تأثیر انسداد یک‌طرفه حالب در القاء آپوپتوز در بافت کلیه

یوسف دوستار[1*]، مهرداد نشاط[2]، علی رضائی[2]

۱. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، تبریز، ایران
۲. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، تبریز، ایران
* *نویسنده مسئول مکاتبات: vetdoustar@yahoo.com*

(دریافت مقاله: ۸٦/٤/٤ ، پذیرش نهایی: ۸٦/۸/۲۰)

چکیده

ناهنجاری‌های مربوط به تعداد سلول‌ها از مشخص‌ترین چهره‌های اختلالات کلیوی می‌باشد. مرگ برنامه‌ریزی شده سلول یکی از فاکتورهای کلیدی در تنظیم تعداد سلول‌ها به حساب می‌آید. آپوپتوز شکل فعالی از مرگ سلولی می‌باشد که توسط یک‌سری از سیگنال‌های مرگ‌زا و ابقاءگر خارج سلولی تنظیم می‌شود. در تنظیم آپوپتوز فاکتورهای ابقاءگر داخل سلولی نیز همانند فاکتورهای خارج سلولی نقش مهمی را ایفاء می‌کنند. هدف از این مطالعه بررسی آپوپتوز سلول‌های مفروش‌کننده لوله‌های کلیوی متعاقب انسداد یک‌طرفهٔ حالب است. این مطالعه بر روی ۱۰ قلاده سگ که در دو گروه تیمار و کنترل تقسیم شده بودند، انجام گرفت. در سگ‌های گروه تیمار انسداد یک‌طرفه حالب به‌روش جرّاحی ایجاد و سگ‌های گروه کنترل نیز بدون عمل جرّاحی و در شرایط معمول تغذیه و نگه‌داری قرار گرفتند. یک هفته پس از جرّاحی، از بافت کلیه سگ‌های تحت مطالعه از هر دو گروه، بیوپسی اخذ و پس از پایدارسازی در فرمالین بافری ۱۰ درصد برش‌های پارافینی به ضخامت ٥-٤ میکرون تهیّه و با روش تانل رنگ‌آمیزی گردیدند. برای تجزیه و تحلیل نتایج به‌دست آمده از لحاظ آماری، از آزمون یومن ویتنی استفاده شد. مطالعات آسیب‌شناسی در گروه تیمار نشانگر وجود افزایش آپوپتوز در سلول‌های مفروش‌کننده لوله‌های کلیه بود. تعداد متوسط سلول‌های آپوپتوتیک در هر دو گروه از طریق شمارش آنها در پنج میدان میکروسکوپی به‌دست آمد که این تعداد در گروه تیمار به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود ($P<0.005$). این مطالعه نشان داد که انسداد یک‌طرفه حالب در سگ به‌عنوان یک مدل حیوانی می‌تواند باعث القاء آپوپتوز سلول‌های مفروش کننده لوله‌های کلیه شود.

مجله علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، ۱۳۸٦، دوره ۱، شماره ۳، ۱۷۰-۱٦٥.

کلمات کلیدی: انسداد یک‌طرفه حالب، آپوپتوزیس، کلیه

مقدمه

بدون شک اورولوژی جایگاه مهمّی در طب بالینی داشته و هر سال مقالات زیادی در زمینه عفونت‌های دستگاه ادراری، پیوند کلیه، درمان سنگهای کلیوی و سایر اختلالات مربوط به مجاری ادراری منتشر می‌شود. در این مقاله سعی شده است یکی از جنبه‌های نوین پدیده مرگ برنامه‌ریزی شده (آپوپتوز) در کلیه مورد بحث و بررسی قرار گیرد. آپوپتوز در طی اندام‌زائی و شکل‌دهی اعضای بدن و حتی در دوران بلوغ، در کنترل جمعیّت سلولی نقش مهمّی بر عهده دارد. آپوپتوز همانند شمشیر دو لبه‌ای می‌باشد که در برخی مواقع وقوع آن مفید و گاهی نیز می‌تواند مضر باشد. در مورد اختلالات انسدادی دستگاه ادراری، آپوپتوز باعث کاهش جمعیّت سلولی لوله‌های کلیوی می‌شود. سنگ‌های کلیوی و حتی هیپرتروفی پروستات و سایر اختلالات منجر به ریفلاکس ادرار و انسداد ادراری شده و باعث آسیب سلولی در نسج کلیه می‌گردند. بنابراین بایستی کلنیسین‌ها در موارد بیماری‌های انسدادی کلیه به آسیب‌های سلولی توجّه بیشتری مبذول دارند. امروزه در طب انسانی اهمّیت بسیار زیادی به این مسأله داده شده و از مدل‌های حیوانی به‌ویژه سگ و

موش صحرائی برای بررسی جنبه‌های بالینی موضوع مذکور بهره گرفته شده است (۲ و ۳).

آبشاری از حوادث سلولی و مولکولی در اثر انسداد مجرای فوقانی ادراری رخ داده و منجر به تخریب دائمی بافت خواهد شد. تغییرات پاتولوژیکی ایجاد شده شامل توسعه فیبروز کلیوی، آتروفی سلوهای مفروش‌کننده لوله‌های کلیوی، التهاب بافت بینابینی کلیه و احتمالاً مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌باشد. انسداد مجاری فوقانی ادراری اثر بسیار زیانباری را به کلیه‌ها تحمیل می‌کند. به‌نظر می‌رسد سیتوکاین‌ها و فاکتورهای رشد مشابهی که در رشد و هموستاز کلیه دخیل هستند، نقش مهمّی را در اختلالات انسدادی کلیه بر عهده دارند و با ایجاد التهاب و فیبروز بافت بینابینی منجر به آسیب و اختلال کارکرد کلیه می‌گردند (٦ و ۷). با توجّه به اهمیت کلیه‌ها در حیات موجودات زنده، در مطالعه حاضر به بررسی مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی لوله‌های کلیوی به‌دنبال انسداد تجربی در سگ پرداخته شده است.

مواد و روش‌کار

برای انجام این کار ۲۰ قلاده سگ از نژاد مخلوط (به‌دلیل در دسترس بودن) را انتخاب نموده و از این تعداد ۱۰ قلاده سگ را به‌عنوان گروه کنترل و ۱۰ قلادهٔ دیگر را نیز به عنوان گروه تیمار در نظر گرفتیم. حیوانات پس از تهیّه و انتقال به محل نگه‌داری از لحاظ سالم بودن مورد معاینات بالینی قرار گرفته و برای اطمینان از سالم بودن کلیه‌ها تحت آزمایش‌های اختصاصی یعنی تعیین میزان BUN (Blood Urea Nitrogen) و کراتینین خون قرار گرفتند. شرایط تغذیه و نگه‌داری برای هر دو گروه یکسان در نظر گرفته شد. غذا شامل مخلوط شیر و نان خشک و پای مرغ بود. به‌منظور عادت‌کردن حیوانات به شرایط جدید، حدود ۲ هفته هیچ‌گونه آزمایشی بر روی حیوانات انجام نگرفت. بعد از این مدت سگ‌ها مجدداً از لحاظ بالینی معاینه و سلامت آنها تائید گردید. هردو گروه در یک روز تحت عمل جرّاحی جهت ایجاد انسداد در حالب طرف راست قرار گرفتند. لازم به توضیح است که برای اجتناب از برخورد با موارد پاتولوژیک احتمالی، سن اعضای گروه زیر شش‌ماه در نظر گرفته شد و به منظور به حداقل رساندن احتمال وقوع عفونت‌های بالا رونده شایع نیز از جنس نر استفاده گردید. بعد از اعمال بی‌هوشی توسط داروی تیوپنتال سدیم (پنتوتال سدیم، شرکت Roche، ساخت کشور آلمان)، اعضای گروه تیمار به‌صورت خوابیده به پشت قرار گرفته و حفره بطنی آنها بعد از انجام مراحل آسپسی برای عمل جرّاحی آماده شد. خط وسط یا خط میانی ناحیهٔ شکمی از ناحیهٔ زایفوئید تا ناحیهٔ ناف با تیغ بیستوری بریده شد. بعد از برش ناحیهٔ مذکور از رترکتور برای گشاد نگه‌داشتن ناحیهٔ برش استفاده شد. بعد از بلند کردن بخشی از دوازدهه و قرار دادن قسمت‌های دیگر روده در سمت چپ، کلیهٔ راست در هر حیوان مشخص و بعد از کندکاری تدریجی مجرای حالب مشخص و توسط نخ غیرقابل جذب ابریشمی دو صفر لیگاتور زده شد. بعد از لیگاتور زدن حالب، عضلات برش داده شده در دو ردیف به روش ساده سرتاسری با استفاده از نخ بخیه قابل جذب سنتتیک (ویکریل شماره صفر) و پوست نیز به‌روش ساده سرتاسری با نخ نایلون دو صفر بخیه گردیدند. حیوانات به‌مدت ۷ روز تحت مراقبت قرار گرفتند. بعد از ۷ روز دوباره گروه تیمار تحت عمل جراحی قرار گرفت و کلیه‌های لیگاتور زده شده بعد از این‌که شریان‌ها و وریدهای مربوطه به‌طور جداگانه با نخ‌های بخیهٔ سه صفر لیگاتور زده شدند، طبق اصول نفرکتومی از بدن خارج گردیدند. سپس از پل قدامی تمام کلیه‌های خارج شده نمونه‌های بافتی به شکل گوه‌ای که شامل کورتکس و مدولا بود به ضخامت ٤-۵ میلی‌متر اخذ و جهت تهیه مقاطع آسیب‌شناسی به بخش پاتولوژی فرستاده شدند (٤ و ۹).

اجرای تکنیک تانل برای تشخیص سلول‌های آپوپتوتیک:

برای این کار از کیت تانل(insitu cell death detection kit, POD، کمپانی Roche ،ساخت کشور آلمان) استفاده شد.

۱- ابتدا مقاطع تهیه شده پس از پارافین‌زدائی و آب‌دهی با پروتئیناز K مجاور و پس از انکوباسیون به‌مدت ۳۰ دقیقه در

دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با محلول فسفات بافر شستشو گردیدند.

۲- مقاطع بافتی با محلول واکنش‌گر تانل به میزان ۵۰ میکرولیتر به‌مدت ٦۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مجاور گردیدند سپس با محلول فسفات بافر شستشو داده شدند.

۳-در این مرحله مقاطع بافتی پس از انکوباسیون با محلول کانورتر(۵۰ میکرولیتر) به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با محلول فسفات بافر شستشو و سپس با محلول دی‌آمینو بنزیدین تتراکلراید نیز مجاور گشته و به‌مدت۲۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مجدداً انکوبه گردیدند.

٤- سپس برش‌ها با فسفات بافر شستشو و با تولوئیدین بلو رنگ‌آمیزی شدند (۱).

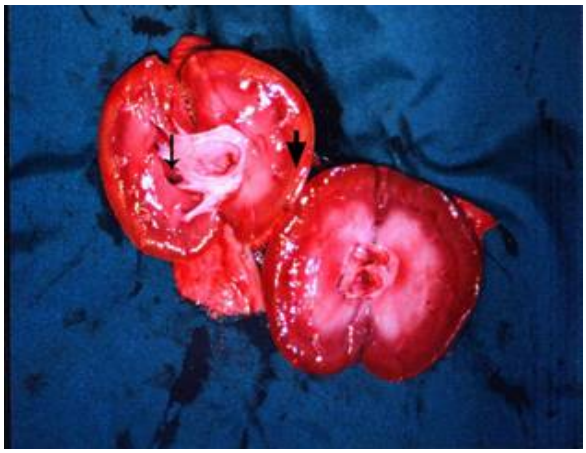
آنالیزآماری داده‌ها

شمارش سلول‌های آپوپتوتیک: برای شمارش تعداد سلول‌های آپوپتوتیک در مقاطع میکروسکوپی، سلول‌های آپوپتوتیک در پنج میدان میکروسکوپی با بزرگنمائی٤۰× به‌طور تصادفی شمارش گردیدند.

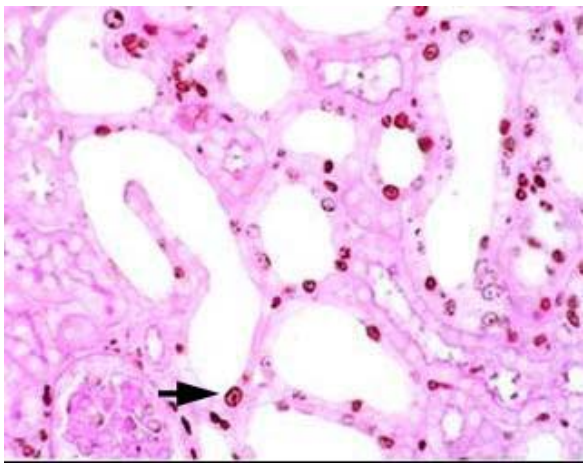
آنالیز آماری داده‌ها با استفاده ازآزمون یو من ویتنی (Mann-Whitney U) انجام و نتایج مطالعات به‌صورت Mean ± SEM بیان گردید.

نتایج

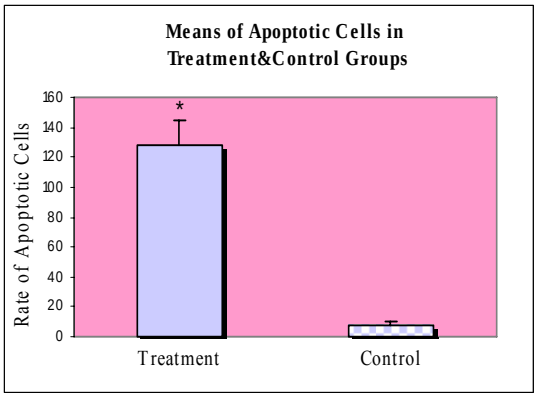
در مشاهدات ظاهری، در کلیه گروه تیمار آتروفی مشخص پارانشیم کلیه و اتساع ناحیه لگنچه قابل مشاهده بود (نگاره ۱). مطالعات ریزبینی نشانگر افزایش تراکم کروماتین و فراگمانتاسیون هستهٔ سلول‌ها و گاهی تشکیل هلال کروماتینی بود. در رنگ‌آمیزی تانل سلول‌های آپوپتوتیک به رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره در بافت اپی‌تلیالی توبول‌های کلیوی مشاهده گردیدند (نگاره ۲)، به‌طوری‌که تعداد سلول‌های آپوپتوتیک در گروه کنترل ۲±۷ عدد و در گروه تیمار ۱۵±۱۲۸ عدد بود. مقایسه تعداد سلول‌های آپوپتوتیک بین گروه‌های تیمار و کنترل تفاوت آماری معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۰۵). مقایسه میانگین تعداد سلول‌های آپوپتوتیک در ۵ میدان میکروسکوپی به‌دست آمده از بافت کلیه گروه تیمار (انسداد یک‌طرفه حالب) و کنترل به‌روش تانل در نمودار ۱ نشان داده شده است.



نگاره۱- نمای ظاهری کلیه گروه کنترل و گروه تیمار. کلیه سمت چپ و بالا مربوط است به گروه تیمار که آتروفی مشخص ناحیه قشر (فلش ضخیم) و اتساع ناحیه لگنچه (فلش باریک) در آن قابل مشاهده می‌باشد.



نگاره۲- نمای ریزبینی از کلیه مربوط به گروه تیمار که در آن سلول‌های تانل مثبت (فلش) به رنگ قهوه‌ای قابل مشاهده می‌باشد. (رنگ‌آمیزی تانل، زمینه H&E، بزرگنمائی ۱۰۰×).



نمودار۱- مقایسه میانگین تعداد سلول‌های آپوپتوتیک در ۵ میدان میکروسکوپی به‌دست آمده از بافت کلیه گروه تیمار (انسداد یک‌طرفه حالب) و کنترل به‌روش تانل (n=۱۰). داده‌ها به‌صورت Mean ± SEM نمایش داده شده اند. P<۰/۰۰۵ * در مقایسه با گروه کنترل.

بحث و نتیجه‌گیری

کلیه‌ها از حیاتی‌ترین ارگان‌های بدن می‌باشند که هرگونه تغییر در عملکرد آنها باعث وقوع مشکلات سیستمیک خواهد شد. حداقل مشکلی که در آسیب‌های کلیوی به بدن تحمیل می‌شود، اورمی و کم‌خونی است که هر دوی این وضعیت‌ها عوارض بالینی خاص خود مانند اسهال و استفراغ و آنسفالوپاتی‌های کلیوی را در پی خواهند داشت.

اختلال در عملکرد کلیه می‌تواند در آسیب‌های حاد به‌صورت اولیگوری و آنوری و در آسیب‌های مزمن به‌صورت پولی‌اوری تظاهر پیدا کند. اوروپاتی انسدادی به‌ویژه با اتیولوژی سنگ‌های کلیوی و هیپرتروفی پروستات بدون هیچ‌گونه استثنایی منجر به ریفلاکس اوروپاتی خواهد شد که از عوارض آن می‌توان به وقوع آپوپتوز و کاهش جمعیّت سلولی کلیه و در مراحل آخر به ایجاد فیبروز و هیدرونفروز اشاره کرد (۸). شمارش سلول‌های آپوپتوتیک توبول‌های کلیوی در گروه تیمار و کنترل نشان داد که میزان آپوپتوز در آن‌ها به‌ترتیب ۱۵±۱۲۸ و۲±۷ می‌باشد. از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۰۵) از نظر تعداد سلول‌های آپوپتوتیک در گروه تیمار و کنترل وجود داشت، به‌طوری‌که درصد سلول‌های آپوپتوتیک بین گروه تیمار برابر ۸۳/۳٪ و در گروه کنترل برابر۱۶/۷٪ بود. Oritize و همکاران (۱۹۹۶) و Ghadowy و همکاران (۱۹۹۵)، مطالعه‌ای مشابه را انجام دادند و در نتایج خود به روند مشخص آپوپتوز متعاقب انسداد ادراری اشاره و چنین تفسیر نمودند که آنژیوتانسین II با همکاری سیتوکین‌هایی نظیر TGF-B، فاکتور نکروز دهنده تومور و فاکتور هسته‌ای B هدایت پدیده آپوپتوز را بر عهده می‌گیرد (۵ و۱۰). سیتوکاین‌های آزاد شده هر کدام با مکانیسمی خاص در بروز آپوپتوز نقش دارند که در نتایج ما نیز احتمالاً تغییرات مرگ سلولی با واسطه چنین مکانیسم‌هایی بوده است. مطالعات Ping و همکاران (۲۰۰۱) و Soldany و همکاران (۲۰۰۲) که مدت انسداد آنها در حالب ۱۵ روز بوده است نتایج آنها با مقادیری اختلاف جزئی نیز با مطالعات ما هم‌خوانی داشته و گویای نقش القاگر انسدادهای کلیوی در آپوپتوز سلول‌های اپی‌تلیالی توبولی می باشد (۱۱ و ۱۲). از دلائل دیگر برای تفسیر نتایج مطالعه حاضر بیان نتایج مطالعات Tangho و همکاران (۱۹۹۸) و Yang و Youhua (۲۰۰۱) بوده است که به نقش دو فاکتور بسیار مهم در موارد انسدادهای ادراری اشاره گردیده است. یکی از این عوامل، مهار تولید و جلوگیری از بیان ژن مولد فاکتور EGF (Epithelial Growth Factor) و دوم افزایش بیان ژن مولد گلیکوپروتئین سولفات II یا SGP-2 (Sulphate Glycoprotein) است که میزان آن‌ها در موارد انسدادهای ادراری رابطه عکس با هم دارند، به‌طوری که فاکتور EGF نقش مهاری در تغییرات مرگ سلولی دارد که احتمالاً شاید انسدادهای ادراری در مهار این فاکتور ممانعت‌گر سلولی نقش داشته و برعکس در افزایش بیان ژن مولد گلیکوپروتئین سولفات II نقش تشویق‌گر داشته است (۱۳ و ۱٤). به‌هرحال آن‌چه که در نتایج ما عیان است این است که انسدادهای ادراری با گذشت زمان و به‌شکل مزمن آسیب‌های جبران ناپذیری را به پارانشسیم کلیه وارد می نمایند که در نتایج مطالعه حاضر به بخشی از آن اشاره شده است. امروزه با توجّه به موارد متعدد انسدادهای ادراری یک‌طرفه و بروز علائم بالینی در موارد

انسانی، توجه به نتایج به‌دست آمده از این بررسی بسیار ارزنده خواهد بود، چرا که تشخیص سریع و زود هنگام این عارضه ادراری، شاید با اندازه‌گیری میزان تولید انواع فاکتورهای مؤثر در این بیماری مقدور باشد، همچنانکه نتایج این بررسی و نتایج سایر تحقیقات انجام شده در این زمینه حکایت از این دارد که فشار حاصله از تجمع ادرار در پارنشیم کلیه و فعال شدن مسیرهای متعدد مرگ سلولی به‌شکل بسیار مشخصی در بروز تغییرات بافتی و آپوپتوز مؤثر می‌باشد. حال این نکته مطرح می‌شود که چگونه می‌توان به تشخیص سریع این تغییرات بافتی نائل گردید. اصولاً اگر امکان آن فرا رسد که اندازه‌گیری فاکتورهای مؤثر در این عوارض به شکل معمول انجام پذیرد، شاید بسیاری از مشکلات مربوط به انسدادهای ادراری مرتفع گردد زیرا که تأثیر طولانی مدت انسدادهای ادراری می تواند با افزایش بروز و بیان بیش از اندازه TGF-B و P21 یا مهارکننده‌های Cyclin-dependent kinase inhibitors همراه باشد. در مطالعه‌ای که Iruong و همکارانش (۲۰۰۱) انجام داده‌اند نشان دادند که همه کاسپازها در بیماری‌های کلیوی به‌ویژه در اروپاتی‌های انسدادی افزایش می‌یابد. میزان کاسپاز ۳ در حدود ٤ روز بعد از انسداد ٤ برابر و ۷ روز بعد از انسداد ۷ برابر می‌شود و به‌نظر می‌رسد که کاسپاز ۳ نقش مرکزی در آپوپتوز اروپاتی‌های انسدادی برعهده دارد که در نتایج مطالعه حاضر نیز روند مرگ سلولی در روز هفتم بعد از انسداد ادراری چشمگیر بوده است زیرا که در نتایج حاصله از مطالعات سایر محققین چنین بیان شده است که مقدار mRNA مربوط به کاسپاز ۸ بعد از ٤ الی ۳۰ روز دو برابر و بعد از ٤٥ روز سه برابر افزایش می‌یابد که با الهام از نتایج آن‌ها می‌توان به‌دلیل حضور تغییرات چشمگیر مرگ سلولی با واسطه مدت زمان طولانی و اهمیت آنزیم‌های کاسپازی در اروپاتی انسدادی پی برد (٦). Iruong و همکارانش (۱۹۹۸) بر اساس مطالعات خود بیان نمودند که اعضای خانواده BCL هم از جمله مدیاتورهای مهم مسیر میتوکندریایی آپوپتوز در انسدادهای ادراری می‌باشند که اعضای پروآپوپتوتیک آن به نام‌های Bad وBax و اعضای آنتی‌آپوپتوتیک به نام‌های Bcl-2 و Bcl-xL خوانده می‌شود، آن‌ها نشان دادند که متعاقب انسدادهای ادراری میزان اعضای پروآپوپتوتیک خانواده BCL افزایش می‌یابد و این دلیل دیگری بر توجیح حضور سلول‌های آپوپتوتیک در نتایج مطالعه ما می‌باشد (۷). البته در این راستا Chevalier و همکاران (۱۹۹٦) نیز مطالعه‌ای داشته‌اند که آنها نیز موفق به ارزیابی عوامل آنتی‌آپوپتوتیک خانواده BCL-2 متعاقب انسداد ادراری شده و بیان نمودند که میزان این پروتئین با گذشت زمان انسداد ادراری کاهش یافته و با میزان تغییرات آپوپتوز سلول‌های اپی‌تلیالی توبولی در انسدادهای ادراری نسبت عکس دارد (٤).

با این اوصاف می‌توان حضور سلول‌های آپوپتوتیک را در این نتایج، اول به انسدادهای ادراری و دوم به مکانیسم‌های اشاره شده نسبت داد و بیان نمود که مطالعه حاضر در اغلب زمینه‌ها با نتایج سایر محققین مطابقت داشته است.

تشکر و قدردانی

با تشکر از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز

فهرست منابع

۱. دوستار، ی. (۱۳۸۳): مطالعه آزمایشی آپوپتوز القاء شده توسط ویروس عامل بیماری بورس عفونی جوجه‌ها با استفاده از تکنیک‌های تشخیص تانل و میکروسکوپ الکترونی و آرتی-پی سی آر، پایان‌نامه دوره دکتری تخصصی، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی ۲۷۳ ، صفحات: ۱۱٦- ٦ و ۲٤۳- ۲۱۹.

2. Andres, H., Vielhauer, V. and Frink, M. (2002): A chemokin receptor CCR-1 antagonist reduces renal fibrosis after unilateral ureter ligation, American society journal Clinical Investigation. 2: 251-259.
3. Chertin, B., Rolle, U., Frakas, A. and Puri, P. (2002): The role of nitric oxide in reflux nephropathy. Pediatric surgery. 18: 630-40.
4. Chevalier, R., KyHyun, C., Christopher, S. and Michael, F. (1996): Renal apoptosis and clusterin following ueteral obstruction. American Urology Journal. 4:1474-1479.
5. Ghadowy, S., Morrissey, J., McCracken, R., Reyes, A. and Klahr, S. (1995): Angiotensine II receptor antagonist ameliorates renal tubulointrestitial. Fibrosis Caused by unilateral obstruction, Pubmed publish. 5: 1285-94.
6. Iruong, L.D., Choi, Y.J., Tsao, C.C., Ayala, G., Sheikh-Hamad, D., Nassar, G. and Suki, W.N. (2001): Renal cell apoptosis in chronic obstructive uropathy: the roles of caspases. Kidney Int. 60: 924–934.
7. Iruong, L.D. Sheikh-Hamad, D. Chakraborty, S. and Suki, W.N. (1998): Cell apoptosis and proliferation in obstructive uropathy. Semin. Nephrol. 18: 641–651.
8. Klahr, S. and Morrissey, J. (2003): Obstructive nephropathy and renal fibrosis. Pubmed, Kidney Int supplement. 87: 105-12.
9. Kyhyun, C. and Chevalier, R. (1996): Arrested development of the neonatal kidney following chronic ureteral obstruction. Journal Urology. 155: 1139-1144.
10. Ortize, A., Cuadrado, S., Lorz, C. and Egiodo, J. (1996): Apoptosis in Renal Disease, Frontiers in Bioscience, 1: 30-47.
11. Ping Yu, S., Canzoniero, L. and Choi, D. (2001): Ion homeostasis and apoptosis, Current opinion in cell biology Jour. 13: 405-411.
12. Soldani, C. and Scovassi, A. I. (2002): Poly (ADP-ribose) – polyerase-1 cleavage during apoptosis. Apoptosis Journal. 7: 321-328.
13. Tanagho, E. (1998): General Urology. 12th ed. Prentice-Hall International press, pp: 168-180.
14. Yang, J. and Youhua, L. (2001): Dissection of key events in tubular epithelial to myofibroblast transition and its implications in renal interstitial fibrosis. American Journal of Pathology. 159: 1465-1475.