

© М.М.Батюшин, Х.З.Гадаборшева, 2015
УДК 616.61-002-004:577.112

М.М. Батюшин¹, Х.З. Гадаборшева¹

БЕЛОК СОСУДИСТОЙ АДГЕЗИИ-1 (VAP-1) И ЕГО РОЛЬ В МОДЕЛИРОВАНИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА И ФИБРОЗА. НЕФРОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕКТОР

¹Кафедра внутренних болезней с основами физиотерапии № 2 Ростовского государственного медицинского университета, г. Ростов-на-Дону, Россия

M.M. Batiushin¹, H.Z. Gadaborsheva¹

VASCULAR ADHESIVE PROTEIN-1 (VAP-1) AND ITS ROLE IN MODELING OF INFLAMMATION AND FIBROSIS. NEPHROLOGY VECTOR

¹Department of internal disease with fundamentals of physical therapy №2 Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

РЕФЕРАТ

Существует семейство белков, локализованных на клеточных поверхностях и регулирующих процесс лимфоцит-эндотелиоцитарного взаимодействия, именуемых ектопептиды. К их числу относится и VAP-1 (vascular adhesive protein-1, белок сосудистой адгезии-1). Человеческий VAP-1 является димерным мембранным белком с молекулярной массой 180 кДа, состоящим из короткого N-концевого цитоплазматического хвоста, трансмембранного домена и большой внеклеточной части. VAP-1 стимулирует прокатку (роллинг), адгезию и диапедез (трансмиграцию) лимфоцитов через эндотелиальную выстилку сосудов, а также полиморфно-ядерных лейкоцитов. При изучении экспрессии VAP-1 в почках он обнаруживается в эндотелиальных клетках перитубулярных капилляров и перипитах, а также гладкомышечных клетках более крупных сосудов. Практически полностью отсутствует экспрессия VAP-1 в эндотелии почечных клубочков. Дальнейшее изучение влияния сигнального VAP-1-опосредованного пути на течение и исходы гломерулонефрита позволит расширить представления о патогенезе заболевания и новых путях влияния на прогрессирование хронической болезни почек.

Ключевые слова: белок сосудистой адгезии-1 (VAP-1), семикарбазид-чувствительная аминоксидаза (SSAO), перитубулярные сосуды, перитубулярный фиброз, хроническая болезнь почек.

ABSTRACT

There is the whole proteins family, localized on cellular surfaces and regulating lymphocyte-endotelocyte interaction process, called ekto-peptides. VAP-1 (vascular adhesive protein-1) also belongs to it. Human VAP-1 is the dimeric membrane protein with molecular weight of 180 kD consisting of short N-trailer cytoplasmatic tail, transmembrane domain and most extracellular part. VAP-1 stimulates lymphocytes rolling, adhesion and transmigration through endothelial vessels lining, and also polymorphic and nuclear leukocytes. During studying of VAP-1 expression in kidneys, it is found in peritubular capillaries and perithelial cells of the, and also in smooth muscle cells of larger vessels. Almost completely absent is VAP-1 expression in glomerular endothelial cells. Further studying of signal VAP-1-mediated pathway influence on glomerulonephritis course and outcomes will provide to expand ideas of disease pathogenesis and new influence ways on chronic kidney disease progressing.

Key words: vascular adhesive protein-1 (VAP-1), semicarbazide-sensitive aminoxidase (SSAO), peritubular vessels, peritubular fibrosis, chronic kidney disease.

Структура и функции VAP-1

VAP-1 (vascular adhesive protein-1, белок сосудистой адгезии-1) был первым адгезивным белком, идентифицированным еще в начале 90-х годов [1]. Вместе с тем, аминоксидаза, ферментативной активностью которой обладает данный протеин, была обнаружена еще 70-х годах [2]. Когда в 1998 году расшифровали ген, кодирую-

щий VAP-1, стало понятным, что он является семикарбазид-чувствительной аминоксидазой (semicarbazide-sensitive amine oxidase, SSAO). Его функция сводится к конвертации первичных аминов до альдегидов с выходом перекиси и аммиака. В те же годы были клонированы три гена, гомологичные человеческому VAP-1, – ген диаминоксидазы (SSAO), медь-содержащей аминоксидазы (copper-containing amine oxidase, CAOs), специфичной для сетчатки и для человеческой плаценты, а также два альтернативных вариан-

Батюшин М.М. 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, д. 29. РостГМУ, кафедра внутренних болезней с основами физиотерапии № 2. Тел.: 8-918-501-88-01, 8(863) 201-44-23, E-mail: batjushin-m@rambler.ru

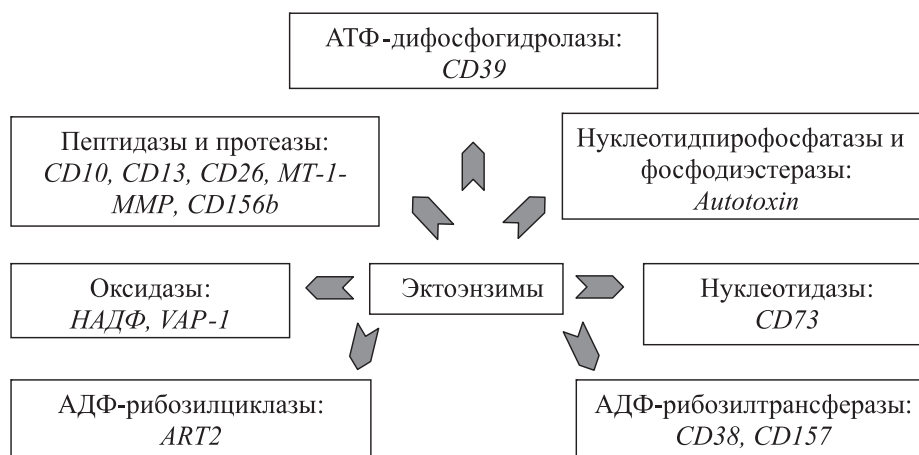


Рис. 1. Семейство эктоэнзимов.

та сплайсинга псевдогена [3]. Все SSAO содержат медь, выступающую в качестве ко-фактора, и большинство из них – топахинон, являющийся уникальной посттрансляционной модификацией тирозина в каталитически активном участке [4].

Существует семейство белков, локализованных на клеточных поверхностях и регулирующих процесс лимфоцит-эндотелиоцитарного взаимодействия, именуемых эктопептиды. К их числу относится и VAP-1 (рис. 1). Эктопептиды относятся к группе адгезивных белков, в которую входят селектины, интегрины, коннексины, VCAM (vascular cell adhesion molecule), ICAM (intercellular adhesion molecule) и др.

Человеческий VAP-1 является димерным мембранным белком с молекулярной массой 180 кДа, состоящим из короткого N-концевого цитоплазматического хвоста, трансмембранного домена и большой внеклеточной части. Помимо мембранного VAP-1, существует и растворимая форма.

Растворимый человеческий VAP-1, вероятно, является результатом мембранного протеолиза [5].

В норме концентрация растворимого VAP-1 в крови колеблется от 49 до 138 нг/мл и не зависит от пола, возраста и времени суток [6].

Конвертация аминов происходит в два этапа. На первом этапе (восстановительном) первичные амины связываются с топахиноном, что приводит к формированию транзитного ковалентного взаимодействия (Шиффово основание). Далее в процессе оксидативной реакции фермент окисляется и высвобождаются перекись и аммиак.

Слабая экспрессия VAP-1 наблюдается уже на 7-й неделе развития эмбриона человека в гладкомышечных клетках стенки аорты и кишечника. Экспрессия на эндотелии появляется только к 18-й неделе внутриутробного развития. В почеч-

ной ткани экспрессия VAP-1 начинает наблюдаться с 13-й недели [7].

Экспрессия VAP-1 происходит в зоне воспаления, где иммунный ответ существенно зависит от тканевых лимфоцитов, проникающих в зону воспаления из крови. VAP-1 стимулирует прокатку (роллинг), адгезию и диапедез (трансмиграцию) лимфоцитов через эндотелиальную выстилку сосудов, а также полиморфно-ядерных лейкоцитов [1, 8] (рис. 2).

Интенсивность взаимодействия VAP-1 с рецепторами-счетчиками на поверхности лимфоцитов зависит от концевых участков гликанов сиаловых кислот. Первичные аминокислоты или углеводные фрагменты поверхностных белков лимфоцитов подвергаются воздействию активированного VAP-1 в процессе клеточной адгезии, что приводит к образованию ковалентной связи между двумя типами клеток (эндотелиоцит, лимфоцит) в результате окислительного дезаминирования [9]. В дополнение к ферментативной активности VAP-1 наличие в его структуре цепочки аргинин-глицин-аспарагиновая кислота позитивно влияет на процесс адгезии лимфоцитов к поверхности эндотелиальных клеток.

Учитывая влияние VAP-1 на адгезию лимфоцитов, можно было бы предположить, что его ингибирование способно повлечь за собой ослабление напряженности противоинфекционного иммунитета, однако этого в эксперименте не происходило [10]. Вместе с тем, применение антител против VAP-1 сопровождалось снижением лейкоцитарной инфильтрации пораженных тканей при перитоните, дерматите, пневмонии [8, 11, 12]. При этом именно ингибиторы SSAO, а не антитела к VAP-1 способны подавлять роллинг полиморфно-ядерных лейкоцитов, тогда как процесс трансмиграции подавляется

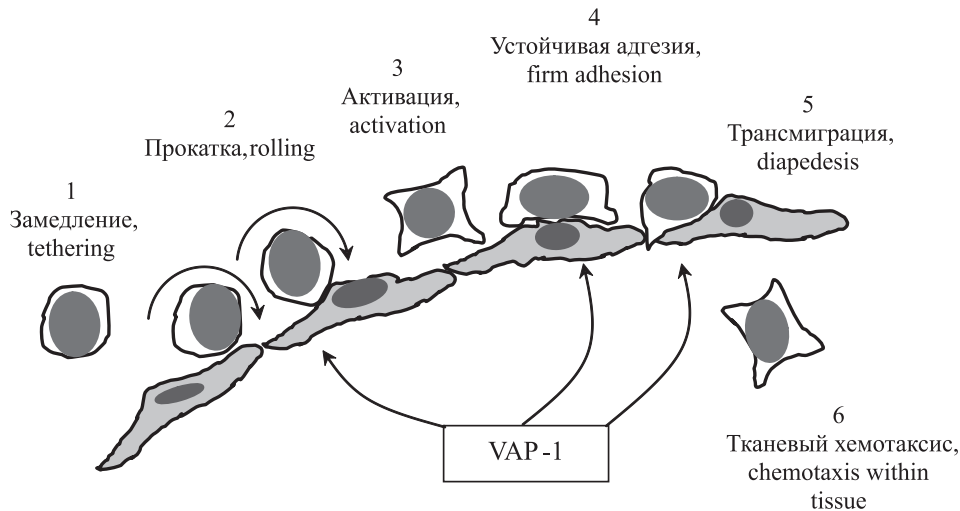


Рис. 2. Уровни воздействия VAP-1 на процесс миграции лейкоцитов в зону воспаления.

и теми, и другими ингибиторами примерно в равной мере – на 45–50% [13]. При проверке эффекта ингибирования VAP-1 на нокаутированных мышцах также получили снижение интенсивности трафика нейтрофилов через эндотелиальную выстилку [14]. Важно отметить, что антитела к VAP-1 не ингибируют активность SSAO [13]. А совместное применение антител к VAP-1 и ингибиторов SSAO не сопровождается аддитивным блокирующим эффектом в отношении связывания лейкоцитов. Было показано, что VAP-1 может индуцировать экспрессию E- и P-селектинов, внутриклеточной молекулы адгезии-1 (ICAM-1) и CXCL8 в эндотелиальных клетках, что приводит к активизации процесса связывания лейкоцитов на эндотелии. В норме экспрессии E- и P-селектинов на эндотелиальной клетке не происходит. Индукция E- и P-селектинов в большей степени осуществляется при помощи перекиси водорода, которая образуется в результате ферментативной реакции VAP-1, и данный эффект лучше всего изучен на модели атеросклероза [15,16].

В эксперименте на животных было показано, что VAP-1 способен демонстрировать инсулиноподобные эффекты и влиять на нарушение метаболизма глюкозы [17–20]. Недавно также были описаны эффекты блокаторов VAP-1 подавления ангиогенеза в структурах глаза и опухолевой ткани, что свидетельствует о способности VAP-1 стимулировать неоваскуляризацию [21]. Все это говорит о многообразии биологических эффектов VAP-1.

Экспрессия VAP-1 в почках, влияние на прогрессирование почечного фиброза

При изучении экспрессии VAP-1 в почках он обнаруживается в эндотелиальных клетках перитубулярных капилляров и перицитах, а также

гладкомышечных клетках более крупных сосудов. Практически полностью отсутствует экспрессия VAP-1 в эндотелии почечных клубочков. В случае развития реакции отторжения плотность экспрессируемых VAP-1 в эндотелии перитубулярных капилляров существенно возрастает. Также повышается концентрация растворимого VAP-1 в крови [22]. Помимо экспрессии, на эндотелиальных и гладкомышечных клетках обнаружена экспрессия VAP-1 на жировых клетках. Жировые клетки являются также источником растворимого VAP-1, образование которого регулируется TNF- α и инсулином [5].

При наличии сахарного диабета, ожирения, воспалительных заболеваний печени, сердечно-сосудистых заболеваниях, рассеянном склерозе, а также у больных на гемодиализе, перитонеальном диализе наблюдается повышение в крови уровня VAP-1, более выраженное при отсутствии резidualной функции почек [8, 23–26].

Показано, что уровень VAP-1 в крови повышается по мере снижения СКФ ($r=-0,24$, $p=0,0001$), а также при нарастании альбумин-креатининового отношения ($r=0,29$, $p=0,0001$). Сам факт наличия хронической болезни почек ассоциируется с повышением уровня VAP-1 в крови на 63% [27, 28].

При развитии гломерулосклероза, в первую очередь, наблюдается снижение кровотока в перитубулярных капиллярах, что обусловлено, с одной стороны, снижением кровотока в отводящих артериолах, с другой – локальными процессами в перитубулярных капиллярах вследствие тубулоинтерстициального фиброза и активации констрикторных систем (рис. 3). Это, в свою очередь, усугубляет явления тубулоинтерстициального фиброза [29]. Эпителий проксимальных каналь-

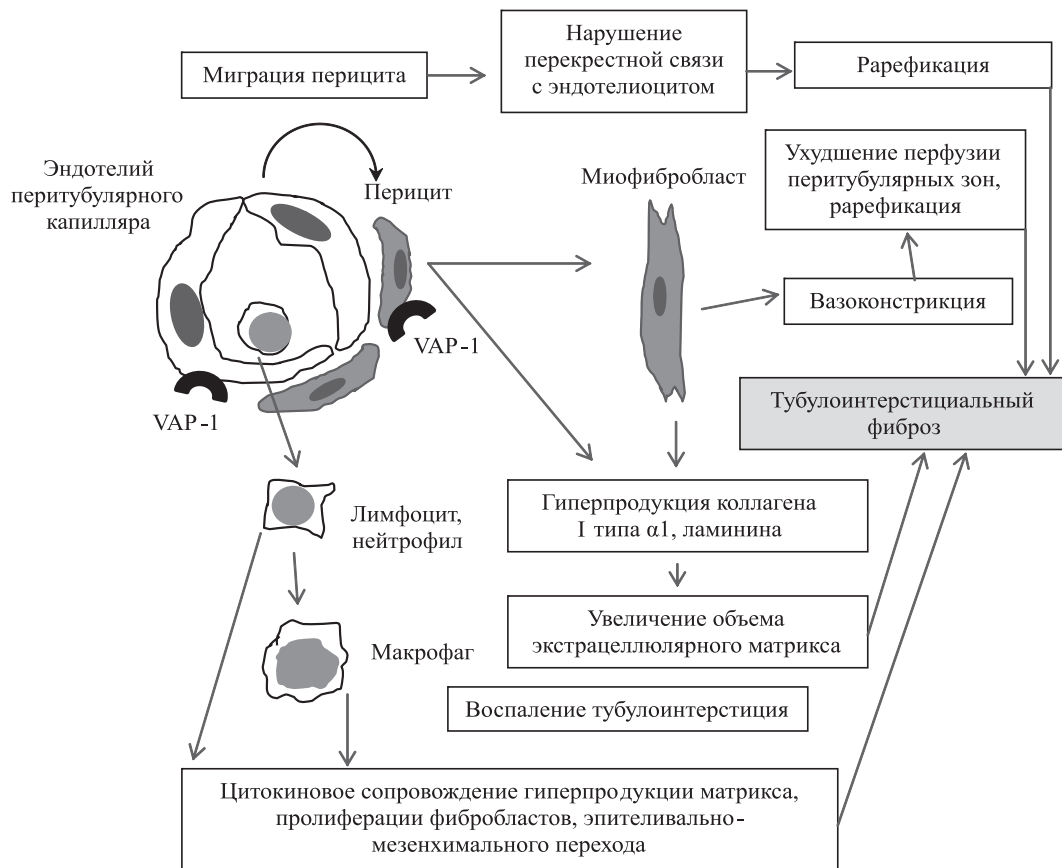


Рис. 3. Влияние VAP-1 на развитие тубулоинтерстициального фиброза.

цев более восприимчив к гипоксии, поскольку он исключительно зависим от аэробного гликолиза [30]. По этой причине, а также вследствие нефротоксичности протеинурии и ухудшающегося перитубулярного кровотока эпителий проксимальных канальцев в большей степени подвержен повреждению, а перитубулярно развиваются явления фиброза. В его развитии большую роль играют перитубулярные фибробласты, перициты, макрофаги, а также эндотелий перитубулярных артериол и капилляров [27, 28].

При воздействии на перитубулярный сосуд происходит активация рецепторов II типа сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGFR2) и других сигнальных систем (ADAMTS-1/TIMP3, PDGF-B, WNT, ANGPT) на перицитах и миграция перицитов, нарушается их перекрестная связь с эндотелиоцитами, что приводит к дестабилизации сосудистой стенки и запуску процесса рарефикации (запустеванию капилляров и уменьшению плотности сосудистого пространства в межуточном веществе) [31, 32].

Представляют интерес результаты экспериментального исследования S. Nakao и соавт. (2011), в котором было показано, что VEGF-A способен стимулировать неоангиогенез и макро-

фагальную инфильтрацию интерстиция только в присутствии VAP-1, его блокада с помощью ингибиторов лишает VEGF-A способности влиять на неоваскуляризацию и инфильтрацию макрофагами [33]. Таким образом, можно предположить содружественное влияние важнейшего сигнального VEGF-опосредованного пути ремоделирования тубулоинтерстициальной ткани с VAP-1-опосредованным сигнальным путем.

Поскольку при хроническом гломерулонефрите тубулоинтерстициальный фиброз с течением времени развивается у большинства больных, учитывая его существенное значение в ремоделировании почечной паренхимы и развитии почечной недостаточности, изучение механизмов его формирования позволит фиксировать точки возможного лекарственного воздействия. Одним из таких механизмов является активизация VAP-1-опосредованного сигнального пути в развитии перитубулярного фиброза. В экспериментальных исследованиях с ингибиторами эффектов VAP1/SSAO было показано, что применение PXS-4681A в дозе 2 мг/кг сопоставимо с эффектом дексаметазона в дозе 10 мг/кг во влиянии на объем экссудата, инфильтрацию нейтрофилами, содержание ФНО- α и интерлейкина-6 в экссудате [34]. Воз-

можно, противовоспалительные и антифибротические эффекты ингибиторов эффектов VAP1/SSAO могут быть продемонстрированы и при хронических гломерулонефритах.

Однако, несмотря на наличие аргументов в пользу данного предположения, экспериментальная научная база пока выглядит довольно скромно. Тем не менее, дальнейшее изучение влияния сигнального VAP-1-опосредованного пути на течение и исходы гломерулонефрита позволит расширить представления о патогенезе заболевания и новых путях влияния на прогрессирование хронической почечной недостаточности.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Salmi M, Jalkanen S. A 90-kilodalton endothelial cell molecule mediating lymphocyte binding in humans. *Science* 1992; 257: 1407–1409
2. Rucker RB, O'Dell BL. Connective tissue amine oxidase I. Purification of bovine aorta amine oxidase and its comparison with plasma amine oxidase. *Biochim Biophys Acta Enzymol* 1971; 235:32–43
3. Airenne TT, Nymalm Y, Kidron H et al. Crystal structure of the human vascular adhesion protein-1: Unique structural features with functional implications. *Protein Science* 2005; 14:1964–1974.
4. Jalkanen S, Salmi M. Cell surface monoamine oxidases: enzymes in search of a function. *EMBO J.* 2001; 20: 3893–3901
5. Abella A, Garcia-Vicente S, Viguerie N et al. Adipocytes release a soluble form of VAP-1/SSAO by a metalloprotease-dependent process and in a regulated manner. *Diabetologia* 2004; 47: 429–438
6. Kurkijarvi R, Adams DH, Leino R et al. Circulating form of human vascular adhesion protein-1 (VAP-1): increased serum levels in inflammatory liver diseases. *J Immunol* 1998; 161: 1549–1557
7. Salmi M, Jalkanen S. Developmental regulation of the adhesive and enzymatic activity of vascular adhesion protein-1 (VAP-1) in humans. *Blood*. 2006; 108: 1555–1561
8. Tohka S, Laukkanen M-L, Jalkanen S, Salmi M. Vascular adhesion protein 1 (VAP-1) functions as a molecular brake during granulocyte rolling and mediates their recruitment in vivo. *FASEB J.* 2001; 15: 373–382
9. Salmi M, Yegutkin GG, Lehtonen R et al. A cell surface amine oxidase directly controls lymphocyte migration. *Immunity* 2001; 14: 265–276
10. Dunkel P, Balogh B, Meleddu R et al. Semicarbazide-sensitive amine oxidase/vascular adhesion protein-1: a patent survey. *Expert Opin. Ther. Patents* 2011; 21(9): 1453–1471
11. Kinemuchi H, Sugimoto H, Obata T, Satoh N, Ueda S. Selective inhibitors of membrane-bound semicarbazide-sensitive amine oxidase (SSAO) activity in mammalian tissues. *Neurotoxicology*. 2004; 25: 325–335
12. Merinen M, Irjala H, Salmi M et al. Vascular adhesion protein-1 is involved in both acute and chronic inflammation in the mouse. *Am J Pathol.* 2005; 166: 793–800
13. Koskinen K, Vainio PJ, Smith DJ et al. Granulocyte transmigration through the endothelium is regulated by the oxidase activity of vascular adhesion protein-1 (VAP-1). *Blood* 2004; 103: 3388–3395
14. Noonan T, Lukas S, Peet GW et al. The oxidase activity of vascular adhesion protein-1 (VAP-1) is essential for function. *Am. J. Clin. Exp. Immunol.* 2013; 2(2): 172–185
15. Galkina E, Ley K. Vascular Adhesion Molecules in Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007; 27: 2292–2301
16. Jalkanen S, Karikoski M, Mercier N et al. The oxidase activity of vascular adhesion protein-1 (VAP-1) induces endothelial E- and P-selectins and leukocyte binding. *Blood*. 2007; 110: 1864–1870
17. Morin N, Lizcano JM, Fontana E et al. Semicarbazide-sensitive amine oxidase substrates stimulate glucose transport and inhibit lipolysis in human adipocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 297: 563–572
18. Carpen C, Bour S, Visentin V et al. Amine oxidase substrates for impaired glucose tolerance correction. *J Physiol Biochem* 2005; 61: 405–420
19. Iffiu-Soltesz Z, Wanecq E, Lomba A et al. Chronic benzylamine administration in the drinking water improves glucose tolerance, reduces body weight gain and circulating cholesterol in high-fat diet-fed mice. *Pharmacol Res* 2010; 61: 355–363
20. Mercader J, Iffiu-Soltesz Z, Brenachot X et al. SSAO substrates exhibiting insulin-like effects in adipocytes as a promising treatment option for metabolic disorders. *Future Med Chem* 2010; 2: 1735–1749
21. Noda K, She H, Nakazawa T et al. Vascular adhesion protein-1 blockade suppresses choroidal neovascularization. *FASEB J* 2008; 22: 2928–2935
22. Kurkijarvi R, Jalkanen S, Isoniemi H, Salmi M. Vascular adhesion protein-1 (VAP-1) mediates lymphocyte-endothelial interactions in chronic kidney rejection. *Eur. J. Immunol.* 2001. 31: 2876–2884
23. Boomsma F, Veldhuisen DJ van, Kam PJ et al. Plasma semicarbazide-sensitive amine oxidase is elevated in patients with congestive heart failure. *Cardiovasc Res* 1997; 33: 387–391
24. Airas L, Mikkola J, Vainio JM et al. Elevated serum soluble vascular adhesion protein-1 (VAP-1) in patients with active relapsing remitting multiple sclerosis. *J of Neuroimmunology* 2006; 177: 132–135
25. Koc-Zorawska E, Malyszko J, Zbroch E et al. Vascular adhesion protein-1 and renase in regard to diabetes in hemodialysis patients. *Arch Med Sci* 2012; 8(6): 1048–1052
26. Koc-Zorawska E, Malyszko J, Zbroch E et al. VAP-1 in peritoneally dialyzed patients. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2013; 67: 1340–134
27. Lin M-S, Li H-Y, Wei J-N et al. Serum vascular adhesion protein-1 is higher in subjects with early stages of chronic kidney disease. *Clinical Biochemistry* 2008; (41): 1362–1367
28. Lin S., Kisseleva T, Brenner DA, Duffield JS. Pericytes and perivascular fibroblasts are the primary source of collagen-producing cells in obstructive fibrosis of the kidney. *Am J Pathol* 2008; 173: 1617–1627
29. Kawakami T, Mimura I, Shoji K et al. Hypoxia and fibrosis in chronic kidney disease: crossing at pericytes. *Kidney Int Suppl* 2014; (4): 107–112
30. Epstein FH. Oxygen and renal metabolism. *Kidney Int* 1997; 51: 381–385
31. Lin SL, Chang FC, Schrimpf C et al. Targeting endothelium-pericyte cross talk by inhibiting VEGF receptor signaling attenuates kidney microvascular rarefaction and fibrosis. *Am J Pathol.* 2011; 178: 911–923
32. Schrimpf C, Tebken OE, Wilhelmi M, Duffield JS. The Role of Pericyte Detachment in Vascular Rarefaction. *J Vasc Res* 2014; 51: 247–258
33. Nakao S, Noda K, Zandi S et al. VAP-1-Mediated M2 Macrophage Infiltration Underlies IL-1 β – but Not VEGF-A-Induced Lymph- and Angiogenesis. *Am J Pathol* 2011; 178: 1913–1921
34. Foot JS, Yow TT, Schilter H et al. PXS-4681A, a Potent and Selective Mechanism-Based Inhibitor of SSAO/VAP-1 with Anti-Inflammatory Effects In Vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 2013; 347: 365–374

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию: 05.02.2015 г.
Принята в печать: 26.06.2015 г.