

arthritis. Clin Immunol 1999; 92: 153–160.

143. *Wakblu A, Krisnani N, Hissaria P, Aggarwal A, Misra R.* Prevalence of secondary amyloidosis in Asian North Indian patients with rheumatoid arthritis. Journal of Rheumatology 2003; 30 (5): 948–951.

144. *Weinstein P.S., Skinner M, Sipe J.D.* et al. Acute phase proteins or tumor markers: the role of SAA, SAP, CRP and CEA as indicators of metastasis in a broad spectrum of neoplastic diseases. Scandinavian Journal of Immunology 1984; 19: 193–198.

145. *Westermarck P., Sletten K., Westermarck G.T., Raynes J., McAdam K.P.* A protein AA-variant derived from a novel serum AA protein, SAA1, in an individual from Papua New Guinea. Biochem Biophys Res Commun 1996; 223: 320–323.

146. *Williams R.O., Feldmann M., Maini R.N.* Anti-tumor necrosis factor ameliorates joint disease in murine collagen-induced arthritis. Proc Natl Acad Sci USA 1992; 89: 9784–9788.

147. *Wood N.C., Dickens E., Symons J.A., Duff G.W.* In situ hybridization of interleukin-1 in CD14-positive cells in rheumatoid arthritis. Clin Immunol Immunopathol 1992; 62: 295–300.

148. *Wordsworth B.P., Lancbbury J.S., Sakkas L.I., Welsb K.I.* et al. HLA-DR4 subtype frequencies in rheumatoid arthritis indicate that DRB1 is the major susceptibility locus within the HLA class II region. Proc Natl Acad Sci USA 1989; 86: 10 049–10 053.

149. *Yamada T., Kluwe-Beckerman B., Liepnieks J.J., Benson M.D.* In vivo degradation of serum amyloid A by cathepsin D and other acid proteases: possible protection against fibril formation. Scandinavian Journal of Immunology 1995; 41: 570–574.

150. *Yamanishi Y., Firestein G.S.* Pathogenesis of rheumatoid arthritis. The role of synoviocytes. Rheumatic Diseases Clinics of North America 2001; 27: 2.

151. *Young A.* et al. Brit J Rheumat 1993; 32: 717–723.

152. *Zhang Z., Bridges S.L.* Pathogenesis of rheumatoid arthritis. The role of B-lymphocytes. Rheumatic Diseases Clinics of North America 2001; 27: 2.

Молекулярные механизмы интерстициального фиброза при прогрессирующих заболеваниях почек (Обзор литературы)

Н.В. Чеботарева, И.Н. Бобкова, Л.В. Козловская
Отдел нефрологии НИЦ ММА им. И.М. Сеченова, г. Москва

Molecular mechanisms of interstitial fibrosis in the progression of renal diseases *Review*

N.V. Tchebotareva, I.N. Bobkova, L.V. Kozlovskaja

Ключевые слова: хронический гломерулонефрит, интерстициальный фиброз, мочевые показатели, моноцитарный хемотаксический протеин-1 (MCP-1), трансформирующий фактор роста-β₁ (TGF-β₁).

Прогрессирование хронических заболеваний почек с нарастанием почечной недостаточности, требующей заместительной почечной терапии на терминальной стадии, является одной из основных проблем в теоретической и практической нефрологии. Широкое изучение

иммуновоспалительных механизмов поражения почек, в частности большого спектра провоспалительных и профиброгенных молекулярных медиаторов тканевого повреждения, позволило более детально представить значение процессов клеточной пролиферации, на-

Телефон: 248-61-64. Чеботарева Наталья Викторовна

копления и расщепления экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) в развитии фиброзно-склеротических изменений почечной ткани, особенно быстром при несостоятельности механизмов самозащиты почки (ингибиторов цитокинов, антиоксидантов, белков теплового шока и др.).

Важным итогом этих исследований стало выявление общности многих из названных механизмов повреждения клубочков и интерстиция почек при прогрессирующих нефропатиях. Более того, в последние десятилетия получено подтверждение первостепенного значения тубулоинтерстициального фиброза (ТИФ) как патоморфологической основы прогрессирования почечной недостаточности и роли протеинурии в развитии ТИФ [19, 46, 57, 62, 66].

Механизмы ремоделирования тубулоинтерстиция

Предположение о том, что снижение почечной функции более тесно коррелирует с расширением интерстициального пространства, чем со степенью повреждения клубочков, было высказано R.A. Risdon еще в 1968 г. и L. Schainuk в 1970 г. [62, 66]. Но только начиная с основополагающих экспериментальных работ N. Marcussen (1990), применившего метод серийного секционного изучения почечной ткани на различных моделях ТИФ, была показана прямая корреляция между снижением скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и числом атубулярных клубочков и клубочков, связанных с остатками канальцев [48, 49].

С помощью многофакторного анализа было показано, что наиболее значимыми факторами неблагоприятного прогноза у пациентов с различными формами гломерулонефрита (ГН) являются тубулоинтерстициальные изменения [89].

В последние годы также было установлено, что потеря почечной функции возможна и при достаточной перфузии в клубочках, когда часть их поверхности сохраняет фильтрационную способность или когда гипертрофия остаточных нефронов компенсирует редукцию СКФ, что в первую очередь наблюдается при протеинурических формах прогрессирующих поражений почек с вторичным повреждением канальцев [14].

Установлено, что любое повреждение (иммунные комплексы, токсины, гипоксия, механическое воздействие и т. д.) клеток паренхимы почек приводит к продукции ими медиаторов воспаления (провоспалительных цитокинов и факторов роста), которые обеспечивают приток лейкоцитов и моноцитов в область повреждения и формирование воспалительного инфильтрата [10].

Провоспалительные медиаторы, образующиеся в гломерулах, могут проникать в перитубулярную микроциркуляцию и активировать эндотелиальные клетки, а затем и тубулярные эпителиальные клетки [7]. Провоспалительный гломерулярный ультрафильтрат в некоторых случаях может попадать непосредственно из клубочка в интерстиций через разрывы боуменовской капсулы и вызывать перигломерулярное интерстициальное воспаление и фиброз [43]. Указанные механизмы способствуют распространению процесса воспаления из клубочков в интерстиций, являясь неблагоприятным

фактором дальнейшего прогрессирования заболевания.

Показано, что при различных формах ГН выраженность интерстициальной инфильтрации коррелирует со степенью ухудшения функции почек [8]. Интерстициальный инфильтрат обнаруживают при всех формах первичных и вторичных гломерулярных заболеваний, включая первичный ГН, системные васкулиты, хроническую ишемическую нефропатию, острое отторжение почечного трансплантата [74]. Инфильтрат состоит, главным образом, из моноцитов/макрофагов и лимфоцитов, в частности Т-лимфоцитов [52]. В очаге воспаления макрофаги являются ключевыми клетками дальнейшего повреждения через генерацию большого количества кислородных радикалов и липидных медиаторов, вызывающих локальное повреждение, главным образом благодаря тому, что служат источником цитокинов и факторов роста: интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β), фактора некроза опухоли- α (ФНО- α), трансформирующего фактора роста- β (TGF- β), фактора роста фибробластов (ФРФ), эпителиального фактора роста (ЭФР) и тромбоцитарного фактора роста (ТцФР) [29, 71].

Лишь небольшое количество макрофагов в интерстициальном инфильтрате может происходить из резидентных макрофагов вследствие их пролиферации *in situ*, подавляющее же большинство клеток мигрирует в интерстициальное пространство из перитубулярных капилляров. При этом эндотелий перитубулярных капилляров играет важную роль в процессе формирования интерстициального инфильтрата [74].

Важную патогенетическую роль в процессе формирования интерстициального фиброза играют тубулярные эпителиальные клетки (ТЭК). ТЭК подвергаются воздействию многих факторов, например факторов первичного повреждения (гипоксии) или вторичных повреждающих факторов, происходящих из гломерулярного ультрафильтрата (факторы протеинурии, компоненты активированного комплемента, хемокины и цитокины, высвобождающиеся из клеток воспаления в клубочках, липиды) [74]. Однако высокая протеинурия, часто сопровождающая первичные гломерулярные заболевания, оказывает первостепенное повреждающее воздействие на ТЭК. Среди различных объяснений нефротоксических эффектов протеинурии наиболее признаваемой в настоящее время является гипотеза, согласно которой вызванное компонентами протеинурии экстрагломерулярное повреждение, заканчивающееся ТИФ, реализуется через интерстициальное воспаление. И хотя не все клеточно-молекулярные механизмы его развития ясны, получено достаточное количество экспериментальных и клинических данных, подтверждающих существование прямой связи между протеинурией, интерстициальным воспалением и фиброзом [51].

Многие клинические исследования показали, что у пациентов с высоким уровнем протеинурии независимо от специфической природы почечного заболевания отмечается более быстрое снижение почечной функции [6, 61].

A.B. Magil в 1995 г. впервые выявил связь между уровнем протеинурии и морфологическими признаками тубулоинтерстициального повреждения [47]. В последующих исследованиях у пациентов с различными формами нефрита (IgA-нефропатией, мембранозным и мезангиокапиллярным ГН, ФСГС) была выявлена прямая

корреляция между уровнем протеинурии и выраженностью инфильтрации интерстиция моноцитами и Т-лимфоцитами [25, 89].

Существовало несколько гипотез относительно механизмов повреждения проксимальных канальцев почки, связанных с протеинурией. Т. Bertani с соавт. в 1986 г. предположили, что обструкция канальцев цилиндрами при массивной протеинурии приводит к повреждению канальцев. Ими было показано, что хроническая обструкция проксимальных канальцев белковыми цилиндрами приводит к атрофии не только вышележащих, но и расположенных дистально отделов нефрона [16]. В течение многих лет существовала гипотеза избыточной реабсорбции белка ТЭК, которая ведет к изменению функциональных свойств ТЭК и высвобождению лизосомальных ферментов в интерстиций с развитием процесса воспаления [31]. W. Kriz предложил другой механизм образования атубулярных клубочков при гломерулопатиях с высокой протеинурией, заключающийся в аккумуляции плазменных компонентов, которые проникают в перигломерулярную область через места адгезии сосудистого пучка к боуменовой капсуле. Накапливаясь, аморфные массы постепенно приводят к внешнему сдавлению области тубулогломерулярного соединения и образованию атубулярных клубочков [43].

Однако в последние годы наибольшее признание получила теория тубулоинтерстициального воспаления и ишемии, которые развиваются под действием на тубулярный эпителий профильтровавшихся белков и связанных с ними макромолекул [15, 26, 29]. О том, что повышенное количество белка, профильтрованного через гломерулярные капилляры, может обладать «внутренней нефротоксичностью» и способствовать прогрессированию почечной болезни, впервые предложили Т. Bertani и G. Remuzzi в 1986 г. [16].

Среди компонентов протеинурии с нефротоксическим действием в настоящее время считают установленной роль липидов, связанных с альбумином, показана их способность стимулировать образование ТЭК молекул с хемотаксической активностью [70]. Полагают также, что компоненты комплемента, профильтровавшиеся через стенку капилляров в просвет канальцев, вызывают тубулоинтерстициальное повреждение, откладываясь на апикальной поверхности тубулярных клеток [30]. При этом допускают и возможность активации компонентов комплемента C3a и C5a по альтернативному пути уже после фильтрации в мочу при участии тубулярных клеток [17]. Образование на апикальной мембране проксимальных тубулярных клеток мембраноатакующего комплекса C5b-9 сопровождается синтезом провоспалительных цитокинов, таких, как ИЛ-1β и ФНО-α [27].

Обсуждается и «нефротоксическое» действие трансферрина. Как было показано в эксперименте, в ультрафильтрате из трансферрина может высвобождаться железо, которое в кислой реакции мочи является катализатором образования гидроксильных радикалов, вызывающих окислительный стресс с последующим повышением продукции профиброгенных цитокинов [9]. Указанные компоненты протеинурии, действуя на проксимальные тубулярные клетки со стороны апикальной поверхности, вызывают активацию ядерного фактора транскрипции – NFκB. NFκB был идентифицирован в

зрелых Т-лимфоцитах в 1986 г., в настоящее время обнаружен во многих типах клеток, в том числе в тубулярном эпителии. NFκB регулирует экспрессию многих генов, вовлеченных в процесс воспаления, клеточной пролиферации и апоптоза [37, 86]. По современным представлениям димеры NFκB p50-p65 находятся в цитоплазме клеток в неактивной форме, связанной с ингибиторной субъединицей – IκB. Основной путь активации NFκB заключается в фосфорилировании IκB, которая затем подвергается протеолизу и разрушается, основная роль в этом процессе принадлежит белкам внутриклеточной передачи сигнала – комплексу митогенактивированных протеинкиназ (МАРК) [37]. Свободный от ингибирующей частицы димер NFκB транслицируется в ядро, где связывается с промоторами генов-мишеней – адгезивных молекул, цитокинов, хемокинов, факторов роста, ферментов, регуляторов клеточного цикла, белков острой фазы и т. д. Активирующим эффектом на фактор транскрипции обладают провоспалительные цитокины, ангиотензин II, факторы роста, оксиданты, вирусы, липополисахариды бактерий. Помимо основного пути, существуют также альтернативные пути активации NFκB – гипоксия и гипергликемия, сопровождающиеся образованием реактивных кислородных радикалов, ультрафиолетовое излучение, которое разрушает IκB, алкоголь за счет высвобождения фактора некроза опухоли-α (ФНО-α) [86].

Результатом активации NFκB в тубулярных клетках является синтез хемотаксических цитокинов (хемокинов), которые являются главными факторами, обеспечивающими формирование воспалительного инфильтрата в интерстиции, регулирующими основные функции воспалительных клеток (поляризация клеток, «качение», адгезия, трансмиграция через эндотелий), их интеграцию с процессами коагуляции и фиброгенеза (накопление экстрацеллюлярного матрикса), ведущими к интерстициальному фиброзу [84]. Хемокины секретируются через базолатеральные отделы тубулярных клеток, диффундируют в интерстиций, способствуют формированию в нем воспалительного инфильтрата из моноцитов (макрофагов) и лимфоцитов, а также появлению интерстициальных миофибробластов [29, 71].

Роль хемокинов в развитии тубулоинтерстициального фиброза

Хемокины – пептидные молекулы с малой молекулярной массой (8–12 кДа), обладающие свойствами хемотактантов. Установлено также их участие в активации и дегрануляции лейкоцитов, миелопоэзе, ангиогенезе, фиброгенезе. За последние 20 лет с момента открытия первых представителей изучено около 50 хемокинов и 20 связанных с G-белками хемокиновых рецепторов [84]. Согласно современной классификации известные в настоящее время хемокины разделены на 4 подсемейства: СХС, СС, С и СХЗС. У представителей СХС-подсемейства на N-конце молекулы между первым и вторым цистеиновыми остатками расположена одна аминокислота. У СС-подсемейства хемокинов на N-конце молекулы два первых цистеиновых остатка непосредственно связаны друг с другом. Третье (лимфотактин) и четвертое семейства (фракталкин) хемокинов

наименее изучены [3].

В 80-х гг. было показано, что моча больных ГН в отличие от мочи здоровых людей обладает хемотаксическими свойствами: при помещении ее в нижнее отделение камеры Бойдена возникает направленное по градиенту хемотаксических факторов движение отмытых аутологичных лейкоцитов через микропористые фильтры (4,5 мкм) [2]. Авторами этого исследования не было выявлено достоверной прямой корреляции между хемотаксической активностью мочи и величиной протеинурии, что дало им возможность предположить местное (в почках) происхождение хемотаксических факторов мочи.

В последнее время появилась возможность определения в моче и ткани почек больных ГН отдельных хемокинов методом ELISA и иммуногистохимическими методами. Было установлено, что в патогенезе ГН особое место принадлежит моноцитарному хемотаксическому протеину-1 (MCP-1) и RANTES – фактору, регулирующему активацию нормальной Т-клеточной экспрессии и секреции [84].

MCP-1 был впервые идентифицирован как продукт секреции моноцитарных лейкоцитарных клеток, стимулированных липополисахаридом, а также мононуклеарных клеток периферической крови [12]. С помощью метода гибридизации *in situ* биоптатов почек больных ГН было показано, что 57% клеток воспалительного инфильтрата, экспрессирующих рецепторы к MCP-1, являются моноцитами/макрофагами, а 53% макрофагов инфильтрата в свою очередь синтезируют MCP-1 [24]. То есть MCP-1, как представитель CC-семейства хемокинов, является основным хемоаттрактантом для мононуклеарных клеток и играет ключевую роль в формировании инфильтрата в ткани почки [12].

Исследования MCP-1 *in vitro* (в культуре клеток почек)

В опытах *in vitro* было показано, что все резидентные клетки в почке экспрессируют хемокины, в том числе MCP-1, и их рецепторы [12, 71]. Помимо мезангиальных, эндотелиальных, мононуклеарных клеток инфильтрата и подоцитов, клетки тубулярного эпителия экспрессируют MCP-1 и являются, по-видимому, основным его источником в моче [81]. Повышение выработки MCP-1 тубулярными клетками происходит в ответ на компоненты протеинурии [23, 88], а также в ответ на стимуляцию провоспалительными цитокинами, в том числе ИЛ-1 β и ФНО- α [60].

MCP-1 является не только хемоаттрактантом, обеспечивающим миграцию и экстравазацию мононуклеарных клеток в очаг воспаления, но и медиатором воспаления, активируя при этом резидентные клетки. В культуре клеток MCP-1 изменяет фенотип париетальных эпителиальных клеток, мезангиальных клеток клубочка с их активацией, интерстициальных фибробластов с дальнейшим синтезом ими коллагена, а также тубулярных клеток, вызывая их трансдифференциацию в миофибробласты [20]. В опытах *in vitro* [80] установлено, что MCP-1, активируя тубулярные эпителиальные клетки, вызывает повышение секреции ими некоторых провоспалительных цитокинов, например ИЛ-6, а также основного профиброгенного цитокина – TGF- β . Кроме

того, хемокины принимают участие в активации эндотелиальных клеток – стимулируют синтез интегринов (ICAM-1) на их поверхности и обеспечивают прочную адгезию и трансмиграцию лейкоцитов через эндотелий в процессе формирования инфильтрата [41]. Под воздействием MCP-1 происходит также пролиферация гладкомышечных клеток сосудов с секрецией ими провоспалительных цитокинов, способствующих прогрессированию почечного заболевания за счет сосудистого повреждения [81].

Исследования MCP-1 в эксперименте на животных

Увеличение количества MCP-1 в моче выявлено у животных с прогрессирующими почечными заболеваниями, его уровень в моче коррелирует с экскрецией альбумина [73].

MCP-1 играет роль в прогрессировании гломерулярных изменений, что показано на воспалительных [59] и невоспалительных [75] моделях почечного повреждения.

Введение нейтрализующих антител к MCP-1 мышам с экспериментальным нефритом ведет к уменьшению протеинурии, степени инфильтрации клубочков макрофагами, степени гломерулосклероза [83].

С помощью метода гибридизации *in situ* у мышей с экспериментальным полунным нефритом, помимо мРНК MCP-1, было отмечено повышение в клубочках и интерстиции мРНК и другого хемокина – RANTES, что в обоих случаях сопровождалось увеличением количества макрофагов и Т-лимфоцитов в этих структурах почки. Однако нейтрализация именно MCP-1, а не RANTES привела к значительному уменьшению количества полулуний в клубочках и уменьшению отложения коллагена в интерстиции [45].

В последнее время появляется все больше экспериментальных работ, свидетельствующих в пользу того, что MCP-1 вовлечен в прогрессирование ГН главным образом за счет тубулоинтерстициального повреждения.

Так, в эксперименте с нефротоксическим нефритом у мышей «дикого» типа тубулоинтерстициальное повреждение было выражено в большей степени, чем у трансгенных мышей, не способных экспрессировать MCP-1, в то же время не было выявлено различий между ними по степени гломерулярного повреждения [79]. В модели волчаночного нефрита у мышей MRL-Fas lpr с генетическим отсутствием MCP-1 не формировалась перитубулярная (интерстициальная) инфильтрация макрофагами и Т-лимфоцитами и функция почек оставалась сохранной [78].

Исследования MCP-1 при заболеваниях почек у человека

С помощью иммуногистохимических методов и гибридизации *in situ* было показано, что в ткани почки человека MCP-1 экспрессируется тубулярными эпителиальными клетками, мононуклеарными клетками инфильтрата в зонах интерстициального воспаления и эндотелиальными клетками сосудов [82, 93]. В исследовании T. Wada и соавт. у пациентов с волчаночным

нефритом с помощью иммуногистохимического метода не удалось выявить экспрессию MCP-1 клетками клубочка [85]. При нефрите с полулуниями у человека MCP-1 экспрессируется клетками полулуний (клеточных и фиброцеллюлярных): париетальным эпителием, CD68-макрофагами, а также тубулярными клетками и лимфоцитами, инфильтрирующими интерстиций [44].

Имеются лишь единичные клинические работы по изучению экскреции MCP-1 с мочой больных ХГН. В исследованиях Т. Wada и соавт. уровень MCP-1 в моче был выше у пациентов с прогрессирующими заболеваниями почек и коррелировал с клиническими и гистологическими признаками активности нефрита. Так, величина экскреции MCP-1 с мочой больных волчаночным нефритом была наибольшей при IIIb, IVb и IVc типах с морфологическими признаками высокой активности. Уровень экскреции MCP-1 с мочой снижался в значительной степени через месяц после начала иммуносупрессивной терапии, особенно у пациентов с исходно наиболее высокими показателями MCP-1 [85].

У пациентов с IgA-нефропатией и нефритом с полулуниями уровень MCP-1 с мочой также коррелировал с выраженностью мезангиальной пролиферации, количеством полулуний и макрофагов в клубочках, степенью интерстициального повреждения (инфильтрацией CD68+-макрофагами, тубулярной атрофией, интерстициальным фиброзом) [82, 93].

В исследовании, проведенном у пациентов с ANCA-ассоциированным васкулитом, уровень MCP-1 в моче больных с поражением почек был значительно выше, чем у пациентов с экстраренальными проявлениями васкулита, больных с ремиссией васкулита и здоровых лиц. Отсутствовали достоверные различия концентраций MCP-1 в сыворотке крови у больных активным васкулитом и здоровых лиц, что свидетельствует о локальном (почечном) происхождении этого фактора. Кроме того, было показано, что быстрое уменьшение уровня MCP-1 в моче при проведении иммуносупрессивной терапии являлось более чувствительным маркером хорошего ответа на терапию, чем изменение уровня протеинурии, сывороточного креатинина или титра ANCA. Сохранение высокого уровня MCP-1 в моче, несмотря на проводимую терапию, указывает на высокий риск быстрого прогрессирования заболевания с развитием терминальной почечной недостаточности [76].

Таким образом, согласно большинству исследований, проведенных при заболеваниях почек у животных и человека, MCP-1 играет важную роль в прогрессировании ГН и развитии почечной недостаточности [82, 84], главным образом за счет формирования тубулоинтерстициального повреждения.

Активация синтеза MCP-1 является общим патофизиологическим механизмом прогрессирования тубулоинтерстициального повреждения и фиброза как при воспалительных нефропатиях, так и при невоспалительных заболеваниях почек, протекающих без выраженных обострений, например при диабетической нефропатии [84].

Пути воздействия на синтез MCP-1

По современным представлениям традиционно

применяемые в нефрологии кортикостероидные гормоны и циклоспорин, а также ингибиторы АПФ и блокаторы рецепторов к ангиотензину, статины, антиоксиданты оказывают антихемокиновое действие, в частности через влияние на ядерный фактор NF-κB [84].

Воздействие на NFκB через митогенактивированную протеинкиназу (MAPK) у крыс с нефритом приводит к снижению уровня MCP-1, количества полулуний и уменьшению протеинурии, степени гломерулосклероза и интерстициального фиброза. Введение нейтрализующих антител к MCP-1 у крыс при ГН приводит к уменьшению количества макрофагов в клубочках, предотвращает формирование полулуний, развитие гломерулосклероза и интерстициального фиброза [84]. Одним из современных подходов является элиминация клеток воспаления, несущих специфические хемокиновые рецепторы путем введения биспецифичных антител, которые связываются одновременно с хемокиновым рецептором на клетках-мишенях и CD34 на Т-лимфоцитах-киллерах. Векторный транспорт цитотоксической субстанции – введение белка, состоящего из хемокина и бактериального экзотоксина, который разрушает клетку-мишень после связывания со специфическим рецептором [10].

In vivo было продемонстрировано, что среди всех хемокинов, которые экспрессируются клетками почки, именно MCP-1 играет большую роль в активации синтеза макрофагами профиброгенных цитокинов, главным образом TGF-β, и формировании интерстициального фиброза [69]. TGF-β рассматривают в настоящее время как основной профиброгенный фактор роста, осуществляющий паракринно-аутокринную регуляцию фиброгенеза, в том числе в интерстиции почки.

Роль TGF-β в развитии тубулоинтерстициального фиброза

TGF-β – мультифункциональный цитокин, впервые выделенный из тромбоцитов в 90-х гг. [20]. Свое название TGF-β получил благодаря способности стимулировать рост клеток и вызывать их трансформацию *in vitro*. TGF-β в норме является важным регулятором клеточной пролиферации, дифференцировки, апоптоза, иммунного ответа, ремоделирования экстрацеллюлярного матрикса [22]. Высокий уровень TGF-β найден в тромбоцитах и костной ткани, *in vitro* он продуцируется клетками многих типов. *In vivo* продемонстрированы его ангиогенное действие и способность к индукции образования грануляционной ткани [4]. В норме TGF-β играет важную роль в процессе заживления ран и физиологическом восстановлении структуры тканей при повреждении [63], так как в небольших физиологических концентрациях он синхронизирует выработку профиброгенных медиаторов: TGF-β, ФФ и провоспалительных цитокинов (ФНО-α и ИЛ-1β), ингибирует активацию Т- и В-лимфоцитов и продукцию ими провоспалительных цитокинов [20].

У млекопитающих известны три изоформы TGF-β, биологические свойства которых почти идентичны. Наиболее изученной является изоформа TGF-β₁ [20]. TGF-β₁ синтезируется в форме 391-аминокислотного предшественника, который путем протеолиза расщепляется на активный пептидный фрагмент и 112-ами-

ноокислотную субъединицу – TGF- β_1 -связывающий белок. Активный пептидный фрагмент TGF- β – белок 25 кДа, нековалентно связанный с латентно-ассоциированным белком (LAP) [4, 20], вероятно выполняющим функцию рецептора для интегринов. Подобный комплекс не способен связываться с поверхностными рецепторами клеток, так как находится в биологически неактивном состоянии [4]. Отделение активной молекулы TGF- β от комплекса с LAP может происходить под действием ряда внешних факторов, таких, как повышение температуры, изменение pH [53], при обработке плазмином, а также в результате присоединения к клеточной поверхности или компонентам ЭЦМ [33]. ЭЦМ функционирует как резервуар TGF- β , чему способствует TGF- β -связывающий белок – LAP. Активность TGF- β находится под контролем экстрацеллюлярных матричных белков (малых протеогликанов) декорина и бигликана, которые являются его естественными ингибиторами [40].

Исследования TGF- β *in vitro* (в культуре клеток почек)

TGF- β синтезируется многими резидентными клетками тканей, а также инфильтрирующими лейкоцитами, мононуклеарными клетками и тромбоцитами. Почти все типы клеток почки могут экспрессировать TGF- β [11]. Среди факторов, индуцирующих синтез TGF- β , известны ангиотензин II, ЭТ-1, а также глюкоза, инсулино-подобный фактор роста, предсердный натрийуретический фактор, фактор активации тромбоцитов, тромбосан, тромбин и некоторые лекарства, например циклоспорин А [11, 18, 39, 72].

Выделены три типа специфических высокоаффинных рецепторов для TGF- β (I, II и III типа), которые экспрессируются многими клетками [20]. Рецепторы к TGF- β связываются и активируют SMAD – белки, которые сами выполняют функцию передачи сигнала без активации внутриклеточного каскада и являются при этом транскрипционными факторами [65].

Исследования TGF- β , в эксперименте на животных

Повторные введения TGF- β лабораторным животным в течение двух недель способствуют развитию фиброза ткани печени, почек, а также в области инъеции [77].

Острое повреждение почечной ткани у животных сопровождается транзиторным повышением TGF- β_1 , который затем связывается с протеогликанами матрикса вблизи поверхности клеток, ограничивая собственную продукцию после завершения заживления ткани. Так, в модели острого ГН накопление мезангиального матрикса в клубочках достигает пика на 14-й день, после чего количество матрикса уменьшается, фиброз при этом не развивается [58].

Персистирующая продукция TGF- β_1 в почках крыс приводит к гломерулосклерозу и ТИФ в течение нескольких недель [92]. Особое значение в прогрессировании фиброза имеет процесс индукции под влиянием TGF- β клетками воспалительного инфильтрата и резидентными клетками собственного синтеза путем

аутокринной петли [42].

Введение крысам нейтрализующих антител к TGF- β или протеогликанов, связывающих TGF- β , предотвращает продукцию и накопление матрикса и формирование нефросклероза [21]. Повышение количества TGF- β_1 в ткани почки было выявлено при различных прогрессирующих нефропатиях как у животных (нефрит анти-Thy 1.1, хеймановский нефрит), так и у человека (при анти-ГМБ-нефрите, диабетической нефропатии, гипертонической и обструктивной нефропатии) [22, 34, 72].

Исследование TGF- β , при заболеваниях почек у человека

Несмотря на то что *in vitro* три изоформы TGF- β оказывают однонаправленный эффект на клетки, считают, что *in vivo* наиболее профиброгенным является TGF- β_1 , так как повышение синтеза этой изоформы показано у человека при заболеваниях, сопровождающихся выраженным фиброзом *ткани почки*. У пациентов с различными нефропатиями степень экспрессии TGF- β_1 в ткани почки коррелирует с площадью интерстициального фиброза [22, 34].

Однако Т. Yamamoto и соавт. полагают [91], что все три изоформы TGF- β играют роль в прогрессировании гломерулосклероза и интерстициального фиброза. Иммуногистохимическим методом была отмечена выраженная экспрессия трех изоформ TGF- β в гломерулах и интерстиции при различных формах нефрита (IgA-нефропатии, ФСГС, нефрите с полулуниями и диффузном пролиферативном волчаночном нефрите), сопровождающихся накоплением фибронектина, а также ингибитора активатора плазминогена-1 (ПАИ-1). Повышение количества мРНК TGF- β всех изоформ отмечалось в клубочках, а также в перигломерулярных и тубулоинтерстициальных областях, местах макрофагальной инфильтрации и отложений ЭЦМ. В интерстиции TGF- β экспрессировался макрофагами, также клетками канальцев с перитубулярной мононуклеарной инфильтрацией и артерий с утолщенной интимой [91].

В настоящее время имеются единичные исследования TGF- β_1 и в моче взрослых больных хроническим ГН (ХГН), их данные противоречивы. В исследовании Е. Nonkanen и соавт. более высокие показатели TGF- β_1 в моче были выявлены у пациентов с мембранозной нефропатией (МН). При этом показатель экскреции TGF- β_1 с мочой зависел от величины протеинурии и коррелировал со степенью воспалительной инфильтрации в интерстиции и индексом интерстициального склероза. В то же время экскреция TGF- β_1 с мочой больных другими протеинурическими нефропатиями, в том числе IgA-нефропатией, не отличалась от таковой у здоровых лиц [38].

В другом исследовании D.S. Goumenos и соавт. показано, что экскреция TGF- β_1 с мочой была выше в группе больных ХГН с массивной протеинурией независимо от морфологической формы нефрита (МН, ФСГС, МКГН, минимальные изменения, волчаночный нефрит) по сравнению с его экскрецией у больных ХГН без выраженной протеинурии и здоровых лиц. В ткани почки TGF- β_1 локализовывался преимущественно в цитоплазме тубулярных клеток, в меньшей степени – в

интерстиции. Отмечена слабая корреляция экспрессии TGF- β_1 в тубулоинтерстиции со степенью интерстициального воспаления, фиброза и тубулярной атрофии. Уровень TGF- β_1 в сыворотке крови больных ХГН не отличался от его уровня у здоровых лиц [35].

В работе, выполненной в России (НИИ педиатрии НЦЗД РАМН), было показано, что среди 28 детей с нефротическим синдромом достоверно более высокий уровень TGF- β_1 в моче отмечен при наличии выраженных изменений в тубулоинтерстиции (повреждение канальцев, инфильтрация и склероз интерстиция составляли более 2/3 объема коркового вещества). Однако у детей с незначительными и умеренно выраженными тубулоинтерстициальными изменениями показатель экскреции TGF- β_1 с мочой достоверно не отличался от такового у здоровых лиц [1].

Механизмы развития фиброза почки под действием TGF- β

В основе формирования ТИФ под действием TGF- β лежат многие патологические процессы в тубулярных и эндотелиальных клетках микроциркуляторного русла почки. Среди них основными считают эпителиально-мезенхимальную трансформацию (ЭМТ) клеток и апоптоз. Индуцированный TGF- β апоптоз клеток ведет к дегенерации и атрофии канальцев, потере гломерулярных и перитубулярных капилляров. Процесс ЭМТ тубулярных клеток также способствует тубулярной атрофии, образованию интерстициальных миофибробластов и, таким образом, прогрессированию интерстициального фиброза [22]. Таким образом, в настоящее время полагают, что тубулярная атрофия, интерстициальные воспаления и фиброз – это параллельно протекающие процессы, которые запускаются компонентами протеинурии.

Роль ЭМТ в развитии тубулярной атрофии и появлении миофибробластов при заболеваниях почек была впервые установлена несколько лет назад. Однако сообщения о TGF- β как о медиаторе трансдифференциации тубулярных клеток в почке стали появляться только в последние годы. В культуре тубулярных эпителиальных клеток было показано, что TGF- β вызывает трансдифференциацию этих клеток в миофибробласты, в то время как нейтрализующие антитела к TGF- β предотвращают этот процесс [32]. Процесс ЭМТ тубулярных клеток в миофибробласты ассоциирован с интерстициальным фиброзом в экспериментальных моделях и у человека [54].

Н. Okada и соавт. изучили триггерный эффект различных профиброгенных цитокинов на процесс ЭМТ ТЭК *in vitro*: TGF- β , эпидермального фактора роста (ЭФР) и фактора роста фибробластов (ФРФ). Экспрессия мезенхимальных маркеров, изменение клеточной подвижности, синтез матриксных металлопротеиназ усиливались под влиянием всех медиаторов, однако наиболее выраженный эффект в активации процесса ЭМТ оказывал TGF- β . С помощью электронной микроскопии удалось визуализировать, как ТЭК теряют апикально-базальную полярность и щелевые контакты, происходит изменение актинового цитоскелета, появляются stress-волокна, клетки начинают экспрессировать гладкомышечный α -актин, удлиняются, становятся

подвижными, отделяются от тубулярной базальной мембраны (ТБМ) и соседних клеток и мигрируют в интерстиций через ее повреждения. ТБМ является необходимой структурой для поддержания эпителиального фенотипа тубулярных клеток, а ее разрушение сопровождается изменением фенотипа с ЭМТ [56].

Полагают, что в процессе ЭМТ TGF- β может оказывать непосредственное воздействие на актиновый цитоскелет клетки, стимулируя ток кальция. Обработка клеток TGF- β не только стимулирует перестройку цитоскелета, но также повышает включение α -гладкомышечного актина (α -ГМА) в stress-волокна. Предполагают, что подобные изменения цитоскелета приводят к формированию фенотипа клеток, наиболее активного в отношении синтеза компонентов ЭЦМ – миофибробластов [68]. Миофибробласты – основные профиброгенные клетки в почке, экспрессирующие мезенхимальный маркер α -ГМА, которые обладают способностью в большом количестве продуцировать компоненты ЭЦМ [64, 67]. Среди всех профиброгенных цитокинов только TGF- β индуцирует синтез этими клетками компонентов экстрацеллюлярного матрикса [36].

Аккумуляцию компонентов ЭЦМ в ткани почки TGF- β обеспечивает, по крайней мере, тремя путями: повышением синтеза матриксных белков миофибробластами, экспрессии интегринов, участвующих в адгезии матриксных молекул на клеточной поверхности, и синтеза ингибиторов матриксных протеиназ, уменьшающих деградацию матрикса [13]. В культуре клеток животных и человека TGF- β стимулирует секрецию всех компонентов ЭЦМ: коллагена I, III, IV типов, ламинина, фибронектина и гепарансульфат-протеогликанов [28]. С другой стороны, TGF- β_1 ингибирует продукцию активатора плазминогена и стимулирует синтез ингибитора активатора плазминогена (ПАИ-1), уменьшает экспрессию металлопротеиназ – ферментов, в норме разрушающих интерстициальные белки, и стимулирует продукцию их ингибиторов [13].

Известно, что потеря перитубулярных капилляров является одним из важных патогенетических факторов прогрессирования интерстициального фиброза. В основе потери перитубулярных капилляров в процессе ТИФ и тубулярной атрофии может лежать апоптоз эндотелиальных клеток, индуцируемый TGF- β [55].

Пути воздействия на продукцию TGF- β ,

Являясь ключевым фактором фиброгенеза, TGF- β открывает важное направление терапевтических воздействий на фиброгенез в почке. Введение антител к TGF- β крысам с нефритом приводит к значительному уменьшению синтеза белков матрикса и отложения ПАИ-1 в клубочках [21]. Другим перспективным воздействием является введение растворимых рецепторов TGF- β , которые обладают большим сродством к TGF- β и блокируют его связывание с мембранным рецептором. LAP, который высвобождается в процессе активации TGF- β , также может быть использован для подавления активности TGF- β [20]. Некоторые протеогликанов могут связывать TGF- β , инъекция этих протеогликанов лабораторным животным с нефритом оказалась эффективной в той же мере, что и инъекция нейтрализующих антител к TGF- β [20]. На экспериментальных моделях и

культуре клеток показано, что костный морфогенетический белок 7 (BMP-7) является антагонистом TGF- β и его введение уменьшает гломерулосклероз и интерстициальный фиброз [87].

Длительное введение крысам после односторонней нефрэктомии ингибиторов АПФ и блокаторов рецепторов к ангиотензину II (АТ-II) приводило к снижению локально-почечного синтеза TGF- β_1 , уменьшало фиброз, сохраняло почечную функцию, т. е. оказывало нефропротективный эффект [47, 90]. Этот эффект ингибиторов АПФ был подтвержден в клинических условиях. У больных активным ХГН через 3 месяца лечения блокатором ангиотензиновых рецепторов (валсартаном/диованом) отмечалось достоверное снижение протеинурии, креатининемии и уровня в моче ПАИ-1, основным регулятором которого, как было указано выше, является TGF- β [5]. АТ-II принадлежит ключевая роль в ремоделировании тубулоинтерстиция благодаря его способности активировать тубулярный NF- κ B и стимулировать экспрессию ПАИ-1 прямо или через продукцию TGF- β . В эксперименте показано, что тубулярные клетки под воздействием протеинурии вырабатывают большое количество АТ-II. АТ-II оказывает профиброгенный эффект, вызывая аутокринно-паракринное высвобождение этими клетками хемокинов, цитокинов и факторов роста, среди которых наиболее важное значение имеет TGF- β [50], а также обладает способностью стимулировать в культуре пролиферацию почечных фибробластов и их трансформацию в миофибробласты [90].

Заключение

На основании анализа литературы, в том числе за последние 5 лет, становится очевидным, что патоморфологической основой прогрессирования почечной недостаточности является ТИФ. В основе ТИФ лежат процессы накопления компонентов экстрацеллюлярного матрикса (фибронектина, коллагена I, III, IV типов, ламинина и гепарансульфат-протеогликанов) и апоптоз тубулярных клеток, ведущие к атрофии канальцев, расширению интерстициального объема и потере перитубулярных капилляров.

Еще в начале 90-х гг. стало известно, что протеинурия является не только маркером почечного повреждения, но и важным фактором прогрессирования ХГН. В последние годы наиболее признаваемой является гипотеза, согласно которой вызванное компонентами протеинурии экстрагломерулярное повреждение, заканчивающееся ТИФ, реализуется через интерстициальное воспаление. Важную патогенетическую роль в этом процессе играют ТЭК. Под действием повреждающих компонентов протеинурии тубулярные клетки продуцируют молекулярные медиаторы воспаления, участвующие в формировании клеточного инфильтрата в интерстиции. Наиболее важную роль на этом этапе тубулоинтерстициального повреждения играет MCP-1, который, диффундируя через базолатеральную поверхность тубулярных клеток в интерстиций, обеспечивает накопление в очаге воспаления моноцитов (макрофагов) и лимфоцитов с их стимуляцией и поддерживает интерстициальное воспаление.

В литературе широко обсуждается вопрос о вовлече-

нии MCP-1 в процессы интерстициального фиброза и гломерулосклероза. Профиброгенное действие MCP-1 объясняют вызываемой им активацией синтеза TGF- β макрофагами. TGF- β , в свою очередь, осуществляет паракринно-аутокринную регуляцию фиброгенеза, в том числе и в ткани почек.

В условиях повышенной продукции TGF- β происходит трансформация резидентных пролиферирующих фибробластов в миофибробласты – основные профиброгенные клетки, экспрессирующие мезенхимальный маркер α -ГМА и обладающие способностью продуцировать компоненты ЭЦМ. Пул миофибробластов в интерстиции пополняют также и ТЭК после ЭМТ под действием того же TGF- β . Другим механизмом, способствующим аккумуляции компонентов ЭЦМ в ткани почки, считают активацию синтеза ингибиторов матриксных протеиназ, уменьшающих деградацию матрикса, среди которых особую роль в накоплении ЭЦМ играет ПАИ-1. Эти данные получены преимущественно на экспериментальных моделях прогрессирующего ГН.

В последние годы появилась возможность определения отдельных медиаторов воспаления в моче больных ГН для оценки активности и стадии почечного процесса. Так, группой японских авторов (Т. Wada) было установлено повышение экскреции с мочой больных различными формами ГН MCP-1. Мочевая экскреция MCP-1 коррелировала со степенью активности тубулоинтерстициального повреждения и фиброза. Имеются лишь единичные клинические работы по изучению выделения TGF- β с мочой при ХГН.

В то же время этот подход оценки местной (локально-почечной) иммунновоспалительной реакции при ГН и мониторинга активности ГН представляется перспективным ввиду доступности материала (мочи), неинвазивности и воспроизводимости метода. Таким образом, с помощью этих «мочевых» тестов стало возможным мониторировать процесс фиброгенеза на разных стадиях, что имеет важное практическое значение для оценки прогноза и определения тактики лечения больных ХГН. Изучение роли молекулярных медиаторов в механизмах индуцируемого протеинурией ремоделирования почечного интерстиция открывает перспективу включения средств, целенаправленно воздействующих на эти медиаторы (хемокины, TGF- β_1 и др.), в общую стратегию нефропротекции. Некоторые из них уже сегодня прошли успешную доклиническую апробацию.

Литература

1. Картамышева Н.Н., Чумакова О.В., Кучеренко А.Г., Сергеева Т.В. Межклеточные взаимодействия в патогенезе тубулоинтерстициального повреждения. *Нефрология и диализ* 2002; 4 (4): 255–259.
2. Козловская Л.В., Тареева И.Е., Мухин Н.А., Неверов Н.И., Каррыева Б.Ч. Мочевые тесты воспаления при гломерулонефрите. *Тер. архив* 1994; 6: 11–15.
3. Назаров П.Г. В кн.: Реактанты острой фазы воспаления. Глава I. М.: Наука, 2001: 423.
4. Пальцев М.А., Иванов А.А. В кн.: Межклеточные взаимодействия. Глава I. М.: Медицина, 1995.
5. Плиева О.К. Влияние препаратов с антипротеинурическим действием на экскрецию с мочой больных факторов эндотелия и локально-почечного фибринолиза/протеолиза: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук М., 2003.
6. Abbate G., Benigni A., Bertani T., Remuzzi G. Nephrotoxicity of increased glomerular protein traffic. *Nephrol Dial Transplant* 1999;

14: 304–312.

7. *Abbate M, Zoja C, Corna D* et al. In progressive nephropathies overload of tubular cells with filtered proteins translates glomerular permeability dysfunction into cellular signals of interstitial inflammation. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 1213–1224.

8. *Alexopoulos E, Seron D, Hatley RB* et al. Lupus nephritis: correlation of interstitial cells with glomerular function. *Kidney Int* 1990; 37: 100.

9. *Alfrey AC, Fromment DH, Hammond WS*. Role of iron in tubulointerstitial injury in nephrotoxic serum nephritis. *Kidney Int* 1989; 36: 753.

10. *Anders HJ, Vielbauer V, Schlondorff D*. Chemokines and chemokine receptors are involved in the resolution or progression of renal disease. *Kidney Int* 2003; 63: 401–415.

11. *Anodo T, Okuda S, Yanagida T* et al. Localization of TGF β and its receptors in the kidney. *Miner Electrolyte Metab* 1998; 24 (2–3): 149–153.

12. *Baggioli M, Dewald B, Moser B*. Interleukin-8 and related chemotactic cytokines-CXC and CC chemokines. *Adv Immunol* 1994; 55: 97–179.

13. *Baricos WH, Cortez SL, Deboisblanc M, Xin S*. Transforming growth factor β is a potent inhibitor of extracellular matrix degradation by cultured human mesangial cells. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 790–795.

14. *Becker GJ, Hewitson TD*. The role of tubulointerstitial injury in chronic renal failure. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2000; 9: 133–138.

15. *Benigni A*. Tubulointerstitial disease mediators of injury: the role of endothelin. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 (6): 50–52.

16. *Bertani T, Cuttillo F, Zoja C, Remuzzi G* et al. Tubulointerstitial lesions mediate renal damage in adriamycin glomerulopathy. *Kidney Int* 1986; 30: 488–496.

17. *Biancone L, David S, Della Pietra V, Montrucchio G, Cambi V, Camussi G*. Alternative pathway activation of complement by cultured human proximal tubular epithelial cells. *Kidney Int* 1994; 45: 451.

18. *Boffa J-J, Lu Y, Placier S, Stefanski A, Dusseau J-C, Chatziantoniou C*. Regression of renal vascular and glomerular fibrosis: role of angiotensin II receptor antagonism and matrix metalloproteinases. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1132–1144.

19. *Boble A, Muller GA, Webrmann W* et al. Pathogenesis of chronic renal failure in the primary glomerulopathies, renal vasculopathies and chronic interstitial nephritides. *Kidney Int* 1996; 54: 2–9.

20. *Border WA, Noble NA*. Transforming growth factor- β in tissue fibrosis. *N Eng J Med* 1994; 331: 1286–1292.

21. *Border WA, Okuda S, Languino LR, Sporn MB, Ruoslabi E*. Suppression of experimental glomerulonephritis by antiserum against transforming growth factor β . *Nature* 1990; 346: 371–374.

22. *Bottinger EP, Bitzer M*. TGF- β signaling in renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2600–2610.

23. *Burton CJ, Combe C, Walls J, Harris KP.G*. Secretion of chemokines and cytokines by tubular epithelial cells in response to proteins. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 2628–2633.

24. *Cockwell P, Howie AJ, Adu D* et al. *In situ* analysis of C-C chemokine mRNA in human glomerulonephritis. *Kidney Int* 1998; 54 (3): 827.

25. *D'Amico G*. Influence of clinical and histological features on actuarial renal survival in adult patients with idiopathic IgA nephropathy, membranous nephropathy and membranoproliferative glomerulonephritis: survey of the recent literature. *Am J Kidney Dis* 1992; 20: 315–323.

26. *D'Amico G*. Tubulo-interstitial damage in glomerular diseases: its role in the progression of the renal damage. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13 (1): 80–85.

27. *David S, Biancone L, Caserta C, Bussolati B, Cambi V, Camussi G*. Alternative pathway complement activation induces proinflammatory activity in human proximal tubular epithelial cells. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 51–56.

28. *Douthwaite JA, Johnson TS, Haylor JL, Watson P, El Nabas AM*. Effects of transforming growth factor- β on renal extracellular matrix components and their regulating proteins. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 2109–2119.

29. *Eddy AA*. Proteinuria and interstitial injury. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 277–281.

30. *Eddy AA, McCulloch L, Adams J, Liu E*. Interstitial nephritis induced by protein-overload proteinuria. *Am J Pathol* 1989; 135: 719–733.

31. *Evan AP, Tanner GA*. Proximal tubule morphology after single nephron obstruction in the rat kidney. *Kidney Int* 1986; 30: 818–827.

32. *Fan JM, Ng YY, Hill PA* et al. Transforming growth factor beta

regulates tubular epithelial-myofibroblasts transdifferentiation *in vitro*. *Kidney Int* 1999; 56 (4): 1455–1467.

33. *Flaumenbaft R, Abe M, Mignatti P, Rifkin DB*. Basic fibroblast growth factor-induced activation of latent transforming growth factor β in endothelial cells: regulation of plasminogen activator activity. *J Cell Biol* 1992; 118: 901–909.

34. *Gilbert RE, Akdeniz A, Allen TJ, Jerums G*. Urinary transforming growth factor- β in patients with diabetic nephropathy: implications for the pathogenesis of tubulointerstitial pathology. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 2442–2443.

35. *Goumenos DS, Tsakas S, Nabas A.M.E, Alexandri S, Oldroyd S, Kalliakmani P, Vlachojannis J.G*. Transforming growth factor- β in the kidney and urine of patients with glomerular disease and proteinuria. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 2145–2152.

36. *Goumenos DS, Tsamandas A.C, Oldroyd S, Sotsiou F, Tsakas S, Petropoulou C, Bonikos D, Nabas M.E, Vlachojannis J.G*. Transforming growth factor β and myofibroblasts: a potential pathway towards renal scarring in human glomerular disease. *Nephron* 2001; 87 (3): 240–248.

37. *Guijarro C, Egido J*. Transcription factor- κ B (NF- κ B) and renal disease. *Kidney Int* 2001; 59: 415–424.

38. *Honkanen E, Teppo A, Tornroth T, Groop P, Gronbagen-Riska C*. Urinary transforming growth factor-beta 1 in membranous glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12 (12): 2562–2568.

39. *Houliban C, Akdeniz A, Tsalamandris C, Cooper M.E, Jerums G, Gilbert RE*. Urinary transforming growth factor β excretion in patients with hypertension, type 2 diabetes and elevated albumin excretion rate. *Diabetes Care* 2002; 25: 1072–1077.

40. *Isaka Y, Brees D.K, Ikegaya K*. Gene therapy by skeletal muscle expression of decorin prevents fibrotic disease in rat kidney. *Nat Med* 1996; 2: 418–423.

41. *Kelley V.R, Rovin B.H*. Chemokines: therapeutic targets for autoimmune and inflammatory renal disease. *Springer Seminars in Immunopathology* 2003; 24: 411–421.

42. *Kim S-J, Angel P, Lafyatis R* et al. Autoinduction of transforming growth factor β is mediated by the AP-1 complex. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 1492–1497.

43. *Kriz W, Hartmann I, Hosser H* et al. Tracer studies in the rat demonstrate misdirected filtration and peritubular filtrate spreading in nephrons with segmental glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 496–506.

44. *Liu Z-H, Chen S-F, Zhou H, Chen H-P, Li L-S*. Glomerular expression of C-C chemokines in different types of human crescentic glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1526–1534.

45. *Lloyd C.M, Minto A.W, Dorf M.E* et al. RANTES and Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) play an important role in the inflammatory phase of crescentic nephritis, but only MCP-1 is involved in crescentic formation and interstitial fibrosis. *J Exp Med* 1997; 185(7): 1371–1380.

46. *Mackensen S, Grund K.E, Sindjic M, Boble A*. Influence of the renal cortical interstitium on the serum creatinine clearance in different chronic sclerosing interstitial nephritides. *Nephron* 1979; 24: 30–34.

47. *Magil AB*. Tubulointerstitial lesions in human membranous glomerulonephritis: Relationship to proteinuria. *Am J Kidney Dis* 1995; 25: 375–379.

48. *Marcussen N*. Atubular glomeruli in cisplatin-induced chronic interstitial nephropathy. *APMIS* 1990; 98: 1087–1097.

49. *Marcussen N*. Tubulointerstitial damage leads to atubular glomeruli: significance and possible role in progression. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 (Suppl 6): 74–75.

50. *Matsusaka T, Katori H, Miyazaki Y* et al. Angiotensin II as a player in fibrosis. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 (6): 64–65.

51. *Meyer T.W*. Tubular injury in glomerular disease. *Kidney Int* 2003; 63: 774–787.

52. *Muller GA, Marcovic-Lipkovski J, Frank J*. The role of interstitial cells in the progression of renal diseases. *J Am Soc Nephrol* 1992; 2: 198.

53. *Munger JS, Harpel J, Gleizes P.E, Mazzieri R, Nunes I, Rifkin D.B*. Latent transforming growth factor- β : structural features and mechanism of activation. *Kidney Int* 1997; 51: 1376–1382.

54. *Ng YY, Huang T.P, Yang W.C*. Tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation in progressive tubulointerstitial fibrosis in 5/6 nephrectomized rats. *Kidney Int* 1998; 54: 864–876.

55. *Obashi R, Kitamura H, Yamanaka N*. Peritubular capillary injury during the progression of experimental glomerulonephritis in rats. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 47–56.

56. *Okada H, Danoff T.M, Kalluri R, Neilson E.G*. The early role of FSP1 in epithelial-mesenchymal transformation. *Am J Physiol* 1997; 273: 563–574.

57. Okon K. Tubulo-interstitial changes in glomerulopathy. Prognostic significance. *Pol J Pathol* 2003; 54 (3): 163–169.
58. Okuda S, Languino LR, Ruoslabti E, Border WA. Elevated expression of transforming growth factor β and proteoglycan production in experimental glomerulonephritis: possible role in expansion of the mesangial extracellular matrix. *J Clin Invest* 1990; 86: 453–462.
59. Panzer U, Thaiss F, Zabner G. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 and osteopontin differentially regulate monocytes recruitment in experimental glomerulonephritis. *Kidney Int* 2001; 59: 1762–1769.
60. Prodjosudjadi W, Gerritsma JS, Klar-Mobamad N. et al. Production and cytokine-mediated regulation of monocyte chemoattractant protein-1 by human proximal tubular epithelial cells. *Kidney Int* 1995; 48: 1477–1486.
61. Remuzzi G, Bertani T. Pathophysiology of progressive nephropathies. *The New England Journal of Medicine* 1998; 12: 1448–1455.
62. Risdon RA, Sloper JC, Wardener HE. Relationship between renal function and histologic changes in renal-biopsy specimens from patients with persistent glomerular nephritis. *Lancet* 1968; 2: 363–370.
63. Roberts AB. Molecular and cell biology of TGF- β . *Miner Electrolyte Metab* 1998; 24(2–3): 111–119.
64. Rodemann HP, Muller GA, Knecht A, Norman JT, Fine LG. Fibroblasts of rabbit kidney in culture. I. Characterization and identification of cell-specific markers. *Am J Physiol* 1991; 261: 283–291.
65. Sato M, Muragaki Y, Saika S, Roberts AB, Oosbima A. Targeted disruption of TGF- β /Smad3 signaling protect against renal tubulointerstitial fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction. *J Clin Invest* 2003; 15: 112 (10): 1486–1494.
66. Schainuk L, Striker G, Cutler R. et al. Structural-functional correlations in renal disease. *Hum Pathol* 1970; 1: 631–641.
67. Schena FP. Cytokine network and resident renal cells in glomerular diseases. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14 (1): 22–26.
68. Schnaper HW, Hayashida T, Hubchak SC, Poncelet A-C. TGF- β signal transduction and mesangial cell fibrogenesis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 284 (2): 243–252.
69. Schneider A, Panzer U, Zabner G. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 mediates collagen deposition in experimental glomerulonephritis by transforming growth factor- β . *Kidney Int* 1999; 56 (1): 135–144.
70. Schreiner GF. Renal toxicity of albumin and other lipoproteins. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1995; 151: 369–373.
71. Segerer S, Nelson P, Schlondorff D. Chemokines, Chemokine Receptors and renal disease: from basic science to pathophysiology and therapeutic studies. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 152–176.
72. Shirato K, Osawa H, Kaizuka M, Nakamura N, Sugawara T, Nakamura M, Tamura M, Yamabe H, Okumura K. Trombin stimulates production of fibronectin by human proximal tubular epithelial cell via a transforming growth factor β -dependent mechanism. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 2248–2254.
73. Stephan M, Conrad S, Eggert T. et al. Urinary concentration and tissue messenger RNA expression of monocyte chemoattractant protein-1 as an indicator of the degree of hydronephrotic atrophy in partial ureteral obstruction. *J Urol* 2002; 167: 1497–1502.
74. Strutz F, Neilson EG. New insights into mechanism of fibrosis in immune renal injury. *Springer Semin Immunopathol* 2003; 24: 459–476.
75. Taal MW, Zandi-Nejad K, Weening B. et al. Proinflammatory gene expression and macrophage recruitment in the rat remnant kidney. *Kidney Int* 2000; 58: 1664–1676.
76. Tam F.W.K., Sanders J.-S., George A., Hammad T., Miller C., Dougan T., Cook H.T., Kallenberg C.G.M., Gaskin G., Levy J.B., Pusey C.D. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) is a marker of active renal vasculitis. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 2761–2768.
77. Terrell T.G., Working P.K., Chow C.P., Green J.D. Pathology of recombinant human transforming growth factor β in rats and rabbits. *Int Rev Exp Pathol* 1993; 51: 3590–3594.
78. Tesch GH, Maifert S, Schwarting A. et al. Monocyte chemoattractant protein-1-dependent leukocytic infiltrates are responsible for autoimmune disease in MRL-faslpr mice. *J Exp Med* 1999; 190: 1813.
79. Tesch GH, Schwarting A, Kinoshita K, Lan HY, Rollins BJ, Kelley VR. Monocyte chemoattractant protein-1 promotes macrophage-mediated tubular injury, but not glomerular injury, in nephrotoxic serum nephritis. *J Clin Invest* 1999; 103(1): 73–80.
80. Viedt C, Dechend R, Fei J, Hansch G.M., Kreuzer J, Orth S.R. MCP-1 induces inflammatory activation of human tubular epithelial cells: involvement of the transcription factors, nuclear factor κ B and Activating protein-1. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1534–1547.
81. Viedt C, Orth S. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in the kidney: does it more than simply attract monocytes? *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 2043–2047.
82. Wada T, Furuichi K, Segawa C, Shimizu M, Sakai N, Takeda S. et al. MIP-1 α and MCP-1 contribute crescents and interstitial lesions in human crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int* 1999; 56: 995–1003.
83. Wada T, Yokoyama H, Furuichi K. et al. Intervention of crescentic glomerulonephritis by antibodies to monocyte chemoattractant and activating factor (MCAF/MCP-1). *FASEB J* 1996; 10: 1418–1425.
84. Wada T, Yokoyama H, Kobayashi K. Chemokines: new target molecules in renal diseases. *Clin Exp Nephrol* 2000; 4: 273–280.
85. Wada T, Yokoyama H, Su S, Mukaida N, Iwano M, Dobi K, Takahashi Y, Sasaki T, Furuichi K, Segawa C, Hisada Y, Ohta S, Takasawa K, Kobayashi K, Matsushima K. Monitoring urinary levels of Monocyte chemoattractant and activating factor reflects disease activity of lupus nephritis. *Kidney Int* 1996; 49: 761–767.
86. Wadle E.N. Nuclear factor κ B for nephrologists. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 1764–1768.
87. Wang S, Hirschberg R. BMP7 antagonizes TGF- β -dependent fibrogenesis in mesangial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 284: 1006–1013.
88. Wang Y, Rangan GK, Tay Y.C. et al. Induction of monocyte chemoattractant protein-1 by albumin is mediated by nuclear factor κ B in proximal tubule cells. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1204–1213.
89. Webrmann M, Boble A, Held H, Schumm G, Kendziorra H, Presslar H. Long-term prognosis of focal sclerosis glomerulonephritis. An analysis of 250 cases with particular regard to tubulointerstitial changes. *Clin Nephrol* 1990; 33: 115–122.
90. Wolf G. Angiotensin II as a mediator of tubulointerstitial injury. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 (6): 61–63.
91. Yamamoto T, Noble NA, Coben AH, Nast C.C., Hisbida A, Gold LL, Border WA. Expression of transforming growth factor β isoforms in human glomerular diseases. *Kidney Int* 1996; 49: 461–469.
92. Yamamoto T, Noble NA, Miller DE, Border WA. Sustained expression of TGF- β 1 underlies development of progressive kidney fibrosis. *Kidney Int* 1994; 45: 916–927.
93. Yokoyama H, Wada T, Furuichi K, Segawa C, Shimizu M, Kobayashi K. et al. Urinary levels chemokines (MCAF/MCP-1, IL-8) reflect distinct disease activities and phases of human IgA nephropathy. *J Leukocyte Biol* 1998; 63: 493–499.