10. *Шумаков В. И., Севастьянов В. И.* Биополимерные матриксы для искусственных органов и тканей // Здравоохранение и медицинская техника. – 2003. – № 4. – С. 30-32.

11. *Bello Y.* Tissue-engineered skin. Current status in wound healing / *Y. Bello, A. Falabella, W. Eaglstein* // J. Clin. Dermatol. – 2001. – №2(5). – P.305-313.

12. *Barber C.* Bioengineered skin substitutes for the management of wounds: A systematic review. / *C. Barber, A. Watt, C. Pham* // ASERNIP-S Report No. 52. Stepney, Australia: Australian Safety and Efficacy Register of New Interventional Procedures – Surgical (ASERNIP-S). – 2006. – 100 P.

13. *Bluebond-Langner R.* Recurrent abdominal laxity following interpositional human acellular dermal matrix / *R. Bluebond-Langner, E. Keifa, S. Mithani* //Ann. Plast. Surg. – 2008. – N.60(1). – S.76-80.

Поступила 31.05.2016

В. Е. ПОТАПОВ, Е. А. СИНЕЛЬНИК, М. А. АКИМЕНКО, Д. Г. ПАСЕЧНИК

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РОЛИ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА В ПРОГРЕССИИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК

Центральная научно-исследовательская лаборатория Ростовский государственный медицинский университет, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29. Тел. 8(928)959-53-46. E-mail: potapovvladimir0321@rambler.ru

В данной статье приведен обзор полученных на сегодняшний день сведений, касающихся феномена эпителиально-мезенхимального перехода и его роли в формировании интерстициального фиброза почек, а так же механизмов его развития и возможных точек приложения для терапевтического воздействия. Особенно интересен в этом отношении оказался трансформирующий фактор роста-β, по-видимому играющий одну из ключевых ролей в индукции эпителиально-мезенхимального перехода.

Ключевые слова: эпителиально-мезенхимальный переход, хроническая болезнь почек, фиброз почек, трансформирующий фактор роста-β.

V. E. POTAPOV, E. A. SINELNIK, M. A. AKIMENKO, D. G. PASECHNIK

CURRENT UNDERSTANDING OF THE ROLE OF EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSITION IN THE PROGRESSION OF CHRONIC KIDNEY DISEASE

Central scientific-research laboratory of Rostov State Medical University, Rostov-on-don, Nakhichevanskiy lane 29. Phone +7 (928) 959-53-46. E-mail: potapovvladimir0321@rambler.ru

This article provides an overview of the currently acquired information concerning the phenomenon of epithelial-mesenchymal transition and its role in the formation of interstitial kidney fibrosis and the mechanisms of its development and possible points of application to produce a therapeutic effect. Particularly interesting in this respect was the transforming growth factor-β apparently plays a key role in induction of epithelial-mesenchymal transition.

Key words: epithelial-mesenchymal transition, chronic kidney disease, kidney fibrosis, transforming growth factor-β.

На сегодняшний день хроническая болезнь почек (ХБП) остается важной социально-экономической проблемой, несущей за собой большие экономические потери в связи с утратой трудоспособности и инвалидизацией в молодом возрасте, значительной стоимостью лечения и реабилитации пациентов. Так, по данным регистра Российского диализного общества, в 2009 году различные виды почечно-заместительной терапии получали более 24000 человек, ежегодный прирост числа этих больных в среднем составляет 10,5%.

Среди процессов, ведущих к развитию ХБП, в настоящее время активно изучается роль эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП), как одной из причин интерстициального фиброза почек. Этот процесс возникает в результате утраты клеткой эпителиального фенотипа и приобретения ею мезенхимальных характеристик, способности активно передвигаться, изменять экспрессию адгезивных молекул и продуцировать компоненты экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ).

УДК 616.61-036.12-006.6-09.8-018.7

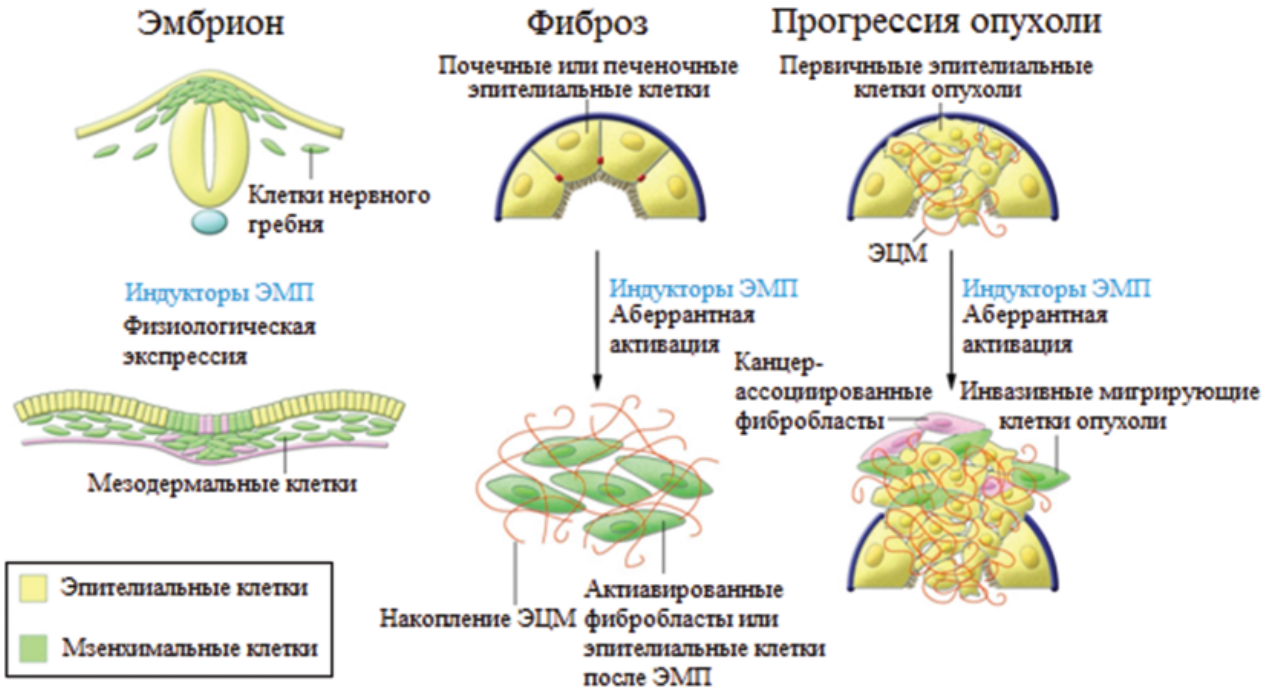

Рис. 1. ЭМП в эмбриональном развитии и при патологии (адаптировано из [2]).

Понятие ЭМП и его обратный процесс – мезенхимально-эпителиальный переход (МЭП) впервые были введены Элизабет Хей [11]. В настоящее время ЭМП изучается в трех аспектах (рис. 1). Во-первых, установлена его роль в формировании зародышевых слоев и миграции клеток в эмбрионе позвоночных [11]. Во-вторых, ЭМП рассматривается как механизм возникновения дополнительного пула миофибробластов из эпителиальных клеток в очаге воспаления, что в патологических условиях способствует развитию фиброза органа и его недостаточности. И, в-третьих, активно обсуждается роль ЭМП в процессе метастазирования опухолей. В соответствии с этим выделяются три типа ЭМП. В данном обзоре мы рассмотрим 2-й тип, принимающий участие в фиброзе почек.

В норме эпителиальные клетки содержат адгезивные соединения, состоящие из Е-кадгерина вместе с катениновыми и актиновыми кольцами, плотные соединения, связанные с комплексами апикальной полярности, интегрины, взаимодействующие с компонентами базальной мембраны (рис. 2а). В процессе ЭМП клетки проходят 4 условные стадии: утрачиваются свойства эпителиальной адгезии – индукторы ЭМП репрессируют транскрипцию генов, кодирующих компоненты обоих адгезивных и плотных соединений, вызывая потерю клеточной полярности / происходит деградация Е-кадгерина (рис. 2б); экспрессируется De Novo α-гладкомышечный актин (α-ГМА); разрушается базальная мембрана канальцев и происходит отслаивание клеток за счет ремоделирования цитоскелета и апикального сужения (рис. 2в); нарастает клеточная трансформация из эпителиального в мезенхимальный фенотип / усиливается миграции клеток через ЭЦМ и инвазии соседних тканей за счет экспрессии рецепторов интегрина и продолжающейся активации металлопротеиназ (рис. 2г) [19]. Было выявлено, что контакт тубулярного эпителия с базальной мембраной стабилизирует эпителиальный фенотип, а разрыв ее основного компонента – коллагена IV типа – стимулирует ЭМП [13].

Рис. 2. Клеточные аспекты ЭМП (адаптировано из [2]).

При ЭМП в клетке изменяется экспрессия большого числа белков, указывающих на активацию процесса – маркеры ЭМП (рис. 3), и непосредственно участвующие в осуществлении программ ЭМП – его регуляторы (транскрипционные факторы, рецепторы сигнальных молекул, белки внутриклеточных сигнальных каскадов). Многие из белков, которые ранее считались лишь маркерами процесса, участвуют и в регуляции ЭМП. Так, трансфекция гена Е-кадгерина в эмбриональные фибробласты или метастатические клетки приводит к приобретению ими эпителиального фенотипа, а снижение его экспрессии может инициировать ЭМП [10].

ЭМП в патологических условиях индуцируется различными факторами микроокружения (воспалением [13] с выделением различных факторов

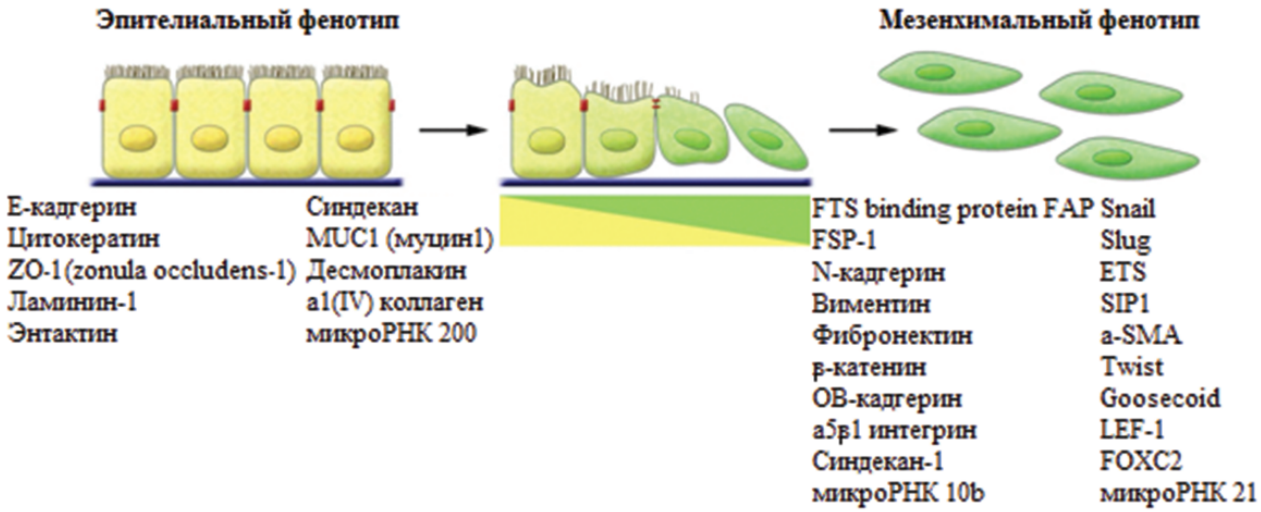

Рис. 3. Маркеры ЭМП (адаптировано из [16]).

роста цитокинов, гипоксией, активными формами кислорода). Этот сложный, многоступенчатый процесс регулируется многими системами сигнальной трансдукции с вовлечением факторов транскрипции и генными программами, регулирующими переход клеток от эпителиального фенотипа к мезенхимальному [9] (табл. 1). В отличие от 1-го типа, ЭМП 2-го типа может экспрессироваться в течение длительного периода времени, если воспалительный очаг не исчезает и не ослабляется [16]. Важно, что хроническое воспалительное микроокружение, общее для фиброзных и раковых клеток, выступает как решающий фактор в индукции патологического ЭМП [20].

На сегодняшний день существует несколько экспериментальных моделей фиброза почек, воспроизводимых на мышах или крысах. Модели прогрессирующего гломерулонефрита с антителами к базальной мембране капилляров клубочков [14], синдрома Альпорта [6] или спонтанного волчаночного нефрита [3] воспроизводят медленно развивающийся фиброз. Модель с односторонней обструкцией мочеточника [7] позволяет быстро добиться терминальной стадии и использовать неповрежденную почку в качестве контроля. В нашем университете на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории успешно воспроизводилась модель односторонней обструкции почки на кроликах с 2010 по 2013 годы.

Во многих органах обычный механизм развития фиброза – увеличение количества коллаген-секретирующих миофибробластов через активацию резидентных интерстициальных фибробластов с последующим чрезмерным образованием ЭЦМ. Однако в почках в этом процессе могут участвовать тубулярный эпителий, который претерпевает ЭМП, эндотелиальные клетки, через эндотелиально-мезенхимальный переход (ЭндМП), как показано в мышиных моделях фиброза почек [13, 29], а также мезангиальные клетки и др. Так, около 12% фибробластов образуется из костного мозга, около 30% могут возникнуть через локальный ЭМП из эпителиальных клеток канальцев при воспалительном стрессе и около 35% – благодаря ЭндМП [15,16] (рис. 4). Остальная часть возникает за счет активации фибробластов - резидентов или других мезенхимальных клеток, таких как периваскулярные гладкомышечные клетки / перициты и фиброциты [27].

Прогрессирующий почечный фиброз затрагивает как клубочковый, так и тубулоинтерстициальный компоненты. Этот процесс является общим в исходе многих заболеваний, ведущих к хрониче-

Таблица 1

Признаки ЭМП [1]

Морфологические
Изменение формы клеток на более вытянутую.
Потеря связи с соседними клетками.
Потеря связи с базальной мембраной и ее разрушение.
Молекулярные и иммуногистохимические
Снижение экспрессии Е-кадгерина, ZO-1.
Экспрессия виментина, N-кадгерина, фибронектина.
Ядерная транслокация β-катенина.
Нарушение межклеточных контактов.
Перестройка цитоскелета.
Изменение уровней экспрессии транскрипционных факторов, белков плотных контактов, матриксных металлопротеиназ.
Функциональные
Способность отделяться от окружающих клеток.
Повышенная подвижность.
Повышенная инвазивность, способность разрушать базальную мембрану.
Устойчивость к апоптозу.
Устойчивость к химиотерапии.
Приобретение признаков раковых стволовых клеток.
Способность синтезировать компоненты экстрацеллюлярного матрикса.

ской почечной недостаточности [28]. В процессе фиброза тонкая структурная организация почки утрачивается. Происходит избыточное накопление ЭЦМ. Это приводит к нарастающему снижению функции почек. Как оказалось, утрата почечной функции больше коррелирует со степенью интерстициального фиброза и атрофией канальцев, чем со степенью гломерулосклероза [17].

Повреждение почек связано со многими воспалительными клетками, которые могут стимулировать ЭМП с помощью факторов роста, таких как трансформирующий фактор роста-β (TGF-β), эпидермальный фактор роста (EGF) и фактор роста фибробластов (FGF-2) [25].

TGF-β является наиболее сильным индуктором ЭМП в культуре клеток эпителия почечных канальцев (как и в большинстве других типов клеток). Его изоформы TGF-β2 и TGF-β3 принимают участие в ЭМП во время органогенеза [5], TGF-β1 индуцирует ЭМП в различных органах (в почечных канальцах, печени, альвеолярных эпителиальных клетках и др.). В модели фиброза почек, воспроиз-

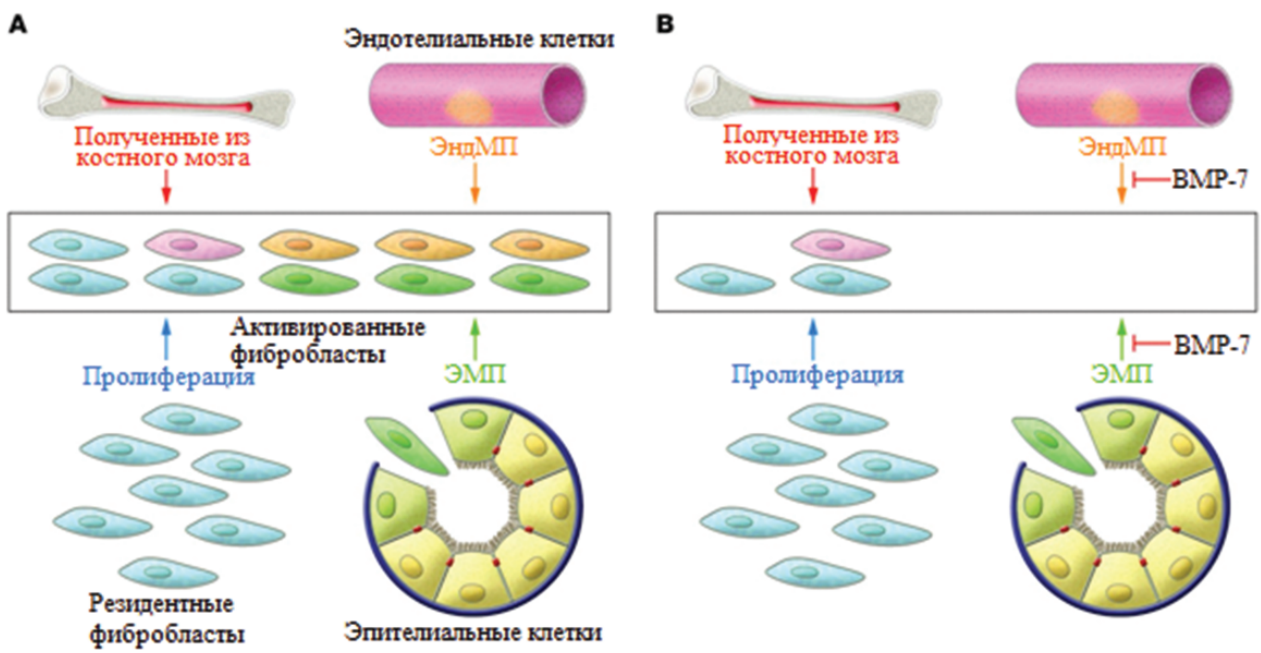

Рис. 4. A) Различные источники фибробластов при фиброзе органа. B) Системное лечение мышей с почечным фиброзом, рекомбинантным человеческим BMP-7 (адаптировано из [16]).

водимой на мышах, было установлено, что TGF-β является мощным индуктором Snail, транскрипционного фактора, который в свою очередь запускает ЭМП [24]. Этого механизма оказывается достаточно, чтобы вызвать фиброз и почечную недостаточность у взрослых трансгенных мышей. Snail так же активируется и у пациентов с почечной фиброзом [4, 20].

В исследованиях с использованием костного морфогенетического протеина-7 (BMP-7) в качестве внутриклеточного конкурента сигналов TGF-β была показана важность последнего в индукции ЭПМ и прогрессировании фиброза почек [30]. Была установлена реверсия снижения Е-кадгерина, одного из главных эпителиальных маркеров, вызванного TGF-β [30]. В мышиной модели фиброза почек было показано обращение TGF-β-индуцированного ЭМП и восстановление поврежденных структур канальцев с появлением здоровых эпителиальных клеток при системном введении рекомбинантного BMP-7 (рис. 2) [30]. В культуре клеток с Циклоспорин-А-индуцированным ЭМП, где был отмечен повышенный уровень TGF-β1, ЭМП заметно ослаблялся в присутствии анти-TGF-β1 антител [21].

Еще один важный гуморальный фактор, потенцирующий ЭМП в клетках почечных канальцев с помощью TGF-β, – ангиотензин II [26]. Высказано предположение о том, что терапевтический успех при блокаде ангиотензина II обусловлен отчасти блокадой индукции ангиотензином II TGF-β [22]. В связи с этим блокада ренин-ангиотензин-альдостероновой системы может ослабить фиброз почек путем частичного снижения взаимодействия между ангиотензином II и TGF-β.

Несмотря на большое количество работ, выполненных по изучению ЭМП, и наличие Международной Ассоциации ЭМП, есть авторы, ставящие под сомнение как существование, так и роль этого процесса в развитии фиброза при ХБП [8, 12, 18]. W. Kriz и соавт. отмечают, что в работе M. Iwano и соавт. [13], на которую многие ссылаются, описывая ЭМП при фиброзе, имеются неточности в проведении исследования и интерпретации его результатов, что ставит под сомнение достоверность полученных данных. Так же в ряде работ не учитывались возможные влияния экспериментальных воздействий на почечный фиброз. Rastaldi и соавт. (2000 г.) в своей работе не получили достоверных данных, указывающих на способность клеток эпителия канальцев продуцировать коллаген [23]. В своих экспериментальных исследованиях B. D. Humphreys и соавт. полностью опровергают способность эпителиоцитов в естественных условиях трансформироваться в мезенхимальные клетки и существование ЭМП, поскольку в эксперименте при исследовании гистологического материала получили отрицательные результаты [12].

Таким образом, вопрос о роли и степени участия ЭМП в фиброзе почек и сегодня остается открытым. Несмотря на противоречивые данные, ЭМП привлекает многих исследователей, так как может пролить свет на еще одно звено в патогенезе этого инвалидизирующего процесса. Кроме того, могут быть найдены новые точки приложения для ранней диагностики, профилактики и лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пучинская М. В. Эпителиально-мезенхимальный переход в норме и патологии. Архив патологии. – 2015. – 1. – С. 75-83.

2. Acloque H., Adams M. S., Fishwick K., Bronner-Fraser M., and Nieto M. A. Epithelial-mesenchymal transitions: the importance of changing cell state in development and disease. J. Clin. Invest. – 2009. – 119. 6. – 1438-1449.

3. Anders H., Schlondorff D. Murine models of renal disease: possibilities and problems in studies using mutant mice. *Exp. Nephrol.* – 2000. –8. – 181–193.

4. Boutet A., et al. Snail activation disrupts tissue homeostasis and induces fibrosis in the adult kidney. EMBO J. – 2006. –25. – 5603-5613.

5. Camenisch T. D., Molin D. G., Person A., Runyan R. B., Gittenberger-de Groot A. C., McDonald J. A., Klewer S. E. Temporal and distinct TGFbeta ligand requirements during mouse and avian endocardial cushion morphogenesis. Dev. Biol. – 2002. –248. –1. – 170–181.

6. Cosgrove D., et al. Collagen COL4A3 knockout: a mouse model for autosomal Alport syndrome. *Genes Dev.* – 1996. –10. – 2981–2992.

7. Diamond J. R., Ricardo S. D., Klahr S. Mechanisms of interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. *Semin. Nephrol.* – 1998. – 18. –594–602.

8. Fragiadaki M., Mason R. M. Epithelial-mesenchymal transition in renal fibrosis – evidence for and against. Int. J. Exp. Pathol. – 2011. – 92. –3. –143-50.

9. Gema M., Cubillo E., Sarrio D. et al. Genetic Profiling of Epithelial Cells Expressing E-Cadherin Repressors Reveals a Distinct Role for Snail, Slug, and E47 Factors in Epithelial-Mesenchymal Transition. Cancer Research. – 2006. –66. –9543-9556.

10. Gupta P. B., Onder T. T., Jiang G., Tao K., Kuperwasser C., Weinberg R. A. Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening. Cell. – 2009. –138. – 4. –645-59.

11. Hay E. D. Organization and fine structure of epithelium and mesenchyme in the developing chick embryo. In Epithelial-mesenchymal interactions. R. Fleischmajer and RE Billingham, editors. Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland, USA. – 1968. – 31-55.

12. Humphreys B. D., Lin S. L., Kobayashi A., et al. Fate tracing reveals the pericyte and not epithelial origin of myofibroblasts in kidney fibrosis. Am. J. Pathol. – 2010. –176. –85-97.

13. Iwano M., Plieth D., Danoff T. M., Xue C., Okada H., Neilson E. G. Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis. J. Clin. Invest. – 2002. –110. –341-350.

14. Kalluri R., Danoff T. M., Okada H., Neilson E. G. Susceptibility to anti-glomerular basement membrane disease and Goodpasture

syndrome is linked to MHC class II genes and the emergence of T cell-mediated immunity in mice. *J. Clin. Invest.* – 1997. –100. – 2263-2275.

15. Kalluri R. and Neilson E. G. Epithelial mesenchymal transition and its implications for fibrosis. J. Clin. Invest. – 2003. – 112. – 1776-1784.

16. Kalluri R. and Weinberg R. A. The basics of epithelial-mesenchymal transition. J. Clin. Invest. – 2009. –119. – 6. –1420-1428.

17. Klahr S., Morrissey J. Progression of chronic renal disease. Am. J. Kidney Dis. – 2003. – 41. –3 Suppl 1. – 3-7.

18. Kriz W., Kaissling B., Le Hir M. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) in kidney fibrosis: fact or fantasy? J. Clin. Invest. – 2011. –121. – 2. – 468-74.

19. Liu Y. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: Pathologic significance, molecular mechanisms and therapeutic intervention. J. Am. Soc. Nephrol. – 2004. – 25. – 1-9.

20. Lopez-Novoa J. M., Nieto M. A. Inflammation and EMT: an alliance towards organ fibrosis and cancer progression. EMBO Mol. Med. – 2009. –1. – 6-7., 303-314.

21. McMorrow T., Gaffney M. M., Slattery C., Campbell E. and Ryan M. P. Cyclosporine A induced epithelial–mesenchymal transition in human renal proximal tubular epithelial cells. Nephrol. Dial. Transplant. – 2005. –20. –2215–2225.

22. Peters H., Border W. A., Noble N. A. Targeting TGF-beta overexpression in renal disease: maximizing the antifibrotic action of angiotensin II blockade. Kidney Int. – 1998. –54. –5. – 1570-1580.

23. Rastaldi M. P., Ferrario F., Giardino L. et al. Epithelial-mesenchymal transition of tubular epithelial cells in human renal biopsies. Kidney Int. – 2002. – 62. –137-146.

24. Sato M., Muragaki Y., Saika S., Roberts A. B., Ooshima A. Targeted disruption of TGF-beta1/Smad3 signaling protects against renal tubulointerstitial fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction. J. Clin. Invest. – 2003. – 112. –1486-1494.

25. Strutz F. et al. Role of basic fibroblast growth factor-2 in epithelial-mesenchymal transformation. *Kidney Int.* – 2002. – 61. – 1714-1728.

26. Strutz, F. et al. Identification and characterization of a fibroblast marker: FSP1. J. Cell Biol. – 1995. – 130. – 393-405.

27. Yang J., Dai C., Liu Y. Hepatocyte growth factor gene therapy and angiotensin II blockade synergistically attenuate renal interstitial fibrosis in mice. J. Am. Soc. Nephrol. – 2002. –13. –10. – 2464-2477.

28. Zavadil J., Bottinger E. P. TGF-beta and epithelial-to-mesenchymal transitions. – 2005. Oncogene. – 24. – 5764-5774.

29. Zeisberg M., Kalluri R. The role of epithelial-to-mesenchymal transition in renal fibrosis. J. Mol. Med. – 2004. – 82. – 3. – 175-181.

30. Zeisberg E. M., Potenta S. E., Sugimoto H., Zeisberg M., Kalluri R. Fibroblasts in kidney fibrosis emerge via endothelial-to-mesenchymal transition. J. Am Soc. Nephrol. – 2008. –19. –2282-2287.

31. Zeisberg M. et al. BMP-7 counteracts TGF-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and reverses chronic renal injury. *Nat. Med.* – 2003. – 9. – 964-968.

Поступила 10.05.2016

Р. А. САДРЕТДИНОВ, Л. П. ВОРОНИНА, О. С. ПОЛУНИНА, А. А. ПОЛУНИН

УРОВНИ МАРКЕРОВ ОБМЕНА КОЛЛАГЕНА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПРОСТАТИТЕ

Кафедра дерматовенерологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121.
Тел. (8512) 52-41-43. E-mail: irina-nurzhanova@yandex.ru

Был изучен уровень маркеров обмена коллагена у 280 бесплодных и фертильных больных хроническим простатитом. Все пациенты были разбиты на 2 группы: 1-я группа – бесплодные (140 чел.), 2-я группа – фертильные пациенты, сопоставимые по возрасту (140 чел.). Средний возраст обследованных пациентов составил 34 [22; 43] года. Медиана длительности заболевания составила 6 [2; 4] лет. Группу контроля составили 50 практически здоровых мужчин репродуктивного возраста. В образцах сыворотки осуществлялось определение уровня трансформирующего фактора роста-β1 (ТФР-β1), уровня С-концевого телопептида коллагена I типа (СТП) и карбокситерминального пропептида проколлагена I (КПП). Было выявлено влияние процессов фиброзирования, а также процессов избыточного образования и деградации коллагена I типа на развитие бесплодия у больных хроническим простатитом. Данный вывод подтверждался также результатами корреляционного анализа, выявившего взаимосвязи между наличием бесплодия и уровнем ТФР-β1 ($r=0,61$ $p<0,001$), КПП ($r=0,64$ $p<0,001$), СТП ($r=0,31$ $p=0,021$).

Ключевые слова: хронический простатит, бесплодие, фертильность, фиброз, С-концевой телопептид коллагена I типа.

R. A. SADRETDINOV, L. P. VORONINA, O. S. POLUNINA, A. A. POLUNIN

THE LEVELS OF MARKERS OF COLLAGEN METABOLISM IN CHRONIC PROSTATITIS

Department of dermatology and venereology, State budget educational institution of higher professional education «Astrakhan state medical university», Russia, 414000, Astrakhan, Bakinskaya str., 121.
Phone 8 (8512) 52-41-43. E-mail: irina-nurzhanova@yandex.ru

УДК 616.65-002-036.12:615.31-056.5