

DOI: 10.26693/jmbs06.02.037

УДК 611.61.018.2:[616-053.13:616-008.9-055.26].08:599.323.4

Григор'єва О. А., Коротчук Є. В.

ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЛОКОН СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ТА МІОФІБРОБЛАСТІВ ІНТЕРСТИЦІЮ НИРОК ПОТОМСТВА ЩУРІВ, НАРОДЖЕНИХ ВІД САМИЦЬ ІЗ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ

Запорізький державний медичний університет, Україна

korotchuk.zsmu@gmail.com

Як відомо, із ряду досліджень, харчування жінки у період вагітності може бути одним із факторів порушення нефрогенезу. Ожиріння вагітної може сприяти збільшенню маркерів фіброзу та накопиченню екстрацелюлярного матриксу у нирках.

Мета – дослідити динаміку вмісту колагенових волокон та міофібробластів у коркової та мозкової речовині нирок потомства щурів.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проведено із дотриманням біоетичних норм поводження із лабораторними тваринами (n = 120). Перша група – експериментальна (МС₁): щури, народжені від самиць зі змодельованим метаболічним синдромом та після початку самостійного харчування отримували висококалорійну дієту до 120-ої доби життя включно. Друга група – експериментальна (МС₂): щури, які отримані від самиць зі змодельованим метаболічним синдромом, але після переходу на самостійне харчування отримували стандартний раціон. Третя група – контрольна група щурів зі стандартним харчовим раціоном та водним режимом ad libitum. Для визначення колагенових волокон було використано гістохімічне забарвлення Масон-триколор, для виявлення міофібробластів – імуногістохімічну реакцію із використанням моноклональних антитіл mouse Smooth Muscle Actin (α SMA).

Результати. Встановлено, що вміст колагенових волокон у нирках досліджуваних груп поступово зростає зі збільшенням строку спостереження, досягаючи максимальних значень на 120-у добу дослідження, при цьому відмічається статистично достовірне переважаювання значень у тварин групи МС-1 над контрольними тваринами у корковій та мозковій речовині. Також для контрольної та експериментальної груп характерним є поступове зростання відносної площі, яку займають α SMA+ клітини від загальної площі органу, із максимальними значеннями наприкінці дослідження. При цьому відмічалось статистично достовірне переважаювання показника експериментальних груп МС-1 та МС-2 у корковій речовині у порівнянні із контрольними тваринами.

Висновки. Поступове розростання колагенових волокон у корковій та мозковій речовині імовір-

но пов'язане зі зростання вмісту α SMA+ міофібробластів, що за даними досліджень є маркерами фіброзу.

Ключові слова: метаболічний синдром, нирки, щури, колагенові волокна, міофібробласти.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота є фрагментом науково-дослідницької роботи кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії Запорізького державного медичного університету «Реактивність органів новонароджених після дії антигенів та факторів різної дії у внутрішньоутробному періоді», № державної реєстрації 0115U003875.

Вступ. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, значної поширеності в останні роки набуває дитяче ожиріння [1]. Кількість дітей, що страждають на надлишкову масу тіла із кожним роком зростає із великою швидкістю. Поширеність МС серед дітей і підлітків сягає близько 30–50 % [2]. Харчування матері під час вагітності впливає на ризик виникнення різних патологічних станів у дітей (серцево-судинні захворювання, цукровий діабет, метаболічний синдром, виникнення хронічної хвороби нирок та як результат – ниркової недостатності) [3]. Харчування вагітної може бути одним із тригерів порушення нефрогенезу та в подальшого – негативних наслідків для роботи нирок та здоров'я потомства. Значна частка досліджень на експериментальних тваринах показала, що ожиріння матері та надлишкове харчування під час вагітності сприяє порушенням процесів нефрогенезу та збільшенню маркерів фіброзу та гломерулосклерозу у нирках потомства [4, 5]. Фіброз визначається утворенням та накопиченням білків екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ) за рахунок мезенхімальних клітин – фібробластів, періцитів та міофібробластів [6]. При прогресуванні ниркового фіброзу відбувається епітеліально-мезенхімальний перехід – складний процес, при якому термінально диференційований епітелій перетворюється на фібробласти та міофібробласти [7, 8, 9]. Збільшення ЕЦМ пов'язане зі збільшенням популяції міофібробластів, що експресують α SMA та віментин [10]. α SMA (α -актин гладких м'язів) є білком-маркером

гладком'язових клітин та міофібробластів. Експресія α SMA корелює із активацією міофібробластів [11, 12]. Наявність α SMA+ міофібробластів вважається основним джерелом патологічного накопичення позаклітинного матриксу при фіброзі [13]. Міофібробласти є кінцевими диференційованими клітинами, що відповідають за синтез компонентів ЕЦМ (колагени I та III типу, фібронектин), вони мають гарно розвинені міжклітинні контакти та міжклітинні щільні з'єднання [14]. Тому, можна вважати, що міофібробласти є маркерами ниркового фіброзу [15]. Цікавим є питання щодо можливої корекції фібротичних змін у нирках внаслідок змін харчового раціону потомства тварин. Також недостатньо висвітлені аспекти взаємовідношення компонентів ЕЦМ, зокрема α SMA+ міофібробластів та колагенових волокон.

Мета роботи – дослідити динаміку вмісту колагенових волокон та міофібробластів у корковій та мозковій речовині нирок потомства щурів, народжених від самиць із експериментальним метаболічним синдромом.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проведено на нирках потомства 120 білих лабораторних щурів, розподілених на 3 групи. Перша група – експериментальна (MC₁): щури, народжені від самиць зі змодельованим метаболічним синдромом та після початку самостійного харчування отримували висококалорійну дієту до 120-ої доби життя включно. Друга група – експериментальна (MC₂): щури, які отримані від самиць зі змодельованим метаболічним синдромом, але після переходу на самостійне харчування отримували стандартний раціон. Третя група – контрольна група щурів зі стандартним харчовим раціоном та водним режимом *ad libitum*. Оскільки від моменту народження до 21-ої доби постнатального життя у щурів є періодом молочного вигодовування, то розділення експериментальних груп MC₁ та MC₂ починалось з 30-ої доби спостереження. У період грудного вигодовування самиці продовжували отримувати висококалорійну дієту.

При роботі із лабораторними тваринами було дотримано основних біоетичних положень Конвенції Ради Європи з прав людини та біомедицини (від 04.04.1997 р.), положень Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації (1964-2013 рр.), Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 21.02.2006 № 3447-IV, редакція від 09.12.2015, підстава 766-19).

Нирки потомства тварин досліджено на 1-шу, 7-му, 14-ту, 21-шу, 30-ту, 60-ту, 90-ту та 120-ту добу постнатального життя. Гістологічний матеріал фіксували у 10% нейтральному формаліні із подальшим зневодненням у висхідній батареї спиртів та заливкою гістологічного матеріалу у суміш

воск-парафін-каучук, як перехідне середовище було використано розчини спирт-хлороформ. За допомогою мікротома виготовляли 100–150 серійних зрізів товщиною 4,5 мкм, при цьому нирку орієнтували так, щоб зріз проходив фронтально через латеральний край органу. З метою визначення колагенових волокон використано метод гістохімічного забарвлення по методу Масон-трихром, із подальшим визначенням відсотку волокон у програмі ImageJ із накладанням «масок». Імуногістохімічне дослідження зрізів з метою виявлення міофібробластів проводили із використанням моноклональних антитіл mouse Smooth Muscle Actin, Clone B4 (Santa Cruz Biotechnology). Візуалізацію імуногістохімічної реакції проводили за допомогою системи UltraVision Quanto HRP + DAB System фірми «Thermo Scientific», із подальшим дофарбовуванням ядер гематоксилином Майєра. Експресію маркеру α SMA у цитоплазмі міофібробластів оцінювали також за допомогою програми ImageJ (у %) – визначали співвідношення площ, які займали α SMA+ клітинами до загальної площі гістологічного препарату при збільшенні $\times 400$. Отримані дані статистично оброблялися за допомогою «Statistica для Windows 6.0» (ліцензія № JПZ8041382130ARCN10-J). Різниця достовірності даних експериментальних та контрольної груп була оцінена за допомогою критерію Ст'юдента. Результати вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати дослідження. На першу добу життя у нирках контрольної та експериментальної груп коркова та мозкова речовина не диференціюється. Колагенові волокна забарвлені у інтенсивний синій колір, розташовані хаотично. Подекуди між нефронами волокна формують дрібні пучки.

На першу добу спостереження відносна площа, яку займають колагенові волокна, у контрольних тварин складає $4,12 \pm 0,78$ % від загальної площі органу та $4,08 \pm 0,27$ % у тварин експериментальної групи та достовірно не відрізняється. α SMA експресується міофібробластами та гладкими міоцитами судин (**рис. 1А**). Відносна площа, яку займають α SMA+ клітини від загальної площі нирок у контрольних тварин становить $1,57 \pm 0,83$ % та у експериментальних $1,64 \pm 0,67$ % відповідно (**рис. 1Б**).

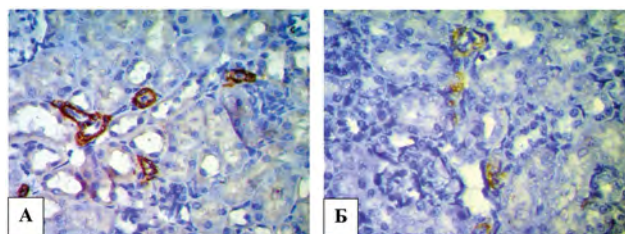


Рис. 1. Експресія антигену α SMA міоцитами у стінках судин (А) та у інтерстиції нирок (Б) контрольних тварин, 1 доба життя. Зб. $\times 400$

Наприкінці першого тижня життя у нирках розмежовується коркова та мозкова речовина. Відносна площа колагенових волокон у корковій речовині від загальної площі кіркової речовини нирки становить – $4,76 \pm 0,21$ % у контрольних та $4,81 \pm 0,14$ % у тварин, народжених від самоць із експериментальним метаболічним синдромом. Однак між показниками груп не виявлено достовірної різниці. Також достовірна різниця відсутня між показниками вмісту колагенових волокон у мозковій речовині нирок ($4,56 \pm 0,43$ % у контрольних та $4,64 \pm 0,24$ % у експериментальних щурів відповідно). Щодо α SMA⁺-клітин, то в контрольній та експериментальній групах відносна площа, яку вони займають, зростає відносно першої доби життя і становить $2,48 \pm 0,37$ % і $2,81 \pm 0,17$ % у корковій речовині та $2,34 \pm 0,41$ % і $2,75 \pm 0,23$ % у мозковій речовині відповідно, без достовірних відмінностей.

На чотирнадцяту добу після народження як у контрольних, так і у експериментальних тварин відмічали збільшення відсотку колагенових волокон порівняно із попереднім строком дослідження. Але статистично достовірної відмінності вмісту колагенових волокон у корковій та мозковій речовині нирок не відмічалось. У потомства контрольних тварин відносна площа, яка припадає на α SMA⁺ – клітини також збільшується відносно сьомої доби спостереження, із достовірним переважанням показників експериментальних тварин над контрольними значеннями як у корковій, так і у мозковій речовині – $5,01 \pm 0,21$ % проти $4,25 \pm 0,27$ % та $4,77 \pm 0,16$ % проти $4,15 \pm 0,11$ % відповідно.

На двадцять першу добу, порівняно із попередньою добою дослідження, простежували незначне зростання відносної площі, що займають колагенові волокна у контрольній та експериментальній групах. Однак, у тварин експериментальної групи у корковій речовині, відмічали достовірне переважання вмісту колагену, порівняно із контрольною групою ($15,87 \pm 0,10$ % проти $15,11 \pm 0,13$ % відповідно) (рис. 2).

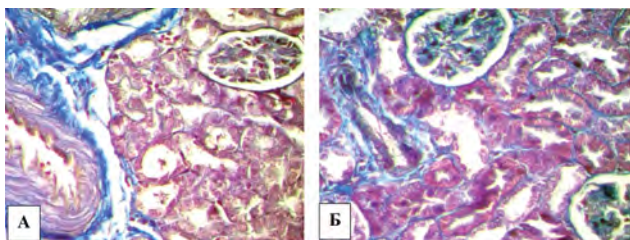


Рис. 2. Вміст колагенових волокон у корковій речовині контрольних (А) та експериментальних (МС-1) групи тварин (Б), 21 доба життя. Забарвлення за Масоном. Зб. х400.

При порівнянні показників відносної площі колагенових волокон у мозковій речовині між контрольною та експериментальною групами достовір-

них відмінностей не виявлено. Наприкінці третього тижня життя у обох досліджуваних групах простежували збільшення відносної площі, яка займана α SMA⁺структурами у корковій та мозковій речовині нирок, однак без достовірних відмінностей між контрольними та експериментальними тваринами ($5,93 \pm 0,45$ % та $5,69 \pm 0,53$ % у контрольних і $5,69 \pm 0,53$ % та $6,01 \pm 0,38$ % у експериментальних щурів відповідно).

Після двадцять першої доби життя тварини поступово переходять на змішаний тип харчування. А з **одномісячного віку** вони перебувають на повністю самостійному харчуванні. У потомства контрольних тварин відносно попередньої доби спостереження дещо зросли показники відносної площі, що припадає на колагенові волокна коркової і мозкової речовини, причому у корковій речовині даний показник достовірно перевищував вміст колагену у мозковій речовині ($16,52 \pm 0,47$ % та $14,98 \pm 0,37$ % відповідно). Схожа тенденція по переважанню вмісту колагенових волокон у корковій речовині простежена у обох експериментальних групах. При цьому між показниками потомства тварин експериментальної групи, які отримували стандартний харчовий раціон (МС-2) та у потомства, що отримувало висококалорійну дієту (МС-1) не відмічалось статистичної значущості у порівнянні із контрольною групою. Зростає показник відносної площі, яку займають α SMA⁺ клітини у корковій та мозковій речовині контрольних щурів по відношенню до попередньої доби життя – $9,13 \pm 0,21$ % та $8,44 \pm 0,10$ %, що простежували і у експериментальних тварин. Порівнюючи значення у групах, спостерігали достовірне переважання у групі тварин, що вживали гіперкалорійний раціон порівняно із контрольними щурами – $9,78 \pm 0,14$ % у корковій і $9,09 \pm 0,37$ % у мозковій речовині відповідно. Статистично значущих відмінностей між контрольними та тваринами експериментальної групи МС-2 не відзначалось як у корковій, так і у мозковій речовині ($9,22 \pm 0,16$ % та $8,67 \pm 0,33$ % відповідно.)

Зі збільшенням строку життя, **на шестидесяту добу** постнатального життя значно зростає площа розповсюдження колагенових волокон коркової та мозкової речовини у всіх групах порівняно із попереднім строком дослідження. Причому найбільш виражені зміни спостерігались у корковій речовині. У контрольних тварин показник вмісту колагену у корковій речовині становив $20,27 \pm 0,84$ %, у мозковій – $17,64 \pm 0,39$ % від загальної площі органу, що є достовірно меншим порівняно із корковою речовиною. У потомства тварин зі стандартним раціоном не відмічали статистично достовірної різниці між обома показниками, порівняно із контрольною групою. Щодо тварин, які отримували

висококалорійне харчування, то показники відносної площі, яку займали колагенові волокна в корковій речовині вірогідно перевищували контрольні показники – $21,37 \pm 0,54$ % відповідно. Рівень експресії антигену α SMA у нирках контрольних та експериментальних груп МС-1 і МС-2 також збільшується, однак статистично достовірне переважання над контрольними значеннями відмічалось лише у корковій речовині тварин групи МС-1 – $15,34 \pm 0,11$ % проти $13,53 \pm 0,63$ %.

Наприкінці третього місяця життя простежується збереження тенденції до зростання відносної площі, що займається колагеновими волокнами у інтерстиції нирки, причому показники у досліджуваних групах збільшуються майже вдвічі порівняно із попереднім строком життя. Статистично значущі відмінності відмічаються між показниками контрольних тварин та потомством тварин на висококалорійній дієті (МС-1), причому як у корковій, так і в мозковій речовині ($29,14 \pm 0,84$ % у контрольних проти $33,74 \pm 0,92$ % у групі щурів МС-1 та $26,27 \pm 0,44$ % у контрольних проти $29,25 \pm 0,36$ % у експериментальних тварин відповідно). При порівнянні аналогічних показників контрольних та експериментальних тварин на стандартному харчуванні не виявлено статистично достовірної різниці. Простежували достовірне відставання показників вмісту колагенових волокон у корковій та мозковій речовині у тварин групи МС-2 у порівнянні із потомством, що отримувало гіперкалорійне харчування ($30,07 \pm 0,76$ % у корковій речовині та $27,03 \pm 0,94$ % у мозковій речовині від загальної площі органу відповідно). При дослідженні відносної площі, яку займають α SMA⁺ – клітини коркової і мозкової речовини, між групами не спостерігалось статистично значущих відмінностей ($16,74 \pm 0,65$ %, $16,89 \pm 0,88$ % та $16,96 \pm 0,15$ % у корковій речовині та $13,10 \pm 0,43$ %, $12,68 \pm 0,54$ % та $12,04 \pm 0,63$ % у мозковій речовині відповідно).

На 120-ту добу постнатального життя досліджувані показники коркової та мозкової речовини у всіх групах тварин досягають максимальних значень за весь строк спостереження. Найбільш виражені зміни в бік статистично достовірного переважання вмісту колагену у нирках простежувалось у потомства тварин МС-1 при порівнянні із контрольними щурами. Причому статистично значущі відмінності були характерні і для коркової речовини ($34,07 \pm 0,74$ % у контрольних та $39,14 \pm 0,63$ % у експериментальних тварин), і для мозкової речовини також ($32,45 \pm 0,68$ % проти $36,43 \pm 0,54$ % відповідно) (рис. 3).

Відносно тварин групи МС-2, то для них статистично значуще переважання площі, яку займали колагенові волокна, у порівнянні із контролем простежувалось лише у корковій речовині

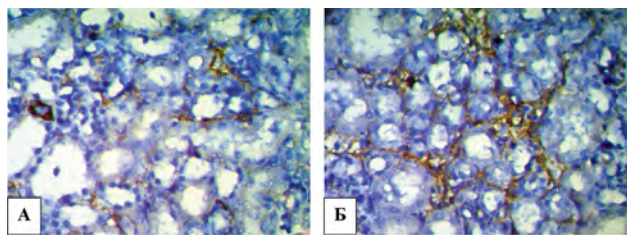


Рис. 3. Експресія α SMA у цитоплазмі міофібробластів мозкової речовини контрольних (А) та тварин групи МС-1(Б), 120 доба життя. Зб. $\times 100$

$36,53 \pm 0,49$ % від загальної площі нирки відповідно. Щільність розподілу антигену α SMA у структурах коркової та мозкової речовини нирок контрольних тварин збільшилась відносно попереднього строку спостереження і становить $24,13 \pm 0,47$ % та $19,47 \pm 0,51$ % від загальної площі нирки відповідно. Щодо тварин із гіперкалорійною дієтою, то для них також характерним є збільшення відносно попереднього строку спостереження, однак порівняно із контролем аналогічні показники є статистично значущими – $28,10 \pm 0,79$ % у корковій та $21,67 \pm 0,43$ % у мозковій речовині (рис. 3). Аналогічна тенденція щодо переважання над контролем простежувалась і в групі тварин, які отримували стандартний раціон. При цьому у тварин групи МС-2 відмічалось також і статистично достовірне відставання показника вмісту α SMA⁺ клітин у нирках порівняно із щурами групи МС-2 ($26,97 \pm 0,29$ % у корковій речовині та $20,07 \pm 0,65$ % у мозковій речовині відповідно).

Обговорення отриманих результатів. F. Stutz и M. Zeisberg (2006) встановили, що ступінь ураження інтерстицію нирки в більшій мірі корелює із наступним погіршенням її функції, аніж безпосереднє пошкодження ниркових тілець [15]. Накопичення екстрацелюлярного матриксу та фіброз знаходяться у тісній кореляції зі зниженням функції нирок та ознаками хронічної хвороби нирок [16, 17].

Вміст колагенових волокон у інтерстиції нирок досліджуваних груп поступово зростає зі збільшенням строку спостереження, досягаючи максимальних значень наприкінці строку дослідження. Для щурів контрольної групи характерним є нерівномірний приріст досліджуваного показника – у корковій речовині, порівняно із мозковою, відмічалось достовірне переважання вмісту колагену до 120 доби життя включно. Це може бути пов'язане із отриманими раніше результатами щодо зменшення відносної площі, яку займають ниркові тільця [18]. Відносно потомства тварин, народжених від самиць із експериментальним метаболічним синдромом, то для них була характерною аналогічна тенденція до поступового збільшення колагенових волокон як у корковій, так і у мозковій речовині. Починаючи із 60 доби і до кінця терміну дослідження простежувалось достовірне переважання значень

обох показників груп МС-1 та МС-2 над контрольними тваринами. Причому у потомства тварин, які продовжували отримувати висококалорійну дієту після 30 доби життя відмічалось статистично значуще превалювання показника відносної площі, що займають колагенові волокна, ніж у щурів зі стандартним харчовим раціоном до кінця терміну спостереження включно.

При дослідженні встановлено збільшення вмісту колагенових волокон, яке супроводжувалось зміною відносної площі α SMA⁺ структур, що може вказувати на їх зв'язок. За даними досліджень α SMA⁺ міофібробласти є маркерами фіброзу [14; 19]. У всіх досліджуваних групах простежувалось поступове збільшення рівня цитоплазматичної експресії антигену α SMA у міофібробластах, зі статистично значущим переважанням цього показника у коркової речовині нирок потомства щурів групи МС-1, особливо наприкінці терміну спостереження – 28,10±0,79 % відповідно. Для коркової речовини групи щурів, які після переходу на самостійне харчування отримували стандартний раціон, характерною була також тенденція до поступового збільшення вмісту α SMA⁺клітин, однак цей показник є достовірно нижчим від значень групи МС-1 та статистично не відрізняється від контрольних тварин.

Встановлено, що збільшення експресії антигену α SMA у структурах у коркової і мозкової речовини нирок більш виражене у потомства, що народжене від матерів із метаболічним синдромом та після переходу на самостійне харчування продовжувало притримуватись гіперкалорійного раціону. Зростання популяції α SMA⁺ міофібробластів може призвести до підвищеної секреції компонентів позаклітинного матриксу, таких як колагенові волокна. Міофібробласти продукують проколаген I типу, що приймає участь у формуванні зрілого колагену [20]. Прогресивне накопичення колагену у нирках, у стінках капілярів ниркових клубочків викликає

дисфункцію останніх та при прогресуванні даного процесу зрештою може стати причиною ниркової недостатності та фіброзу. Однак, ґрунтуючись на отриманих даних, можна припустити, що збалансований раціон тварин після переходу на самостійне харчування є одним із факторів, що впливає на можливий розвиток гломерулосклерозу нирок.

Висновки

1. На 120-у добу життя збільшується відсоток вмісту колагенових волокон коркової та мозкової речовини у всіх трьох групах тварин, досягаючи максимальних значень, причому у тварин експериментальної групи МС-1 цей показник є статистично значущим порівняно із контролем – 39,14±0,63 % у корковій та 36,43±0,54 % у мозковій речовині відповідно.
2. Встановлено поступове зростання вмісту α SMA⁺ клітин у нирках протягом всього терміну дослідження, із достовірним переважанням показників групи тварин, які отримували гіперкалорійний раціон – 28,10±0,79 % у коркової та 21,67±0,43 % у мозковій речовині на 120-у добу дослідження.
3. У нирках потомства експериментальних тварин, які отримували після досягнення тридцятиденного віку стандартний раціон, відмічали статистично значуще переважання показників вмісту колагенових волокон та α SMA⁺ – клітин порівняно із контрольними тваринами, однак відносно тварин із гіперкалорійним раціоном ці показники вірогідно відставали – 26,97±0,29 % у коркової речовині та 20,07±0,65 % у мозковій речовині на 120-у добу життя відповідно.

Перспективи подальших досліджень.

Отримані результати дозволяють глибше зрозуміти патогенетичні процеси розвитку та можливої корекції фібротичних змін у нирках тварин, що зазнали впливу гіперкалорійного раціону у внутрішньоутробному періоді розвитку. У подальших дослідженнях планується визначення рівня експресії маркерів апоптозу подоцитів.

References

1. Childhood overweight and obesity. World Health Organization. 2018. Available from: www.who.int/dietphysicalactivity/childhood/
2. Batysheva TT, Platonova AN, Bykova OV, Bakhtyna EA. Metabolychesky syndrom v detskom u podrostkovom vozraste kak faktor ryska ynsulta [Metabolic syndrome in childhood and adolescence as a risk factor for stroke]. *Medytsyna: teoriya u praktyka*. 2019; 4: 83–84. [Russian]
3. Langley-Evans SC. Developmental programming of health and disease. *Proc Nutr. Soc.* 2006; 65: 97–105.
4. Wood-Bradley RJ, Barrant S, Giot A, Armitage JA. Understanding the role of maternal diet on kidney development; an opportunity to improve cardiovascular and renal health for future generations. *Nutrients*. 2015; 7: 1881–1905.
5. Glastras SJ, Chen H, McGrath RT, Zaky AA, Gill AJ, Pollock CA, et al. Effect of GLP-1 receptor activation on offspring kidney health in a rat model of maternal obesity. *Sci Rep*. 2016; 6: 23525. doi: 10.1038/srep23525
6. Djurdjaj S, Boor P. Cellular and molecular mechanisms of kidney fibrosis. *Molecular Aspects of Medicine*. 2019; 65: 16-36. doi: 10.1016/j.mam.2018.06.002
7. Nogueira A, Pires MJ, Oliveira PA. Pathophysiological mechanisms of renal fibrosis: a review of animal models and therapeutic strategies. *In vivo*. 2017; 31(1): 1-22. doi: 10.1016/j.mam.2018.06.002

8. Lovisa S, LeBleu V, Tampe B. Epithelial-to-mesenchymal transition induces cell cycle arrest and parenchymal damage in renal fibrosis. *Nat Med*. 2015; 21(9): 998–1009. doi: 10.1038/nm.3902
9. Grande MT, Sánchez-Laorden B, López-Blau C, De Frutos CA, Boutet A, Arévalo M, et al. Snail1-induced partial epithelial-to-mesenchymal transition drives renal fibrosis in mice and can be targeted to reverse established disease. *Nat Med*. 2015; 21(9): 989–997. doi: 10.1038/nm.3901
10. Bradding P, Pejler G. The controversial role of mast cells in fibrosis. *Immunological Reviews*. 2018; 282(1): 198–231. doi: 10.1111/imr.12626
11. Cherng S, Young J, Ma H. Alpha-smooth muscle actin (α -SMA). *J Am Sci*. 2008; 4(4): 7-9.
12. Xiao Q, Guan Y, Li C, Liu L, Zhao D, Wang H. Decreased expression of transforming growth factor- β 1 and α -smooth muscle actin contributes to the protection of lotensin against chronic renal failure in rats. *Ren Fail*. 2018; 40(1): 583-589. doi: 10.1080/0886022X.2018.1496934
13. Sun KH, Chang Y, Reed NI, Sheppard D. α -Smooth muscle actin is an inconsistent marker of fibroblasts responsible for force-dependent TGF β activation or collagen production across multiple models of organ fibrosis. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2016; 310(9): L824-L836.
14. Meran S, Steadman R. Fibroblasts and myofibroblasts in renal fibrosis. *International journal of experimental pathology*. 2011; 92(3): 158-167. doi: 10.1111/j.1365-2613.2011.00764.x
15. Strutz F, Zeisberg M. Renal fibroblasts and myofibroblasts in chronic kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2006; 17(11): 2992-2998. doi: 10.1681/ASN.2006050420
16. Genovese F, Manresa AA, Leeming DJ, Karsdal MA, Boor P. The extracellular matrix in the kidney: a source of novel non-invasive biomarkers of kidney fibrosis? *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2014; 7(1): 4. doi: 10.1186/1755-1536-7-4
17. Qureshi OS, Bon H, Twomey B, Holdsworth G, Ford K, Bergin M, et al. An immunofluorescence assay for extracellular matrix components highlights the role of epithelial cells in producing a stable, fibrillar extracellular matrix. *Biol. Open*. 2017; 6: 1423–1433. doi: 10.1242/bio.025866
18. Korotchuk YV, Hryhoriyeva OA. Dynamika morfometrychnykh pokaznykiv nyrky shchuriv, otrymanykh vid materiv z eksperymentalnym metabolichnym syndromom [Dynamics of morphometric parameters of rats' kidneys obtained from mothers with experimental metabolic syndrome]. *Visnyk problem biologiyi i medytsyny*. 2020; 2(156): 266–271. doi: 10.29254/2077-4214-2020-2-156-266-271
19. Mack M, Yanagita M. Origin of myofibroblasts and cellular events triggering fibrosis. *Kidney international*. 2015; 87 (2): 297-307. doi: doi.org/10.1038/ki.2014.287
20. Syvolap VD, Lashkul DA. Markery fibrozu u khvorykh na khronichnu sertsevu nedostatnist ishemichnogo genezu ta nyrkovu dysfunktsiyu [Markers of fibrosis in ischemic chronic heart failure and renal dysfunction]. *Zaporozhskyy medytsynskyy zhurnal*. 2015; 3: 24-28. doi: 10.14739/2310-1210.2015.3.4445

УДК 611.61.018.2:[616-053.13:616-008.9-055.26].08:599.323.4

ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЛОКОН СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ И МИОФИБРОБЛАСТОВ ИНТЕРСТИЦИЯ ПОЧЕК ПОТОМСТВА КРЫС, РОДИВШИХСЯ ОТ САМОК С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ
Григорьева Е. А., Коротчук У. В.

Резюме. Как известно, по ряду исследований, питание женщины в период беременности может быть одним из факторов нарушения нефрогенеза. Ожирение беременной может способствовать увеличению маркеров фиброза и накоплению экстрацеллюлярного матрикса в почках.

Цель – исследовать динамику содержания коллагеновых волокон и миофибробластов в корковом и мозговом веществе почек потомства крыс.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено с соблюдением биоэтических норм обращения с лабораторными животными (n = 120). Первая группа – экспериментальная (МС-1): крысы, рожденные от самок со смоделированным метаболическим синдромом и после начала самостоятельного питания получали высококалорийную диету до 120-х суток жизни включительно. Вторая группа – экспериментальная (МС-2): крысы, полученные от самок со смоделированным метаболическим синдромом, но после перехода на самостоятельное питание получали стандартный рацион. Третья группа – контрольная группа крыс со стандартным пищевым рационом и водным режимом ad libitum. Для определения коллагеновых волокон было использовано гистохимическую окраску Мэсон-триколор, для выявления миофибробластов – иммуногистохимическую реакцию с использованием моноклональных антител mouse Smooth Muscle Actin (α SMA).

Результаты. Установлено, что содержание коллагеновых волокон в почках исследуемых групп постепенно возрастает с увеличением срока наблюдения, достигая максимальных значений на 120-е сутки исследования, при этом отмечается статистически достоверное увеличение значений у животных

групи МС-1 над контрольними животними в корковому і мозговому речовині. Також для контрольної і експериментальної груп характерно поступове збільшення відносної площі, зайнятої α SMA+ клітками від загальної площі органу, з максимальними значеннями в кінці періоду дослідження. При цьому відзначалося статистично достовірне перевищення показателя експериментальних груп МС-1 і МС-2 в корковому речовині порівняно з контрольними животними.

Висновки. Поступове розростання колагенових волокон в корковому і мозговому речовині ймовірно пов'язано з ростом вмісту α SMA+ міофібрил, які за даними досліджень виступають маркерами фіброзу.

Ключові слова: метаболічний синдром, щур, колагенові волокна, міофібрили.

UDC 611.61.018.2:[616-053.13:616-008.9-055.26].08:599.323.4

Characteristic of Connective Tissue Fibers and Myofibroblasts Interstitium of the Kidneys in Rats Offspring Born to Females with Experimental Metabolic Syndrome
Hryhoryeva O. A., Korotchuk Ye. V.

Abstract. According to a number of studies, it is known that a woman's diet during pregnancy may be one of factors in the violation of nephrogenesis. Obesity in pregnancy may increase markers of fibrosis and the accumulation of extracellular matrix in the kidneys.

The purpose of the study is to investigate the dynamics of the content of collagen fibers and myofibroblasts in the cortex and medulla of the kidneys of rat offspring.

Materials and methods. The research was based according to the international bioethical regulations, 120 albino rats were involved in the study. The first group is experimental (MC-1): rats born to females with an experimental metabolic syndrome and after the start of self-feeding received a high-calorie diet up to 120 days of age. The second group is experimental (MC-2): rats that were obtained from females with an experimental metabolic syndrome, but after switching to self-feeding received a standard diet. The third group is a control group of rats with a standard diet and water regime ad libitum. Mason-tricolor histochemical staining was used to determine collagen fibers, and immunohistochemical reaction using mouse Smooth Muscle Actin monoclonal antibodies (α SMA) was used to detect myofibroblasts.

Results and discussion. It was found that the content of collagen fibers in the kidneys of the studied groups gradually increases with increasing of observation period, reaching maximum values on the 120th day of the study, with a statistically significant predominance of values in animals of group MC-1 over control animals in cortex and cerebral matter. Also, control and experimental groups are characterized by a gradual increase in the relative area occupied by α SMA+ cells from the total area of the organ, with maximum values at the end of the study. At the same time, there was a statistically significant predominance of the experimental groups MC-1 and MC-2 in the cortex substance in comparison with control animals.

Conclusion. The gradual growth of collagen fibers in the cortex and cerebral substance is probably associated with an increase in the content of α SMA+ myofibroblasts, which according to research are markers of fibrosis.

Keywords: metabolic syndrome, kidneys, rats, collagen fibers, myofibroblasts.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 11.02.2021 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування