrophilic granulocytes, increased levels of hypoxia-induced factor HIF-1 α and decreased expression of antiapoptotic factor Bcl-xL. Detected changes significantly depended on the degree of proteinuria and declining of glomerular filtration rate. Utility of studied parameters was proved as predictors of unfavorable disease course. The mechanism of progression of hypoxia-induced renal damage in children with nephrotic syndrome was presented.

ВСТУП. Хронічний гломерулонефрит (ХГН) є основною причиною розвитку хронічного захворювання нирок (ХЗН) в дитячій нефрології. Механізми прогресування ХЗН, а ХГН зокрема, залишаються сьогодні ще недостатньо вивченими [1]. ХГН відносять до групи імунозапальних захворювань, які характеризуються, крім неурої етіології та схожими ланками патогенезу з імунорегуляторним дисбалансом, гістологічною

гетерогенністю, непередбачуваним перебігом та проблемним прогнозом через можливість прогресування до термінальної стадії хронічної ниркової недостатності (тХНН). Відомо, що зменшення кількості функціонуючих нефронів при гломерулонефриті ініціює механізми компенсаторного росту нефронів, які залишилися [2]. Патологічні основи компенсаторних процесів та прогресування захворювання дуже подібні і забезпечуються на клітинному рівні проліферацією клітин (гломерулярних, тубулярних, інтерстиціальних). Однак при патології нирок порушення регуляції проліферативних процесів призводить до незворотних гістологічних змін (розвитку гломерулосклероза, тубулярних

Інгретта Вартанівна Багдасарова
тел.: (0 44) 285 36 44

кіст, інтерстиціального фіброзу). В їх формуванні важливу роль відіграє і хронічне запалення, яке при ХГН характеризується неспецифічністю [3, 4].

До факторів, які визначають перебіг ХГН, відносять ступінь пошкодження гломерулярного апарату нирок, що безпосередньо впливає на рівень протеїнурії, та ступінь уповільнення швидкості клубочкової фільтрації (КФ) [1]. Але, за даними досліджень останнього десятиріччя, прогресуюче погіршення функції нирок при гломерулярній патології тісно пов'язане, в першу чергу, зі ступенем тубулоінтерстиціальних пошкоджень [5]. Головний фінальний етап розвитку тХНН, як стверджує висунута Fine L. гіпотеза хронічної гіпоксії, реалізується через хронічну ішемію в тубулоінтерстиції [6]. Частково механізми індукції гіпоксії вже вивчено. При короточасній дії стресових факторів клітинна гіпоксія допомагає реалізувати захисні механізми, сприяє адаптації та виживанню клітин. Критичну роль в адекватній відповіді організму на гіпоксію відіграє гіпоксія-індукований фактор (HIF), в першу чергу, його 1α ізоформа (HIF- 1α), локалізована переважно в тубулярних клітинах нефрону [7, 8]. За умов хронічної гіпоксії зростання рівня HIF- 1α призводить до незворотного пошкодження структур нирки та розвитку фіброзу [9]. Основними точками впливу при цьому є: безпосередня регуляція фіброгенезу; контроль епітеально-мезангіальної трансформації; модуляція процесів запалення, контроль життєвого циклу клітин [10]. Однак, сьогодні визначено, що спектр реакцій при активації HIF- 1α значно ширше і включає зміни в ангиогенезі, еритропоезі, клітинному метаболізмі загалом, апоптозі [11]. Контроль останнього складний і залежить від балансу активності про- та антиапоптозних факторів, в якому важливу роль відіграє родина Bcl [12]. До білків-контролерів апоптозу відносять продукти експресії антиапоптозних генів Bcl-xL, які попереджуючи активацію каспаз, гальмують каскад апоптичного процесу [13]

Мета роботи – дослідити окремі ланки механізму хронічної гіпоксії при прогресуванні ХГН у дітей.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. Дизайн дослідження – одномоментне (cross-sectional study), об'єкт – 48 пацієнтів (віком від 5 до 18 років) з активною стадією нефротичної форми ХГН, які обстежились в клініці дитячої нефрології ДУ «Інститут нефрології АМН України» (клінічна база – ДКЛ №7 м. Києва) в 2009-2011 роках.

Діагноз встановлено за наявності клініко-лабораторного симптомокомплексу нефротичного синдрому (протеїнурія >3 г/доба, гіпоальбумінурія <25 г/л, гіперхолестеринемія >6.5 ммоль/л, набряків) та тривалості захворювання не менше року від початку. Порушення функції нирок документовано при збільшенні рівня си-

роваткового креатиніну (100-460 ммоль/л), що супроводжувалося зменшенням швидкості клубочкової фільтрації (КФ). Стан КФ було оцінено з використанням стандартної формули Шварца (Schwartz G. J.) в мл/хв/1.73 м² [14].

Залежно від функції нирок хворі були розподілені на групи: ХЗН I (швидкість КФ ≥ 90 мл/хв/1.73 м²) – n=29, ХЗН II-III (швидкість КФ 30-89 мл/хв/1.73 м²) – n=19. Пацієнти з 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 в крові хворих, які є маркерами клітинної гіпоксії та хронічного запалення.

Вперше в даній когорті було вивчено рівень окисних пошкоджень за ступенем активації нейтрофільних гранулоцитів крові шляхом дослідження швидкості генерування супероксидних радикал-аніонів (O₂⁻) методом електронного парамагнітного резонансу з використанням спінового уловлювача 1-гідрокси-2,2,6,6-тетраметилпіперидин-1-оксиду [15].

Визначено рівень гіпоксія-індукованого фактору (hypoxia-induced factor – HIF), його ізоформи 1α , в плазмі та антиапоптозного фактора Bcl-xL в нейтрофілах крові з використанням методики western blotting (WB) [16, 17].

Для підготовки зразків плазми хворих розводили в буфері (50 mM Tris/HCl (pH 7.4), 50 mM NaCl, 1 mM EDTA, 0,5 mM дитіотреїтол, 0,5% дексиклорат натрію, 1,5% NP-40, 1 mM фенолметилсульфоніла 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 плазми та суспензії нейтрофілів для оцінки рівнів HIF- 1α та Bcl-xL проводили в 12.5% поліакриламідному гелі з наступним трансфером на полівінілден-дифлюоридні мембрани та блокуванням мембран в 5% знежиреному молоці на TBS-T (136 mM NaCl, 10 mM Tris, 0,05% Tween 20). Інкубацію з первинним антитілами (Mouse anti-Human HIF-1 α Ab, BD Transduction Laboratories, та Mouse 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 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 хемілюмінісцентного субстрату (ECL, GE Healthcare, UK). Для контролю об'єму зразків, нанесених в гель при електрофорезі, використано β -актин – білок цитоскелету («золотий стандарт» WB аналізу).

Контрольні показники були отримані при обстеженні 19 умовно здорових дітей (надалі – "Контроль"). В цій групі швидкість генерування супероксидних радикал-аніонів (O_2^-) становила 0.33 ± 0.10 нмоль/ $1 \cdot 10^3$ клітин·хв, а імунореактивність щодо рівнів HIF-1 α та Vcl-xL була прийнята за 100%.

Матеріал опрацьовано з використанням методів варіаційної статистики (STATISTICA 6.0) та непараметричних статистичних підходів

(Mann-Whitney test) [18]. Кореляційний зв'язок між вибірками розраховували за коефіцієнтом рангової кореляції Спірмена (r). Результати представлено як Mean \pm SE, статистично достовірним вважався рівень $P < 0.05$

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.

Дослідження рівнів активації нейтрофілів крові у дітей з ХГН виявило достовірне прискорення швидкості генерування супероксидних радикал-аніонів (O_2^-), характерне для хронічного запалення (рис. 1). При цьому ступінь запальної активації клітин залежав від наявності порушення фільтраційної функції нирок - більш виражені зміни зафіксовані у хворих з уповільненням швидкості КФ при ХЗН II-III ст. (2.79 ± 0.22 нмоль/ $1 \cdot 10^3$ клітин·хв проти 1.55 ± 0.70 нмоль/ $1 \cdot 10^3$ клітин·хв в групі з ХЗН I ст., $P < 0.01$).

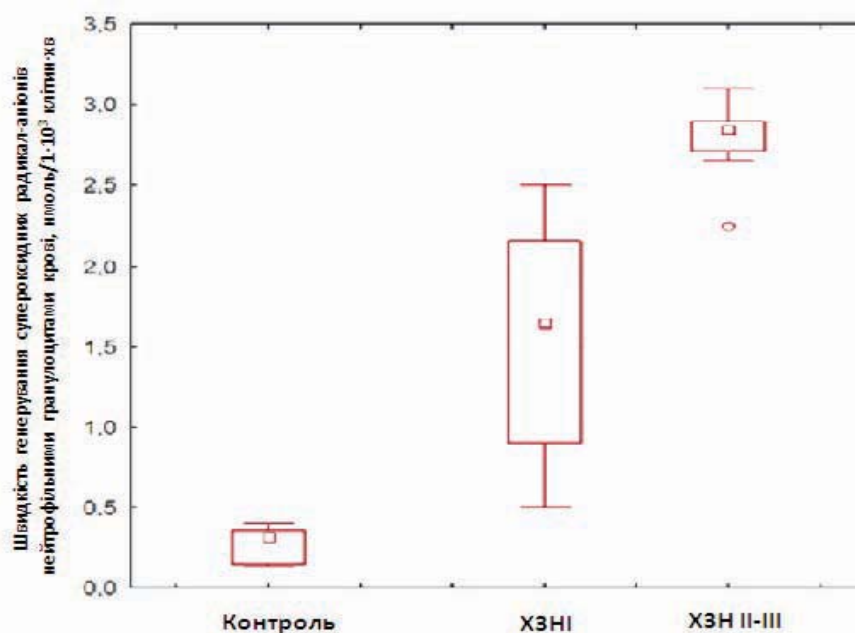


Рис. 1. Рівні запальної активації нейтрофільних гранулоцитів крові у дітей з ХГН та в Контролі

Вивчення гіпоксичних пошкоджень при ХГН у дітей за рівнем HIF-1 α в плазмі крові хворих показало достовірне зростання досліджених

параметрів в порівнянні з групою Контролю (рис. 2).

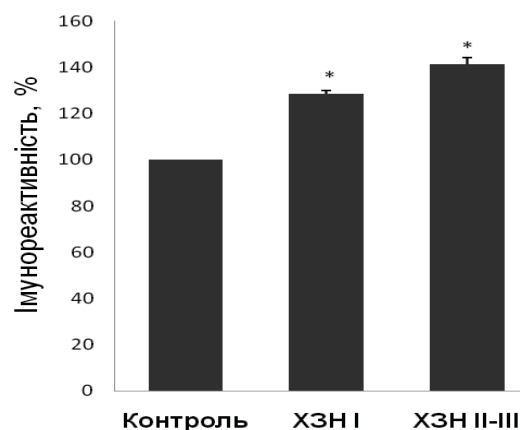
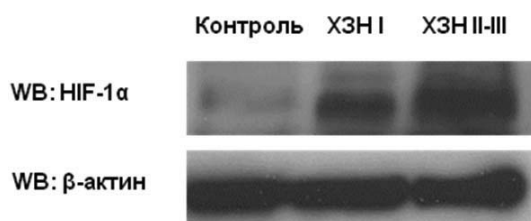


Рис. 2. Рівні HIF-1 α в плазмі крові хворих на ХГН та в Контролі: А – рівні HIF-1 α ; Б – імунореактивність HIF-1 α ; *відмінності достовірні. WB аналіз

Крім того, між ступенем росту HIF-1 α та наявністю порушення функції нирок виявлена залежність: гіпоксичні порушення зростали при зменшенні швидкості КФ - якщо при ХЗН I ст. рівень HIF-1 α становив 128.6% (P<0.01 в порівнянні з Контролем), то при ХЗН II-III ст. – 141.3% (p<0.01 в порівнянні з Контролем та групою зі збереженою КФ).

Індивідуальний аналіз рівню HIF-1 плазми та добової протеїнурії у хворих визначив наявність прямого позитивного кореляційного зв'язку ($r=0.61$, $p<0.01$) (рис. 3). Ці дані свідчать про залежність рівня хронічної гіпоксії від ступеня пошкодження фільтраційного бар'єру нирок та підтверджують безпосередню участь гіпоксичних пошкоджень в прогресуванні ХГН.

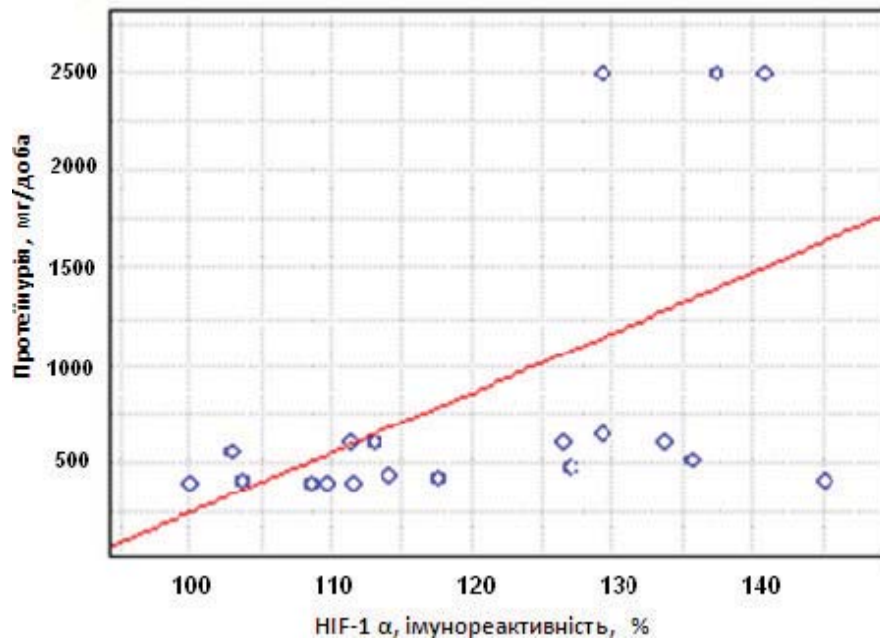


Рис. 3. Взаємозв'язок рівня HIF-1 α плазми та добової протеїнурії у дітей з ХГН

При цьому, ступінь зниження антиапоптозного захисту при ХГН залежав від наявності порушення функції нирок. Так, при збереженій функції (ХЗН I ст.) експресію Bcl-xL було знижено до $75.1 \pm 2.2\%$, а уповільнення КФ (ХЗН II-III ст.) супроводжувалось зменшенням рівня показ-

ника до $60.1 \pm 1.8\%$ (P<0.01 та P<0.001, відповідно, в порівнянні з групою Контролю) (рис. 4).

Дослідження стану антиапоптозного захисту при ХГН у дітей виявило значне зниження рівню експресії фактора Bcl-xL в нейтрофілах крові (рис. 4).

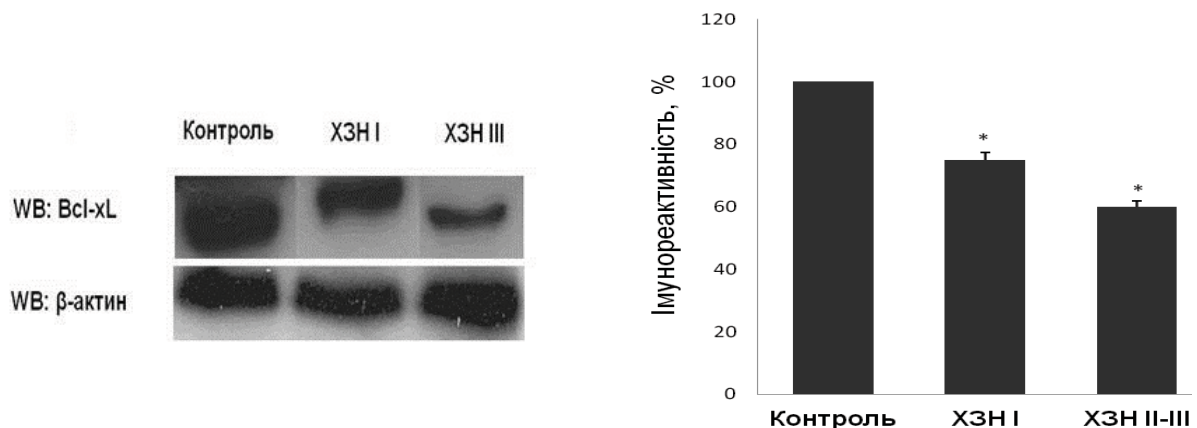


Рис. 4. Рівні антиапоптозного захисту у дітей з ХГН та в Контролі: А – рівні Bcl-xL; Б – імунореактивність Bcl-xL; *відмінності достовірні

Отримані результати підтверджують активну участь в патогенезі ХГН як хронічного запалення, так гіпоксії і апоптозу. При цьому, наростання швидкості генерування O_2^- в нейтрофілах, рівнів гіпоксичних пошкоджень (за вмістом HIF-1 α плазми) та активації апоптозу (за ступенем зниження експресії антиапоптичного фактора Bcl-xL) більш суттєво змінюються при порушенні фільтраційної функції нирок. Перераховані процеси фор-

мують замкнуте коло гіпоксія-індукованих пошкоджень нирок на молекулярному рівні, що веде до тХНН [5, 8]. Реалізація вказаних механізмів на клітинному рівні обумовлює клінічне прогресування захворювання. На основі літературних даних та результатів нашого дослідження шлях від первинного гіпоксія-індукованого пошкодження гломерул до тХНН можна представити схемою (рис. 5).

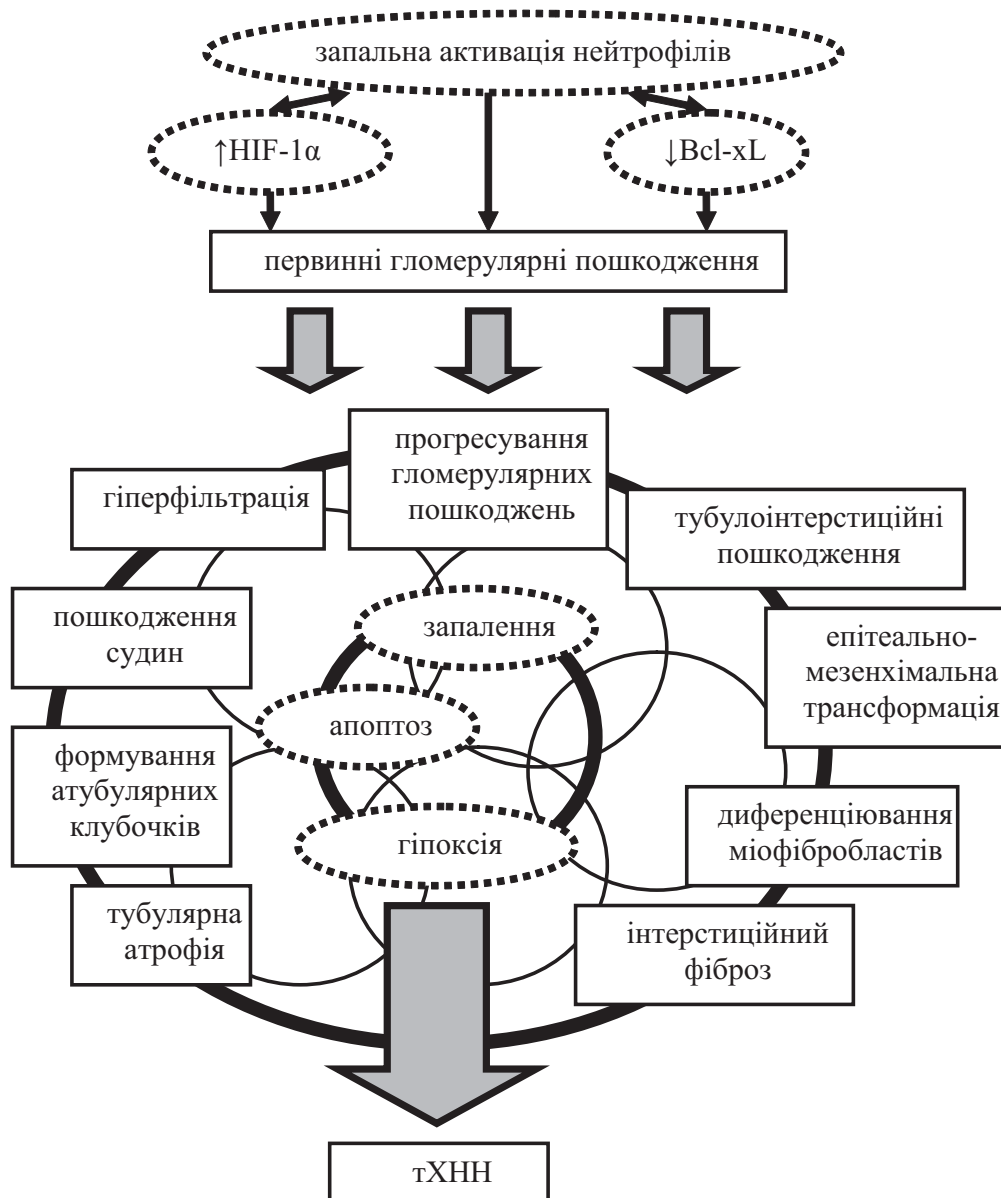


Рис. 5. Механізм формування гіпоксія-індукованих пошкоджень нирок при прогресуванні ХГН у дітей

Гіперфільтрація, характерна для ініціальної фази гломерулонефриту, посилює потребу клітин в кисні, однак його дифузія обмежується експансією зовнішньоклітинного матриксу [8, 19]. При цьому посилюється потреба клітин в кисні, дифузія якого обмежується експансією зовнішньоклітинного матриксу [8, 19]. Наростання окисних процесів відбувається за рахунок активації

генерування радикальних форм кисню та оксиду азоту в клітинах стінки судин, імунокомпетентними клітинами, що сприяє синтезу прозапальних цитокінів гломерулярними ендотеліальними клітинами, макрофагами (інтерлейкін-1 β , фактор некрозу пухлин- α , тощо), та посиленню подальших клітинних реакцій в зоні запалення з інфільтрацією макрофагами, активацією мезан-

гіальних клітин [19-22]. Акумуляція макрофагів в ендотелії призводить до наростання окисних пошкоджень, зокрема в капілярах клубочків. Структурні зміни стінки капілярів супроводжує втрата їх функції, виникають гемодинамічні розлади на рівні нефрону, що посилюють гіпоксію [23]. Формується замкнуте коло, індуковане хронічною гіпоксією.

Вторинна, окисно-індукована активація вазоактивних субстанцій (зокрема, ендотеліну-1, оксиду азоту, матриксних металопротеїназ), викликає вазоконстрикцію, в першу чергу - еферентних артерій, уповільнення постгломерулярного перитубулярного капілярного кровотоку. Неадекватний функціональний стан перитубулярних капілярів та їх структурні зміни сприяють зменшенню надходження кисню в тубулярні та інтерстиціальні клітини, викликаючи тубулоінтерстиціальні пошкодження. Найбільш чутливими при цьому є проксимально-тубулярні клітини, в яких запускається процес епітеліально-мезенхімальної трансформації та виникає інтерстиційний фіброз. Гіпоксія тубулярних клітин та фібропластичні процеси призводять до апоптозу [5, 23]. Компоненти зовнішньоклітинного матриксу підвищують чутливість мезангія до індукторів апоптозу, що веде до втрати гломерулярних клітин та розвитку гломерулосклерозу [23, 26]. Поглиблення структурно-функціональних порушень нефрону та інтерстиція сприяють прогресуванню хронічної гіпоксії. Кінцевим результатом описаних процесів є прогресування порушення функції нирок, гістологічно представлене втратою функціонуючих нефронів та фіброзуванням нирки з наступним її зморщенням [26].

Таким чином, хронічна гіпоксія при ХГН має мультифакторний генез та є причиною формування замкнутого кола пошкоджень на молекулярному рівні, що мають відповідні прояви на клітинному та органному рівні з єдиним виходом в тХНН. Сучасні терапевтичні стратегії при ХГН повинні враховувати механізм формування гіпоксія-індукованих пошкоджень нирок. Вже сьогодні вплив на його окремі ланки (корекція ренальної анемії еритропоєтином, відновлення перитубулярного капілярного кровотоку блокадою ренін-ангіотензинової системи) успішно сповільнює прогресування захворювання [8]. Можливими опціями патогенетично спрямованої терапевтичної дії при ХГН є модуляція гіпоксія-залежних процесів через відновлення ефективного клітинного дихання антиоксидантами, захист ендотелію судин [5].

ВИСНОВКИ:

1. ХГН характеризується розвитком хронічного запалення, формуванням клітинної гіпоксії та індукцією апоптозу, які реалізуються за рахунок наростання швидкості генеруван-

ня супероксидних радикалів-аніонів нейтрофільними гранулоцитами, підвищення рівня індукованого гіпоксією фактора HIF-1 та зниження активності фактора системи анти-апоптозного захисту Bcl-xL.

2. Досліджені фактори приймають участь в прогресуванні ХГН і ступінь їх змін вірогідно залежить від інтенсивності протеїнурії та порушення фільтраційної функції нирок, що дає можливість розглядати їх в якості предикторів перебігу захворювання.
3. Подальше вивчення зазначених показників допоможе визначити додаткові патогенетично-обґрунтовані терапевтичні засоби впливу на патологічний процес в нирках для уповільнення його прогресування, а їх моніторинг в динаміці ХГН дасть змогу оцінити ефективність запровадженої терапії.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Bradley A.W., Chadha V. / Chronic kidney disease in children: the global perspective // *Pediatr. Nephrol.* – 2007. – V. 22. – P. 1999–2009.
2. Remuzzi G. Mechanisms of progression and regression of renal lesions of chronic nephropathies and diabetes / G. Remuzzi, A. Benigni, A. Remuzzi // *J. Clin. Invest.* - 2006. – V. 116 (2). – P. 288–296.
3. Okamura D. M. Tipping the redox balance of oxidative stress in fibrogenic pathways in chronic kidney disease / D. M. Okamura, J. Himmelfarb // *Pediatr. Nephrol.* – 2009. – V. 24. – P. 2309–2319.
4. Djamali A. Nox-2 is a modulator of fibrogenesis in kidney allografts / A. Djamali, A. Vidyasagar, M. Adulla, D. Hullett, S. Reese // *Am. J. Transplant.* – 2009. – V. 9. – P. 74–82.
5. Palm F. Renal tubulointerstitial hypoxia: cause and consequence of kidney dysfunction / F. Palm, L. Nordquist // *Clin. experiment. pharmacology and physiology.* – 2011. – V. 38 (7). – P. 474-489.
6. Fine L. G. Is there a common mechanism for the progression of different types of renal disease other than proteinuria? Towards the unifying theme of chronic hypoxia / L. G. Fine, D. Bandyopadhyay, J. T. Norman // *Kidney Int.* – 2000. – V. 57. – Suppl. 75. – P. 22-26.
7. Nangaku M. Hypoxia and hypoxia-inducible factor in renal disease / M. Nangaku, R. Inagi, T. Miyata, T. Fujita // *Nephron Exp. Nephrol.* – 2008. – V. 110. – e. 1-7.
8. Nangaku M. Chronic hypoxia and tubulointerstitial injury: A final common pathway to end-stage renal failure / M. Nangaku // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2006. – V. 17. – P. 17-25.
9. Rosenberger C. Up-regulation of HIF in experimental acute renal failure: evidence for a protective transcriptional response to hypoxia / C. Rosenberger, S. N. Heyman, S. Rosen [et al] // *Kidney Int.* – 2005. – V. 67. – P. 531-542.
10. Haase V. H. Hypoxia-inducible factors in kidney / V. H. Haase // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2006. – V. 291. – F. 271-281.

11. Wang Z. Contribution of hypoxia inducible factor-1 α to the profibrotic action of angiotensin II in cultured renal medullary interstitial cells / Z. Wang, L. Tang, Q. Zhu, F. Yi, F. Zhang, P.-L. Li, N. Li // *Kidney Int.* – 2011. – V. 79. – P. 300–310.
12. Greijer A. E. The role of hypoxia inducible factor 1 (HIF-1) in hypoxia induced apoptosis / A. E. Greijer, L. E. Vanderwall // *J. Clin. Pathol.* – 2007. – V. 57. – P. 1009-1014.
13. Schinzela A. Bcl-2 family members: intracellular targeting, membrane-insertion, and changes in subcellular localization / A. Schinzela, T. Kaufmanna, C. Bornera // *Biochimica et Biophysica Acta.* – 2004. – 1644. - 95– 105.
14. Schwartz G. J. Measurement and estimation of GFR in children and adolescents / G. J. Schwartz, D. F. Work // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2009. – V. 4 (11). – P. 1632-1643.
15. Панасенко О. М. Образование свободных радикалов при распаде гидропероксида в присутствии миелопероксидазы или активированных нейтрофилов / О. М. Панасенко, А. В. Чеканов, Ю. Арнольд, В.И. Сергиенко, А. Н. Осипов, Ю. А. // *Биохимия.* – 2005. – Т. 70. – С. 1209-1217.
16. Simonides S. Hypoxia-inducible factor induces local thyroid hormone inactivation during hypoxic-ischemic disease in rats / S. Simonides, M. A. Mulcahey, E. M. Redou [et al] // *J. Clin. Invest.* – 2008. – V. 118(3). – P. 975–983.
17. Oltersdorf T. An inhibitor of Bcl-2 family proteins induces regression of solid tumors / T. Oltersdorf // *Nature.* - 2005. – V. 435. P. 677–681.
18. Rice J. A. *Mathematical Statistics and Data Analysis* / Rice J. A. - 2nd edn. - Duxbury Press, 2006. – P. 348-353.
19. Silverstein D. M. Inflammation in chronic kidney disease: role in the progression of renal and cardiovascular disease / D. M. Silverstein // *Pediatr. Nephrol.* - 2009. – V. 24. – P. 1445–1452.
20. Costa E. Inflammation, T-Cell phenotype, and inflammatory cytokines in chronic kidney disease patients under hemodialysis and its relationship to resistance to recombinant human erythropoietin therapy / E. Costa, M. Lima, J. M. Alves [et al] // *J. Clin. Immunol.* - 2008. – V. 28. – P. 268–275.
21. Kriz W. Pathways to nephron loss starting from glomerular diseases-insights from animal models / W. Kriz, M. Le Hir // *Kidney Int.* - 2007. - V. 67. – P. 404–419.
22. Morigi M. Protein overload-induced NF-kappa B activation in proximal tubular cells requires H₂O₂ through a PKC-dependent pathway / M. Morigi, D. Macconi, C. Zoja [et al] // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2002. – V. 13. – P. 1179-1189.
23. Theilig F. Spread of glomerular to tubulointerstitial disease with a focus on proteinuria // *Annals of Anatomy.* – 2010. – V. 192. – P. 125–132.
24. Eckardt K. U. Role of hypoxia in the pathogenesis of renal disease / K. U. Eckardt, W. M. Bernhardt, A. Weidemann, C. Warnecke, C. Rosenberger, M. S. Wiesener, C. Willam // *Kidney Int. Suppl.* – 2005. – S. 46-51.
25. Fine L. G. Chronic hypoxia as a mechanism of progression of chronic kidney disease: from hypothesis to novel therapeutics / N. G. Fine, J. T. Norman // *Kidney Int.* – 2008. – V. 74. – P. 867–872.
26. Heymann S. N. Renal parenchymal hypoxia, hypoxia response and the progression of chronic kidney disease / S. N. Heymann, M. Khamaisi, S. Rosen [et al] // *Am. J. Nephrol.* – 2008. – V. 28. – P. 998-1006.

Надійшла до редакції 05.02.2012

Прийнята до друку 06.02.2012