

НЕКОТОРЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ В ОРГАНОГЕНЕЗЕ ЛЕГКИХ



Блинова Софья Анатольевна, Юлдашева Нилуфар Бахтияровна, Хусанов Темурбек Бобуржонович Самаркандский государственный медицинский университет, Республика Узбекистан, г. Самарканд

ЎПКА ОРГАНОГЕНЕЗИДАГИ БАЎЗИ МОЛЕКУЛЯР МЕХАНИЗМЛАР

Блинова Софья Анатольевна, Юлдашева Нилуфар Бахтияровна, Хусанов Темурбек Бобуржонович Самарканд давлат тиббиёт университети, Ўзбекистон Республикаси, Самарканд ш.

SOME MOLECULAR MECHANISMS IN LUNG ORGANOGENESIS

Blinova Sofya Anatolyevna, Yuldasheva Nilufar Bakhtiyarovna, Khusanov Temurbek Boburjonovich Samarkand State Medical University, Republic of Uzbekistan, Samarkand

e-mail: sofiya2709@mail.ru

Резюме. Ўпка ривожланиши ва регенерациясини ўрганишдаги сўнги ютуқлар ўпканинг тугма ва орттирилган касалликларини яхшироқ тушунишга олиб келади. Кўриб ўпканинг эрта морфогенезидаги асосий ҳодисалар молекуларнинг нисбатан чекланган гуруҳи томонидан назорат таъкидлади – булар FGF, TGF β , SHH, WNT оқсиллари. Бироқ, муҳим рол ўйнадиган янги молекулар кашф қилинмоқда. Бириктирувчи тўқима ўсиш омилли (CTGF), трансформацияси омил β (TGF- β)1-3 ва микроРНКнинг ўпканинг эмбрион ривожланишига таъсири ҳам кўриб чиқилади.

Калит сўзлар: ўпка, органогенез, органогенезнинг молекуляр омиллари.

Abstract. Recent advances in the study of lung development and regeneration will lead to a better understanding of both congenital and acquired lung diseases. The review noted that the main events in early lung morphogenesis are controlled by a relatively limited group of molecules - these are the proteins FGF, TGF β , SHH, WNT. However, new molecules are being discovered that play an important role in lung organogenesis. The influence of connective tissue growth factor (CTGF), transforming growth factor β (TGF- β) 1-3, and microRNA on the embryonic development of the lungs is also considered.

Key words: lungs, organogenesis, molecular factors of lung organogenesis.

Сложное строение легких млекопитающих обеспечивает адаптацию к дыханию воздухом при рождении и после него. Понимание клеточных и молекулярных механизмов, контролирующих его морфогенез, создает основу для понимания патогенеза острых и хронических заболеваний легких. Дефекты формирования легких связаны с мутациями в генах, играющих важную роль в морфогенезе ветвления легких, включая транскрипционные факторы и сигнальные сети, направляющие как эпителиальную, так и мезенхимальную активность, а также их взаимодействие. Появляющиеся клинические данные свидетельствуют о том, что истоки некоторых заболеваний легких у взрослых находятся в эмбриональном развитии и детском возрасте [4,13]. Последние достижения в изучении развития и регенерации легких, приведут к лучшему пониманию как врожденных, так и приобретенных заболеваний легких [9]. Исследова-

ния до сих пор предполагают, что основные события в раннем морфогенезе легкого контролируется относительно ограниченной группой молекул – это белки FGF, TGF β , SHH, WNT [1, 6]. Однако обнаруживаются новые молекулы, играющие важную роль в органогенезе легких. В связи с этим целесообразно рассмотреть новые различные подходы системного уровня в изучении молекулярных механизмов развития легких.

Сигнализация FGF играет важную роль в развитии легких, гомеостазе и регенерации. При использовали 3D модели клеточной культуры установлено, что FGF2, FGF7, FGF9 и FGF10 способствовали образованию органоидов легких. FGF9 показал сниженную способность стимулировать образование легочных органоидов. FGF7 и FGF10 производили более крупные органоиды и индуцировали органоидное ветвление с более высокой частотой, чем FGF2 или FGF9. Более высо-

кая концентрация FGF и/или использование FGF2 с повышенной стабильностью и сродством к рецепторам FGF повышают эффективность образования органоидов легких, что позволяет предположить, что уровень сигнализации FGF является решающим фактором морфогенеза эпителия легких. Сигнализация EGF играла поддерживающую, но несущественную роль в формировании органоидов легких, индуцированных FGF. Анализ архитектуры тканей и клеточного состава подтвердил, что органоиды легких содержат альвеоларноподобные участки с клетками, экспрессирующими клеточные маркеры альвеоларного типа I и II, а также дыхательные пути с булавовидными и реснитчатыми клетками. Лиганды FGF показали различия в продвижении различных типов эпителиальных клеток легких. FGF9 был мощным индуктором более проксимальных типов клеток, включая реснитчатые и базальные клетки. FGF7 и FGF10 направляли дифференцировку в сторону дистальных отделов легких. Сигнализация WNT повышала эффективность формирования органоидов легких, но в отсутствие сигнализации FGF10 органоиды проявляли ограниченное ветвление и менее дифференцированный фенотип [14].

Приспособление к земной жизни требовало развития органа, способного к эффективному газообмену воздух-кровь. Чтобы справиться с метаболической нагрузкой клеточного дыхания, дыхательная система млекопитающих эволюционировала от относительно простой структуры, подобной двухтрубчатому легкому амфибии, до очень сложной древовидной системы разветвленных эпителиальных дыхательных путей, соединенных с обширной сетью газообменных узлов, называемых альвеолами. Таким образом, развитие такого сложного органа за относительно короткий промежуток времени является экстраординарным достижением и включает в себя тесные перекрестные связи между мезодермальными и эндодермальными клеточными линиями. Огромное и накапливающееся количество данных указывает на то, что каноническая сигнализация WNT является основным регулятором развития легких [17].

Сигнальный путь WNT является важным фактором во время эмбрионального развития позвоночных, которое было связано с несколькими процессами развития, такими как гастрюляция, формирование оси тела и морфогенез многочисленных органов, а именно легких. Белки WNT действуют через специфические трансмембранные рецепторы, которые активируют внутриклеточные пути, регулирующие клеточные процессы, такие как пролиферация, дифференцировка и гибель клеток. Морфогенез эмбрионального легкого зависит от эпителиально-мезенхимальных взаимодействий, которые регулируются несколькими

факторами роста и транскрипции, регулирующими клеточную пролиферацию, судьбу, миграцию и дифференцировку. Этот процесс контролируется различными сигнальными путями, такими как FGF, SHH и WNT среди других. Сигнализация WNT признана ключевым молекулярным фактором в развитии легких млекопитающих. Сигнализация WNT имеет решающее значение для точного ветвления легких цыплят [11]. Сигнальный путь WNT – это консервативный путь, участвующий в важных клеточных процессах, таких как контроль эмбрионального развития, клеточная полярность, клеточная миграция и клеточная пролиферация. Легкое – один из органов, развитие и гомеостаз которого регулируется WNT-путем. Выявлено шесть новых членов семейства WNT, которые участвуют в развитии легких у плода. Недавние сообщения показали новую роль неканонического пути WNT в развитии легких. Эксперименты с нокаутными мышами WNT5a показали, что отсутствие этого неканонического лиганда приводит к нескольким дефектам в легком, таким как аномальное образование капилляров и эндотелиальная дифференцировка, а также нарушение дифференцировки альвеоларных эпителиальных клеток [8].

Остановка альвеоларного и сосудистого развития у недоношенных детей представляет собой серьезную проблему в лечении этих детей. Хотя при нынешнем лечении выживаемость у этих детей улучшилась, но бронхолегочная дисплазия (БЛД) является серьезным осложнением, связанным с высокой смертностью. В период неонатального развития эти дети уязвимы к стрессу. Гипоксия, гипероксия и вентиляционные травмы приводят к окислительному и воспалительному стрессу, который вызывает дальнейшее повреждение альвеол и сосудов легких. Развитие легочной гипертензии у детей с БЛД ухудшает прогноз. Несмотря на значительный прогресс в лечении недоношенных детей, терапия для профилактики БЛД еще не доступна. Эксперименты на животных показали дерегуляцию множества сигнальных факторов, таких как трансформирующий фактор роста β (TGF- β), фактор роста соединительной ткани (CTGF), FGF10, сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), кавеолин-1, (WNT)/ β -катенин и эластин в патогенезе БЛД [10].

Недавние исследования показали, что CTGF участвует в развитии БЛД на экспериментальных моделях. CTGF необходим для нормального развития легких. Экспрессия CTGF повышена в легочных тканях у детей с БЛД. Гипероксия, воспаление и механическая вентиляция увеличивают экспрессию CTGF, которая может способствовать пролиферации фибробластов, производству матрикса и ремоделированию сосудов. В то же время

условная сверхэкспрессия CTGF в клетках альвеолярного эпителия II типа нарушает альвеоляризацию и развитие сосудов, индуцирует ремоделирование сосудов и приводит к легочной гипертензии, патологическим признакам тяжелого БЛД. Дальнейшие исследования показали, что ингибирование CTGF моноклональным антителом CTGF улучшает альвеоляризацию и развитие сосудов, а также снижает ремоделирование легочных сосудов и легочную гипертензию в модели БЛД у грызунов, индуцированной гипероксией. CTGF может быть новой мишенью для терапии БЛД у недоношенных детей [18].

Трансформирующие факторы роста (TGF- β)1-3 – это уникальные многофункциональные белки, которые экспрессируются только у млекопитающих и в основном секретируются, и хранятся в виде латентного комплекса во внеклеточном матриксе. Биологические функции TGF- β у взрослых могут быть проявлены только после активации лиганда, главным образом в ответ на возмущения окружающей среды. Несмотря на то, что TGF- β участвует во многих биологических и патологических процессах человеческого организма, точные роли в поддержании гомеостаза стволовых клеток и тканей не были хорошо документированы до недавних достижений, которые очерчивают их функции в данном контексте. Недавние находки ясно показали, что временная и пространственная активация TGF- β участвует в рекрутировании стволовых/прогениторных клеток, участвующих в процессе регенерации/ремоделирования тканей, тогда как устойчивые аномалии активации лиганда TGF- β , независимо от генетического или экологического происхождения, неизбежно нарушат нормальную физиологию и приведут к патобиологии основных заболеваний [20].

TGF- β – это эволюционно сохраненный плейотропный фактор, который регулирует множество биологических процессов, включая развитие, регенерацию тканей, иммунные реакции и опухолевый генез. TGF- β необходим для органогенеза и гомеостаза легких, о чем свидетельствуют генетически сконструированные мышинные модели. TGF- β имеет решающее значение для эпителиально-мезенхимальных взаимодействий во время морфогенеза ветвления легких и альвеоляризации. Экспрессия и активация трех изоформ лиганда TGF- β в легких временно и пространственно регулируются множеством механизмов. Легкие структурно подвержены воздействию внешних раздражителей и патогенов, а также подвержены воспалению, аллергическим реакциям и канцерогенезу. Повышенная регуляция TGF- β лигандов наблюдается при основных заболеваниях легких, включая легочный фиброз, эмфизему легких, бронхиальную астму и рак легких.

TGF- β регулирует множественные клеточные процессы, такие как подавление роста эпителиальных клеток, дифференцировка альвеолярных эпителиальных клеток, активация фибробластов и организация внеклеточного матрикса. Эти эффекты тесно связаны с ремоделированием тканей при легочном фиброзе и эмфиземе легких. TGF- β также играет центральную роль в гомеостазе Т-клеток и глубоко вовлечен в астматическое воспаление дыхательных путей. TGF- β является наиболее мощным индуктором эпителиально-мезенхимального перехода в немелкоклеточных клетках рака легкого и играет ключевую роль в развитии опухолевого микроокружения в ткани рака легкого [15]. Вскоре после открытия TGF- β , плодотворные работы в моделях позвоночных и беспозвоночных показали, что семейство TGF- β является центральным регулятором морфогенеза тканей. Члены семейства TGF- β координируют сложный органогенез и вносят вклад в тканевую гомеостаз у взрослого человека [12].

Клеточный гомеостаз, развитие и многие важные физиологические процессы в легких, а также в других системах органов зависят от интактной и соответствующей TGF- β сигнализации. Это, возможно, наиболее глубоко продемонстрировано летальными последствиями генетической делеции TGF- β у мышей. Хотя три изоформы TGF- β явно имеют много перекрывающихся функций, некоторые из них уникальны для каждой изоформы. Их роль в развитии легких была широко изучена, и каждая изоформа высоко экспрессируется во время нормального развития легких мыши. TGF- β 1 участвует в ветвлении легких и дифференцировке альвеолярных и бронхиолярных протоков и колокализуется с белками межклеточного матрикса, такими как коллаген, на границах раздела между эпителиальными и мезенхимальными клетками. TGF- β 2 обнаруживается в эндодермальном бронхиолярном эпителии, а TGF- β 3 экспрессируется в мезенхиме трахеи и эндодермальных эпителиальных клетках бронхола и мезодермальных клетках, дающих начало висцеральной плевре. Делеция TGF- β 2 у мышей приводит к перинатальной смерти от дыхательной недостаточности и структурных нарушений легких. Аналогично, генетическая делеция TGF- β 3 является летальной в неонатальном периоде из-за альвеолярной гипоплазии и снижения экспрессии сурфактантного белка С. У мышей с дефицитом TGF- β 1 развивается диффузный системный воспалительный синдром и интерстициальный пневмонит. Хотя отсутствие TGF- β является фатальным, чрезмерная экспрессия может быть столь же разрушительной для процессов развития. Сверхэкспрессия TGF- β 1 и 2 ингибирует ветвящийся морфогенез в эмбриональной мышечной культуре. Сверхэкспрессия TGF- β 1 также нарушает диффе-

ренцировку эпителия и синтез поверхностно-активных белков и фосфолипидов [2].

TGF- β играет важную роль в нормальном морфогенезе и функционировании легких, а также в патогенезе легочных заболеваний. Действие TGF- β регулируется селективным путем синтеза и передачи сигналов TGF- β , который включает активацию латентных TGF- β , специфических рецепторов TGF- β и внутриклеточную передачу сигналов. Все три изоформы TGF- β экспрессируются на высоких уровнях при нормальном развитии легких, что особенно важно для ветвящегося морфогенеза и дифференцировки эпителиальных клеток с созреванием синтеза сурфактанта. Небольшое количество TGF- β все еще присутствует во взрослом легком, и TGF- β участвует в нормальном восстановлении тканей после повреждения легких. Однако при различных формах легочной патологии экспрессия TGF- β повышается. К ним относятся хронические заболевания легких недоношенных, а также несколько форм острых и хронических заболеваний легких взрослых. Хотя TGF- β 1, по-видимому, является преобладающей вовлеченной изоформой, были продемонстрированы повышенные уровни всех трех изоформ. Увеличение TGF- β предшествует нарушениям функции легких и обнаруживаемой легочной патологии, но коррелирует с тяжестью заболевания. TGF- β играет ключевую роль в опосредовании ремоделирования фиброзной ткани, увеличивая выработку и уменьшая деградацию соединительной ткани с помощью нескольких механизмов [3].

Развитие легких включает в себя разнообразные группы молекул, которые регулируют клеточные процессы, образование органов и созревание. Различные стадии развития легких характеризуются накоплением малых РНК, которые стимулируют или подавляют основные механизмы, в зависимости от физиологической среды *внутриутробного развития* и в послеродовой период. В какой-то степени патогенез различных заболеваний легких регулируется малыми РНК. Все шире признается, что некодирующие РНК играют плеотропную и важную роль в регуляции клеточных процессов, включая развитие легких и заболевания. Был идентифицирован ряд микроРНК (miRs), которые играют важную роль в морфогенезе легких. Например, miR-302/367, мишень GATA6, регулирует экспансию эпителиальных клеток-предшественников в пренатальном легком. Аналогично, miR-326 является регулятором СВЧ-сигнализации. MiR-200 регулирует ТТФ-1 и поверхностно-активный белковый и липидный гомеостаз в перинатальном легком [19]. Профиль микроРНК в развивающемся легком выявил повышенный уровень кластера miR-17-92 у 11,5-дневных эмбрионов, который постепенно снижался вплоть до взрослой жизни. Сверхэк-

прессия кластера miR-17-92 в легочном эпителии трансгенных эмбрионов нарушала нормальное развитие легких. Было показано, что let-7a, miR-93, miR-125b-5p, miR-146b, miR-296, miR-1949 и miR-3560 последовательно регулируются на всех трех стадиях, исследованных в эмбриональных легких крыс. В промежутке между этими тремя этапами регулирование miR-1949, miR-125b-5p, miR-296 и miR-93 было понижено, в то время как let-7a, miR-146b и miR-3560 были повышены. Эти семь микроРНК были дополнительно вовлечены в развитие легких плода крысы. Сверхэкспрессия кластера miR-302/367 увеличивала толщину эпителиальной выстилки и уменьшала саккуляцию в эмбриональном легком у 18,5-дневных эмбрионов [5].

Существует большое количество информации о развитии легких в моделях животных; однако относительно мало известно о развитии легких у человека. Последние достижения в области использования первичной легочной ткани человека в сочетании с использованием модельных систем *in vitro*, таких как ткани, полученные из плюрипотентных стволовых клеток человека, привели к растущему пониманию механизмов, управляющих развитием легких человека. Они осветили ключевые различия между моделями животных и людьми, подчеркнув необходимость дальнейшего прогресса в моделировании развития легких человека и использовании человеческих тканей [7].

Литература:

1. Блинова С.А., Орипов Ф.С., Хамидова Ф.М. Клеточные и молекулярные механизмы развития пороков легких. Гены & Клетки. 2021. –Т.16, № 1. - С. 24-28.
2. Aschner Y., Downey G.P. Transforming Growth Factor- β : Master Regulator of the Respiratory System in Health and Disease //Am J Respir Cell Mol Biol. 2016.- 54(5): 647–655.
3. Bartram U., Speer C. P. The role of transforming growth factor beta in lung development and disease // Chest . 2004.-125(2):754-65.
4. Bhattacharya S., Mariani T.J. Systems biology approaches to identify developmental bases for lung diseases//Pediatr Res. 2013.- 73(4 0 2): 514–522.
5. Boateng E.,Krauss-Etschmann S. miRNAs in Lung Development and Diseases //Int J Mol Sci. 2020.- 21(8): 2765.
6. Cardoso W.V., Lü J. Regulation of early lung morphogenesis: questions, facts and controversies// Development. 2006.-133(9):1611-24.
7. Conway R. F., Frum T., Conchola A.S., Spence J.R. Understanding Human Lung Development through In Vitro Model Systems // Bioessays . 2020 Jun;42(6):e2000006.
8. Cosin-Roger J., Ortiz-Masià M. D., Barrachina M.D. Macrophages as an Emerging Source of Wnt

Ligands: Relevance in Mucosal Integrity //Front Immunol. 2019; 10: 2297.

9. HERRIGES M., MORRISSEY E.E. Lung development: orchestrating the generation and regeneration of a complex organ // Development . 2014

Feb;141(3):502-13. doi: 10.1242/dev.098186.

10. Mathew R. Signaling Pathways Involved in the Development of Bronchopulmonary Dysplasia and Pulmonary Hypertension // Children (Basel). 2020 Aug; 7(8): 100.

11. Moura R.S., Carvalho-Correia E., daMota P., Correia-Pinto J. Canonical Wnt Signaling Activity in Early Stages of Chick Lung Development // PLoS One. 2014; 9(12): e112388.

12. Mullen A.C., Wrana J.L. TGF- β Family Signaling in Embryonic and Somatic Stem-Cell Renewal and Differentiation // Cold Spring Harb Perspect Biol. 2017 Jul; 9(7): a022186.

13. Nikolić, M. Z., Sun D., Rawlins E.L. Human lung development: recent progress and new challenges // Development. 2018 Aug 15; 145(16): dev163485.

14. Rabata A., Fedr R., Soucek K., Hampl A., Koledova Z. 3D Cell Culture Models Demonstrate a Role for FGF and WNT Signaling in Regulation of Lung Epithelial Cell Fate and Morphogenesis // Front Cell Dev Biol. 2020.- 21; 8:574.

15. Saito A., Horie M., Nagase T. TGF- β Signaling in Lung Health and Disease // Int J Mol Sci. 2018. - 19(8): 2460.

16. Tzavlaki K., Moustakas A. TGF- β Signaling // Biomolecules. 2020.- 10(3): 487.

17. Volckaert T., De Langhe S.P. Wnt and FGF mediated epithelial mesenchymal crosstalk during lung development // Dev Dyn. 2015.- 244(3): 342–366.

18. Wang X., H.Cui, S.Wu CTGF: A potential therapeutic target for Bronchopulmonary dysplasia // Eur J Pharmacol . 2019 Oct 5;860:172588.

19. Whitsett J.A., Kalin T.V., Xu Y., Kalinichenko V.V. Building and Regenerating the Lung Cell by Cell // Physiol Rev. 2019. - 99(1): 513–554.

20. Xu X., Zheng L., Yuan Q, Zhen G., Crane J.L., Zhou X., Cao X. Transforming growth factor- β in stem cells and tissue homeostasis // Bone Res. 2018; 6: 2.

НЕКОТОРЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ В ОРГАНОГЕНЕЗЕ ЛЕГКИХ

Блинова С.А., Юлдашева Н.Б., Хусанов Т.Б.

Резюме. Последние достижения в изучении развития и регенерации легких, приведут к лучшему пониманию как врожденных, так и приобретенных заболеваний легких. В обзоре отмечено, что основные события в раннем морфогенезе легкого контролируются относительно ограниченной группой молекул – это белки FGF, TGF β , SHH, WNT. Однако обнаруживаются новые молекулы, играющие важную роль в органогенезе легких. Рассмотрено также влияние фактора роста соединительной ткани (CTGF), трансформирующего фактора роста β (TGF- β)1-3, микроРНК на эмбриональное развитие легких.

Ключевые слова: легкие, органогенез, молекулярные факторы органогенеза легких.