

УДК 577.17

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АПОПТОЗА ГЛОМЕРУЛЯРНЫХ ПОДОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ

© 2020 г. А. О. Шпаков<sup>а, \*</sup>, Е. В. Казначеева<sup>б</sup>

<sup>а</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,  
Санкт-Петербург, 194223 Россия

<sup>б</sup>Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

\*e-mail: alex\_shpakov@list.ru

Поступила в редакцию 29.11.2019 г.

После доработки 13.01.2020 г.

Принята к публикации 21.01.2020 г.

Дисфункции гломерулярных подоцитов и запуск в них апоптотических процессов являются основными молекулярными причинами диабетической нефропатии (ДН) и других заболеваний почек. Патогенетическими факторами, вызывающими эти нарушения функций подоцитов, являются гипергликемия, повышение содержания конечных продуктов гликирования, окислительный стресс, повышение активности факторов воспаления, стресс эндоплазматического ретикулума. Эти факторы и их комбинации приводят к запуску различных внутриклеточных сигнальных путей, приводящих к активации апоптоза и снижению выживаемости подоцитов. Среди них: 1) Wnt/ $\beta$ -катениновый путь, который активируется белками Wnt-семейства при их связывании с комплексом Frizzled-рецепторов и корецепторов LRP-семейства; 2) mTOR-зависимый сигнальный путь, включающий комплексы mTORC1 и mTORC2, которые участвуют в регуляции аутофагии и стресса эндоплазматического ретикулума и регулируются различными стимулами и эффекторами, в том числе AMP-активируемой протеинкиназой; 3) Rho/ROCK-сигнальный путь, включающий GTP-азы Rho-семейства и Rho-ассоциированную протеинкиназу ROCK1; 4) кальций-зависимые сигнальные пути, запускаемые при повышении концентрации внутриклеточного  $Ca^{2+}$ , в первую очередь, через активацию кальциевых каналов TRPC-семейства. В обзоре представлен подробный анализ современных представлений о молекулярных механизмах, которые ответственны за регуляцию апоптотических процессов в гломерулярных подоцитах, а также рассмотрены гормональные и иные факторы, регулирующие их как в норме, так и при повреждениях, индуцированных гипергликемией и ДН.

**Ключевые слова:** диабетическая нефропатия, подоцит, апоптоз, кальциевый канал TRPC6, комплекс mTORC, Wnt/ $\beta$ -катениновый путь, GTP-аза Rho-семейства

**DOI:** 10.31857/S0233475520030056

### ВВЕДЕНИЕ

Диабетическая нефропатия (ДН) с характерными для нее различными формами гломерулосклероза является одним из наиболее тяжелых осложнений сахарного диабета (СД) и, в конечном итоге, приводит к хронической почечной недостаточности и является причиной высокой смертности среди диабетических пациентов. Основными патогенетическими факторами ДН являются гипергликемия, дислипидемия, усиление воспалительных процессов, артериальная и гломерулярная гипертензия, причем ведущую роль здесь играют длительная гипергликемия и обусловленное этим повышение уровня конечных продуктов гликирования [1]. В почках одними из

мишеней перечисленных выше факторов являются подоциты, локализованные в капсулах Боумена дифференцированные эпителиальные клетки, которые с помощью так называемых “ножек” покрывают капилляры клубочков, оставляя при этом небольшие щели, служащие для фильтрации крови. Структурная организация фильтрационных щелей и локализованные в них поверхностные белки клеточной мембраны, такие как нефрин, Р-кадгерин и ряд других, способствуют проникновению через них воды и низкомолекулярных метаболитов, но препятствуют выведению из крови белковых молекул, включая альбумин,  $\gamma$ -глобулины, полипептидные гормоны и ростовые факторы [2, 3]. В условиях СД и отчетливо выраженной гипергликемии функции

подоцитов нарушаются, что приводит к нарастающему по мере развития ДН снижению числа подоцитов, причинами чего являются активация в них апоптотических процессов, индукция процесса эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП), отслоение подоцитов от базальной мембраны клубочков [4, 5]. Необходимо отметить, что этому предшествует возникающая на начальных стадиях ДН гипертрофия подоцитов, обусловленная усилением фильтрационной активности почечных канальцев. Зрелые подоциты, представляющие собой полностью дифференцированные клетки, не способны к размножению и вынуждены увеличивать свои размеры, чтобы покрыть поверхность гломерулярной базальной мембраны, которая начинает обнажаться в условиях гипертрофии клубочков и снижения количества подоцитов [4].

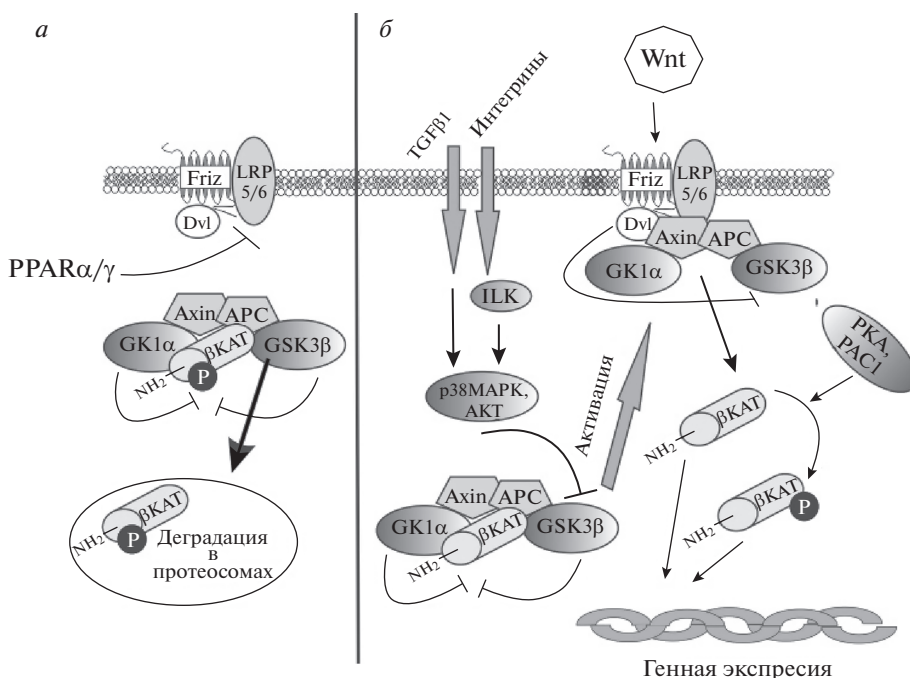
Основным, хотя и не единственным, фактором, определяющим снижение количества функционально активных подоцитов в клубочках и ведущим к нарушению гломерулярной фильтрации, является повреждение подоцитов и активация в них процесса апоптоза. Триггерами апоптоза в подоцитах могут быть как ингибирование аутофагии – важнейшего механизма, защищающего подоциты от повреждений, так и запуск реакций несвернутых белков, что ведет к стрессу эндоплазматического ретикулума (ЭР) и многочисленным нарушениям во внутриклеточных сигнальных каскадах и эффекторных системах [4–6]. Ключевую роль в повреждении подоцитов и индукции апоптоза в условиях ДН и гипергликемии играют Wnt/ $\beta$ -катениновый, mTOR-, Rho/ROCK- и  $Ca^{2+}$ -зависимые сигнальные пути. В настоящем обзоре рассмотрены эти пути и регулирующие их факторы, а также проанализированы функциональные изменения и нарушения, возникающие в них в условиях СД и ведущие к снижению выживаемости подоцитов.

### РОЛЬ Wnt/ $\beta$ -КАТЕНИНОВОГО ПУТИ В ПОВРЕЖДЕНИИ И АПОПТОЗЕ ПОДОЦИТОВ

Активаторами Wnt/ $\beta$ -катенинового пути являются различные изоформы Wnt (Wingless/Integrated)-белков, представляющих собой значительные по размеру и обогащенные высококонсервативными остатками цистеина гликопротеины, которые специфично связываются с G-белок-сопряженными рецепторами (GPCR), относящимися к Frizzled-семейству. Для высокоаффинного связывания им требуются ко-рецепторы, функции которых обычно выполняют трансмембранные белки 5 и 6, подобные рецепторам липопротеидов (LRP5/6) [7, 8]. В неактивном состоянии Frizzled-

рецепторы не ассоциированы с  $\beta$ -катенином, который локализован в цитоплазме в составе гетероолигомерного комплекса с цитозольным белком аксином, супрессором опухолей APC (adenomatous polyposis coli), киназой-3 $\beta$  гликогенсинтетазы (GSK-3 $\beta$ ) и казеинкиназой-1 $\alpha$  (CK1 $\alpha$ ) (рис. 1). Киназы GSK-3 $\beta$  и CK1 $\alpha$  фосфорилируют  $\beta$ -катенин по остаткам серина и треонина, локализованным в N-концевой части молекулы  $\beta$ -катенина (в первую очередь по остатку Ser<sup>33</sup>), что индуцирует его протеасомную деградацию и, тем самым, препятствует активации экспрессии зависимых от  $\beta$ -катенина генов. При активации Frizzled-рецептора лигандами он через адапторный белок Disheveled образует комплекс с аксином, APC-белком, GSK-3 $\beta$  и CK1 $\alpha$ , что, с одной стороны, препятствует N-концевому фосфорилированию и инактивации  $\beta$ -катенина, а с другой, вызывает диссоциацию  $\beta$ -катенина из вновь образованного комплекса, накоплению его нефосфорилированной формы в цитоплазме и последующей транслокации в ядро [9, 10]. Важно, что протеинкиназа A, P21-активируемая киназа-1 (PAK1) и ряд других протеинкиназ способны фосфорилировать свободную форму  $\beta$ -катенина по остатку Ser<sup>675</sup>, что облегчает его транслокацию в ядро и в значительной степени повышает стимулирующее влияние  $\beta$ -катенина на экспрессию зависимых от него генов [11, 12] (рис. 1).

Гиперактивация Wnt/ $\beta$ -катенинового пути приводит к повреждению подоцитов и является триггером апоптоза, снижая выживаемость подоцитов, подавляя их аутофагию и способствуя развитию тяжелых форм протеинурии [13, 14]. В условиях ДН активность Wnt/ $\beta$ -катенинового пути и содержание  $\beta$ -катенина в подоцитах, в том числе его Ser<sup>675</sup>-фосфорилированной формы, в значительной степени возрастают, причем отмечается положительная корреляция между степенью повреждения гломерул и уровнями экспрессии и активности Wnt-белков и  $\beta$ -катенина [5, 14–17]. При этом в подоцитах пациентов с ДН отмечается избирательное повышение определенных типов Wnt-белков – Wnt1, Wnt2b, Wnt4, Wnt5a, Wnt6 и Wnt16 [18]. При изучении крыс со стрептозотоциновой моделью СД 1-го типа, мышей Akita с генетической моделью СД 1-го типа и db/db-мышей с генетически обусловленным СД 2-го типа в почках отмечали повышение экспрессии и активности всех основных компонентов Wnt/ $\beta$ -катенинового пути – белка Wnt3a, Frizzled-рецепторов и  $\beta$ -катенина. Как нормализация уровня глюкозы у мышей Akita с помощью инсулиновой терапии, так и обработка животных антителами к белку LRP6, ко-активатору Frizzled-рецептора, ослабляли Wnt/ $\beta$ -катениновую сигнализацию и частично восстанавливали почечную



**Рис. 1.** Wnt/ $\beta$ -катениновый сигнальный путь в неактивном состоянии (а) и механизмы его активации в условиях диабетической нефропатии (б). Wnt – белки Wnt-семейства, эндогенные лиганды Frizzled-рецепторов; Friz – G-белок-сопряженный рецептор Frizzled-семейства; LRP5/6 – белки 5 и 6, подобные рецепторам липопротеидов, функционирующие как корецепторы для Frizzled-рецепторов (Lipoprotein Receptor-related Protein-5/6); TGF $\beta$ 1 – трансформирующий ростовой фактор- $\beta$ 1;  $\beta$ КАТ – нефосфорилированная форма  $\beta$ -катенина и его формы, фосфорилированные в N- или C-концевой области молекулы; Axin – цитозольный белок аксин, относящийся к семейству регуляторов G-белкового сигналинга; APC – супрессор опухолей APC (Adenomatous Polyposis Coli), GSK3 $\beta$  – киназа-3 $\beta$  гликогенсинтазы, фосфорилирующая  $\beta$ -катенин в N-концевой области и инактивирующая его; SK1 $\alpha$  – киназа-1 $\alpha$ , фосфорилирующая  $\beta$ -катенин в N-концевой области и инактивирующая его; Dvl – цитоплазматический адапторный белок Disheveled, препятствующий фосфорилированию  $\beta$ -катенина в N-концевой области; p38MAPK – митогенактивируемая протеинкиназа p38; Akt – протеинкиназа В (Akt-киназа); PPAR $\alpha/\gamma$  – рецепторы- $\alpha$  и - $\gamma$ , активируемые пероксисомными пролифераторами, с активностью транскрипционных факторов; PKA – протеинкиназа А, активируемая cAMP; PAK1 – P21-активируемая киназа-1.

фильтрацию, снижая экскрецию альбумина с мочой [19]. Защитные эффекты витамина D и противовоспалительного препарата реина на функции почечных клубочков при различных моделях ДН также были обусловлены снижением в них экспрессии и активности Wnt-белков и  $\beta$ -катенина [20, 21].

Идентифицированы несколько механизмов, лежащих в основе гиперактивации Wnt/ $\beta$ -катенинового пути в подоцитах. Наибольший интерес представляют эндогенные кодирующие малые молекулы РНК – микроРНК-27а (miR-27а) и микроРНК-21 (miR-21), повышение экспрессии которых в подоцитах приводит к активации Wnt-белков и  $\beta$ -катенина и индуцирует в них апоптотические процессы [22–24]. Активность miR-27а повышалась в подоцитах, культивируемых в среде с высоким содержанием глюкозы, а также в гломерулах диабетических крыс и пациентов с СД [22]. Повышенный уровень экспрессии miR-21 положительно коррелировал как с активацией Wnt/ $\beta$ -катенинового пути, так и с повышением

экспрессии и активности проапоптотического трансформирующего ростового фактора  $\beta$ 1 (TGF $\beta$ 1). В основе активирующего эффекта miR-27а на Wnt/ $\beta$ -катениновый путь лежит вызываемое им фосфорилирование и ингибирование активности транскрипционного фактора PPAR $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ ), несмотря на повышение экспрессии этого ядерного рецептора [22]. Астрагалозид-IV, ингибитор экспрессии miR-21, снижал экспрессию и активность  $\beta$ -катенина и TGF $\beta$ 1, предотвращая апоптоз подоцитов и восстанавливая гломерулярную фильтрацию [23, 24].

Активаторами Wnt/ $\beta$ -катениновых путей являются цитозольные белки –  $\beta$ -аррестины, чем обусловлено повреждающее и проапоптотическое воздействие повышения экспрессии и активности  $\beta$ -аррестинов на подоциты в условиях гипергликемии и СД [23–26]. Повышение экспрессии двух основных форм  $\beta$ -аррестинов,  $\beta$ 1 и  $\beta$ 2, показано как в гломерулах мышей со стрептозотоциновым СД 1-го типа и db/db-мышей с гене-

тически-обусловленным СД 2-го типа, так и в биоптатах почек у пациентов с СД [26].  $\beta$ -аррестины специфично взаимодействуют с цитоплазматическими петлями активированного лигандом GPCR, модулируя передачу через него сигнала и индуцируя интернализацию лиганд-рецепторных комплексов в составе эндосом внутрь клетки. Наряду с этим, они способны независимо от гетеротримерных G-белков опосредовать регуляцию GPCR-агонистами внутриклеточных сигнальных каскадов, включая активацию митогенактивируемых протеинкиназ (МАРК) и компонентов 3-фосфоинозитидного пути. Именно такой независимый от G-белков механизм активации Wnt/ $\beta$ -катенинового сигналинга был продемонстрирован при связывании Wnt3-белка с Frizzled-рецептором в культуре НЕК293-клеток, лишенных генов для семи основных типов  $\alpha$ -субъединиц G-белков ( $G\alpha_s$ ,  $G\alpha_{olf}$ ,  $G\alpha_q$ ,  $G\alpha_{11}$ ,  $G\alpha_{12}$ ,  $G\alpha_{13}$ ,  $G\alpha_z$ ) и называемых  $\Delta G7$ -клетками [27]. В реализации проапоптотического эффекта  $\beta$ -аррестин в подоцитах могут принимать участие как  $\beta 1$ -, так и  $\beta 2$ -аррестины, хотя роль  $\beta 1$ -аррестин в повреждении подоцитов и активации в них апоптотических процессов более важна [24]. Необходимо отметить, что  $\beta 1$ - и  $\beta 2$ -аррестины участвуют в индукции апоптоза во многих типах клеток [28]. Между  $\beta$ -аррестинами и Wnt/ $\beta$ -катениновыми путями имеются тесные взаимосвязи. Нокаут гена, кодирующего Wnt1-белок, предотвращает повреждение почечных клубочков и развитие в них фиброзных изменений, осуществляемых через  $\beta 1$ -аррестинные пути, в то время как нокаут гена, кодирующего  $\beta 1$ -аррестин, приводит к сходному результату путем значительного снижения экспрессии и активности Wnt-белков и  $\beta$ -катенина [29].

Негативными регуляторами Wnt/ $\beta$ -катениновых путей являются представители транскрипционных факторов PPAR-семейства — PPAR $\gamma$  и PPAR $\alpha$  [22, 30–32], а также продуцируемый пигментным эпителием фактор PEDF (pigment epithelium-derived factor) [33, 34] и циклин G2 [35]. Снижение их экспрессии и активности в условиях гипергликемии и СД приводит к гиперактивации Wnt/ $\beta$ -катенинового пути в подоцитах, что способствует их повреждению и запуску апоптоза. При ДН в подоцитах снижается активность как PPAR $\gamma$  [22, 31, 32], так и PPAR $\alpha$  [30]. Как отмечалось выше, стимулирующий эффект микроРНК miR-21 на Wnt/ $\beta$ -катениновый сигналинг обусловлен miR-21-индуцированным снижением активности PPAR $\gamma$  [22]. Фенофибрат, селективный PPAR $\alpha$ -агонист, ингибируя Wnt3a-зависимые пути, повышает выживаемость подоцитов и предупреждает фиброз почек при ДН [30]. При изучении нокаутных PPAR $\alpha^{-/-}$ -мышей показано,

что PPAR $\alpha$  дестабилизирует комплекс между Frizzled-рецептором и его лигандами — LRP5- и LRP6-белками, что приводит к подавлению Wnt-индуцированной сигнальной трансдукции. Генерация активных форм кислорода в тубулярных клетках почки с помощью 4-гидроксинафтола, моделирующая индуцированный гипергликемией окислительный стресс, повышала стабильность этого комплекса и вызывала активацию Wnt/ $\beta$ -катенинового пути, в то время как повышенная экспрессия PPAR $\alpha$ , напротив, предотвращала эти процессы [30].

Фактор PEDF, многофункциональный секретруемый белок с активностью ингибитора сериновых протеаз, регулирующий продукцию внеклеточного матрикса, оказывает защитный эффект на функции почек при ДН [33], нормализуя активность Wnt/ $\beta$ -катенинового пути [36]. Количество PEDF в почках снижается у грызунов с генетически обусловленным СД, что сопровождается усилением передачи сигналов через Wnt/ $\beta$ -катениновый путь. Одной из возможных причин этого является усиление в условиях СД экскреции PEDF с мочой в результате нарушения гломерулярной фильтрации [37]. В почках животных, нокаутных по гену для PEDF, усиливаются как продукция активных форм кислорода, так и активность Wnt/ $\beta$ -катенинового пути, причем введение экзогенного PEDF их нормализует [34].

Атипичный циклин G2 ингибирует клеточный цикл и пролиферативную активность клеток, осуществляя свои эффекты посредством ингибирования Wnt-белков [38]. Нокаут гена, кодирующего циклин G2, приводит к повреждению почек в условиях гипергликемии и усугубляет течение ДН, способствуя развитию гломерулосклероза. Эти патологические изменения ассоциированы с гиперактивацией Wnt/ $\beta$ -катенинового пути в мезангиальных клетках почечных клубочков, что усиливает экспрессию генов, провоцирующих развитие гломерулосклероза [35].

В соответствии с вышесказанным, повышение активности PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$ , фактора PEDF и циклина G2, ингибирующих в подоцитах и других гломерулярных клетках Wnt/ $\beta$ -катениновый путь, может рассматриваться, как перспективный подход, направленный на защиту гломерул от повреждений при ДН.

#### mTOR-ЗАВИСИМЫЕ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ ПОДОЦИТОВ

Важную роль в функционировании подоцитов играет сигнальный путь, включающий протеинкиназу mTOR, ключевой компонент комплексов mTORC1 и mTORC2 [39, 40]. Фармакологическое различие между этими комплексами состоит в

том, что протеинкиназа mTOR ингибируется антибиотиком рапамицином только в составе комплекса mTORC1 [41]. Как и в других типах клеток, повышение активности mTORC1 в подоцитах приводит к снижению их выживаемости, нарушает процесс аутофагии, в еще большей степени усугубляет повреждение гломерул, возникающее в условиях ДН [42].

Повышение активности mTORC1 в подоцитах, вызванное гипергликемией и конечными продуктами гликирования, запускает реакции несвернутых белков, что приводит к стрессу ЭР и активирует проапоптотические пути, в том числе реализуемые через каспазу-12 [43, 44]. Стресс ЭР повреждает подоциты, нарушает почечную фильтрацию и, в конечном итоге, приводит к гломерулярному склерозу [45]. Длительная активация сигнальных каскадов стресса ЭР в подоцитах в условиях повышенной концентрации глюкозы во внеклеточной среде является пусковым механизмом апоптоза [46], что наблюдается также в почках пациентов с СД [47]. Стресс ЭР в подоцитах может являться одной из первопричин повышения уровней факторов воспаления и нарушения липидного обмена, как это происходит в гепатоцитах [48]. Запуск реакций несвернутых белков может происходить на ранних стадиях ДН, являясь первопричиной нарушений гломерулярной фильтрации, или развиваться позднее, усугубляя действие на почечные клубочки других повреждающих факторов [49].

Инкубация подоцитов в среде с повышенным содержанием глюкозы усиливает сайт-специфичное фосфорилирование киназы mTOR по остатку Ser<sup>2448</sup> и фосфорилирование p70S6-киназы по остатку Thr<sup>389</sup>. В свою очередь, активация mTORC1 ассоциирована с усилением экспрессии основных маркеров стресса ЭР – шапероноподобного белка GRP78 и транскрипционного фактора CHOP, а также с повышением активности киназы PERK (PKR-like endoplasmic reticulum kinase), основного сенсора стресса ЭР, на что указывало фосфорилирование фермента по остатку Thr<sup>982</sup>. Активация киназы PERK и других сенсоров реакции несвернутых белков, а также вызываемое этим повышение активности транскрипционного фактора CHOP приводило к повышению соотношения антиапоптотического белка Bcl-2 и проапоптотического белка Bax, усилению каспазных путей, включая активацию каспазы-12 и каспазы-3 [44]. Соединение U0126, ингибитор ERK1/2-киназы, основных компонентов MAPK-каскада, предотвращает активацию mTOR высокими концентрациями глюкозы, что свидетельствует об ERK1/2-опосредованной активации mTORC1. В свою очередь, рапамицин, ингибитор mTORC1, в условиях гипергликемии нормализует

экспрессию CHOP и GRP78 в подоцитах, предотвращая активацию стресса ЭР и запуск апоптоза. Эти данные свидетельствуют о том, что определенный вклад в активацию mTOR-сигнального пути могут вносить ERK1/2-зависимые механизмы, а эффекторными звеньями этого пути являются сенсорные компоненты стресса ЭР и нижележащие проапоптотические каскады [44]. При этом необходимо принимать во внимание тот факт, что взаимоотношения между mTOR-сигнальными путями и стрессом ЭР могут быть более сложными, поскольку активированный mTORC1 может регулировать не только вышележащие, сенсорные компоненты стресса ЭР, но и его нижележащие, эффекторные компоненты, вызывая как их активацию, так и ингибирование [50].

Фармакологические исследования показывают, что если ингибирование mTORC1 рапамицином приводит к активации аутофагии и защищает подоциты от повреждения, то усиление активности mTORC1 не только индуцирует повреждение подоцитов и протеинурию, но и усугубляют уже развившийся гломерулярный склероз [51–60]. Так показано, что гиперактивированный TORC1-комплекс фосфорилирует и, тем самым, инактивирует комплекс ULK1/2-ATG13-FIP200-ATG101, который необходим для формирования аутофагосом и индукции процесса аутофагии [60].

Наряду с mTORC1, в регуляцию выживаемости подоцитов в условиях гипергликемии вовлечен и комплекс mTORC2 [42, 61]. Он не только отвечает за активацию апоптоза, действуя согласованно с mTORC1, но также контролирует функционирование цитоскелета и митохондриальную динамику в подоцитах [42]. Так в условиях гипергликемии инкубация подоцитов с рапамицином, ингибитором mTORC1, снижала до контрольного уровня Thr<sup>389</sup>-фосфорилирование p70S6K-киназы, не влияя при этом на повышенный уровень фосфорилирования Akt-киназы, в то время как инкубация с неселективным mTORC1/mTORC2-ингибитором KU0063794 снижала фосфорилирование как p70S6K-киназы, так и Akt-киназы. Преинкубация подоцитов с KU0063794, но не с рапамицином, нормализовала экспрессию белков, ассоциированных с цитоскелетом, которая в условиях гипергликемии была снижена (эзрин) или повышена ( $\alpha$ -актин гладких мышц). Структурный белок эзрин опосредует взаимодействие между плазматической мембраной и актиновым цитоскелетом, контролируя клеточную адгезию, фагоцитоз и морфологию клетки и обеспечивая интегративные связи между внутриклеточными сигнальными путями и мембранным транспортом [62, 63]. В гломерулах пациентов с ДН экспрессия эзрина снижается, что ассоциировано с повреждением и снижением выживаемости подо-

цитов [64].  $\alpha$ -актин гладких мышц играет ключевую роль в контроле фиброгенеза в почках [65]. Его экспрессия повышается при СД, что является одной из причин повреждений почечных клубочков и интерстициальной ткани и может привести к тубулоинтерстициальному фиброзу почки [66]. Эти данные свидетельствуют о важной роли mTORC2-комплекса в нарушении функциональной активности белков цитоскелета в подоцитах, находящиеся в среде с повышенным содержанием глюкозы [42].

Несмотря на однонаправленное негативное влияние mTORC1 и mTORC2 на выживаемость подоцитов, имеются существенные различия между механизмами их стимулирующего действия на проапоптотические каскады. В пользу этого могут свидетельствовать данные о взаимосвязи между снижением активности mTORC-комплексов в подоцитах, обработанных антибиотиком адриамицином, и повышением экспрессии кальциевых каналов TRPC6 (transient receptor potential cation channel 6), которые опосредуют интенсивный вход  $\text{Ca}^{2+}$  в клетку и активацию в них проапоптотических каскадов [61]. Показано, что вызываемые адриамицином повреждения и апоптоз подоцитов были тесно ассоциированы с повышением фосфорилирования mTOR по остатку  $\text{Ser}^{2481}$  и фосфорилирования Akt-киназы по остатку  $\text{Ser}^{473}$ , с усилением транслокации ядерного фактора- $\kappa\text{B}$  (NF $\kappa\text{B}$ ) в ядро и повышением экспрессии TRPC6-каналов. Инкубация подоцитов с неселективным mTORC-ингибитором KU0063794 или с ингибитором Akt-киназы трицибином предотвращала апоптоз, индуцированный адриамицином, в то время как рапамицин, ингибирующий только mTORC1, был в этом отношении не активен. Добавление пироллидин-дитиокарбамата, ингибитора NF $\kappa\text{B}$ , а также нокаут белка Rictor, компонента комплекса mTORC2 (но не белка Raptor, компонента mTORC1), подавляло индуцированную адриамицином транслокацию NF $\kappa\text{B}$  в ядро и нормализовало экспрессию TRPC6, предотвращая тем самым апоптоз подоцитов. К сходному эффекту приводил нокаут гена, кодирующего TRPC6. Эти данные указывают на возможную роль сигнального пути mTORC2/Akt/NF $\kappa\text{B}$  в усилении экспрессии TRPC6-каналов в условиях повреждения подоцитов адриамицином в условиях *in vitro*. Активация этого пути может вносить существенный вклад в снижение выживаемости подоцитов при ДН [61].

Негативным регулятором mTOR-зависимых сигнальных путей в подоцитах является AMP-активируемая протеинкиназа (АМПК), основной энергетический сенсор клетки. Ее активность стимулируется как при повышении уровня АМР

и увеличении соотношения АМР/АТР внутри клетки, что ассоциировано с активацией киназы LKB1 (liver kinase B1), так и через кальций-зависимые механизмы, включающие киназу- $\beta$  кальмодулин-зависимой протеинкиназы (CaMKK- $\beta$ ) [67–69]. В условиях гипергликемии и повышенного уровня конечных продуктов гликирования активность АМПК в почках снижается, что обусловлено ингибирующим их влиянием на активность киназы LKB1. Результатом этого является ослабление ингибирующего влияния АМПК на гиперактивированный в условиях гипергликемии комплекс mTORC1 путем подавления активности белка Raptor, а также ослабление стимулирующего влияния на белок ULK1/2, ключевой компонент индуцирующего аутофагию комплекса ULK1/2-ATG13-FIP200-ATG101, что приводит к нарушению аутофагии подоцитов, их повреждению и апоптозу. Восстановление активности АМПК нормализует функционирование mTORC1, предотвращая ингибирующее влияние этого комплекса на аутофагию [54, 70, 71]. Способность экзогенно вводимого адипонектина предотвращать нарушения в почках мышей с нокаутом гена, кодирующего адипонектин, а также ослаблять альбуминурию, во многом обусловлена восстанавливающим действием адипонектина на активность АМПК в подоцитах [72].

Таким образом, повышение активности АМПК в почечных канальцах, сниженной в условиях СД и гипергликемии, представляет собой многообещающий подход для восстановления функций подоцитов. Как известно, одним из активаторов АМПК является метформин, который широко применяется для лечения СД 2-го типа [73]. Имеются основания полагать, что высокая эффективность метформиновой терапии по отношению к ДН, по крайней мере, частично обусловлена восстановлением АМПК-сигнализации в гломерулярных подоцитах [74, 75].

#### РОЛЬ Rho/ROCK-СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ В РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА И ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА В ПОДОЦИТАХ

Малые GTP-азы Rho-семейства – RhoA, Rac1 и Cdc42, ответственны за функционирование актинового цитоскелета в большинстве типов клеток, включая подоциты [76, 77]. Характерными признаками ДН являются структурные нарушения цитоскелета подоцитов, в том числе утрата ими отростков и распластывание “ножек” с последующим “оголением” гломерулярной базальной мембраны. Поэтому одной из причин нарушений гломерулярной фильтрации не без оснований считают дисфункции в Rho/ROCK-

сигнальных путях, включающих в качестве компонентов GTP-азы Rho-семейства и Rho-ассоциированную Ser/Thr-протеинкиназы ROCK-семейства [78]. Характер изменений активности GTP-аз Rho-семейства в подоцитах при ДН определяется механизмами и тяжестью повреждений и во многом зависит от регулируемого ими сигнального каскада [4, 79, 80]. Причинами повреждения и гибели подоцитов могут быть как гиперактивация сигнальных каскадов, регулируемых различными типами GTP-аз Rho-семейства, так и в значительной степени выраженное снижение их активности [4, 80, 81]. Другими словами, для нормального функционирования подоцитов необходим “средневзвешенный” уровень экспрессии и активности GTP-аз Rho-семейства, в первую очередь RhoA [80, 82]. Необходимо отметить, что RhoA/ROCK1-сигнальный путь вовлечен в контроль апоптоза, миграции и дифференцировки не только подоцитов, но и других гломерулярных клеток, что указывает на его ключевую роль в развитии ДН и других патологий почек [4, 83, 84].

Активирующее влияние на RhoA/ROCK1-сигнальный путь оказывают такие диабетогенные факторы, как длительная гипергликемия, конечные продукты гликирования, окисленные формы липопротеидов низкой плотности и другие продукты нарушенного липидного обмена, а также активные формы кислорода и азота [85–89]. Индуцированная высокими концентрациями глюкозы активация RhoA/ROCK1-пути в подоцитах усиливает Ser<sup>600</sup>-фосфорилирование Dp1-белка, ответственного за слияние митохондрий, что стимулирует продукцию свободных радикалов в митохондриях и запускает митохондриальный апоптоз [90]. Результаты генетических исследований показывают, что нокаут гена, кодирующего ROCK1, предотвращает негативное влияние гипергликемии на митохондриальную динамику и апоптоз в подоцитах мышей со стрептозотоциновым СД, в то время как экспрессия конститутивно активной формы ROCK1, напротив, усиливает повреждающее воздействие гипергликемии на клубочковую фильтрацию [90].

Повышение продукции 3-фосфоинозитидов фосфатидилинозитол-3-киназой и, как следствие, повышенный уровень активности фосфатазы PTEN (phosphatase and tensin homolog) в подоцитах предотвращают гиперактивацию RhoA/Rac1/Cdc42-зависимых сигнальных путей, восстанавливая функции цитоскелета и предотвращая развитие ДН. В свою очередь, фармакологическое ингибирование PTEN или нокаут кодирующего ее гена вызывают обратный эффект, усугубляя нарушения клубочковой фильтрации и способствуя развитию ДН [91, 92]. Усиление экс-

прессии гена, кодирующего PTEN в подоцитах мышей с СД, приводит к ослаблению у них альбуминурии, нормализует структуру мезангиального матрикса и морфологию подоцитов, способствует сохранению нормальной толщины гломерулярной базальной мембраны [93]. В этой связи необходимо отметить, что в подоцитах пациентов с очаговым сегментарным гломерулосклерозом, в подоцитах *db/db*-мышей с СД 2-го типа и в культивируемых подоцитах, помещенных в среду с высоким содержанием глюкозы, экспрессия и активность фосфатазы PTEN снижены, что, возможно, является основным фактором усиления в них RhoA/ROCK1-сигнального пути [91, 93].

Как отмечалось выше, нарушения функций подоцитов и вызванная этим протеинурия могут быть обусловлены снижением экспрессии и активности RhoA-белка, что препятствует формированию сократительных пучков актина и активирует апоптоз [81, 82, 94, 95]. Снижение экспрессии RhoA-белка в подоцитах ослабляет его взаимодействие с белками mDia (mammalian diaphanous-related formins), относящимися к семейству форминов, которые являются эффекторами RhoA-белка и ответственны за формирование актиновых пучков [96, 97]. Снижение экспрессии RhoA также приводит к ингибированию антиапоптотического фактора YAP (Yes-associated protein), эффекторного компонента Hippo-сигнального пути, контролирующего экспрессию генов, вовлеченных в регуляцию пролиферации и апоптоза, результатом чего является активация в подоцитах проапоптотических процессов и снижение их выживаемости [78, 98–100]. Ингибирование фактора YAP, вызванное другими причинами, также стимулирует апоптотические процессы в подоцитах [100, 101]. Взаимосвязь между снижением экспрессии RhoA-белка и ингибированием RhoA/ROCK1-сигнального пути, с одной стороны, и нарушением mDia-опосредуемого формирования цитоскелета и активацией апоптоза, обусловленного снижением активности фактора YAP, с другой, продемонстрирована на моделях повреждения подоцитов бактериальным липополисахаридом или адриамицином. К сходному результату – подавлению в подоцитах образования актиновых пучков и снижению их выживаемости, приводит и ингибирование экспрессии белков mDia и RhoA с помощью микроРНК, причем нокаут гена, кодирующего проапоптотический белок дендрин, предотвращает апоптоз подоцитов, вызванный ингибированием экспрессии RhoA, mDia-белков и фактора YAP [81].

## РОЛЬ КАЛЬЦИЕВЫХ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ В ПОВРЕЖДЕНИИ ПОДОЦИТОВ И АКТИВАЦИИ В НИХ АПОПТОЗА

Одним из ключевых механизмов повреждения подоцитов и запуска в них апоптоза является гиперактивация кальциевых каналов семейства TRPC (Transient receptor potential canonical channel), что приводит к значительному повышению уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$ . В подоцитах экспрессируются пять типов TRPC-каналов, но только три из них (TRPC3, TRPC5, TRPC6) участвуют в регуляции входа  $Ca^{2+}$  в подоциты в физиологических условиях [102–111]. Наибольшее значение для активации апоптоза в подоцитах и развития ДН имеют TRPC6-каналы, на что указывают результаты молекулярно-генетических исследований их мутантных форм и данные по изучению активности и регуляторных свойств этих каналов [105, 111–113]. Наряду с этим имеются сведения, что определенный вклад в нарушение функций подоцитов вносят и TRPC5-каналы [103, 106, 114].

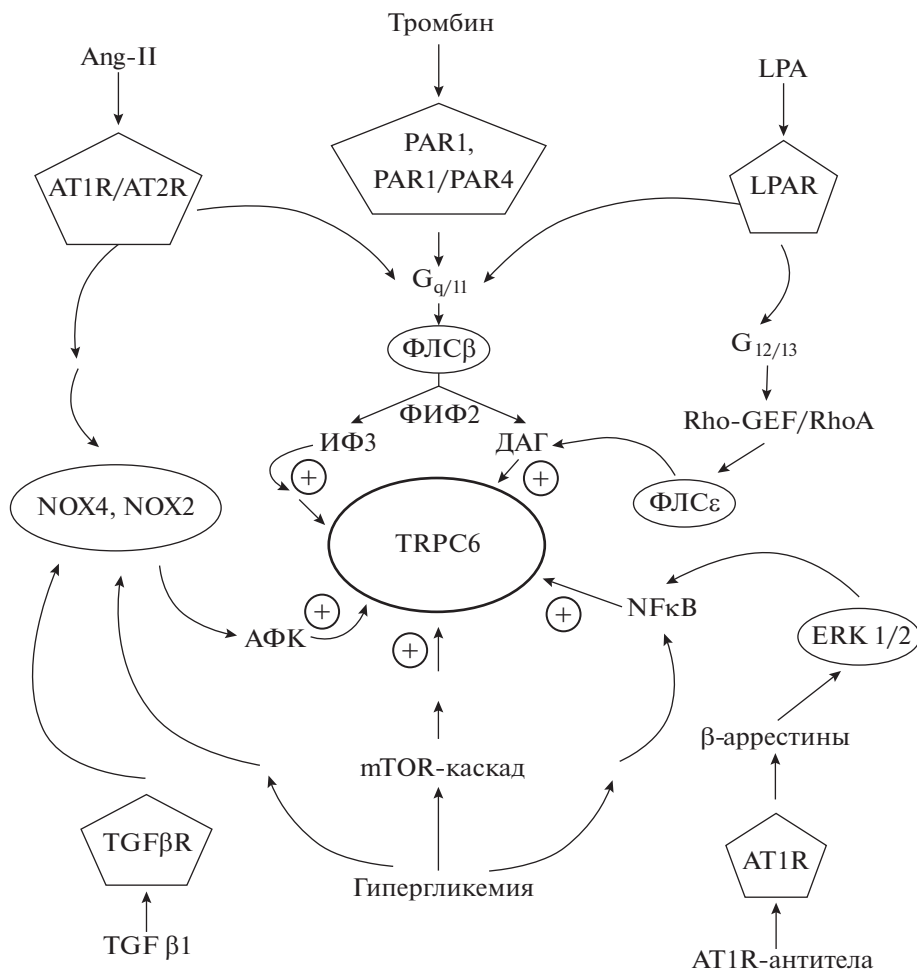
У пациентов с очаговым сегментарным гломерулосклерозом выявлены мутации, вызывающие гиперактивацию TRPC6-каналов, в то время как нокаут кодирующего их гена предотвращает повреждение подоцитов у экспериментальных животных, снижая частоту патологических изменений в почечных клубочках [105, 113, 114]. Экспрессия и активность TRPC6 регулируется рядом гормонов и регуляторных факторов, действие которых в основном направлено на активацию фосфоинозитид-специфичной фосфолипазы  $C\epsilon$ , а также может усиливаться под влиянием активных форм кислорода и глюкозы, преимущественно через Wnt/ $\beta$ -катениновый путь [108, 109, 112, 115–118] (рис. 2). В отличие от фосфолипазы  $C\beta$ , активность которой регулируется преимущественно через рецепторы, сопряженные с  $G_{q/11}$ -белками, определяющую роль в регуляции фосфолипазы  $C\epsilon$  играют малые G-белки Ras-семейства и RhoA-зависимые сигнальные пути [119]. В результате повышения активности фосфолипазы  $C\epsilon$  в подоцитах повышается уровень диацилглицерина, опосредующего активацию TRPC6-каналов [115]. При этом в подоцитах продемонстрировано образование прочных комплексов между TRPC6 и фосфолипазой  $C\epsilon$ . Активация TRPC6 не предотвращается нокаутом гена, кодирующего  $G_{\alpha_{q/11}}$ -субъединицу, но снижается в присутствии токсинов, ингибирующих GTP-азы Rho-семейства, и малых интерферирующих РНК, ингибирующих экспрессию фосфолипазы  $C\epsilon$  [117]. В подоцитах с нокаутом  $G_{\alpha_{q/11}}$ -субъединицы активность TRPC6 стимулировалась лизофосфатидной кислотой, рецептор которой со-

пряжен как с  $G_{q/11}$ , так и с  $G_{12/13}$ -белками, что может указывать на участие  $G_{12/13}$ -опосредуемой активации RhoA-белка и фосфолипазы  $C\epsilon$  в активации TRPC6 [117] (рис. 2).

Основным гормоном, стимулирующим активность и экспрессию TRPC6 в подоцитах, является ангиотензин-II, продукт ренин-ангиотензиновой системы, важнейший медиатор воспаления и фиброза в почках при прогрессирующей хронической нефропатии [120, 121]. В подоцитах ангиотензин-II контролирует уровень внутриклеточного  $Ca^{2+}$  через два типа ангиотензиновых рецепторов – AT1 и AT2 [122]. Гиперактивация AT1-рецептора вызывает протеинурию и фокальный сегментарный гломерулосклероз [123], в то время как гиперактивация AT2-рецепторов в подоцитах опосредует стимулирующее влияние ангиотензина-II на активность и экспрессию TRPC6-каналов и зависимый от них апоптоз [116, 124, 125] (рис. 2). Повышение уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$  в подоцитах при обработке ангиотензином-II происходит как вследствие поступления  $Ca^{2+}$  извне [108, 109, 116], так и из внутриклеточных депо через ретикулярные кальциевые каналы [126].

Среди механизмов стимуляции TRPC6-каналов ангиотензином-II наибольшую роль играет активация NADPH-оксидаз, в первую очередь изоформ NOX2 и NOX4 [111, 112, 127, 128]. Они ответственны за продукцию активных форм кислорода в подоцитах, а их экспрессия и активность повышаются в условиях характерных для СД гипергликемии и повышенного содержания конечных продуктов гликирования, а также при повышении в крови концентрации ангиотензина-II и TGF $\beta$ 1, регулирующего процессы роста и дифференцировки клеток [129]. Установлено, что гипергликемия приводит к повышению активности NOX4 в подоцитах вследствие снижения активности АМПК, что приводит к усилению активирующих эту оксидазу TORC1- и TGF $\beta$ 1-зависимых путей. Другой механизм включает повышение активности цитохрома P450 4A-семейства (CYP4A), катализирующего синтез 20-гидроксиэйкозатетраеновой кислоты, являющейся мощным стимулятором NOX4 [129]. Вызываемая ангиотензином-II активация AT1- и AT2-рецепторов в подоцитах приводит к активации NOX4 и усилению продукции перекиси водорода, что, в свою очередь, вызывает активацию TRPC6, повышает концентрацию внутриклеточного  $Ca^{2+}$  и индуцирует апоптоз [112] (рис. 2). Нокаут гена, кодирующего NOX4, в подоцитах крыс со стрептозотоциновым СД 1-го типа снижает как базальный, так и стимулированный ангиотензином-II уровень внутриклеточного  $Ca^{2+}$  и, тем самым, препятствует повреждению подоцитов [128].





**Рис. 2.** Молекулярные механизмы регуляции экспрессии и активности TRPC6-каналов в норме и в условиях диабетической нефропатии. TRPC6 – кальциевые каналы TRPC-семейства 6-го типа; Ang-II – ангиотензин-II; AT<sub>1</sub>R/AT<sub>2</sub>R – ангиотензиновые рецепторы 1-го и 2-го типов; AT<sub>1</sub>R-антитела – стимулирующие антитела ко второй внеклеточной петле ангиотензинового рецептора 1-го типа; LPA – лизофосфатидная кислота; LPAR – рецептор лизофосфатидной кислоты; TGFβ1 – трансформирующий ростовой фактор-β1; TGFβR – рецептор TGFβ1; PAR1, PAR1/PAR4 – протеиназа-активируемый рецептор 1-го типа и его гетеродимерный комплекс с протеиназа-активируемым рецептором 4-го типа; G<sub>q/11</sub>, G<sub>12/13</sub> – гетеротримерные G-белки q/11- и 12/13-типов; Rho-GEF – гуаниннуклеотид-обменный фактор Rho-семейства; RhoA – GTP-аза Rho-семейства; ФЛСβ, ФЛСε – фосфоинозитид-специфичные фосфолипазы Cβ и Cε; ФИФ2 – фосфатидилинозитолдифосфат; ИФ3 – инозитол-1,4,5-трифосфат; ДАГ – диацилглицерин; NFκB – ядерный фактор κB; ERK1/2 – регулируемые внеклеточными сигналами киназы-1/2, относящиеся к MAPK; NOX2, NOX4 – изоформы 2 и 4 NADPH-оксидазы; АФК – активные формы кислорода.

К сходному результату приводит нокаут гена *TRPC6*, который снижает чувствительность подоцитов к повреждающему воздействию перекиси водорода, продуцируемой NOX4 [112].

Другой механизм, расшифрованный с помощью специфичных к AT<sub>1</sub>-рецептору стимулирующих антител, выработанных на антигенные детерминанты во второй внеклеточной петле рецептора (AT<sub>1</sub>-AA), включает запуск в подоцитах каскада MAPK [125] (рис. 2). Антитела AT<sub>1</sub>-AA снижали экспрессию ряда специфичных для подоцитов белков, ингибировали активность кальцинейрина, повышали фосфорилирование

ERK1/2-киназ, увеличивали экспрессию и активность TRPC6 и повышали уровень внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>, что приводило к нарушению формирования F-актинового цитоскелета и запуску апоптоза в подоцитах. Ингибирование ERK1/2-киназ предотвращало эти эффекты, что указывает на участие каскада MAPK и пути TRPC6/Ca<sup>2+</sup>/кальцинейрин в повреждении подоцитов стимулирующими антителами, специфичными к AT<sub>1</sub>-рецептору [125]. Сходный кальцинейриновый путь участвует в реализации повреждающего эффекта на подоциты и самого ангиотензина-II [124]. Активация ERK1/2-киназ

повышает экспрессию и активность TRPC6, мимикрируя эффекты ангиотензина-II и стимулирующих антител к AT1-рецептору [130]. Сигнальные пути, опосредующие стимулирующий эффект ангиотензина-II на экспрессию TRPC6, могут включать и другие типы MAPK, в том числе JNK-киназу, а также провоспалительный фактор NF-κB [131].

Стимуляция TRPC6-каналов может быть вызвана агонистами Ca<sup>2+</sup>-чувствительных рецепторов CaSR, как высокими концентрациями ионов кальция (более 3 мМ [Ca<sup>2+</sup>]<sub>o</sub>, агонист CaSR 1-го типа), так и кальциймиметиком R-568 (агонист CaSR 2-го типа). Необходимо отметить, что CaSR вовлечены в регуляцию секреции и абсорбции Ca<sup>2+</sup> в почечных канальцах [132]. Индуцированное CaSR-агонистами повышение уровня Ca<sup>2+</sup> в клетке может осуществляться как вследствие активации кальциевых каналов внутриклеточных депо, через G<sub>q/11</sub>-белки и фосфолипазу Cβ, так и при активации каналов TRPC-семейства, как это показано для мезангиальных клеток почечных клубочков [133]. В результате воздействия CaSR-агонистов на подоциты в них запускаются RhoA-зависимые сигнальные пути, и повышается активность TRPC6-каналов. В присутствии микроРНК sc-29471, снижающих экспрессию RhoA-белка, а также при ингибировании TRPC6, стимулирующее влияние CaSR-агонистов на формирование сократительных пучков актина и апоптотические процессы подавляется [134]. Необходимо отметить, что при активации CaSR с помощью относительно высоких концентраций Ca<sup>2+</sup> (0.5 мМ) или селективного агониста CaSR 2-го типа R-568 отмечается умеренная TRPC6-зависимая активация RhoA-зависимых путей, что важно для нормальной жизнедеятельности и выживаемости клеток [134]. В этом случае TRPC6 являются не мишенью для RhoA-зависимых путей, как это показано при активации TRPC6 через рецептор лизофосфатидной кислоты [117], а сами регулируют функциональную активность RhoA-зависимых путей. Имеются основания полагать, что активация TRPC6 может реализовываться через β-аррестинные пути и активируемые через них MAPK, поскольку сигнальный путь, включающий CaSR, β-аррестины и MAPK в настоящее время подробно изучен для агонист-стимулированного CaSR [135, 136].

Функции активаторов TRPC6 могут выполнять агонисты протеиназа-активируемых рецепторов (PAR), все четыре типа которых, хотя и в различной степени, представлены в подоцитах. Рецепторы PAR опосредуют регуляцию тромбином и другими PAR-агонистами функциональной активности и выживаемости подоцитов и

всего процесса гломерулярной фильтрации [137–139]. Наиболее важная роль отводится рецептору PAR1, активность которого стимулируется тромбином и эндотелиальным тромбомодулином. Его избыточная активация приводит к значительному повышению концентрации внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>, апоптозу подоцитов и прогрессированию гломерулонефрита [140, 141]. В то же время, активация PAR2 и PAR4 существенного влияния на приток Ca<sup>2+</sup> в подоциты и на апоптоз не оказывает [141]. В основе PAR1-опосредуемого повышения уровня Ca<sup>2+</sup> внутри подоцитов лежит активация экспрессии и активности TRPC6 [107], хотя нельзя исключить и других механизмов действия PAR1-агонистов, которые через посредство G<sub>q/11</sub>-сопряженных PAR1 активируют фосфолипазу Cβ и, тем самым, повышают продукцию вторичных посредников – инозитол-1,4,5-трифосфата, стимулирующего выход Ca<sup>2+</sup> из внутриклеточных депо, и диацилглицерина, активирующего как TRPC6-каналы, так и форбол-чувствительные изоформы протеинкиназы C (рис. 2). Необходимо отметить, что в моче пациентов с СД 2-го типа и ДН уровни тромбина сильно повышены, что свидетельствует об усилении продукции этого эндогенного агониста PAR1 (но не PAR2) в условиях СД. Уровень тромбина в моче положительно коррелирует с тяжестью повреждения подоцитов и выраженностью альбуминурии [142, 143]. Однако молекулярные механизмы, связывающие повышение уровня тромбина в моче и нарушения гломерулярной фильтрации еще предстоит установить.

Нокаут гена *Par1* предотвращал развитие тяжелых повреждений гломерул у мышей с СД 1-го типа и сильно выраженной гипергликемией [137]. У них в меньшей степени были выражены протеинурия, слабее проявлялись признаки атрофии почечных канальцев, в подоцитах и мезангиальных клетках была снижена экспрессия матричных белков, маркеров фиброзных изменений [137]. Важно отметить, что в почках мышей с СД 1-го типа, имеющих нормальный ген *Par1*, экспрессия PAR1 повышалась в 3–4 раза в сравнении с контролем. Значительное повышение экспрессии PAR1 в почках и накопление PAR1-иммунопозитивных клеток в гломерулах отмечали у мышей линии *db/db* с СД 2-го типа и умеренной гипергликемией [144].

Одним из дополнительных механизмов PAR-опосредуемой регуляции кальциевого сигналинга в подоцитах может быть модуляция и потенцирование активности PAR путем образования ими гетеродимерных и гетероолигомерных комплексов [138]. В подоцитах крысы усиливающее влияние PAR1-агонистов зависит от экспрессии и активности PAR4, что может указывать на то, что их мишенями являются не гомодимерные формы

PAR1, а комплексы PAR1/PAR4. В подоцитах человека повреждающие эффекты PAR4-агонистов опосредуются вовлечением в них PAR3, что может свидетельствовать о формировании гетеродимерных комплексов PAR3/PAR4 [138]. Образование гетеродимерных PAR-комплексов приводит к аллостерическим изменениям в рецепторах, что делает их более чувствительными к активации тромбином и другими PAR-агонистами и меняет эффекторную специфичность, опосредуя преимущественную активацию сигнальных путей, реализуемых либо через определенные типы G-белков, либо через  $\beta$ -аррестины [145]. Необходимо отметить, что агонист-индуцированная активация PAR, ангиотензиновых рецепторов, CaSR и ряда других GPCR приводит к активации  $\beta$ -аррестинов и Wnt/ $\beta$ -катенинового пути, что, в свою очередь, может вызывать стимуляцию TRPC6-каналов [14]. Следовательно, фармакологическая регуляция PAR-зависимых путей и, в первую очередь, ингибирование PAR1 в подоцитах, являются перспективными подходами для нормализации функций подоцитов и коррекции заболеваний почек, включая ДН [141, 146].

Необходимо отметить существование тесной взаимосвязи между mTOR-зависимыми сигнальными путями, направленными на активацию транскрипционного фактора NF $\kappa$ B, и экспрессией и активностью TRPC6-каналов [61, 147]. Показано, что вызываемое адриамицином повышение активности TRPC6 полностью предотвращалось KU0063794, ингибитором mTORC1 и mTORC2 [61]. Обработка крыс с СД 1-го типа и ДН лефлуномидом и бензаеприлом снижала продукцию NF $\kappa$ B и вызывала ассоциированное с этим снижение активности TRPC6-каналов [147]. Поскольку в промоторе гена, кодирующего TRPC6, имеются участки, специфично регулируемые NF $\kappa$ B, то имеются основания полагать, что свое влияние на активность TRPC6-каналов фактор NF $\kappa$ B оказывает в основном на уровне регуляции транскрипции этого гена [148].

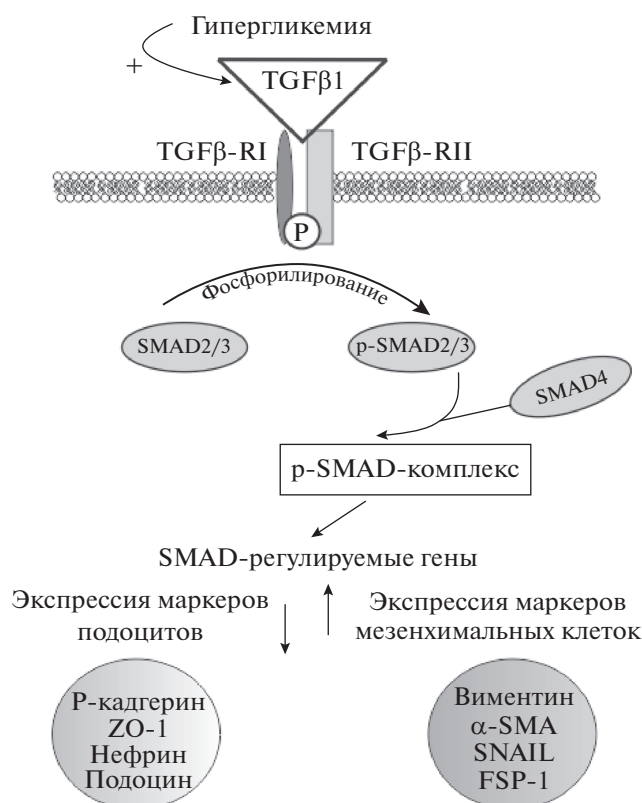
### ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЙ ПЕРЕХОД ПОДОЦИТОВ

Как отмечалось выше, наряду с апоптозом подоцитов, важную роль в развитии ДН и протеинурии играет ЭМП, когда эпителиальные клетки теряют свои первоначальные особенности, приобретают характеристики мезенхимальных клеток, результатом чего являются ослабление межклеточных контактов и нарушение полярности клеток [149, 150]. В условиях ЭМП повышается экспрессия маркеров мезенхимальных клеток, таких как виментин,  $\alpha$ -актин гладких мышц ( $\alpha$ -SMA), специфичный к фибробластам белок-1 (fibro-

blast-specific protein 1, FSP-1), и, напротив, снижается экспрессия маркеров эпителиальных клеток, в том числе подоцитов – E/P-кадгерина, фактора ZO-1, подокаликсина, синаптоподина и нефрина [14, 150–152]. Важнейшим пусковым механизмом ЭМП, как и в случае апоптоза подоцитов, является гипергликемия. Уже на начальной стадии стрептозотоцинового СД морфология подоцитов в почках крыс претерпевает значительные изменения, что сопровождается снижением экспрессии нефрина, маркера дифференцированных подоцитов, и повышением экспрессии белка десмина, маркера мезенхимальных клеток [153]. Подавляющее большинство подоцитов в мочевом осадке пациентов с СД 2-го типа, половина из которых имели сильно выраженную протеинурию, имели положительную реакцию на белок FSP-1, а также повышенную экспрессию белка SNAIL и интегрин-ассоциированной киназы (integrin-linked kinase, ILK), ответственных за индукцию ЭМП [154]. В экспериментах *in vitro* показано, что в подоцитах, инкубированных в среде с высоким содержанием глюкозы, усиливается экспрессия  $\alpha$ -SMA, десмина, белков SNAIL и FSP-1, а также снижается экспрессия нефрина, P-кадгерина, синаптоподина и подокаликсина [155–157].

Имеются несколько механизмов стимулирующего влияния гипергликемии на ЭМП [158]. Наиболее важным среди них является вызываемая высокими концентрациями глюкозы активация TGF $\beta$ 1/SMAD-сигнального каскада, который индуцируется TGF $\beta$ 1-опосредуемой активацией гетеродимерного комплекса TGF $\beta$ -рецепторов 1-го и 2-го типов, что приводит к фосфорилированию белков SMAD2 и SMAD3, их ассоциации с белком SMAD4, образованию гетероолигомерного SMAD-комплекса и его транслокации в ядро. Взаимодействие этого комплекса с регуляторными участками SMAD-зависимых генов приводит к изменению их транскрипционной активности, вызывая повышение экспрессии SNAIL,  $\alpha$ -SMA, матриксной металлопротеиназы-9 и ряда других белков, вовлеченных в ЭМП, а также к снижению экспрессии P-кадгерина, важнейшего маркера подоцитов [158–160] (рис. 3). Другие сигнальные пути играют меньшую роль в индукции ЭМП в условиях гипергликемии, причем их действие, как правило, реализуется в тесном взаимодействии с TGF $\beta$ 1/SMAD-сигнальным каскадом.

Активация Wnt/ $\beta$ -катенинового пути вызывает дефосфорилирование  $\beta$ -катенина по N-концевым сайтам и способствует его накоплению в цитоплазме с последующей транслокацией в ядро. К сходному результату приводит интегрин-опосредуемая активация киназы ILK, которая фосфорилирует GSK-3 $\beta$ , Akt-киназу и p38-мито-



**Рис. 3.** Молекулярные механизмы активации эпителиально-мезенхимального перехода в подоцитах в условиях гипергликемии и диабетической патологии. TGFβ1 – трансформирующий ростовой фактор-β1; TGFβ-RI и TGFβ-RII – рецепторы TGFβ1 1-го и 2-го типов; SMAD2/3/4 – белки семейства SMAD (Similar to Mothers Against Decapentaplegic), выполняющие функции трансдукторов в TGFβ1-сигнальных каскадах; p-SMAD2/3 – фосфорилированные формы SMAD2 и SMAD3, способные образовывать SMAD-комплекс и транслоцироваться в ядро; ZO-1 – белок-1 зоны плотного контакта (Zonula Occludens-1); α-SMA – α-актин гладких мышц; FSP-1 – специфичный к фибробластам белок-1 (Fibroblast-Specific Protein-1); SNAIL – транскрипционный фактор, ингибирующий E-кадгерин и индуцирующий ЭМП.

генактивируемую протеинкиназу, а также активация 3-фосфоинозитидного пути и каскада митогенактивируемых протеинкиназ через рецептор TGFβ [158]. Показано, что повышение активности ILK, как и ассоциированное с этим повышением экспрессии α-SMA, является важнейшим маркером ЭМП подоцитов и нарушения гломерулярной фильтрации [158, 161]. Ряд фармакологических подходов, ингибирующих β-катениновые сигнальные пути, способны предотвратить ЭМП подоцитов [4, 156, 162, 163]. При этом наибольший интерес представляют подходы, направленные на ингибирование активности GSK-3β как с помощью малых интерферирующих РНК, так и с помощью низкомолекулярных ингибиторов фермента [164, 165]. Так введение *db/db*-мышам с генетически обусловленным СД 2-го типа ингибитора GSK-3β – (2'Z,3'E)-6-броминдирубин-3'-оксима ингибировало ЭМП, на что указывает восстановление экспрессии нефрина, подоцина и синаптоподина, сниженных при СД, и нормализация уровня экспрессии ме-

зенхимальных маркеров – α-SMA и фибронектина, повышенных при СД, а также снижение уровня β-катенина. В этой связи важно отметить, что повышение активности GSK-3β в подоцитах критично для индукции ЭМП и апоптоза, что продемонстрировано *in vitro* в культивируемых подоцитах мыши и *in vivo* в гломерулах грызунов с СД 1-го типа [167].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленный выше анализ механизмов регуляции апоптотических процессов и запуска ЭМП в подоцитах демонстрирует множественность факторов, влияющих на них в норме и при ДН через изменение взаимодействующих между собой сигнальных каскадов, опосредующих как стимуляцию, так и ингибирование апоптоза. В соответствии с этим в настоящее время в подоцитах определен широкий спектр молекулярных мишеней, регуляция экспрессии и активности которых может быть использована для лечения и

предотвращения ДН и других заболеваний почки. Среди них кальциевые TRPC6-каналы, компоненты Wnt/ $\beta$ -катенинового, mTOR- и Rho/ROCK-зависимых сигнальных каскадов, ферменты с оксидазной активностью, ответственные за поддержание окислительно-восстановительного баланса в подоцитах, а также лиганды рецептора TGF $\beta$ 1, ангиотензиновых рецепторов, PAR, CaSR, рецептора лизофосфатидной кислоты, которые регулируют активность и экспрессию перечисленных выше эффекторных белков.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-14-00114).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дедов И.И., Шестакова М.В. 2000. *Диабетическая нефропатия*. М.: Универсум Паблишинг. 240 с.
2. Lal M.A., Patrakka J. 2018. Understanding podocyte biology to develop novel kidney therapeutics. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. **9**, 409. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00409>
3. Torban E., Braun F., Wanner N., Takano T., Goodyer P.R., Lennon R., Ronco P., Cybulsky A.V., Huber T.B. 2019. From podocyte biology to novel cures for glomerular disease. *Kidney Int.* **96** (4), 850–861. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2019.05.015>
4. Dai H., Liu Q., Liu B. 2017. Research progress on mechanism of podocyte depletion in diabetic nephropathy. *J. Diabetes Res.* 2017, **2615286**. <https://doi.org/10.1155/2017/2615286>
5. Tung C.W., Hsu Y.C., Shih Y.H., Chang P.J., Lin C.L. 2018. Glomerular mesangial cell and podocyte injuries in diabetic nephropathy. *Nephrology (Carlton)*. **23** (Suppl. 4), 32–37. <https://doi.org/10.1111/nep.13451>
6. Lin T.A., Wu V.C., Wang C.Y. 2019. Autophagy in chronic kidney diseases. *Cells*. **8** (1), pii: E61. <https://doi.org/10.3390/cells8010061>
7. Willert K., Nusse R. 2012. Wnt proteins. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **4** (9), a007864. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007864>
8. Wang Y., Chang H., Rattner A., Nathans J. 2016. Frizzled receptors in development and disease. *Curr. Top. Dev. Biol.* **117**, 113–139. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2015.11.028>
9. Jin T., George Fantus I., Sun J. 2008. Wnt and beyond Wnt: Multiple mechanisms control the transcriptional property of beta-catenin. *Cell. Signal.* **20** (10), 1697–1704. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2008.04.014>
10. Chiang Y.T., Ip W., Jin T. 2012. The role of the Wnt signaling pathway in incretin hormone production and function. *Front. Physiol.* **3**, 273. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00273>
11. Taurin S., Sandbo N., Qin Y., Browning D., Dulin N.O. 2006. Phosphorylation of beta-catenin by cyclic AMP-dependent protein kinase. *J. Biol. Chem.* **281** (15), 9971–9976. <https://doi.org/10.1074/jbc.M508778200>
12. Zhu G., Wang Y., Huang B., Liang J., Ding Y., Xu A., Wu W. 2012. A Rac1/PAK1 cascade controls beta-catenin activation in colon cancer cells. *Oncogene*. **31** (8), 1001–1012. <https://doi.org/10.1038/onc.2011.294>
13. Wan J., Hou X., Zhou Z., Geng J., Tian J., Bai X., Nie J. 2017. WT1 ameliorates podocyte injury via repression of EZH2/ $\beta$ -catenin pathway in diabetic nephropathy. *Free Radic. Biol. Med.* **108**, 280–299. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.03.012>
14. Guo Q., Zhong W., Duan A., Sun G., Cui W., Zhuang X., Liu L. 2019. Protective or deleterious role of Wnt/beta-catenin signaling in diabetic nephropathy: An unresolved issue. *Pharmacol. Res.* **144**, 151–157. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.03.022>
15. Xiao L., Wang M., Yang S., Liu F., Sun L. 2013. A glimpse of the pathogenetic mechanisms of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in diabetic nephropathy. *BioMed Res. Int.* 2013, **7**. <https://doi.org/10.1155/2013/987064.987064>
16. Bose M., Almas S., Prabhakar S. 2017. Wnt signaling and podocyte dysfunction in diabetic nephropathy. *J. Investig. Med.* **65** (8), 1093–1101. <https://doi.org/10.1136/jim-2017-000456>
17. Zhou L., Chen X., Lu M., Wu Q., Yuan Q., Hu C., Miao J., Zhang Y., Li H., Hou F.F., Nie J., Liu Y. 2019. Wnt/ $\beta$ -catenin links oxidative stress to podocyte injury and proteinuria. *Kidney Int.* **95** (4), 830–845. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2018.10.032>
18. Dai C., Stolz D.B., Kiss L.P., Monga S.P., Holzman L.B., Liu Y. 2009. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling promotes podocyte dysfunction and albuminuria. *J. Am. Soc. Nephrol.* **20** (9), 1997–2008. <https://doi.org/10.1681/ASN.2009010019>
19. Zhou T., He X., Cheng R., Zhang B., Zhang R.R., Chen Y., Takahashi Y., Murray A.R., Lee K., Gao G., Ma J.X. 2012. Implication of dysregulation of the canonical wingless-type MMTV integration site (WNT) pathway in diabetic nephropathy. *Diabetologia*. **55** (1), 255–266. <https://doi.org/10.1007/s00125-011-2314-2>
20. Duan S., Wu Y., Zhao C., Chen M., Yuan Y., Xing C., Zhang B. 2016. The wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway participates in rhein ameliorating kidney injury in DN mice. *Mol. Cell. Biochem.* **411** (1–2), 73–82. <https://doi.org/10.1007/s11010-015-2569-x>
21. Guo J., Lu C., Zhang F., Yu H., Zhou M., He M., Wang C., Zhao Z., Liu Z. 2017. VDR activation reduces proteinuria and high-glucose-induced injury of kidneys and podocytes by regulating Wnt signaling pathway. *Cell. Physiol. Biochem.* **43** (1), 39–51. <https://doi.org/10.1159/000480315>

22. Zhou Z., Wan J., Hou X., Geng J., Li X., Bai X. 2017. MicroRNA-27a promotes podocyte injury via PPAR $\gamma$ -mediated  $\beta$ -catenin activation in diabetic nephropathy. *Cell Death Dis.* **8** (3), e2658. <https://doi.org/10.1038/cddis.2017.74>
23. Wang X., Gao Y., Tian N., Zou D., Shi Y., Zhang N. 2018. Astragaloside IV improves renal function and fibrosis via inhibition of miR-21-induced podocyte dedifferentiation and mesangial cell activation in diabetic mice. *Drug Des. Devel. Ther.* **6** (12), 2431–2442. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S170840>
24. Wang Y., Li H., Song S.P. 2018.  $\beta$ -Arrestin 1/2 aggravates podocyte apoptosis of diabetic nephropathy via wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *Med. Sci. Monit.* **24**, 1724–1732. <https://doi.org/10.12659/msm.905642>
25. Buelli S., Rosant L., Gagliardini E., Corna D., Longaretti L., Pezzotta A., Perico L., Conti S., Rizzo P., Novelli R., Morigi M., Zoja C., Remuzzi G., Bagnato A., Benigni A. 2014.  $\beta$ -arrestin-1 drives endothelin-1-mediated podocyte activation and sustains renal injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* **25** (3), 523–533. <https://doi.org/10.1681/ASN.2013040362>
26. Liu J., Li Q.X., Wang X.J., Zhang C., Duan Y.Q., Wang Z.Y., Zhang Y., Yu X., Li N.J., Sun J.P., Yi F. 2016.  $\beta$ -Arrestins promote podocyte injury by inhibition of autophagy in diabetic nephropathy. *Cell Death Dis.* **7**, e2183. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.89>
27. Bowin C.F., Inoue A., Schulte G. 2019. WNT-3A-induced  $\beta$ -catenin signaling does not require signaling through heterotrimeric G proteins. *J. Biol. Chem.* **294** (31), 11677–11684. <https://doi.org/10.1074/jbc.AC119.009412>
28. Bryja V., Gradl D., Schambony A., Arenas E., Schulte G. 2007. Beta-arrestin is a necessary component of Wnt/beta-catenin signaling *in vitro* and *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **104** (16), 6690–6695. <https://doi.org/10.1073/pnas.0611356104>
29. Xu H., Li Q., Liu J., Zhu J., Li L., Wang Z., Zhang Y., Sun Y., Sun J., Wang R., Yi F. 2018.  $\beta$ -Arrestin-1 deficiency ameliorates renal interstitial fibrosis by blocking Wnt1/ $\beta$ -catenin signaling in mice. *J. Mol. Med. (Berl.)*. **96** (1), 97–109. <https://doi.org/10.1007/s00109-017-1606-5>
30. Cheng R., Ding L., He X., Takahashi Y., Ma J.X. 2016. Interaction of PPAR $\alpha$  with the canonic wnt pathway in the regulation of renal fibrosis. *Diabetes.* **65** (12), 3730–3743. <https://doi.org/10.2337/db16-0426>
31. Lecarpentier Y., Claes V., Vallée A., Hébert J.L. 2017. Interactions between PPAR gamma and the canonical Wnt/Beta-Catenin pathway in type 2 diabetes and colon cancer. *PPAR Res.* 2017, **5879090**. <https://doi.org/10.1155/2017/5879090>
32. Lecarpentier Y., Vallée A. 2016. Opposite interplay between PPAR gamma and canonical Wnt/Beta-Catenin pathway in amyotrophic lateral sclerosis. *Front. Neurol.* **28** (7), 100. <https://doi.org/10.3389/fneur.2016.00100>
33. Gao L., Hu Y., Li J. 2017. Pigment epithelium-derived factor protects human glomerular mesangial cells from diabetes via NOXO1-iNOS suppression. *Mol. Med. Rep.* **16** (5), 7855–7863. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7563>
34. He X., Cheng R., Park K., Benyajati S., Moiseyev G., Sun C., Olson L.E., Yang Y., Eby B.K., Lau K., Ma J.X. 2017. Pigment epithelium-derived factor, a noninhibitory serine protease inhibitor, is renoprotective by inhibiting the Wnt pathway. *Kidney Int.* **91** (3), 642–657. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.09.036>
35. Zhao C., Gao J., Li S., Liu Q., Hou X., Liu S., Xing X., Sun M., Wang S., Luo Y. 2018. Cyclin G2 suppresses glomerulosclerosis by regulating canonical wnt signaling. *Biomed. Res. Int.* 2018, **6938482**. <https://doi.org/10.1155/2018/6938482>
36. Ma S., Yao S., Tian H., Jiao P., Yang N., Zhu P., Qin S. 2017. Pigment epithelium-derived factor alleviates endothelial injury by inhibiting Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *Lipids Health Dis.* **16** (1), 31. <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0407-8>
37. Chen H., Zheng Z., Li R., Lu J., Bao Y., Ying X., Zeng R., Jia W. 2010. Urinary pigment epithelium-derived factor as a marker of diabetic nephropathy. *Am. J. Nephrol.* **32** (1), 47–56. <https://doi.org/10.1159/000314326>
38. Bernaudo S., Salem M., Qi X., Zhou W., Zhang C., Yang W., Rosman D., Deng Z., Ye G., Yang B.B., Vanderhyden B., Wu Z., Peng C. 2016. Cyclin G2 inhibits epithelial-to-mesenchymal transition by disrupting Wnt/ $\beta$ -catenin signaling. *Oncogene.* **35** (36), 4816–4827. <https://doi.org/10.1038/onc.2016.15>
39. Wullschleger S., Loewith R., Hall M.N. 2006. TOR signaling in growth and metabolism. *Cell.* **124**, 471–484. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.01.016>
40. Torres V.E., Boletta A., Chapman A., Gattone V., Pei Y., Qian Q., Wallace D.P., Weimbs T., Wüthrich R.P. 2010. Prospects for mTOR inhibitor use in patients with polycystic kidney disease and hamartomatous diseases. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **5**, 1312–1329. <https://doi.org/10.2215/CJN.01360210>
41. Sarbassov D.D., Ali S.M., Kim D.H., Guertin D.A., Latek R.R., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Sabatini D.M. 2004. Rictor, a novel binding partner of mTOR, defines a rapamycin-insensitive and raptor-independent pathway that regulates the cytoskeleton. *Curr. Biol.* **14**, 1296–1302. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.06.054>
42. Li Q., Zeng Y., Jiang Q., Wu C., Zhou J. 2019. Role of mTOR signaling in the regulation of high glucose-induced podocyte injury. *Exp. Ther. Med.* **17** (4), 2495–2502. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7236>

43. Sakaguchi M., Isono M., Isshiki K., Sugimoto T., Koya D., Kashiwagi A. 2006. Inhibition of mTOR signaling with rapamycin attenuates renal hypertrophy in the early diabetic mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **340** (1), 296–301.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.12.012>
44. Lei J., Zhao L., Zhang Y., Wu Y., Liu Y. 2018. High glucose-induced podocyte injury involves activation of mammalian target of rapamycin (mTOR)-induced endoplasmic reticulum (ER) stress. *Cell. Physiol. Biochem.* **45**, 2431–2443.  
<https://doi.org/10.1159/000488231>
45. Yuan Y., Xu X., Zhao C., Zhao M., Wang H., Zhang B., Wang N., Mao H., Zhang A., Xing C. 2015. The roles of oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and autophagy in aldosterone mineralocorticoid receptor-induced podocyte injury. *Lab. Invest.* **95** (12), 1374–1386.  
<https://doi.org/10.1038/labinvest.2015.118>
46. Rong G., Tang X., Guo T., Duan N., Wang Y., Yang L., Zhang J., Liang X. 2015. Advanced oxidation protein products induce apoptosis in podocytes through induction of endoplasmic reticulum stress. *J. Physiol. Biochem.* **71** (3), 455–470.  
<https://doi.org/10.1007/s13105-015-0424-x>
47. Cao Y., Hao Y., Li H., Liu Q., Gao F., Liu W., Duan H. 2014. Role of endoplasmic reticulum stress in apoptosis of differentiated mouse podocytes induced by high glucose. *Int. J. Mol. Med.* **33** (4), 809–816.  
<https://doi.org/10.3892/ijmm.2014.1642>
48. Zhou H., Liu R. 2014. ER stress and hepatic lipid metabolism. *Front. Genet.* **5**, 112.  
<https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00112>
49. Zhuang A., Forbes J. M. 2014. Stress in the kidney is the road to pERdition: Is endoplasmic reticulum stress a pathogenic mediator of diabetic nephropathy? *J. Endocrinol.* **222** (3), R97–R111.  
<https://doi.org/10.1530/JOE-13-0517>
50. Appenzeller-Herzog C., Hall M.N. 2012. Bidirectional crosstalk between endoplasmic reticulum stress and mTOR signaling. *Trends Cell. Biol.* **22** (5), 274–282.  
<https://doi.org/10.1016/j.tcb.2012.02.006>
51. Hosokawa N., Hara T., Kaizuka T., Kishi C., Takamura A., Miura Y., Iemura S., Natsume T., Takehana K., Yamada N., Guan J.L., Oshiro N., Mizushima N. 2009. Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy. *Mol. Biol. Cell.* **20** (7), 1981–1991.  
<https://doi.org/10.1091/mbc.E08-12-1248>
52. Hartleben B., Gödel M., Meyer-Schwesinger C., Liu S., Ulrich T., Köbler S., Wiech T., Grahmmer F., Arnold S.J., Lindenmeyer M.T., Cohen C.D., Pavenstädt H., Kerjaschki D., Mizushima N., Shaw A.S., Walz G., Huber T.B. 2010. Autophagy influences glomerular disease susceptibility and maintains podocyte homeostasis in aging mice. *J. Clin. Invest.* **120** (4), 1084–1096.  
<https://doi.org/10.1172/JCI39492>
53. Inoki K., Mori H., Wang J., Suzuki T., Hong S., Yoshida S., Blattner S.M., Ikenoue T., Rüegg M.A., Hall M.N., Kwiatkowski D.J., Rastaldi M.P., Huber T.B., Kretzler M., Holzman L.B., Wiggins R.C., Guan K.L. 2011. mTORC1 activation in podocytes is a critical step in the development of diabetic nephropathy in mice. *J. Clin. Invest.* **121** (6), 2181–2196.  
<https://doi.org/10.1172/JCI44771>
54. Kim J., Kundu M., Viollet B., Guan K.L. 2011. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat. Cell. Biol.* **13** (2), 132–141.  
<https://doi.org/10.1038/ncb2152>
55. Wu L., Feng Z., Cui S., Hou K., Tang L., Zhou J., Cai G., Xie Y., Hong Q., Fu B., Chen X. 2013. Rapamycin upregulates autophagy by inhibiting the mTOR-ULK1 pathway, resulting in reduced podocyte injury. *PLoS One.* **8** (5), e63799.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066745>
56. Xiao T., Guan X., Nie L., Wang S., Sun L., He T., Huang Y., Zhang J., Yang K., Wang J., Zhao J. 2014. Rapamycin promotes podocyte autophagy and ameliorates renal injury in diabetic mice. *Mol. Cell. Biochem.* **394** (1–2), 145–154.  
<https://doi.org/10.1007/s11010-014-2090-7>
57. Ding Y., Choi M.E. 2015. Autophagy in diabetic nephropathy. *J. Endocrinol.* **224** (1), R15–R30.  
<https://doi.org/10.1530/JOE-14-0437>
58. Wang J., Xu Z., Chen B., Zheng S., Xia P., Cai Y. 2017. The role of sirolimus in proteinuria in diabetic nephropathy rats. *Iran J. Basic Med. Sci.* **20** (12), 1339–1344.  
<https://doi.org/10.22038/IJBMS.2017.9618>
59. Liu L., Yang L., Chang B., Zhang J., Guo Y., Yang X. 2018. The protective effects of rapamycin on cell autophagy in the renal tissues of rats with diabetic nephropathy via mTOR-S6K1-LC3II signaling pathway. *Ren. Fail.* **40** (1), 492–497.  
<https://doi.org/10.1080/0886022X.2018.1489287>
60. Yang D., Livingston M.J., Liu Z., Dong G., Zhang M., Chen J.K., Dong Z. 2018. Autophagy in diabetic kidney disease: Regulation, pathological role and therapeutic potential. *Cell Mol. Life Sci.* **75** (4), 669–688.  
<https://doi.org/10.1007/s00018-017-2639-1>
61. Zhang H.T., Wang W.W., Ren L.H., Zhao X.X., Wang Z.H., Zhuang D.L., Bai Y.N. 2016. The mTORC2/Akt/NFκB pathway-mediated activation of TRPC6 participates in adriamycin-induced podocyte apoptosis. *Cell. Physiol. Biochem.* **40**, 1079–1093.  
<https://doi.org/10.1159/000453163>
62. Ng T., Parsons M., Hughes W.E., Monypenny J., Zicha D., Gautreau A., Arpin M., Gschmeissner S., Verveer P.J., Bastiaens P.I., Parker P.J. 2001. Ezrin is a downstream effector of trafficking PKC-integrin complexes involved in the control of cell motility. *EMBO J.* **20**, 2723–2741.  
<https://doi.org/10.1093/emboj/20.11.2723>
63. Bretscher A., Edwards K., Fehon R.G. 2002. ERM proteins and merlin: Integrators at the cell cortex. *Nat.*

- Rev. Mol. Cell. Biol.* **3**, 586–599.  
<https://doi.org/10.1038/nrm882>
64. Wasik A.A., Koskelainen S., Hyvönen M.E., Musante L., Lehtonen E., Koskeniemi K., Tienari J., Vaheri A., Kerjaschki D., Szalay C., Révész C., Varmanen P., Nyman T.A., Hamar P., Holthöfer H., Lehtonen S. 2014. Ezrin is down-regulated in diabetic kidney glomeruli and regulates actin reorganization and glucose uptake via GLUT1 in cultured podocytes. *Am. J. Pathol.* **184**, 1727–1739.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2014.03.002>
  65. Kawasaki Y., Imaizumi T., Matsuura H., Ohara S., Takano K., Suyama K., Hashimoto K., Nozawa R., Suzuki H., Hosoya M. 2008. Renal expression of alpha-smooth muscle actin and c-Met in children with Henoch-Schönlein purpura nephritis. *Pediatr. Nephrol.* **23**, 913–919.  
<https://doi.org/10.1007/s00467-008-0749-6>
  66. Ren X., Guan G., Liu G., Liu G. 2009. Irbesartan ameliorates diabetic nephropathy by reducing the expression of connective tissue growth factor and alpha-smooth-muscle actin in the tubulointerstitium of diabetic rats. *Pharmacology.* **83**, 80–87.  
<https://doi.org/10.1159/000180123>
  67. Carling D., Sanders M.J., Woods A. 2008. The regulation of AMP-activated protein kinase by upstream kinases. *Int. J. Obes. (Lond).* **32** (Suppl. 4), S55–S59.  
<https://doi.org/10.1038/ijo.2008.124>
  68. Hardie D.G. 2014. AMPK-sensing energy while talking to other signaling pathways. *Cell. Metab.* **20** (6), 939–952.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.09.013>
  69. Steinberg G.R., Carling D. 2019. AMP-activated protein kinase: The current landscape for drug development. *Nat. Rev. Drug Discov.* **18** (7), 527–551.  
<https://doi.org/10.1038/s41573-019-0019-2>
  70. Yan Y., Zhou X.E., Xu H.E., Melcher K. 2018. Structure and physiological regulation of AMPK. *Int. J. Mol. Sci.* **19** (11), E3534.  
<https://doi.org/10.3390/ijms19113534>
  71. Tanaka Y., Kume S., Kitada M., Kanasaki K., Uzu T., Maegawa H., Koya D. 2012. Autophagy as a therapeutic target in diabetic nephropathy. *Exp. Diabetes Res.* 2012, **628978**.  
<https://doi.org/10.1155/2012/628978>
  72. Sharma K., RamachandraRao S., Qiu G., Usui H.K., Zhu Y., Dunn S.R., Ouedraogo R., Hough K., McCue P., Chan L., Falkner B., Goldstein B.J. 2008. Adiponectin regulates albuminuria and podocyte function in mice. *J. Clin. Invest.* **118** (5), 1645–1656.  
<https://doi.org/10.1172/JCI32691>
  73. Joshi T., Singh A.K., Haratipour P., Sah A.N., Pandey A.K., Naseri R., Juyal V., Farzaei M.H. 2019. Targeting AMPK signaling pathway by natural products for treatment of diabetes mellitus and its complications. *J. Cell. Physiol.* **234** (10), 17212–17231.  
<https://doi.org/10.1002/jcp.28528>
  74. Eisenreich A., Leppert U. 2017. Update on the protective renal effects of metformin in diabetic nephropathy. *Curr. Med. Chem.* **24** (31), 3397–3412.  
<https://doi.org/10.2174/0929867324666170404143102>
  75. Corremans R., Vervaeke B.A., D'Haese P.C., Neven E., Verhulst A. 2018. Metformin: A candidate drug for renal diseases. *Int. J. Mol. Sci.* **20** (1), pii: E42.  
<https://doi.org/10.3390/ijms20010042>
  76. Blattner S.M., Hodgin J.B., Nishio M., Wylie S.A., Saha J., Soofi A.A., Vining C., Randolph A., Herbach N., Wanke R., Atkins K.B., Gyung Kang H., Henger A., Brakebusch C., Holzman L.B., Kretzler M. 2013. Divergent functions of the Rho GTPases Rac1 and Cdc42 in podocyte injury. *Kidney Int.* **84** (5), 920–930.  
<https://doi.org/10.1038/ki.2013.175>
  77. Schell C., Huber T.B. 2017. The evolving complexity of the podocyte cytoskeleton. *J. Am. Soc. Nephrol.* **28** (11), 3166–3174.  
<https://doi.org/10.1681/ASN.2017020143>
  78. Yu S.M., Nissaisorakarn P., Husain I., Jim B. 2018. Proteinuric kidney diseases: A podocyte's slit diaphragm and cytoskeleton approach. *Front. Med. (Lansanne).* **5**, 221.  
<https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00221>
  79. Ishizaka M., Gohda T., Takagi M., Omote K., Sonoda Y., Oliva Trejo J.A., Asao R., Hidaka T., Asanuma K., Horikoshi S., Tomino Y. 2015. Podocyte-specific deletion of Rac1 leads to aggravation of renal injury in STZ-induced diabetic mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **467** (3), 549–555.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.09.158>
  80. Asao R., Seki T., Takagi M., Yamada H., Kodama F., Hosoe-Nagai Y., Tanaka E., Trejo J.A.O., Yamamoto-Nonaka K., Sasaki Y., Hidaka T., Ueno T., Yanagita M., Suzuki Y., Tomino Y., Asanuma K. 2018. Rac1 in podocytes promotes glomerular repair and limits the formation of sclerosis. *Sci. Rep.* **8** (1), 5061.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-23278-6>
  81. Huang Z., Zhang L., Chen Y., Zhang H., Yu C., Zhou F., Zhang Z., Jiang L., Li R., Ma J., Li Z., Lai Y., Lin T., Zhao X., Zhang Q., Zhang B., Ye Z., Liu S., Wang W., Liang X., Liao R., Shi W. 2016. RhoA deficiency disrupts podocyte cytoskeleton and induces podocyte apoptosis by inhibiting YAP/dendrin signal. *BMC Nephrol.* **17** (1), 66.  
<https://doi.org/10.1186/s12882-016-0287-6>
  82. Kistler A.D., Altintas M.M., Reiser J. 2012. Podocyte GTPases regulate kidney filter dynamics. *Kidney Int.* **81** (11), 1053–1055.  
<https://doi.org/10.1038/ki.2012.12>
  83. Komers R. 2013. Rho kinase inhibition in diabetic kidney disease. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **76** (4), 551–559.  
<https://doi.org/10.1111/bcp.12196>
  84. Matoba K., Kawanami D., Nagai Y., Takeda Y., Akamine T., Ishizawa S., Kanazawa Y., Yokota T., Utsunomiya K. 2017. Rho-kinase blockade attenuates podocyte apoptosis by inhibiting the Notch signaling pathway in diabetic nephropathy. *Int. J. Mol. Sci.* **18** (8), pii: E1795.  
<https://doi.org/10.3390/ijms18081795>



85. Peng F., Wu D., Gao B., Ingram A.J., Zhang B. 2008. RhoA/Rho-kinase contribute to the pathogenesis of diabetic renal disease. *Diabetes*. **57** (6), 1683–1692. <https://doi.org/10.2337/db07-1149>
86. Zhu L., Jiang R., Aoudjit L., Jones N., Takano T. 2011. Activation of RhoA in podocytes induces focal segmental glomerulosclerosis. *J. Am. Soc. Nephrol.* **22** (9), 1621–1630. <https://doi.org/10.1681/ASN.2010111146>
87. Lv Z., Hu M., Ren X., Fan M., Zhen J., Chen L., Lin J., Ding N., Wang Q., Wang R. 2016. Fyn mediates high glucose-induced actin cytoskeleton reorganization of podocytes via promoting ROCK activation *in vitro*. *J. Diabetes Res.* 2016, **5671803**. <https://doi.org/10.1155/2016/5671803>
88. Lin J.S., Susztak K. 2016. Podocytes: The weakest link in diabetic kidney disease? *Curr. Diab. Rep.* **16** (5), 45. <https://doi.org/10.1007/s11892-016-0735-5>
89. Rao J., Ye Z., Tang H., Wang C., Peng H., Lai W., Li Y., Huang W., Lou T. 2017. The RhoA/ROCK pathway ameliorates adhesion and inflammatory infiltration induced by AGEs in glomerular endothelial cells. *Sci. Rep.* **7**, 39727. <https://doi.org/10.1038/srep39727>
90. Wang W., Wang Y., Long J., Wang J., Haudek S.B., Overbeek P., Chang B.H., Schumacker P.T., Danesh F.R. 2012. Mitochondrial fission triggered by hyperglycemia is mediated by ROCK1 activation in podocytes and endothelial cells. *Cell Metab.* **15** (2), 186–200. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.01.009>
91. Lin J.S., Shi Y., Peng H., Shen X., Thomas S., Wang Y., Truong L.D., Dryer S.E., Hu Z., Xu J. 2015. Loss of PTEN promotes podocyte cytoskeletal rearrangement, aggravating diabetic nephropathy. *J. Pathol.* **236** (1), 30–40. <https://doi.org/10.1002/path.4508>
92. Zhou J., Jia L., Hu Z., Wang Y. 2017. Pharmacological inhibition of PTEN aggravates acute kidney injury. *Sci Rep.* **7** (1), 9503. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10336-8>
93. Wang H., Feng Z., Xie J., Wen F., Jv M., Liang T., Li J., Wang Y., Zuo Y., Li S., Li R., Li Z., Zhang B., Liang X., Liu S., Shi W., Wang W. 2018. Podocyte-specific knockin of PTEN protects kidney from hyperglycemia. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* **314** (6), F1096–F1107. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00575.2017>
94. Buvall L., Rashmi P., Lopez-Rivera E., Andreeva S., Weins A., Wallentin H., Greka A., Mundel P. 2013. Proteasomal degradation of Nck1 but not Nck2 regulates RhoA activation and actin dynamics. *Nat. Commun.* **4**, 2863. <https://doi.org/10.1038/ncomms3863>
95. Elvin J., Buvall L., Lindskog Jonsson A., Granqvist A., Lassén E., Bergwall L., Nyström J., Haraldsson B. 2016. Melanocortin 1 receptor agonist protects podocytes through catalase and RhoA activation. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* **310** (9), F846–F856. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00231.2015>
96. Sun H., Schlondorff J., Higgs H.N., Pollak M.R. 2013. Inverted formin 2 regulates actin dynamics by antagonizing Rho/diaphanous-related formin signaling. *J. Am. Soc. Nephrol.* **24** (6), 917–929. <https://doi.org/10.1681/ASN.2012080834>
97. Subramanian B., Sun H., Yan P., Charoonratana V.T., Higgs H.N., Wang F., Lai K.V., Valenzuela D.M., Brown E.J., Schlöndorff J.S., Pollak M.R. 2016. Mice with mutant Inf2 show impaired podocyte and slit diaphragm integrity in response to protamine-induced kidney injury. *Kidney Int.* **90** (2), 363–372. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.04.020>
98. Zhang Y., Xia H., Ge X., Chen Q., Yuan D., Leng W., Chen L., Tang Q., Bi F. 2014. CD44 acts through RhoA to regulate YAP signaling. *Cell. Signal.* **26** (11), 2504–2513. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2014.07.031>
99. Schwartzman M., Reginensi A., Wong J.S., Basgen J.M., Meliambro K., Nicholas S.B., D'Agati V., McNeill H., Campbell K.N. 2015. Podocyte-specific deletion of Yes-associated protein causes FSGS and progressive renal failure. *J. Am. Soc. Nephrol.* **27** (1), 216–226. <https://doi.org/10.1681/ASN.2014090916>
100. Bonse J., Wennmann D.O., Kremerskothen J., Weide T., Michgehl U., Pavenstädt H., Vollenbröcker B. 2018. Nuclear YAP localization as a key regulator of podocyte function. *Cell Death Dis.* **9** (9), 850. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0878-1>
101. Meliambro K., Wong J.S., Ray J., Calizo R.C., Towne S., Cole B., El Salem F., Gordon R.E., Kaufman L., He J.C., Azeloglu E.U., Campbell K.N. 2017. The Hippo pathway regulator KIBRA promotes podocyte injury by inhibiting YAP signaling and disrupting actin cytoskeletal dynamics. *J. Biol. Chem.* **292** (51), 21137–21148. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.819029>
102. Kim E.Y., Alvarez-Baron C.P., Dryer S.E. 2009. Canonical transient receptor potential channel (TRPC)3 and TRPC6 associate with large-conductance Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> (BKCa) channels: Role in BKCa trafficking to the surface of cultured podocytes. *Mol. Pharmacol.* **75** (3), 466–477. <https://doi.org/10.1124/mol.108.051912>
103. Tian D., Jacobo S.M., Billing D., Rozkalne A., Gage S.D., Anagnostou T., Pavenstadt H., Hsu H.H., Schlöndorff J., Ramos A., Greka A. 2010. Antagonistic regulation of actin dynamics and cell motility by TRPC5 and TRPC6 channels. *Sci. Signal.* **3** (145), ra77. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2001200>
104. Greka A., Mundel P. 2011. Balancing calcium signals through TRPC5 and TRPC6 in podocytes. *J. Am. Soc. Nephrol.* **22** (11), 1969–1980. <https://doi.org/10.1681/ASN.2011040370>
105. Mottl A.K., Lu M., Fine C.A., Weck K.E. 2013. A novel TRPC6 mutation in a family with podocytop-

- athy and clinical variability. *BMC Nephrol.* **14**, 104. <https://doi.org/10.1186/1471-2369-14-104>
106. Schaldecker T., Kim S., Tarabanis C., Tian D., Hakroush S., Castonguay P., Ahn W., Wallentin H., Heid H., Hopkins C.R., Lindsley C.W., Riccio A., Buval L., Weins A., Greka A. 2013. Inhibition of the TRPC5 ion channel protects the kidney filter. *J. Clin. Invest.* **123** (12), 5298–5309. <https://doi.org/10.1172/JCI71165>
107. Ilatovskaya D.V., Palygin O., Chubinskiy-Nadezhdin V., Negulyaev Y.A., Ma R., Birnbaumer L., Staruschenko A. 2014. Angiotensin II has acute effects on TRPC6 channels in podocytes of freshly isolated glomeruli. *Kidney Int.* **86** (3), 506–514. <https://doi.org/10.1038/ki.2014.71>
108. Ilatovskaya D.V., Levchenko V., Lowing A., Shuyskiy L.S., Palygin O., Staruschenko A. 2015. Podocyte injury in diabetic nephropathy: Implications of angiotensin II-dependent activation of TRPC channels. *Sci. Rep.* **5**, 17637. <https://doi.org/10.1038/srep17637>
109. Ilatovskaya D.V., Staruschenko A. 2015. TRPC6 channel as an emerging determinant of the podocyte injury susceptibility in kidney diseases. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* **309** (5), F393–F397. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00186.2015>
110. Zhou Y., Castonguay P., Sidhom E.H., Clark A.R., Dvela-Levitt M., Kim S., Sieber J., Wieder N., Jung J.Y., Andreeva S., Reichardt J., Dubois F., Hoffmann S.C., Basgen J.M., Montesinos M.S., Weins A., Johnson A.C., Lander E.S., Garrett M.R., Hopkins C.R., Greka A. 2017. A small-molecule inhibitor of TRPC5 ion channels suppresses progressive kidney disease in animal models. *Science.* **358** (6368), 1332–1336. <https://doi.org/10.1126/science.aal4178>
111. Staruschenko A., Spires D., Palygin O. 2019. Role of TRPC6 in progression of diabetic kidney disease. *Curr. Hypertens. Rep.* **21** (7), 48. <https://doi.org/10.1007/s11906-019-0960-9>
112. Ilatovskaya D.V., Blass G., Palygin O., Levchenko V., Pavlov T.S., Grzybowski M.N., Winsor K., Shuyskiy L.S., Geurts A.M., Cowley A.W.Jr., Birnbaumer L., Staruschenko A. 2018. A NOX4/TRPC6 pathway in podocyte calcium regulation and renal damage in diabetic kidney disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* **29** (7), 1917–1927. <https://doi.org/10.1681/ASN.2018030280>
113. Spires D., Ilatovskaya D.V., Levchenko V., North P.E., Geurts A.M., Palygin O., Staruschenko A. 2018. Protective role of Trpc6 knockout in the progression of diabetic kidney disease. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* **315** (4), F1091–F1097. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00155.2018>
114. Spires D., Manis A.D., Staruschenko A. 2019. Ion channels and transporters in diabetic kidney disease. *Curr. Top. Membr.* **83**, 353–396. <https://doi.org/10.1016/bs.ctm.2019.01.001>
115. Rohacs T. 2013. Regulation of transient receptor potential channels by the phospholipase C pathway. *Adv. Biol. Regul.* **53** (3), 341–355. <https://doi.org/10.1016/j.jbior.2013.07.004>
116. Ilatovskaya D.V., Palygin O., Levchenko V., Endres B.T., Staruschenko A. 2017. The role of angiotensin II in glomerular volume dynamics and podocyte calcium handling. *Sci. Rep.* **7** (1), 299. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00406-2>
117. Kalwa H., Storch U., Demleitner J., Fiedler S., Mayer T., Kannler M., Fahlbusch M., Barth H., Smrcka A., Hildebrandt F., Gudermann T., Dietrich A. 2015. Phospholipase C epsilon (PLCε) induced TRPC6 activation: A common but redundant mechanism in primary podocytes. *J. Cell. Physiol.* **230** (6), 1389–1399. <https://doi.org/10.1002/jcp.24883>
118. Staruschenko A. 2019. TRPC6 in diabetic kidney disease: Good guy or bad guy? *Kidney Int.* **95** (2), 256–258. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2018.10.027>
119. Smrcka A.V., Brown J.H., Holz G.G. 2012. Role of phospholipase Cε in physiological phosphoinositide signaling networks. *Cell. Signal.* **24** (6), 1333–1343. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2012.01.009>
120. Nogueira A., Pires M.J., Oliveira P.A. 2017. Pathophysiological mechanisms of renal fibrosis: A review of animal models and therapeutic strategies. *In Vivo.* **31** (1), 1–22. <https://doi.org/10.21873/invivo.11019>
121. Sanz A.B., Ramos A.M., Soler M.J., Sanchez-Niño M.D., Fernandez-Fernandez B., Perez-Gomez M.V., Ortega M.R., Alvarez-Llamas G., Ortiz A. 2019. Advances in understanding the role of angiotensin-regulated proteins in kidney diseases. *Expert. Rev. Proteomics.* **16** (1), 77–92. <https://doi.org/10.1080/14789450.2018.1545577>
122. Sharma R., Sharma M., Vamos S., Savin V.J., Wiegmann T.B. 2001. Both subtype 1 and 2 receptors of angiotensin II participate in regulation of intracellular calcium in glomerular epithelial cells. *J. Lab. Clin. Med.* **138**, 40–49. <https://doi.org/10.1067/mlc.2001.115493>
123. Fukuda A., Fujimoto S., Iwatsubo S., Kawachi H., Kitamura K. 2010. Effects of mineralocorticoid and angiotensin II receptor blockers on proteinuria and glomerular podocyte protein expression in a model of minimal change nephrotic syndrome. *Nephrology.* **15** (3), 321–326. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1797.2009.01256.x>
124. Nijenhuis T., Sloan A.J., Hoenderop J.G., Flesche J., van Goor H., Kistler A.D., Bakker M., Bindels R.J., de Boer R.A., Moller C.C., Hamming I., Navis G., Wetzels J.F., Berden J.H., Reiser J., Faul C., van der Vlag J. 2011. Angiotensin II contributes to podocyte injury by increasing TRPC6 expression via an NFAT-mediated positive feedback signaling pathway. *Am. J. Pathol.* **179** (4), 1719–1732. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.06.033>

125. Yu Y., Zhang L., Xu G., Wu Z., Li Q., Gu Y., Niu J. 2018. Angiotensin II type I receptor agonistic autoantibody induces podocyte injury via activation of the TRPC6-calcium/calciuretin pathway in pre-eclampsia. *Kidney Blood Press Res.* **43** (5), 1666–1676. <https://doi.org/10.1159/000494744>
126. Nitschke R., Henger A., Ricken S., Gloy J., Müller V., Greger R., Pavenstädt H. 2000. Angiotensin II increases the intracellular calcium activity in podocytes of the intact glomerulus. *Kidney Int.* **57**, 41–49. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2000.00810.x>
127. Kim E.Y., Anderson M., Wilson C., Hagmann H., Benzing T., Dryer S.E. 2013. NOX2 interacts with podocyte TRPC6 channels and contributes to their activation by diacylglycerol: Essential role of podocin in formation of this complex. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* **305** (9), C960–C971. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00191.2013>
128. Yang Q., Wu F.R., Wang J.N., Gao L., Jiang L., Li H.D., Ma Q., Liu X.Q., Wei B., Zhou L., Wen J., Ma T.T., Li J., Meng X.M. 2018. Nox4 in renal diseases: An update. *Free Radic. Biol. Med.* **124**, 466–472. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.06.042>
129. Gorin Y., Wauquier F. 2015. Upstream regulators and downstream effectors of NADPH oxidases as novel therapeutic targets for diabetic kidney disease. *Mol. Cells.* **38** (4), 285–296. <https://doi.org/10.14348/molcells.2015.0010>
130. Chiluiza D., Krishna S., Schumacher V.A., Schlondorff J. 2013. Gain-of-function mutations in transient receptor potential C6 (TRPC6) activate extracellular signal-regulated kinases 1/2 (ERK1/2). *J. Biol. Chem.* **288** (25), 18407–18420. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.463059>
131. Zhang H., Ding J., Fan Q., Liu S. 2009. TRPC6 up-regulation in Ang II-induced podocyte apoptosis might result from ERK activation and NF-kappaB translocation. *Exp. Biol. Med.* **234** (9), 1029–1036. <https://doi.org/10.3181/0901-RM-11>
132. Riccardi D., Valenti G. 2016. Localization and function of the renal calcium-sensing receptor. *Nat. Rev. Nephrol.* **12** (7), 414–425. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2016.59>
133. Meng K., Xu J., Zhang C., Zhang R., Yang H., Liao C., Jiao J. 2014. Calcium sensing receptor modulates extracellular calcium entry and proliferation via TRPC3/6 channels in cultured human mesangial cells. *PLoS One.* **9** (6), e98777. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098777>
134. Zhang L., Ji T., Wang Q., Meng K., Zhang R., Yang H., Liao C., Ma L., Jiao J. 2017. Calcium-sensing receptor stimulation in cultured glomerular podocytes induces TRPC6-dependent calcium entry and RhoA activation. *Cell. Physiol. Biochem.* **43** (5), 1777–1789. <https://doi.org/10.1159/000484064>
135. Gorvin C.M., Babinsky V.N., Malinauskas T., Nissen P.H., Schou A.J., Hanyaloglu A.C., Siebold C., Jones E.Y., Hannan F.M., Thakker R.V. 2018. A calcium-sensing receptor mutation causing hypocalcemia disrupts a transmembrane salt bridge to activate  $\beta$ -arrestin-biased signaling. *Sci. Signal.* **11** (518), eaan3714. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aan3714>
136. Mos I., Jacobsen S.E., Foster S.R., Bräuner-Osborne H. 2019. Calcium-sensing receptor internalization is  $\beta$ -arrestin-dependent and modulated by allosteric ligands. *Mol. Pharmacol.* **96** (4), 463–474. <https://doi.org/10.1124/mol.119.116772>
137. Waasdorp M., Duitman J., Florquin S., Spek C.A. 2016. Protease-activated receptor-1 deficiency protects against streptozotocin-induced diabetic nephropathy in mice. *Sci. Rep.* **6**, 33030. <https://doi.org/10.1038/srep33030>
138. Sharma R., Waller A.P., Agrawal S., Wolfgang K.J., Luu H., Shahzad K., Isermann B., Smoyer W.E., Nieman M.T., Kerlin B.A. 2017. Thrombin-induced podocyte injury is protease-activated receptor dependent. *J. Am. Soc. Nephrol.* **28** (9), 2618–2630. <https://doi.org/10.1681/ASN.2016070789>
139. Svenningsen P., Hinrichs G.R., Zachar R., Ydegaard R., Jensen B.L. 2017. Physiology and pathophysiology of the plasminogen system in the kidney. *Pflugers Arch.* **469** (11), 1415–1423. <https://doi.org/10.1007/s00424-017-2014-y>
140. Cunningham M.A., Rondeau E., Chen X., Coughlin S.R., Holdsworth S.R., Tipping P.G. 2000. Protease-activated receptor 1 mediates thrombin-dependent, cell-mediated renal inflammation in crescentic glomerulonephritis. *J. Exp. Med.* **191** (3), 455–462. <https://doi.org/10.1084/jem.191.3.455>
141. Palygin O., Ilatovskaya D.V., Staruschenko A. 2016. Protease-activated receptors in kidney disease progression. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* **311** (6), F1140–F1144. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00460.2016>
142. Ay L., Hoellerl F., Ay C., Brix J.M., Koder S., Schernthaner G.H., Pabinger I., Schernthaner G. 2012. Thrombin generation in type 2 diabetes with albuminuria and macrovascular disease. *Eur. J. Clin. Invest.* **42** (5), 470–477. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2011.02602.x>
143. Konieczynska M., Fil K., Bazanek M., Undas A. 2014. Prolonged duration of type 2 diabetes is associated with increased thrombin generation, prothrombotic fibrin clot phenotype and impaired fibrinolysis. *Thromb. Haemost.* **111** (4), 685–693. <https://doi.org/10.1160/TH13-07-0566>
144. Sakai T., Nambu T., Katoh M., Uehara S., Fukuroda T., Nishikibe M. 2009. Up-regulation of protease-activated receptor-1 in diabetic glomerulosclerosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **384**, 173–179. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.04.105>
145. Lin H., Liu A.P., Smith T.H., Trejo J. 2013. Cofactoring and dimerization of proteinase-activated receptors. *Pharmacol. Rev.* **65** (4), 1198–1213. <https://doi.org/10.1124/pr.111.004747>
146. Madhusudhan T., Kerlin B.A., Isermann B. 2016. The emerging role of coagulation proteases in kidney dis-

- ease. *Nat. Rev. Nephrol.* **12** (2), 94–109.  
<https://doi.org/10.1038/nrneph.2015.177>
147. Li H., Wang Y., Zhou Z., Tian F., Yang H., Yan J. 2019. Combination of leflunomide and benazepril reduces renal injury of diabetic nephropathy rats and inhibits high-glucose induced cell apoptosis through regulation of NF- $\kappa$ B, TGF- $\beta$  and TRPC6. *Ren. Fail.* **41** (1), 899–906.  
<https://doi.org/10.1080/0886022X.2019.1665547>
148. Kuang X., Zhou Q., Li Z., Hu Y., Kang Y., Huang W. 2019. –254C>G SNP in the *TRPC6* gene promoter influences its expression via interaction with the NF- $\kappa$ B subunit RELA in steroid-resistant nephrotic syndrome children. *Int. J. Genomics.* 2019, **2197837**.  
<https://doi.org/10.1155/2019/2197837>
149. Liu Y. 2004. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: Pathologic significance molecular mechanism, and therapeutic intervention. *J. Am. Soc. Nephrol.* **15** (1), 1–12.  
<https://doi.org/10.1097/01.asn.0000106015.29070.e7>
150. Zhao L., Chi L., Zhao J., Wang X., Chen Z., Meng L., Liu G., Guan G., Wang F. 2016. Serum response factor provokes epithelial-mesenchymal transition in renal tubular epithelial cells of diabetic nephropathy. *Physiol. Genomics.* **48** (8), 580–588.  
<https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00058.2016>
151. Thiery J.P., Sleeman J.P. 2006. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7** (2), 131–142.  
<https://doi.org/10.1038/nrm1835>
152. Loeffler I., Wolf G. 2015. Epithelial-to-mesenchymal transition in diabetic nephropathy: Fact or fiction? *Cell.* **4** (4), 631–652.  
<https://doi.org/10.3390/cells4040631>
153. Dai H.Y., Zheng M., Tang R.N., Ni J., Ma K.L., Li Q., Liu B.C. 2011. Effects of angiotensin receptor blocker on phenotypic alterations of podocytes in early diabetic nephropathy. *Am. J. Med. Sci.* **341** (3), 207–214.  
<https://doi.org/10.1097/MAJ.0b013e3182010da9>
154. Yamaguchi Y., Iwano M., Suzuki D., Nakatani K., Kimura K., Harada K., Kubo A., Akai Y., Toyoda M., Kanauchi M., Neilson E.G., Saito Y. Epithelial-mesenchymal transition as a potential explanation for podocyte depletion in diabetic nephropathy. *Am. J. Kidney Dis.* **54** (4), 653–664.  
<https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2009.05.009>
155. Li Y., Kang Y.S., Dai C., Kiss L.P., Wen X., Liu Y. 2008. Epithelial-to-mesenchymal transition is a potential pathway leading to podocyte dysfunction and proteinuria. *Am. J. Pathol.* **172** (2), 299–308.  
<https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.070057>
156. Sun L.N., Chen Z.X., Liu X.C., Liu H.Y., Guan G.J., Liu G. 2014. Curcumin ameliorates epithelial-to-mesenchymal transition of podocytes *in vivo* and *in vitro* via regulating caveolin-1. *Biomed. Pharmacother.* **68** (8), 1079–1088.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2014.10.005>
157. Xing L., Liu Q., Fu S., Li S., Yang L., Liu S., Hao J., Yu L., Duan H. 2015. PTEN inhibits high glucose-induced phenotypic transition in podocytes. *J. Cell. Biochem.* **116** (8), 1776–1784.  
<https://doi.org/10.1002/jcb.25136>
158. Ying Q., Wu G. 2017. Molecular mechanisms involved in podocyte EMT and concomitant diabetic kidney diseases: An update. *Ren. Fail.* **39** (1), 474–483.  
<https://doi.org/10.1080/0886022X.2017.1313164>
159. Stacy A.J., Craig M.P., Sakaram S., Kadakia M. 2017.  $\Delta$ Np63 $\alpha$  and microRNAs: Leveraging the epithelial-mesenchymal transition. *Oncotarget.* **8** (2), 2114–2129.  
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.13797>
160. Srivastava S.P., Hedayat F.A., Kanasaki K., Goodwin J.E. 2019. microRNA crosstalk influences epithelial-to-mesenchymal, endothelial-to-mesenchymal, and macrophage-to-mesenchymal transitions in the kidney. *Front. Pharmacol.* **10**, 904.  
<https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00904>
161. Niu H., Nie L., Liu M., Chi Y., Zhang T., Li Y. 2014. Benazepril affects integrin-linked kinase and smooth muscle  $\alpha$ -actin expression in diabetic rat glomerulus and cultured mesangial cells. *BMC Nephrol.* **15**, 1–10.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2369-15-135>
162. Li L., Chen L., Zang J., Tang X., Liu Y., Zhang J., Bai L., Yin Q., Lu Y., Cheng J., Fu P., Liu F. 2015. C3a and C5a receptor antagonists ameliorate endothelial-myofibroblast transition via the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in diabetic kidney disease. *Metabolism.* **64** (5), 597–610.  
<https://doi.org/10.1016/j.metabol.2015.01.014>
163. Shi G., Wu W., Wan Y.G., Hex H.W., Tu Y., Han W.B., Liu B.H., Liu Y.L., Wan Z.Y. 2018. Low dose of trip-tolide ameliorates podocyte epithelial-mesenchymal transition induced by high dose of D-glucose via inhibiting Wnt3 $\alpha$ / $\beta$ -catenin signaling pathway activation. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* **43** (1), 139–146.  
<https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20171027.013>
164. Guo J., Xia N., Yang L., Zhou S., Zhang Q., Qiao Y., Liu Z. 2014. GSK-3 $\beta$  and vitamin D receptor are involved in  $\beta$ -catenin and Snail signaling in high glucose-induced epithelial-mesenchymal transition of mouse podocytes. *Cell. Physiol. Biochem.* **33** (4), 1087–1096.  
<https://doi.org/10.1159/000358678>
165. Wan J., Li P., Liu D.W., Chen Y., Mo H.Z., Liu B.G., Chen W.J., Lu X.Q., Guo J., Zhang Q., Qiao Y.J., Liu Z.S., Wan G.R. 2016. GSK-3 $\beta$  inhibitor attenuates urinary albumin excretion in type 2 diabetic *db/db* mice, and delays epithelial-to-mesenchymal transition in mouse kidneys and podocytes. *Mol. Med. Rep.* **14** (2), 1771–1784.  
<https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5441>
166. Paeng J., Chang J.H., Lee S.H., Nam B.Y., Kang H.Y., Kim S., Oh H.J., Park J.T., Han S.H., Yoo T.H., Kang S.W. 2014. Enhanced glycogen synthase kinase-3 $\beta$  activity mediates podocyte apoptosis under diabetic conditions. *Apoptosis.* **19** (12), 1678–1690.  
<https://doi.org/10.1007/s10495-014-1037-5>

## Molecular Mechanisms of Apoptosis of Glomerular Podocytes in Diabetic Nephropathy

A. O. Shpakov<sup>1,\*</sup>, E. V. Kaznacheeva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194223 Russia*

<sup>2</sup>*Cytology Institute of Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194064 Russia*

\*e-mail: alex\_shpakov@list.ru

Dysfunctions of glomerular podocytes and triggering of apoptotic processes in them are the main molecular causes of diabetic nephropathy and other kidney diseases. Pathogenetic factors causing these dysfunctions of podocytes are hyperglycemia, increased levels of advanced glycation end-products, oxidative stress, increased activity of inflammatory factors, and endoplasmic reticulum stress. These factors and their combinations result in the triggering of a number of intracellular signaling pathways that cause activation of apoptosis and reduce the survival of podocytes. Among these pathways are: (1) the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway, which is activated by the Wnt-proteins when they bind to the complex of Frizzled receptors and LRP co-receptors; (2) the mTOR-dependent signaling pathway, including the mTORC1 and mTORC2 complexes, which are involved in the regulation of autophagy and endoplasmic reticulum stress and are regulated by various stimuli and effectors, the AMP-activated protein kinase in particular; (3) the Rho/ROCK signaling pathway, including GTPases of the Rho family and Rho-associated protein kinase ROCK1; (4) calcium-dependent signaling pathways triggered by an increase in the concentration of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$ , primarily through the activation of calcium channels of the TRPC family. The review provides a detailed analysis of the current state of knowledge about the molecular mechanisms responsible for the regulation of apoptotic processes in glomerular podocytes and also considers hormonal and other factors that regulate them both in norm and in lesions induced by hyperglycemia and diabetic nephropathy.

**Keywords:** diabetic nephropathy, podocyte, apoptosis, calcium channel TRPC6, mTORC complex, Wnt/ $\beta$ -catenin pathway, GTPase of the Rho family