

© О.Б.Кузьмин, В.В.Жежа, В.В.Белянин, Л.Н.Ландарь, 2016  
УДК 616 – 009.12+616.61 : 616.611- 001

*О.Б. Кузьмин, В.В. Жежа, В.В. Белянин, Л.Н. Ландарь*

## ГЛОМЕРУЛЯРНАЯ ГИПЕРТЕНЗИЯ: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОДОЦИТОВ И МЕЗАНГИАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Кафедра фармакологии Оренбургского государственного медицинского университета, Россия

*O.B. Kuzmin, V.V. Zhezha, V.V. Belyanin, L.N. Landar*

## GLOMERULAR HYPERTENSION: MOLECULAR MECHANISMS OF PODOCYTES AND MESANGIAL CELLS DAMAGE

Department of Pharmacology Orenburg State Medical University, Russia

### РЕФЕРАТ

В обзоре представлены данные о молекулярных механизмах, лежащих в основе повреждения подоцитов и мезангиальных клеток клубочков при гломерулярной гипертензии. Механическое напряжение активирует в этих клетках локальные RAS и увеличивает выделение Анг II, который аутокринным и паракринным способом возбуждает AT1-рецепторы и запускает сигнальные каскады, ведущие, в конечном итоге, к ЭМТ-подобным фенотипическим изменениям, апоптозу подоцитов и профибротическому перерождению мезангиальных клеток. Ключевую роль в этих процессах играет TGF- $\beta$ , который активирует сигнальные пути, опосредующие большинство патологических эффектов, возникающих в этих клетках при механическом повреждении и возбуждении AT1-рецепторов их клеточных мембран. В низких концентрациях TGF- $\beta$  индуцирует в подоцитах Smad 2/3-зависимые и другие внутриклеточные каскады, которые вызывают ЭМТ-подобные изменения и дедифференцировку клеток, а в высоких концентрациях совместно с Анг II активирует сигнальные пути, ведущие к апоптозу и потере подоцитов в структуре гломерулярного фильтра. В мезангиальных клетках клубочков TGF- $\beta$  и Анг II запускают сигнальные пути, которые вызывают избыточную аккумуляцию мезангиального матрикса и стимулируют продукцию MCP-1, TNF- $\alpha$ , IL-18 и IL-6, индуцирующих воспаление мезангиальной ткани. Выяснение молекулярных механизмов повреждения подоцитов и мезангиальных клеток при гломерулярной гипертензии позволит выявить потенциальные мишени для разработки новых лекарственных препаратов для лечения гипертензивных больных с нефропатией различного происхождения.

**Ключевые слова:** гломерулярная гипертензия, подоциты, мезангиальные клетки, ангиотензин II, TGF- $\beta$ , сигнальные пути.

### ABSTRACT

The review presents data on the molecular mechanisms underlying podocytes and mesangial cells damage in glomerular hypertension. Mechanical stress in these cells activates the local RAS and increases the secretion of Ang II which in autocrine and paracrine manner stimulates AT1-receptors and triggers signaling cascades, leading eventually to the EMT-like phenotype changes, apoptosis podocytes and mesangial cells profibrotic degeneration. A key role in these processes plays a TGF- $\beta$ , which activates signaling pathways that mediate the majority of the pathological effects occurring in these cells upon mechanical damage and excitement of AT1-receptors of their cell membranes. At low concentrations TGF- $\beta$  induces in podocytes Smad 2/3-dependent and other intracellular signaling cascades which induce EMT-like changes and dedifferentiation of cells and at high concentrations together with Ang II activates signal pathways leading to apoptosis and loss of podocytes in glomerular filter structure. In glomerular mesangial cells TGF- $\beta$  and Ang II trigger signaling pathways which cause excessive accumulation of mesangial matrix and stimulate the production of MCP-1, TNF $\alpha$ , IL-18 and IL-6 inducing the inflammation of mesangial tissue. Elucidation of the molecular mechanisms of podocytes and mesangial cells damage in glomerular hypertension provides to identify potential targets for creation a new drugs development for the treatment of hypertensive patients with nephropathy of different origin.

**Key words:** glomerular hypertension, podocytes, mesangial cells, angiotensin II, TGF- $\beta$ , signal pathways.

Гломерулярная гипертензия (ГГ) является одной из главных причин развития и прогрессирования нефропатии у гипертензивных больных с хронической болезнью почек (ХБП) диабетического и недиабетического происхождения. Этот внутрипочечный гемодинамический феномен, тесно свя-

занный с гломерулярной гиперфилтрацией, может включаться в склеротическое повреждение клубочков уже на ранних стадиях первичной артериальной гипертензии (АГ) [1], непосредственно участвуя затем в формировании вторичного фокально-сегментарного гломерулосклероза при тяжелом течении этого заболевания [2]. Весьма важную роль ГГ играет также в механическом повреждении подоцитов и клубочков при формировании вторич-

Кузьмин О.Б. Россия, 460000, Оренбург, Парковый пр., д. 7. Оренбургский государственный медицинский университет, кафедра фармакологии. Тел.: (3532) 774-966; E-mail kuzmin.orgma@mail.ru

ного фокально-сегментарного гломерулосклероза, развивающегося у гипертензивных больных с хроническим гломерулонефритом и другими заболеваниями почек, связанными со снижением массы действующих нефронов [3].

В обзоре представлены данные о молекулярных механизмах механического повреждения подоцитов и мезангиальных клеток, которые включаются в формирование и прогрессирование вторичного фокально-сегментарного гломерулосклероза у пациентов с эссенциальной и нефрогенной АГ. Выяснение этих механизмов позволит определить потенциальные мишени для разработки новых подходов к лекарственной терапии гипертензивных больных с нефропатией диабетического и недиабетического происхождения.

#### **Пусковые механизмы повреждения подоцитов и мезангиальных клеток**

ГГ является следствием нарушения работы почечных механизмов, защищающих почки от повреждающего действия повышенного АД. В первую очередь, это касается ослабления миогенного тонуса и расширения прегломерулярных сосудов, которое ведет к передаче повышенного АД на гломерулярные капилляры, и/или зависящего от ангиотензина II (Анг II) сужения эфферентных артериол клубочков [4]. В защите почек от АГ участвуют также подоциты, которые препятствуют растяжению стенки гломерулярных капилляров, гломерулярной базальной мембраны (ГБМ) и чрезмерному увеличению объема клубочков, возникающему в ответ на пульсовые колебания фильтрационного давления [5]. В условиях сохраненной ауторегуляции колебания клубочкового давления и объема относительно невелики. Избыточное увеличение гломерулярного давления, связанное с ослаблением ауторегуляции почечного кровотока, ведет к нарастанию амплитуды циклических эпизодов напряжения/расслабления клубочков, которое вызывает механическое повреждение подоцитов с формированием вторичного фокально-сегментарного гломерулосклероза [6, 7].

В повреждении клубочков при ГГ ключевую роль играет активация клеточной ренин-ангиотензиновой системы (РАС) подоцитов и избыточная продукция Анг II, который интракринным и аутокринным способом запускает внутриклеточные сигнальные пути, ведущие, в конечном итоге, к потере подоцитов и склеротическому повреждению клубочков. Свой вклад в этот патологический процесс вносит также пролиферация и профибротическое перерождение мезангиальных клеток, которое

связано, в основном, с паракринным воздействием Анг II, TGF- $\beta$  и профибротического цитокина CTGF (фактор роста соединительной ткани), выделяемого подоцитами [8].

#### **Механическое повреждение подоцитов**

В клубочковом функциональном комплексе, включающем эндотелий гломерулярных капилляров, ГБМ, подоциты и мезангиальные клетки, функционирует локальная тканевая РАС, которая продуцирует Анг II, его функциональный антагонист Анг (1–7) и другие эффекторные пептиды в количествах, обладающих биологической активностью [9, 10]. Одним из ее звеньев является РАС подоцитов. В ней экспрессированы все основные компоненты этой системы: ангиотензиноген, ренин, ангиотензин I-превращающий фермент (АПФ), АПФ 2, аминопептидаза А, нейтральная эндопептидаза (неприлизин) и другие ферменты, обеспечивающие генерацию Анг II, Анг (1–7) и их метаболизм (рис. 1). В мембранах этих клеток выявлена высокая плотность  $AT_1$ -,  $AT_2$ -ангиотензиновых, других рецепторов, опосредующих физиологические и патологические эффекты Анг II и других эффекторных пептидов РАС [11, 12, 13–15].

Длительное механическое напряжение подоцитов, возникающее при ГГ, сопровождается активацией клеточной РАС с гиперэкспрессией  $AT_1$ -рецепторов в их цитоплазматических мембранах, увеличением продукции Анг II и его выделения из подоцитов. Об этом свидетельствуют данные, полученные *in vitro* на культивируемых подоцитах людей и грызунов, подвергающихся длительному механическому стрессу [16, 17], и SHR<sub>sp</sub>-крысах с генетической моделью гипертензивной нефропатии [18]. Предполагается, что Анг II, секретируемый подоцитами в избыточном количестве, вызывает их повреждение двумя основными путями: 1) аутокринным способом, прямо активируя  $AT_1$ -рецепторы и запуская связанные с ними патологические сигнальные пути; и 2) стимулируя транскрипцию гена ангиотензиногена с увеличением его внутриклеточного синтеза, вызывающего дальнейшую активацию клеточной РАС подоцитов [19].

Аутокринные эффекты Анг II, возникающие в подоцитах в ответ на механическое повреждение, сопровождаются активацией канонического TGF- $\beta$ /Smad-сигнального пути, других патологических TGF- $\beta$ -сигнальных путей, которые ведут к перестройке актинового цитоскелета подоцитов [20], снижению содержания нефрина в щелевых диафрагмах [21], отщеплению отростков подоци-

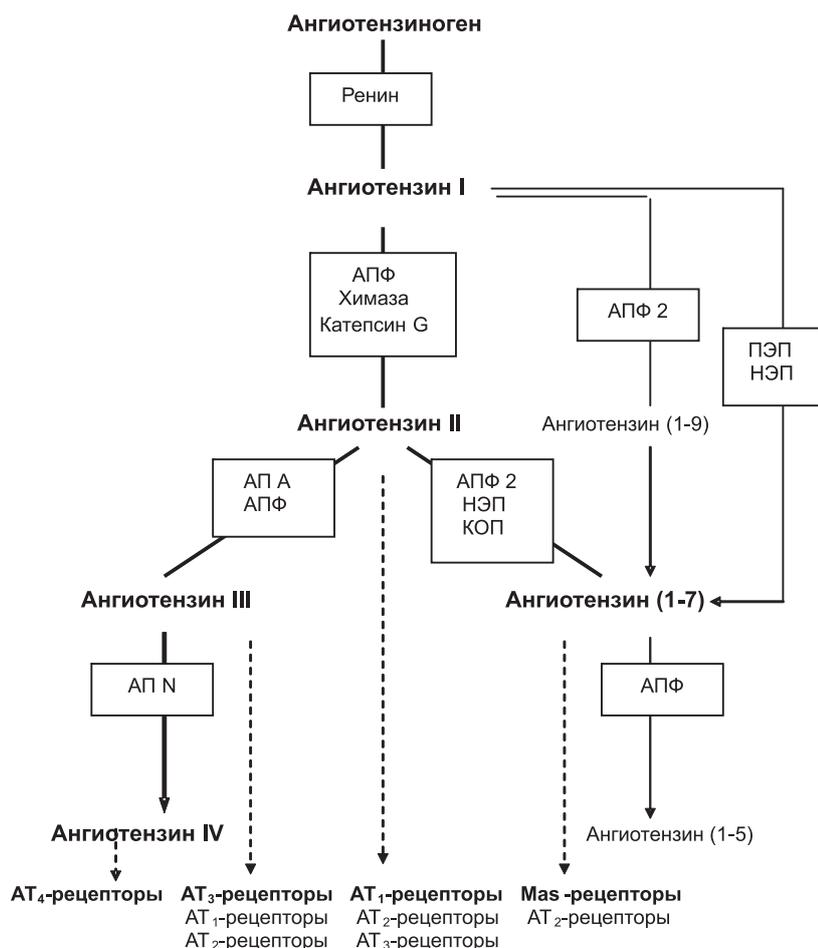


Рис. 1. Ренин-ангиотензиновая система подоцитов [11, 12]. АПФ, АПФ 2 – ангиотензин I-превращающие ферменты; ПЭП – пролиловая эндопептидаза; НЭП – нейтральная эндопептидаза (неприлизин); КОП – карбоксипептидаза; АП А – аминокпептидаза А; АП N – аминокпептидаза N. Жирным шрифтом выделены подтипы AT-ангиотензиновых рецепторов, специфически чувствительные к соответствующим эффекторным пептидам PАС.

тов от ГБМ [22], их эпителиально-мезенхимальной трансформации (ЭМТ) [23], апоптозу [24] и, в конечном итоге, потере этих гломерулярных клеток. Важную роль в механическом повреждении подоцитов играет оксидативный стресс, который развивается в клетках в ответ на возбуждение  $AT_1$ -рецепторов и проявляется в активации митохондриальной НАДФ(Н)-оксидазы 4 (Nox 4), избыточном накоплении супероксида  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ , способствующих эпителиально-мезенхимальной трансформации (ЭМТ) подоцитов [25, 26], их воспалительному повреждению [27] и апоптозу [28]. Не исключено, что в механизм подоцитопении, возникающей при ГГ, вовлекается также прямое механическое повреждение подоцитов, которое, независимо от TGF- $\beta$ , ведет к угнетению синтеза основного адгезивного белка-димера  $\alpha 3\beta 1$ -интегрина, нарушению адгезии и отщеплению ножек отростков подоцитов от ГБМ [22, 29].

## Механическое повреждение мезангиальных клеток

Мезангиальные клетки клубочков прямо включаются в механизм формирования вторичного фокально-сегментарного гломерулосклероза, развивающегося при хроническом гломерулонефрите и других заболеваниях, связанных с уменьшением числа функционирующих нефронов. Предполагается, что пролиферация и превращение этих клеток в клетки склеротического фенотипа, продуцирующие избыточное количество белков мезангиального матрикса, во многом обусловлено паракринным действием Анг II и профибротических цитокинов, генерируемых подоцитами в ответ на их механическое повреждение при увеличении давления в гломерулярных капиллярах [19]. Между тем, растяжение и перенапряжение сосудистого пучка клубочков, возникающее при ГГ, передается не только на подоциты, но и на мезангиальные клетки, вызывая их прямое механическое повреждение [30]. Одним из последствий такого повреждения является перемещение эндоплазматических рецепторов TGF- $\beta$  в их клеточные мембраны и активация классического TGF- $\beta$ /Smad 2/3 сигнального пути, TGF- $\beta$ /Pak 1 (серин/треониновая

киназа Pak 1)/Smad 3-сигнального каскада, других TGF- $\beta$ -зависимых сигнальных путей, которые стимулируют продукцию CTGF, профибротических и провоспалительных цитокинов, включающихся в склеротическое и воспалительное повреждение мезангиальной ткани [31–33].

В целом, становится все более очевидным, что центральное место в механизме развития и прогрессирования повреждения клубочков при ГГ занимает избыточная продукция подоцитами Анг II, которая обусловлена их механическим повреждением, возникающим в ответ на повышение давления в гломерулярных капиллярах. Последующее возбуждение клеточных  $AT_1$ -рецепторов запускает в подоцитах и мезангиальных клетках каскады сигнальных путей, которые индуцируют синтез TGF- $\beta$ , других профибротических и провоспалительных цитокинов, включающих эти клетки в механизм формирования гипертензивного гломерулоскле-

роза. Свой вклад в эти патологические процессы вносит также прямое механическое повреждение подоцитов и, особенно, мезангиальных клеток, которое ведет к включению дополнительных сигнальных путей, участвующих в их специфической структурной и функциональной перестройке.

#### **Молекулярные механизмы повреждения подоцитов**

Анг II, генерируемый активированной гломерулярной РАС, рассматривается в настоящее время как профибротический цитокин, который прямо участвует в механизме склеротического повреждения клубочков при гипертонической, диабетической и других видах нефропатии [8, 17].

Повреждающее действие Анг II в подоцитах реализуется, главным образом, через активацию патологических TGF- $\beta$ -сигнальных путей, которые запускают процессы их ЭМТ, дедифференцировки и, в конечном итоге, могут вести к апоптозу и потере этих клеток [34–36]. Ряд данных свидетельствует о том, что эти эффекты Анг II связаны не только с увеличением продукции самого профибротического цитокина [37], но и с активацией его специфических серин/треониновых рецепторов, обусловленной стимуляцией синтеза TSP-1 (тромбоспондин-1) – молекулы, индуцирующей переход латентного TGF- $\beta$  в его активную форму [38]. В активацию патологических TGF- $\beta$ -сигнальных путей в подоцитах включается также оксидативный стресс, который развивается при возбуждении AT<sub>1</sub>-рецепторов и участвует в высвобождении TGF- $\beta$  из его латентного комплекса [39, 40], активации его серин/треониновых рецепторов и фосфорилировании сигнальных белков Smad 2 и Smad 3, контролирующих транскрипцию гена Nox 4 [40].

**Эпителиально-мезенхимальная трансформация.** ЭМТ 2-го типа, лежащая в основе фибротического повреждения почек, рассматривается как способность эпителиальных клеток претерпевать под действием повреждающих факторов фенотипические изменения, приводящие к образованию клеток, похожих по своим свойствам на интерстициальные фибробласты (мезенхимальные клетки). Этот патологический процесс ассоциируется, прежде всего, с эпителиальными клетками проксимальных канальцев и включается в механизмы формирования почечного тубулоинтерстициального фиброза [41]. В профибротической перестройке канальцевых клеток ведущую роль играют Smad-зависимые и Smad-независимые TGF- $\beta$ -сигнальные пути (рис. 2), которые с участием ILK (интегрин-связанная киназа), сигнальных белков Wnt и реали-

зующих их действие ядерных транскрипционных факторов Snail и Twist запускают в клеточном ядре программу ЭМТ [42]. В этом патологическом процессе участвуют также интегрин/ILK/Akt/GSK-3 $\beta$ / $\beta$ -катенин-сигнальный каскад и Wnt/ $\beta$ -катенин-сигнальный путь, включающий GSK-3 $\beta$  (киназа 3 $\beta$  синтазы гликогена) и заканчивающийся активацией  $\beta$ -катенина и экспрессией транскрипционных факторов Snail и Twist, инициирующих процессы ЭМТ эпителиальных клеток [42–44].

Подоциты, в отличие от клеток почечных канальцев, являются висцеральными эпителиальными клетками мезенхимального происхождения, которые подвергаются ЭМТ-подобным изменениям, проявляющимся в подавлении экспрессии генов, обеспечивающих адгезию клеток между собой и с ГБМ, и активации генов, кодирующих перестройку актинового цитоскелета и продукцию белков-компонентов ГБМ и внеклеточного матрикса. Длительное воздействие TGF- $\beta$  вызывает в подоцитах характерный фенотипический сдвиг в виде снижения экспрессии трансмембранного гликопротеина Р-кадгерина, нефрина, белка плотных контактов ZO-1 с одновременной гиперэкспрессией виментина, нестина,  $\alpha$ -гладкомышечного актина (мезенхимальных маркеров перестройки цитоскелета), а также фибронектина и коллагенов I, IV типов, отражающих избыточную продукцию белков ГБМ и внеклеточного матрикса [23, 45].

Сведения о внутриклеточных механизмах, лежащих в основе ЭМТ-подобных изменений подоцитов, пока достаточно ограничены. Предполагается, что пусковую роль в них играет TGF- $\beta$ /Smad 2/3 сигнальный путь, который благодаря образованию эффекторного комплекса белков Smad 3/4 стимулирует в ядре клетки транскрипцию генов и увеличивает продукцию ILK, ключевой киназы интегрин/ILK-сигнального пути [34], и Wnt 1, сигнального белка, контролирующего Wnt/ $\beta$ -катенин-сигнальный путь [35]. Следствием активации этих сигнальных путей, включающих GSK-3 $\beta$  (киназа 3 $\beta$  синтазы гликогена), является фосфорилирование  $\beta$ -катенина, который в ядре клетки индуцирует транскрипцию гена Snail 1, супрессирующего активность целевых генов, участвующих в синтезе Р-кадгерина, нефрина и, возможно, других адгезивных молекул [23, 34, 35]. Одновременно стимуляция TGF- $\beta$ -рецепторного комплекса ведет к ускорению превращения  $\beta$ 1-интегрин, основного компонента адгезивного белка-димера  $\alpha$ 3 $\beta$ 1-интегрин, в свою нефункциональную изоформу, что способствует снижению синтеза  $\alpha$ 3 $\beta$ 1-интегрин, нарушению адгезии и

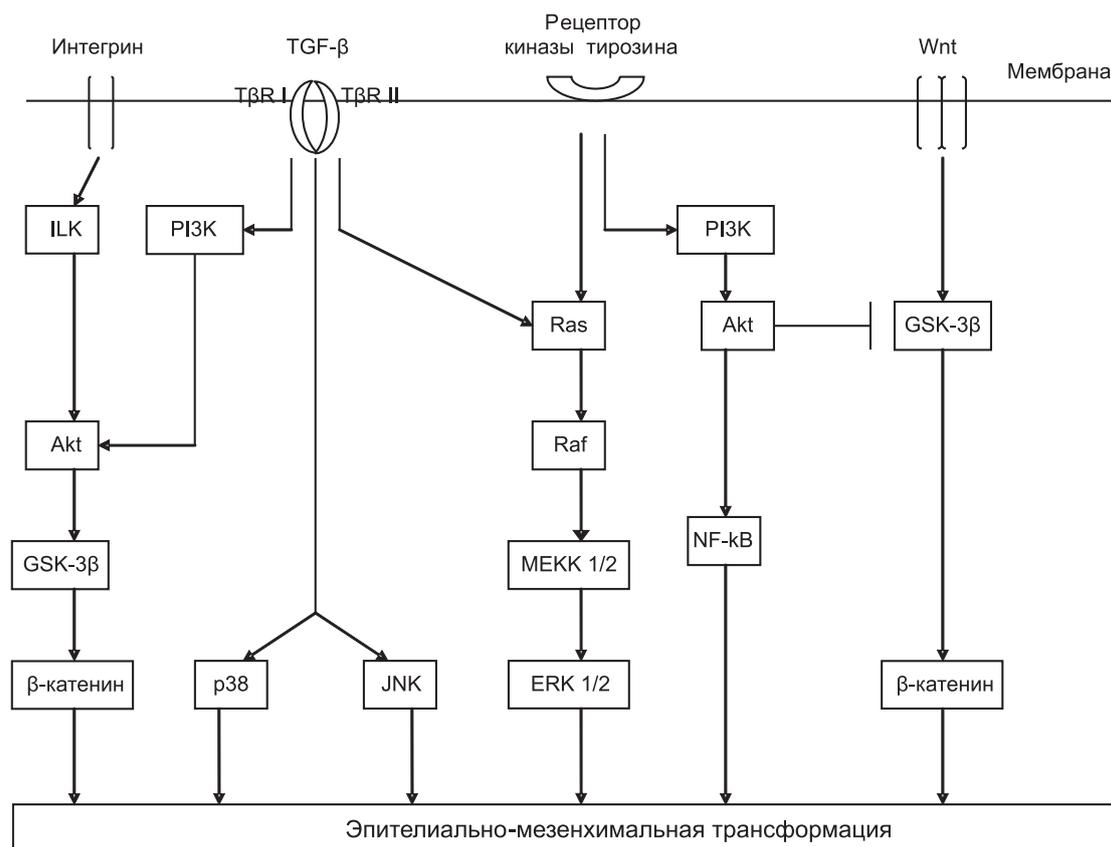


Рис. 2. Основные сигнальные пути, участвующие в эпителиально-мезенхимальной трансформации [43].

TGF- $\beta$  в дополнение к TGF- $\beta$ /Smad 2/3-сигнальному пути может участвовать в процессах ЭМТ, активируя Smad-независимые сигнальные пути TGF- $\beta$ /PI3K/Akt, TGF- $\beta$ /p38 TGF- $\beta$ /JNK и TGF- $\beta$ /ERK. Сигнальный каскад Ras/Raf/MEKK/ERK, запускаемый при возбуждении рецепторов киназы тирозина, является главным сигнальным путем, опосредующим профибротический эффект эпидермального и некоторых других факторов роста. Akt (протеинкиназа В альфа) – ключевой фермент пути PI3K/Akt; PI3K – фосфоинозитин 3-ОН киназа; ILK – интегринсвязанная киназа; GSK-3 $\beta$  – киназа 3 $\beta$  синтазы гликогена; TGF- $\beta$  – трансформирующий фактор роста- $\beta$ ; T $\beta$ R I, II – рецепторы TGF- $\beta$ ; p38 – p38 MAP-киназа; JNK – MAP-киназа, фосфорилирующая N-концевой фрагмент ядерного транскрипционного фактора c-Jun; Ras – ГТФ-аза, активирующая киназу киназы MAPK/ERK (MEKK), компонентами которой являются белки семейства Raf; ERK – внеклеточная сигнал-регулирующая киназа; NF- $\kappa$ B – ядерный транскрипционный фактор  $\kappa$ B; Wnt – семейство сигнальных Wnt-белков;  $\beta$ -катенин – эффекторная киназа, необходимая для запуска в ядре клетки программы ЭМТ.

отщеплению ножек отростков подоцитов от ГБМ [29]. В эти процессы вовлекается также CTGF, экспрессия которого в подоцитах резко возрастает как у пациентов с гипертензивным гломерулосклерозом [46], так и в экспериментальных условиях в ответ на возбуждение AT $_1$ -рецепторов Анг II [7] или стимуляцию TGF- $\beta$ /Smad 2-сигнального пути [47]. Продуцируемый подоцитами CTGF аутокринным способом возбуждает специфические рецепторы мембран и активирует внутриклеточные каскады, включающие Fас (киназа фокальной адгезии) и ERK (внутриклеточная сигнал-регулирующая киназа), которые ведут к экспрессии связанных с цитоскелетом молекул (подокаликсин, синаптоподин, актинин-4) и стимулируют синтез белков ГБМ и внеклеточного матрикса (фибронектин, коллагены I, II и IV типа) [48].

В результате ЭМТ-подобных сдвигов подоциты подвергаются дедифференцировке, теряя нормаль-

ную структуру цитоскелета, полярность, межклеточные контакты, адгезивные связи с ГБМ, что, в конечном итоге, ведет к нарушению их функции, повышению подвижности, отщеплению ножек отростков от ГБМ и гибели подоцитов [49].

**Аноннос.** Программируемая смерть подоцитов, вызывающая их выпадение из структуры гломерулярного фильтра, является еще одной характерной чертой гипертензивного гломерулосклероза [50]. Избыточное механическое напряжение индуцирует в мембране подоцитов AT $_1$ - и TGF- $\beta$ -рецепторы и активирует проапоптозные сигнальные пути, которые запускают «митохондриальную» программу апоптоза, заканчивающуюся активацией протеолитического каспазного каскада и последующей гибелью клеток [16, 29].

Анг II, выделяющийся из подоцитов, может включать, по крайней мере, два таких сигнальных пути, связанных с различными эффекторными

молекулами (рис. 3). Один из них в качестве такой молекулы имеет ядерный белок p53, который является транскрипционным фактором, регулирующим клеточный цикл. Ряд данных свидетельствует о том, что Анг II индуцирует в подоцитах синтез c-Abl, нерецепторной киназы тирозина, обладающей проапоптозным свойством, и, образуя в ядре клеток активный комплекс c-Abl-p53, запускает процессы их апоптоза [51]. Другой проапоптозный путь связан с экспрессией в подоцитах под влиянием Анг II белка IQGAP1, который, модулируя активность RasГТФ-азы, переключает Ras/ERK 1/2-сигнальный путь на процессы клеточного апоптоза [52].

TGF-β инициирует апоптоз подоцитов в концентрациях, которые значительно превышают концентрации, вызывающие ЭМТ-подобные изменения этих клеток. В реализацию его проапоптозного эффекта вовлекаются внутриклеточные сигнальные пути, среди которых наиболее изучен TGF-β/Smad 2/3/Nox 4-сигнальный путь. В классическом варианте возбуждение TGF-β-рецепторов сопровождается фосфорилированием белков Smad 2/3, которые, образуя комплекс со Smad 4, поступают в ядро клетки, где стимули-

руют транскрипцию гена, кодирующего мРНК митохондриальной НАДФ(Н)-оксидазы 4 [53]. Дополнительно в этот процесс может включаться ERK 1/2-сигнальный путь, который заканчивается индукцией mTORC1 – сигнальной молекулы, ускоряющей процессы трансляции и синтеза самого белка-фермента [54]. В конечном итоге, локальный оксидативный стресс, возникающий в митохондриях под влиянием избыточной активности НАДФ(Н)-оксидазы 4, запускает программу апоптоза и вызывает гибель подоцитов.

Причиной апоптоза подоцитов, индуцируемого TGF-β, могут быть и функциональные дефекты некоторых белков, которые участвуют в сигнальных путях, регулирующих процессы естественного роста, дифференцировки и выживания клеток. Один из таких патологических путей связан с супрессией CD2AP, который выполняет в подоцитах не только функцию адгезивного белка межклеточных контактов, но и адаптерной молекулы, контролирующей TGF-β/PI3K/Akt- и TGF-β/ ERK 1/2-сигнальные каскады, участвующие в процессах выживания клеток. Повреждение гена CD2AP или нарушение его транскрипции переключает TGF-β на патоло-

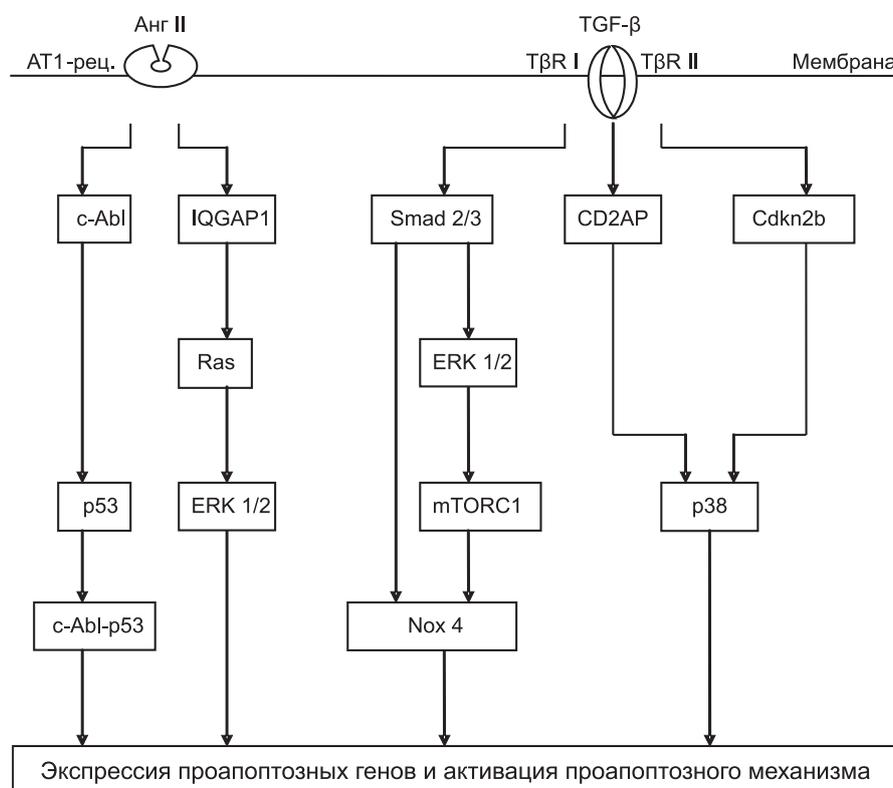


Рис. 3. Сигнальные пути апоптоза подоцитов, индуцируемые ангиотензином II и трансформирующим фактором роста-β. Анг II – ангиотензин II; TGF-β – трансформирующий фактор роста-β; TβR I,II – рецепторы TGF-β; c-Abl – нерецепторная киназа тирозина c-Abl; p53 – транскрипционный фактор, регулирующий клеточный цикл; IQGAP1 – белок 1, активирующий RasГТФ-азу; Ras – ГТФ-аза, активирующая киназу киназы MAPK/ERK; ERK – внеклеточная сигнал-регулирующая киназа; Smad 2/3 – белки семейства Smad; mTORC1 – рапамициновый комплекс 1, регулятор трансляции мРНК; Nox 4 – митохондриальная НАДФ(Н)-оксидаза 4; CD2AP – адаптерный белок; Cdkn2b – ингибитор циклинзависимой протеинкиназы p15; p38 – p38 MAP-киназа.

гический сигнальный путь, который заканчивается активацией проапоптозной p38 MAP-киназы и гибелью подоцитов [55]. В эти патологические процессы включается также белок Cdkn2b (ингибитор циклинзависимой киназы p15), который является компонентом TGF- $\beta$ /Smad 3/Cdkn2b-сигнального пути, участвующего в физиологической остановке роста и дифференцировке подоцитов. Избыточная аутокринная стимуляция TGF- $\beta$ -рецепторов подоцитов вызывает супрессию этой сигнальной молекулы, которая также сопровождается индукцией проапоптозного сигнального пути, связанного с селективной активацией p38 MAPK-киназного пути [56] (см. рис. 3). Может ли TGF- $\beta$ -сигнальный путь, активирующийся при супрессии белка CD2AP, включаться в процессы апоптоза, индуцируемого механическим повреждением подоцитов, остается неясным, хотя имеются данные о том, что механический стресс подавляет в этих клетках синтез p-кадгерина, нефрина и некоторых других белков щелевых диафрагм [23, 45].

#### **Молекулярные механизмы повреждения мезангиальных клеток**

Гипертензивный гломерулосклероз тесно связан с пролиферацией мезангиальных клеток клубочков и превращением их в клетки профибротического фенотипа, которые продуцируют избыточное количество белков мезангиального матрикса. В формировании этих эффектов участвуют Анг II, выделяемый подоцитами [18], активация локальной РАС мезангиальных клеток [57], а также экспрессия TGF- $\beta$ -рецепторов и стимуляция TGF- $\beta$ -сигнальных путей, возникающие при их механическом повреждении [31–33].

**Активация тканевой ренин-ангиотензиновой системы.** Анг II, продуцируемый подоцитами и мезангиальными клетками, действует как профибротический цитокин, который индуцирует в мезангиальных клетках сигнальные пути, способствующие склеротическому и воспалительному повреждению клубочков. Ключевую роль среди них играют, по видимому, сигнальные каскады, начинающиеся с возбуждения клеточных AT<sub>1</sub>-рецепторов, которые активируют затем патологические сигнальные пути, ведущие, с одной стороны, к активации митохондриальной НАДФ(Н)-оксидазы 4 и стимуляции редокс-чувствительных ERK 1/2-киназы и Akt-киназы, связанных с синтезом фибронектина и других белков мезангиального матрикса [58, 59], а с другой – к увеличению редокс-зависимой продукции MCP-1 (моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1), TNF- $\alpha$  (фактор некроза опухоли- $\alpha$ ),

IL-18 и IL-6, индуцирующих воспалительные процессы в мезангиальной ткани [60, 61].

#### **Активация TGF- $\beta$ -сигнальных путей**

В гломерулярных мезангиальных клетках Анг II не только стимулирует синтез и выделение TGF- $\beta$ , но и переводит его с помощью TSP-1 (тромбоспондин-1) в активную форму [62], которая, взаимодействуя с серин/треониновыми рецепторами, запускает сигнальные пути, индуцирующие аккумуляцию мезангиального матрикса. В реализации этого профибротического эффекта участвует несколько внутриклеточных каскадов. Прежде всего, это касается классического TGF- $\beta$ /Smad 2/3-сигнального пути, который, как полагают, занимает центральное место в фиброгенезе мезангиальных клеток, продуцирующих избыточное количество фибронектина, коллагена I типа и других матриксных белков [63]. В профибротические изменения этих клеток включается также альтернативный TGF- $\beta$ /PI3K/Akt-сигнальный каскад, заканчивающийся активацией ядерного фактора SREBP-1, который не только контролирует транскрипцию генов фибронектина и коллагена IV типа, но и является кофактором, необходимым для стимуляции Smad 3 синтеза белков мезангиального матрикса [64]. В накоплении мезангиального матрикса участвует также CTGF, продукция которого мезангиальными клетками резко возрастает в ответ на активацию TGF- $\beta$ /Pak 1 (серин/треониновая киназа Pak 1)/Smad 3-сигнального каскада и TGF- $\beta$ /Pak 1/Rho A/Rho-kinase/Raf/MEK/ERK-сигнального пути, индуцирующего одновременно перестройку их актинового цитоскелета [31].

#### **Заключение**

Гломерулярная гипертензия, вызывающая механическое повреждение подоцитов и мезангиальных клеток, лежит в основе развития и прогрессирования вторичного фокально-сегментарного гломерулосклероза у пациентов с эссенциальной и нефрогенной АГ. Механическое напряжение активирует в подоцитах локальную РАС и увеличивает выделение Анг II, который аутокринным и паракринным способом возбуждает AT<sub>1</sub>-рецепторы и запускает сигнальные каскады, ведущие, в конечном итоге, к ЭМТ-подобным фенотипическим изменениям и апоптозу подоцитов и профибротическому перерождению мезангиальных клеток. Ключевую роль в этих процессах играет TGF- $\beta$ , который активирует сигнальные пути, опосредующие большинство патологических эффектов, возникающих в этих клетках при механическом повреждении и возбуждении AT<sub>1</sub>-рецепторов их клеточных мембран. В низких

концентрациях TGF- $\beta$  индуцирует в подоцитах Smad 2/3-зависимые и другие внутриклеточные каскады, которые вызывают ЭМТ-подобные изменения и дифференцировку клеток, а в высоких концентрациях совместно с Анг II активирует сигнальные пути, ведущие к апоптозу и потере подоцитов в структуре гломерулярного фильтра. В мезангиальных клетках клубочков Анг II и TGF- $\beta$  запускают сигнальные пути, которые вызывают избыточную аккумуляцию мезангиального матрикса и стимулируют продукцию MCP-1, TNF- $\alpha$ , IL-18 и IL-6, индуцирующих воспаление мезангиальной ткани.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Palatini P, Dorigatti F, Saladini F et al. Factors associated with glomerular hyperfiltration in the early stage of hypertension. *Am J Hypertens* 2012; 25 (9): 1011-1016
- Hills GS, Heudes D, Jacguort C et al. Morphometric evidence for impaired of renal autoregulation in advanced essential hypertension. *Kidney Int* 2006; 69 (5): 823-831
- Helal I, Fick-Brosnohan GM, Reed-Gitomer B, Schrier RW. Glomerular hyperfiltration, definitions, mechanisms and clinical implications. *Nat Rev Nephrol* 2012; 8 (5): 293-300
- Calstrom M, Wilcox CS, Arendshorst WJ. Renal autoregulation in health and disease. *Physiol Rev* 2015; 95 (2): 405-511
- Loutzenhiser R, Griffin K, Williamson J, Bidani A. Renal autoregulation: new perspectives regarding the prospective and regulatory roles of the underlying mechanisms. *Am J Physiol Regul* 2006; 290 (5): R1153-R1167
- Friedrich C, Endlich N, Kriz W, Endlich K. Podocytes are sensitive to fluid shear stress in vitro. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 291 (4): F856-F865
- Wang G, Lai F, Ching-Ha Kwan et al. Podocyte loss in human hypertensive nephrosclerosis. *Am J Hypertens* 2009; 22 (3): 300-306
- Ruster C, Wolf G. Angiotensin II as a morphogenic cytokine stimulating renal fibrogenesis. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22 (7): 1189-1199
- Navar LG. Intrarenal renin-angiotensin system in regulation of glomerular function. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2014; 23 (1): 38-45
- Velez JC, Ierardi JL, Bland AM et al. Enzymatic processing of angiotensin peptides by human glomerular endothelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012; 302 (12): F1583-F1594
- Velez JC, Bland AM, Arthur JM et al. Characterization of renin-angiotensin system enzyme activities in cultured mouse podocytes. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293 (2): F398-F407
- Кузьмин ОБ, Бучнева НВ, Пугаева МО. Почечные гемодинамические механизмы формирования гипертонической нефропатии. *Нефрология* 2009; 13 (4): 28-36 [Kuz'min OB, Buchneva NV, Pugaeva MO. Pochechnye gemodinamicheskie mekhanizmy formirovaniya gipertonicheskoj nefropatii. *Nefrologiya* 2009; 13 (4): 28-36]
- Liebau MC, Lang D, Bohm J et al. Functional expression of the renin-angiotensin system in human podocytes. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290 (3): F710-F719
- Harrison-Bernard L, Chappell MC. Introducing the glomerular RAS: one peptidase at a time. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012; 303 (3): F373-F374
- Da Silveira KD, Pompermauer KS, Lucio RL et al. ACE 2-angiotensin-(1-7)-Mas axis in renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Clinical Science* 2010; 119 (9): 385-394
- Durvasula RV, Petermann AT, Hiromura K et al. Activation of a local tissue angiotensin system in podocytes by mechanical strain. *Kidney Int* 2004; 65 (1): 30-39
- Durvasula RV, Shankland SJ. The renin-angiotensin system in glomerular podocytes: mediator of glomerulosclerosis and link to hypertensive nephropathy. *Curr Hypertens Rep* 2006; 8 (2): 132-138
- Obata J, Nakamura T, Takano H et al. Increased gene expression of components of the renin-angiotensin system in glomeruli of genetically hypertensive rats. *J Hypertens* 2000; 18 (9): 1247-1255
- Navar LG, Harrison-Bernard LM, Nishiyama A, Kobori H. Regulation of intrarenal angiotensin II in hypertension. *Hypertension* 2002; 39 (2): 316-322
- Hsu HH, Hoffmann S, Endlich N et al. Mechanisms of angiotensin II signaling on cytoskeleton of podocytes. *J Mol Med (Berl)* 2008; 86 (12): 1379-1394
- Miceli I, Burt D, Tarabra E et al. Stretch reduces nephrin expression via an angiotensin II-AT(I)-dependent mechanism in human podocytes: effect of rosiglitazone. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 298 (2): F381-F390
- Kriz W, Lemley KV. A potential role for mechanical forces in the detachment of podocytes and the progression of CKD. *J Am Soc Nephrol* 2015; 26 (2): 258-269
- Li Y, Kang YS, Dai C et al. Epithelial-to-mesenchymal transition is a potential pathway leading to podocyte dysfunction and proteinuria. *Am J Pathol* 2008; 172 (2): 299-308
- Chen X, Ren Z, Liang W et al. C-Abl mediates angiotensin II-induced apoptosis in podocytes. *J Mol Histol* 2013; 44 (5): 597-608
- Zhang C, Xia M, Boini KM et al. Epithelial-to-mesenchymal transition in podocytes mediated by activation of NADPH oxidase in hyperhomocysteinemia. *Pflugers Arch* 2011; 462 (3): 455-467.
- Chen S, Meng XF, Zhang C. Role of NADPH oxidase-mediated reactive oxygen species in podocyte injury. *Biomed Res Int* 2013; 839761
- Abais JM, Zhang C, Xia M et al. NADPH oxidase-mediated triggering of inflammasome activation in mouse podocytes and glomeruli during hyperhomocysteinemia. *Antioxid Redox Signal* 2013; 18 (13): 1537-1548
- Liy Y, Hitomi H, Diah S et al. Roles of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger type 1 and intracellular pH in angiotensin II-induced reactive oxygen species generation and podocyte apoptosis. *J Pharmacol Sci* 2013; 122 (3): 176-183
- Dessapt C, Baradez MO, Hayward A et al. Mechanical forces and TGF- $\beta$ 1 reduce podocytes adhesion through alpha3beta1 down regulation. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24 (9): 2645-2655
- Riser BL, Cortes P, Yee J. Modelling the effects of vascular stress in mesangial cells. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2000; 9 (1): 43-47
- Chen G, Chen X, Sukumar A et al. TGF- $\beta$  receptor I transactivation mediates stretch-induced Pak1 activation and CTGF upregulation in mesangial cells. *J Cell Sci* 2013; 126 (Pt 16): 3697-3712
- Zheng B, Peng F, Wu D et al. Caveolin-1 phosphorylation is required for stretch-induced EGFR and Ekt activation in mesangial cells. *Cell Signal* 2007; 19 (8): 1690-1700
- Giunti S, Pinach S, Arnoldi L et al. The MCP-1/CCR2 system has direct proinflammatory effects in human mesangial cells. *Kidney Int* 2006; 69 (5): 856-863
- Kang YS, Li Y, Dai C et al. Inhibition of integrin-linked kinase blocks podocyte epithelial-mesenchymal transition and ameliorates proteinuria. *Kidney Int* 2010; 78 (4): 363-373
- Wang D, Dai C, Li Y, Liu Y. Canonical Wnt/ $\beta$ -catenin signaling mediates transforming growth factor- $\beta$ 1-driven podocyte injury and proteinuria. *Kidney Int* 2011; 80 (11): 1159-1169
- Das R, Xu S, Quan X et al. Upregulation of mitochondrial Nox4 mediates TGF- $\beta$ -induced apoptosis in cultured mouse podocytes. *Am J Physiol Renal Physiol* 2014; 306 (2): F155-F167
- Yao M, Wang X, Zhong T et al. The Notch pathway mediates the angiotensin II-induced synthesis of extracellular matrix components in podocytes. *Int J Mol Med* 2015; 36 (1): 294-300
- Zhou Y, Poczatek MH, Berecek KH, Murphy-Ullrich JE. Trombospondin 1 mediates angiotensin II induction of TGF-beta activation by cardiac and renal cells under both high and low glucose conditions. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 339 (2): 633-641
- Lee HS. Mechanisms and consequences of TGF- $\beta$  over-

expression in podocytes in progressive podocyte disease. *Cell Tissue Res* 2012; 347 (1): 129-140

40. Jiang F, Liu GS, Dusting GJ, Chan EC. NADPH oxidase-dependent redox signaling in the TGF- $\beta$ -mediated fibrotic responses. *Redox Biol* 2014; 2: 267-272

41. Галишон П, Гертиг А. Эпителиально-мезенхимальная трансформация как биомаркер почечного фиброза: готовы ли мы применить теоретические знания на практике? *Нефрология* 2013; 17 (4): 9-16. [Galishon P, Gertig A. Jepitelialno-mezenchimalnaya transformaciya kak biomarker pochechnogo fibroza: gotovy li my primenit teoreticheskie znanija na praktike. *Nefrologia* 2013; 17 (4): 9-16]

42. Kim MK, Maeng YI, Sung WJ et al. The differential expression of TGF- $\beta$ 1, ILK and Wnt signaling including epithelial to mesenchymal transition in human renal fibrogenesis: an immunohistochemical study. *Int J Clin Exp Pathol* 2013; 6 (9): 1747-1758

43. Lamouille S, Jian X, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15 (3): 178-196

44. Liu Y. New insights into epithelial- mesenchymal transition in kidney fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21 (2): 212-222

45. Herman-Edelstein M, Thomas MC, Thallas-Bonke V et al. Differentiation of immortalized human podocytes in response to transforming growth factor- $\beta$ : a model for diabetic podocytopathy. *Diabetes* 2011; 60 (6): 1779-1788

46. Ito Y, Aten F, Nguyen TQ et al. Involvement of connective tissue growth factor in human and experimental hypertensive nephrosclerosis. *Nephron Exp Nephrol* 2011; 117 (1): e9-20

47. Huang HC, Liang Y, Cheng LG. Transforming growth factor beta 1 modulates connective tissue growth factor expression via Smad 2 signaling pathway in podocyte in vitro. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2004; 84 (7): 574-577

48. Fuchshofer R, Ullmann S, Zeilbeck LF et al. Connective tissue growth factor modulates actin cytoskeleton and extracellular matrix synthesis and is induced in podocytes upon injury. *Histochem Cell Biol* 2011; 136 (3): 301-319

49. May CJ, Saleem M, Welsh GI. Podocyte dedifferentiation: a specialized process for a specialized cell. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2014; 5: 148

50. Wang G, Lai FM, Kwan BC et al. Podocyte loss in human hypertensive nephrosclerosis. *Am J Hypertens* 2009; 22 (3): 300-306

51. Chen X, Ren Z, Liang W et al. c-Abl mediates angiotensin II-induced apoptosis in podocytes. *J Mol Histol* 2013; 44 (5): 597-608

52. Liu Y, Liang W, Yang Q et al. IQGAP1 mediates angiotensin II-induced apoptosis of podocytes via ERK 1/2 signaling pathway. *Am J Nephrol* 2013; 38 (5): 430-444

53. Das R, Xu S, Qwan X et al. Upregulation of mitochondrial Nox 4 mediates TGF- $\beta$ -induced apoptosis in cultured mouse podocytes. *Am J Physiol Renal Physiol* 2014; 306 (2): F155-F167

54. Das R, Xu S, Nguyen TT et al. Transforming growth factor- $\beta$ 1-induced apoptosis in podocytes via extracellular-signal-regulated kinase – mammalian target of Rapamycin complex 1-NADPHoxidase 4 axis. *J Biol Chem* 2015; 290 (52): 30830-30842

55. Schiffer M, Mundel P, Shaw AS et al. A novel role for the adaptor molecule CD2-associated protein in transforming growth factor- $\beta$ -induced apoptosis. *J Biol Chem* 2004; 279 (35): 37004-37012

56. Wu DT, Bitzer V, Ju W et al. TGF- $\beta$  concentration specifies differential signaling profiles of growth/arrest/differentiation and apoptosis in podocytes. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16 (11): 3211-3221

57. Becker BN, Yasuda T, Kondo S et al. Mechanical stretch/relaxation stimulates a cellular renin-angiotensin system in cultured rat mesangial cells. *Exp Nephrol* 1998; 6 (1): 57-66

58. Gorin Y, Ricono JM, Wagner B et al. Angiotensin II-induced ERK1/ERK2 activation and protein synthesis are redox-dependent in glomerular mesangial cells. *Biochem J* 2004; 381 (Pt 1): 231-239

59. Block K, Ricono JM, Lee DY et al. Arachidonic acid-dependent activation of a p22(phox)-based NADPH oxidase mediates angiotensin II-induced mesangial protein synthesis and fibronectin expression via Akt/PKB. *Antioxid Redox Signal* 2006; 8 (9-10): 1497-1508

60. Zhang F, Sun D, Chen J et al. Simvastatin attenuates angiotensin II-induced inflammation and oxidative stress in human mesangial cells. *Mol Med Rep* 2015; 11 (2): 1246-1251

61. Ding K, Wang Y, Jang W et al. Qian-Yang Yu Jin Granule-containing serum inhibits angiotensin II-induced proliferation, reactive oxygen species production and inflammation in human mesangial cells via an NADPH oxidase 4-dependent pathway. *BMC Complement Altern Med* 2015; 15: 81

62. Naito T, Masaki T, Nikolic-Paterson DJ et al. Angiotensin II-induced thrombospondin-1 production in human mesangial cells via p38 MAPK and JNK: a mechanism for activation of latent of TGF- $\beta$ 1. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286 (2): F278-F287

63. Schnaper HW, Hayashida T, Hubchak ST, Poncelet AC. TGF- $\beta$ -signal transduction and mesangial cell fibrogenesis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 284 (2): F243-F252

64. Chen G, Wang T, Uttarwar R et al. SREBP-1 is a novel mediator TGF- $\beta$ 1 signaling in mesangial cells. *J Mol Cell Biol* 2014; 6 (6): 516-530

#### Сведения об авторах:

Проф. Кузьмин Олег Борисович

Россия, 460000, Оренбург, Парковый пр., д. 7. Оренбургский государственный медицинский университет, кафедра фармакологии. Тел.: (3532) 774-966; E-mail kuzmin.orgma@mail.ru

Prof. Oleg B. Kuzmin MD, PhD, DMedSci

Affiliations: Russia, 460000, Orenburg, Park st., 7. Orenburg State Medical University Department of Pharmacology. Phone (3532) 774966; E-mail kuzmin.orgma@mail.ru

Жежа Владислав Викторович

Россия, 460000, Оренбург, Парковый пр., д. 7. Оренбургский государственный медицинский университет, кафедра фармакологии, кандидат медицинских наук. Тел.: (3532) 774-966; E-mail: zhezha56@mail.ru

Vladislav V. Zhezha

Affiliations: Russia, 460000, Orenburg, Park st., 7. Orenburg State Medical University Department of Pharmacology. Phone (3532) 774966; E-mail: zhezha56@mail.ru

Беянин Виталий Васильевич

Россия, 460000, Оренбург, Парковый пр., д. 7. Оренбургский государственный медицинский университет, кафедра фармакологии, кандидат медицинских наук. Тел.: (3532) 774-966; E-mail: vitbelya@yandex.ru

Vitaly V. Belyanin

Affiliations: Russia, 460000, Orenburg, Park st., 7. Orenburg State Medical University Department of Pharmacology. Phone (3532) 774966; E-mail: vitbelya@yandex.ru

Ландарь Лариса Николаевна

Россия, 460000, Оренбург, Парковый пр., д. 7. Оренбургский государственный медицинский университет, кафедра фармакологии. Тел.: (3532) 774-966; E-mail: landar@mail.ru

Larisa N. Landar

Affiliations: Russia, 460000, Orenburg, Park st., 7. Orenburg State Medical University Department of Pharmacology. Phone (3532) 774966; E-mail: landar@mail.ru

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

Поступила в редакцию: 17.02.2016 г.

Принята в печать: 12.05.2016 г.