

ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЙ ПЕРЕХОД, ТРАНСДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ, РЕПРОГРАММИРОВАНИЕ И МЕТАПЛАЗИЯ: СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ

Мнихович М.В.¹, Вернигородский С.В.², Буньков К.В.³

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия; ²Винницкий национальный медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Винница, Украина; ³Смоленский областной институт патологии, Смоленск, Россия, e-mail: mnichmaxim@yandex.ru

MODERN VIEW OF EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSITION TRANSDIFFERENTIATION, REPROGRAMMING AND METAPLASIA

Mnikhovich MV¹, Vernygorodskiy SV², Bunkov KV³

¹NI Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia; ²NI Pirogov Vinnitsa National Medical University, Vinnitsa, Ukraine; ³Smolensk Regional Pathology Institute, Smolensk, Russia, e-mail: mnichmaxim@yandex.ru

Для цитирования:

Мнихович М.В., Вернигородский С.В., Буньков К.В. Эпителиально-мезенхимальный переход, трансдифференциация, репрограммирование и метаплазия: современный взгляд на проблему// Морфологические ведомости.- 2017.- Том 25.- № 3.- С. 14-21. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.17\(25\).03.14-21](https://doi.org/10.20340/mv-mn.17(25).03.14-21)

For the citation:

Mnikhovich MV, Vernygorodskiy SV, Bunkov KV. Epithelial-mesenchymal transition, transdifferentiation, reprogramming and metaplasia: modern view on the problem. *Morfologicheskie Vedomosti – Morphological Newsletter*. 2017 Sep 30;25(3):14-21. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.17\(25\).03.14-21](https://doi.org/10.20340/mv-mn.17(25).03.14-21)

Резюме: В статье на основе анализа литературы и результатов собственных наблюдений показано формирование современных взглядов на проблемы метаплазии, трансдифференциации, репрограммирования клеток и эпителиально-мезенхимального перехода. Трансдифференциация в статье рассматривается в качестве разновидности метаплазии, которая характеризуется необратимым переходом уже дифференцированных клеток в другой тип, вследствие потери одного фенотипа и получения другого. Метаплазия, в широком аспекте использования термина, означает превращение одного клеточного или тканевого фенотипа в другой и происходит как путем превращения стволовых клеток, так и прямой конверсии уже дифференцированных клеток. Помимо этого, метаплазию можно рассматривать как потенциально обратимое изменение, при котором дифференцированные типы клеток замещаются другими дифференцированными типами клеток, как правило, лучше приспособленных к трансформированным условиям среды. Эпителиально-мезенхимальный переход – процесс изменения эпителиальными клетками эпителиального фенотипа на мезенхимальный, происходящий в эмбриональном развитии, при заживлении ран, а также при патологических процессах, в том числе опухолевой прогрессии и фиброзе. Эпителиально-мезенхимальный переход, метаплазия, трансдифференциация и репрограммирование клеток являются сложными динамическими патофизиологическими процессами, зависящими от взаимодействия скоординированных молекулярных сигнальных путей. Они играют ключевую роль во время эмбрионального развития, позволяя клеткам мигрировать для создания необходимых тканей и развития органов. Это объясняет постнатальные изменения тканей, возникающие при заживлении ран и фиброзе, их участие в инвазии и прогрессии опухолей. Понимание молекулярных механизмов, вовлеченных в эпителиально-мезенхимальный переход, трансдифференциацию, метаплазию и репрограммирование может открыть новые перспективы в изучении канцерогенеза, создании эффективных таргетных лекарственных средств, действующих целенаправленно на определенный сигнальный путь или рецептор. Рассмотренные в настоящей статье особенности метаплазии, трансдифференциации, эпителиально-мезенхимального перехода и клеточного репрограммирования позволяют представить лишь общие контуры событий, которые возникают при межклеточных взаимодействиях через активацию различных молекулярно-генетических путей. Ежегодное открытие новых факторов, участвующих в межклеточных взаимодействиях ставит перед исследователями важные задачи, которые возможно разрешить только при тесном международном сотрудничестве научного сообщества.

Ключевые слова: метаплазия, трансдифференциация, репрограммирование, эпителиально-мезенхимальный переход

Summary: The article portrays modern views on the problems of formation of metaplasia, transdifferentiation and reprogramming of cells and epithelial-mesenchymal transition on the basis of analysis of literature and the results of our own observations. Transdifferentiation in this article is considered as a kind of metaplasia, which is characterized by an irreversible transition of already differentiated cells into another type, due to the loss of one phenotype and the production of another. Metaplasia, in its broad aspect means the transformation of one cellular or tissue phenotype into another and occurs both through the transformation of stem cells and direct conversion of already differentiated cells. In addition to this metaplasia can be considered as a potentially reversible change, in which differentiated cell types are replaced by other differentiated cell types, usually better adapted to the transformed environmental conditions. Epithelial-mesenchymal transition is the process of epithelial cells alteration of epithelial phenotype to mesenchymal phenotype occurring in embryonic development, healing of wounds as well as in the pathological processes, including tumor progression and fibrosis. Epithelial-mesenchymal transition, metaplasia, transdifferentiation and cell reprogramming are complex dynamic pathophysiological processes that depend on the interaction of coordinated molecular signaling pathways. They play a key role during embryonic development, allowing cells to migrate to create the necessary tissues and organ development. This explains of the postnatal tissue changes that occur during wound healing and fibrosis, their involvement in the invasion and progression of tumors. Understanding the molecular mechanisms involved in the epithelial-mesenchymal transition, transdifferentiation, metaplasia and reprogramming can open up new perspectives in the study of carcinogenesis, the creation of effective targeted drugs that act purposefully on a particular signaling pathway or receptor. The features of metaplasia, transdifferentiation, epithelial-mesenchymal transition and cellular reprogramming considered in this article allow us to present only the general outlines of events that arise during intercellular interactions through the activation of various molecular genetic pathways. The annual discovery of new factors involved in intercellular interactions pose important tasks for researchers, which can be solved only with close international co-operation of the scientific community.

Key words: metaplasia, transdifferentiation, reprogramming, epithelial-mesenchymal transition

Введение. Соматические клетки, которые переходят от одного зрелого фенотипа к другому, обладают свойством пластичности. Благодаря детерминации тканям свойственно сохранение своей специфической структуры после повреждения. Пластичность обеспечивает возможность различных преобразований. Детерминация и пластичность являются проявлениями наследственности. Консерватизм наследственности обуславливает тканевую детерминацию, изменчивость наследственности – тканевую пластичность. При оценке консерватизма наследственности ткани необходимо учитывать время появления ее в филогенезе. Чем ткань детерминированней, тем она менее пластична и наоборот. Филогенетически наиболее древними являются эпителии кожи и кишечника. Их производные, в частности образованные из них железы, – моложе. Морфогенетические потенции тканей, следовательно, и границы метаплазии зависят как от консерватизма наследственности и филогенетической давности ткани, так и от различных видов патологии развития, с разной силой расшатывающих этот консерватизм. Морфологическое исследование имеет решающее значение в изучении границ метаплазии и объема предполагаемых тканевых преобразований. Но именно здесь толкование феномена оказывается сложным и запутанным. В обычных условиях пластичность тканей ограничена их наследственными свойствами. Консерватизм наследственности, определяющий специфическую тканевую дифференциацию, ответственен за то, что из недифференцированных клеток образуется только желудочный эпителий. Морфологическим проявлением этого является появление уплощенного эпителия в ямках и на валиках. Длительное нарушение физиологической регенерации с преобладанием фазы пролиферации над фазой дифференциации до некоторой степени «раскачивает» наследственность, что приводит к замене «детерминации» на «пластичность» с расширением формообразующих потенций ткани. Следовательно, клетки герминативной зоны могут дифференцироваться в кишечный эпителий [1]. Причины подобного искаженного хода физиологической регенерации не выяснены. Становится все более очевидным, что эпителиальные и эндотелиальные клетки используют некоторые свойства пластичности, которые легко были продемонстрированы при изучении процесса эпителиально-мезенхимального перехода (далее – ЭМП). Эпителиальные клетки, пластичность которых можно рассматривать как форму либо трансдифференциации (метаплазии), либо как ЭМП. Трансдифференциация в целом относится к способу, при котором один зрелый фенотип эпителиальных клеток превращается в другой зрелый фенотип эпителиальной клетки с или без клеточного деления. Неясно, представляет ли собой трансдифференциация переходное состояние. Michael Zeisberg and Eric G. Neilson в своей работе выделяют следующие категории пластичности эпителиальных клеток (рис. 1) [2]:

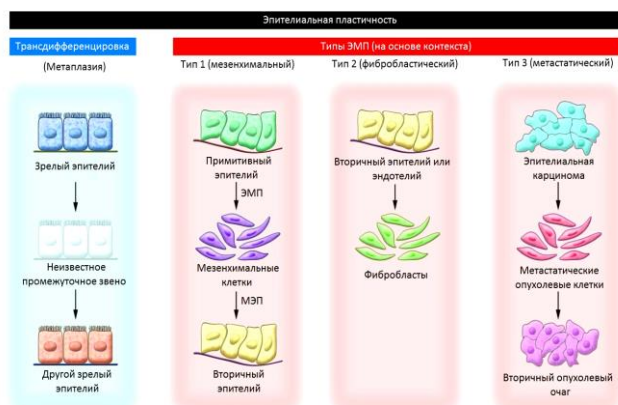


Рис. 1. Эпителиальная пластичность клеток. [2].

Эпителиальная трансдифференциация, которая включает трансдифференциацию гепатоцитов в островковые клетки поджелудочной железы, преобразование пигментных эпителиальных клеток радужки глаза в хрусталик, формирование альвеолоцитов I типа из II, интерполяцию клеток типа А в Б клетки щитовидной железы, эпителиальных клеток нижней трети пищевода в пищевод Барретта, преобразование лактоотропных клеток гипофиза в соматотропные. ЭМП – сложный процесс изменения эпителиальными клетками эпителиального фенотипа на мезенхимальный, происходящий в эмбриональном развитии, при заживлении ран, а также при патологических процессах, в том числе опухолевой прогрессии и фиброзе [3]. Существует также и обратный процесс – мезенхимально-эпителиальный переход

(Mesenchymal-epithelial transition). Этот биологический феномен впервые описала Элизабет Хей в 1995 году [4]. Она же впервые применила и термин, который вскоре был заменен на более точный – «эпителиально-мезенхимальный переход», что отчасти отображает обратимость процесса. В настоящее время под ЭМП понимают процесс, при котором эпителиальные клетки утрачивают присущие им свойства (межклеточную адгезию и апикально-базальную полярность) и приобретают свойства мезенхимальных клеток (веретеновидная форма, реорганизация цитоскелета с появлением стрессорных фибрилл, подвижность и синтез компонентов внеклеточного матрикса). ЭМП – это эволюционно закрепившийся процесс, связанный с переходом от одноклеточных организмов к многоклеточным и обеспечивающий перемещение эмбриональных клеток, дающих начало новым специализированным тканям и органам. Однако при изменении условий существования тканей в постэмбриональном периоде, при воздействии повреждающих факторов, в процессе канцерогенеза возможна активация генетических программ ЭМП [5]. R. Kalluri и соавторы (2009) предложили разделить ЭМП на три типа. Первый тип ЭМП связан с эмбриогенезом, он носит временную и пространственную запрограммированность, обеспечивает перемещение эпителиальных клеток и формирование новых тканей, может быть обратимым, не сопровождается фиброзом, деструкцией и неконтролируемым ростом клеток. Второй тип ЭМП развивается при повреждении клеток, репарации и воспалении в тканях, и может лежать в основе фиброзирования органов. Третий тип ЭМП характерен для опухолевой трансформации клеток и определяет появление у них свойств инвазии и метастазирования. Он связан с генетическими и эпигенетическими изменениями онкогенов и супрессорных генов [6]. Основным признаком ЭМП считается подавление в клетках экспрессии Е-кадгерина, участвующего в образовании плотных контактов между эпителиоцитами. Подавление экспрессии Е-кадгерина приводит к потере межклеточных контактов и увеличению уровня β -катенина в ядре [7]. Также признаками ЭМП является подавление синтеза эпителиальных маркеров таких, как десмоплакин и плакоглобин, и индукция синтеза мезенхимальных белков таких как виментин, фибронектин и

гладко-мышечный актин [3]. Не подлежит сомнению тот факт, что ЭМП играет ключевую роль в опухолевой прогрессии и метастазировании. Запуск программы перехода даёт клеткам явные преимущества, которые способствуют эффективной инвазии и метастазированию в удалённые органы и ткани. ЭМП является основным, хоть и не единственным механизмом, отвечающим за образование метастазов. Приобретая мезенхимальный фенотип, отдельные раковые клетки получают возможность проникать в окружающие ткани, а также преодолевать барьер эндотелия, поступая в кровеносные или лимфатические сосуды [3]. Когда клетки достигают вторичных очагов роста, они перестают получать сигналы от первичной опухоли и претерпевают обратные изменения, снова приобретая эпителиальный фенотип. Этот обратный процесс получил название мезенхимально-эпителиального перехода [8-9]. ЭМП запускается и контролируется сигналами клеточного микроокружения, которые регулируют функции определённых генов и запускают цитоплазматические реакции. Описано несколько транскрипционных факторов, которые играют ключевую роль в подавлении эпителиальных белков, таких, как E-кадгерин и ZO-1 (Zona occludens protein 1). Это транскрипционные факторы типа цинковых пальцев, к которым относятся SNAIL1, SLUG (SNAIL2), TWIST1, ZEB1 (другое название TCF8 и δ EF1), SIP1 (другое название ZEB2 и ZFXH1B) и E47 (другое название TCF3) [10-14]. Известно, что E-кадгерин закрепляется в мембране посредством β -катенина – мультифункционального белка, который помимо стабилизации клеточных контактов, выполняет функцию транскрипционного фактора. β -Катенин связывается с цитоплазматическим доменом E-кадгерина, соединяя его с белками цитоскелета, тем самым закрепляя в мембране. При подавлении экспрессии E-кадгерина в процессе эпителиально-мезенхимального перехода β -катенин высвобождается из комплекса с E-кадхерином, переходя в цитоплазму, где может стабилизироваться посредством Wnt-сигнала и транспортироваться в ядро. В ядре β -катенин выступает в роли кофактора некоторых транскрипционных факторов, запускающих экспрессию генов контроля клеточного цикла [15-16]. Известно, что одним из ключевых факторов развития эпителиально-мезенхимального перехода является белок Snail1. По данным ряда исследователей, Snail1 напрямую подавляет транскрипцию E-кадгерина – основного белка клеточных контактов [17]. Эксперименты, проведённые N. Kurreu и соавт. на клеточных линиях рака яичников, показывают, что повышение экспрессии Snail1 в условиях гипоксии сопровождается снижением уровня E-кадгерина и повышением способности клеток к инвазии [18]. Предположительно Snail1 вовлечён в развитие гормональной резистентности клеток рака молочной железы [19]. Также существуют данные о том, что Snail1 не только способствует клеточной инвазии, но и делает клетки более устойчивыми к некоторым неблагоприятным факторам [20].

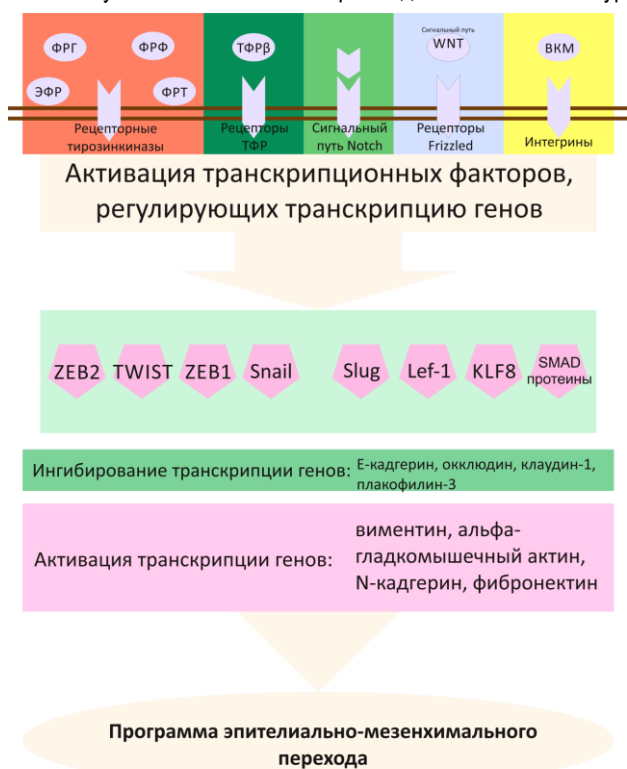


Рис. 2. Механизмы эпителиально-мезенхимального перехода.

Fibronectin, в свою очередь, наоборот активируются.

Одним из основных процессов, происходящих во время регенерации тканей, является превращение эпителиальных клеток в мезенхимальные и, наоборот, из мезенхимальных клеток в эпителиальные. На рисунке 3 показана разница между этими двумя основными фенотипами клеток. Важно, что нет никаких других многоклеточных тканей. Эпителиальные клетки плотно связаны друг с другом и с внеклеточным матриксом. Внеклеточный матрикс является базальной пластинкой, которая служит своего рода «колыбелью» для эпителиальных клеток. Мезенхимальные клетки расположены в 3D внеклеточной матрицы. Они биполярны, а это значит, что у них есть другое расположение цитоскелета и распределение органелл внутри них. Первый этап эпителиально-мезенхимального перехода (epithelial-mesenchymal transition - EMT) – разрушение эпителиальных межклеточных контактов, плотных соединений, слипающихся между собой, десмосом и щелевых контактов, а также, нарушение клеточной полярности через нарушение частиц, разделение

неисправных так называемых PAR- и Scribble (SCRIB) - полярных комплексов. Экспрессия эпителиальных генов подавляется одновременно с активацией экспрессии мезенхимальных генов.

Далее эпителиальная структура актина реорганизуется, и клетки приобретают подвижность и инвазивный потенциал путем формирования ламеллоподий, филоподий и инвадопий, а также с помощью экспрессии матричной металлопротеиназы (matrix metalloproteinases - MMPs), что, в дальнейшем, может привести к снижению внеклеточных матричных белков (extracellular matrix (ECM) proteins). Процесс мезенхимально-эпителиального перехода (МЭП) позволяет клеткам, которые подверглись ЭМП, вернуться в эпителиальный фенотип [22]. ЭМП свойственен нормальному эпителию в процессе развития, особенно раннего, например при гастрюляции, когда эпителий приобретает подвижность и активно внедряется в подлежащие слои. ЭМП имеет место при временных повреждениях ткани, при этом эпителиальные клетки теряют полярность, прекращают синтез кадхеринов, образуют виментин и фибронектин и одновременно с этим приобретают подвижность. Они прекращают синтез клеточных ядерных трансфакторов и образование антигенов, характерных для эпителиальных тканей. Эпителиальные клетки становятся типичными фибробластами. ЭМП, по-видимому, лежит в основе инвазии и метастазирования: клетки эпителиальной опухоли становятся подвижными и приобретают способность расселяться по разным территориям организма. При этом очень существенно, что клетки претерпевают физиологическое, а не генетическое превращение, так как ЭМП обратим [3].

Одним из маркеров ЭМП является переход от цитокератиновых промежуточных филаментов к виментиновым. ЭМП сопровождается изменением профилей транскрипции генов, в том числе компонентов цитоскелета и внеклеточного матрикса, а также протеолитических ферментов, участвующих в деградации последнего. Нарушения межклеточных контактов недостаточно для приобретения клетками подвижности и способности проникать в новое для них окружение. Важная роль в этом процессе отводится интегринам, определяющим взаимодействие клеток с внеклеточным матриксом, и

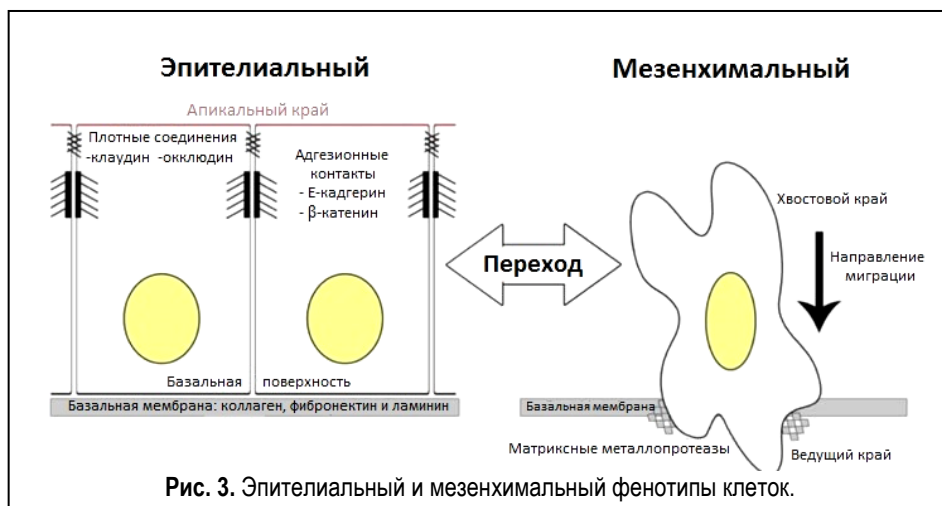


Рис. 3. Эпителиальный и мезенхимальный фенотипы клеток.

протеазам, осуществляющим перестройку или деградацию компонентов матрикса. Изменение соотношения интегриновых субъединиц в клетке и их аффинности может не только сообщать клетке новую субстратную специфичность, но и модулировать активность протеолитических ферментов, контролировать организацию цитоскелета и влиять на выживаемость [23]. Изменение локального микроокружения и утрата эпителиальной морфологии могут способствовать

снижению уровня дифференцировки: нарушение функций исходной ткани и дерегуляция экспрессии тканеспецифических генов являются характерным признаком опухолевой прогрессии. Однако полной утраты тканеспецифических свойств никогда не происходит: при дедифференцировке эпителиальные опухоли сохраняют, по крайней мере, часть признаков исходной ткани и способность к редифференцировке. Кроме того, при дедифференцировке может происходить возобновление синтеза эмбрионспецифических белков, характерных для незрелых клеток определенного типа. Метастазы, возникшие на основе ЭМП, могут приобретать морфологию исходной опухоли, а эпителий в краевых районах раны может приобретать свойства фибробластов. Индукция ЭМП имеет место при взаимодействии опухолей, экспрессирующих онкоген Ras и TGF β . Но так или иначе ЭМП выглядит как заключительный этап прогрессии эпителиальной опухоли, когда опухоль теряет эпителиальные признаки (полярность клеток, специфические клеточные контакты, характерную морфологию и тканеспецифическую антигенную структуру) и одновременно приобретает черты фибробластов (экспрессию виментина, подвижность, независимость от территории роста). Можно думать, что понимание этого процесса и факторов, в нем участвующих, создадут основу для рациональной терапии инвазии и метастазирования – главных свойств злокачественности. При этом непонятно, что будет дальше. Ведь прогрессия должна быть бесконечна, а ЭМП как бы завершает ее [24].

До сих пор считалось, что дифференцированные клетки могут возникать из зародышевых или стволовых клеток. Но сейчас известно, что путем трансдифференциации зрелые клетки одного фенотипа могут превращаться в полностью дифференцированные клетки другого [25]. Метамплазия, в широком аспекте использования термина, означает превращение одного клеточного или тканевого фенотипа в другой и происходит как путем превращения стволовых клеток, так и прямой конверсии уже дифференцированных клеток. Впервые метамплазия слизистой оболочки желудка (далее - СОЖ) упоминается Купфером в 1883 году [26]. В 1884 году Р.Вирхов ввел это понятие в медицинскую практику [27]. Как считал Вирхов, метамплазия есть изменение характера ткани при сохранности ее клеток. Он не разграничивал метамплазию, эмбриональные дифференцировки и изменчивость, также он выделял прямую метамплазию, возникающую без размножения клеток, и косвенную, связанную с пролиферацией.

Трансдифференциация - это разновидность метоплазии, которая характеризуется необратимым переходом уже дифференцированных клеток в другой тип, вследствие потери одного фенотипа и получения другого. Трансдифференциация может происходить двумя основными путями: 1) с привлечением клеточного деления, дедифференциации через промежуточный тип клеток и появлением нового фенотипа без свойств первичной дифференцированной клетки (преобразование пигментных эпителиальных клеток радужки глаза в хрусталик); 2) прямой трансдифференциацией без клеточного деления (например, превращение клеток поджелудочной железы в гепатоциты) [28-31]. В норме дедифференциация и клеточное деление являются существенными промежуточными процессами развития клетки, но они не обязательно возникают во всех случаях. Трансдифференциация ассоциирована с изолированным изменением в программе экспрессии генов и является прямым прототипом связи между двумя клеточными линиями (видам). Таким образом, метоплазию можно рассматривать как потенциально обратимое изменение, при котором дифференцированные типы клеток замещаются другими дифференцированными типами клеток, как правило, лучше приспособленных к трансформированным условиям среды [32]. На молекулярном уровне причиной трансдифференциации, вероятно, являются изменения в экспрессии главного гена-переключателя (гомеотического гена), который способен различать две клеточные линии при нормальном развитии. О тесной патогенетической связи метоплазии с системой генетической детерминации тканей свидетельствуют и современные труды иностранных авторов в опытах на Cdx2-трансгенных мышах [33-35] и исследований гастробиопсий, полученных от пациентов [36-37]. После того, как были открыты и изучены гомеозисные гены дрозофилы, похожие гены были найдены у всех других многоклеточных организмов от нематоды до человека. Большое количество транскрипционных факторов многоклеточных организмов вовлечены в обеспечение их развития. Определяющая черта этих факторов - наличие в их составе одного или более ДНК-связывающих доменов, которые взаимодействуют с определенными участками ДНК, расположенными в регуляторных областях генов. Гомеодоменные белки связывают гомеобокс (особый участок ДНК) и играют критическую роль в индивидуальном развитии организмов - онтогенезе [38]. В геноме человека обнаружено более 2600 белков, имеющих ДНК-связывающий домен, и большинство из них - факторы транскрипции [39]. Поэтому они составляют наибольшее семейство белков человека. Многие гены регулируются корпоративным взаимодействием различных факторов транскрипции, что делает уникальность регуляции каждого гена в процессе развития организма.

Сегодня до конца не выяснено, как происходит спецификация (специализация, детерминация) кишечной энтодермы. Считается, что она дифференцируется локально на ранних стадиях эмбриогенеза и спецификация детерминируется во взаимодействии с окружающей мезенхимой. Согласно переднезадней оси тела, модель экспрессии гомеобоксных генов (Нох), как полагают, ответственна за спецификацию различных органов. Гены Нох кодируют белки, регулируют транскрипцию и определяют структуры тела и их расположение в переднезаднем направлении. Работая в соответствии с генетической программой, они иницируют или подавляют транскрипцию определенных генов в ответ на внешние воздействия, что приводит к изменению морфологии, дифференциации клеток, морфогенеза, органогенеза. Cdx1 и Cdx2 - это каудально связанные гомеобоксные транскрипционные факторы с селективной локализацией в ядрах эпителиоцитов слизистой оболочки тонкой и толстой кишки плодов и взрослых. В неизменной слизистой оболочке желудка (далее – СОЖ) они отсутствуют. В слизистой оболочке здорового кишечника Cdx2 экспрессируются преимущественно в дифференцированных энтероцитах на ворсинках, а Cdx1 - в недифференцированных клетках пролиферативного компартмента крипт [40]. Многочисленные исследования показали, что aberrантная экспрессия Cdx1 и Cdx2 в СОЖ может иметь ключевую роль в развитии кишечной метоплазии. Так, Mesquita и соавт. доказали, что Cdx2 активирует экспрессию кишечного муцинового гена MUC2 в желудочных клетках, индуцируя интестинальную трансдифференциацию как в участках кишечной метоплазии, так и в отдельных типах рака желудка [41]. Вместе с этим, дифференцированию желудочного эпителия способствуют Runx3, Sox2, Shh и Ptc. Потеря их функции, вероятно, также может приводить к трансдифференциации клеток желудочного типа в кишечный. В нормальной слизистой оболочке желудка (СОЖ) экспрессия Cdx2 может прямо или косвенно подвергаться супрессии при участии Runx3, Sox2, Shh и Ptc [42]. Таким образом, молекулярно-биологические исследования показывают, что Cdx2 путем активации собственного промотора может закреплять кишечный фенотип за клетками, что противоречит концепции обратимости метоплазии. Поэтому дальнейшие исследования этого феномена могут прояснить идентичные молекулярные механизмы возникновения клеток мезенхимы при различных патологических процессах.

Регенерация эпителия СОЖ, как и любой другой ткани в организме человека, включает его детерминацию, дифференцировку и специализацию. Согласно современным взглядам, стволовая клетка является полипотентной, развитие которой однозначно еще не детерминировано. Тканевая детерминация, или достижение специфичности, которая является проявлением наследственности, реализуется в дочерних клетках. Механизм детерминации связан с репрессией (блокировкой) и дерепрессией (деблокированием) генов. Изменения активности генетического аппарата в процессе тканевой детерминации в дальнейшем реализуются в определенных линиях специфической дифференцировки. При этом детерминация тканевых свойств клеток осуществляется на уровне синтеза информационной РНК, в то время как дифференцировка происходит путем трансляции генетического кода с её молекулы на специфические молекулы синтезируемого белка. Дифференцировка клеток представляет собой сложный процесс, при котором совершенствуются внутриклеточные структуры и функции клеток. На основе глубокого обзора литературы по клеточной дифференцировке, выполненного Трумэнном [43], можно сделать вывод, что изменения и усовершенствования структуры и функции клеток при их дифференцировке возникают без изменений клеточного генома, но с активацией или репрессией различных групп генов (его составляющих). На основе этих данных низкодифференцированные клетки генеративных зон являются пулом дочерних клеток стволового эпителиоцита слизистой. Они уже имеют направление в дифференцировке в соответствии с набором активированных и репрессированных генов. Последующие дифференцировки происходят благодаря редукции одних и

развития других внутриклеточных структур, осуществляются под воздействием активированных генов, транскрибирующихся в мРНК.

Современные данные свидетельствуют о том, что именно изменение программы дифференцировки стволовой клетки СОЖ, расположенной в зоне перешейка желез, является пусковым механизмом метаплазии [44]. Но некоторые авторы придерживаются теории дедифференцирования, согласно которой зрелая клетка СОЖ - мукоцит - теряет признаки специализации и становится похожей на стволовую клетку [45]. Также существует теория развития клеток мезенхимы из клеток костного мозга, которые с током крови попадают в СОЖ [46]. Восстановление плюрипотентности в дифференцированных клетках и связанные с этим процессы репрограммирования генома - актуальные проблемы современной биологии и молекулярной патологии. Посвященные им исследования, кроме прикладных аспектов (получение иммуносовместимых клеток для трансплантологического лечения различных болезней), причастны и к другим фундаментальным проблемам биологии (регуляция дифференцированной активности генов, процессов индивидуального развития и другие). В течение нормального развития эмбриональные клетки при дифференцировании теряют свою первоначальную плюрипотентность, в результате чего специализированные клетки лишены потенциала преобразования в другие типы клеток. Долгое время считалось, что потеря плюрипотентности необратима. Впрочем, в экспериментах на амфибиях и млекопитающих было показано, что ядра дифференцированных клеток, изъятых у взрослого животного, после пересадки в энуклеированные ооциты способны обеспечить полное развитие организма. Эти данные свидетельствуют о том, что ядра отдельных дифференцированных клеток могут быть репрограммированы цитоплазматическими факторами ооцита [47]. Феномен репрограммирования ядра зрелой соматической клетки интенсивно изучается в последнее время в связи с перспективой получения «пациент-специфических» плюрипотентных клеток, подобных эмбриональным стволовым. При реализации этого феномена под влиянием неизвестных факторов в ядре соматической клетки происходит активация генов раннего эмбриогенеза и ингибирование генов, ответственных за дифференцировку и специализацию. При полном репрограммировании теряется как специализированная генетическая, так и эпигенетическая информация, и клетка приобретает свойства плюрипотентной. Полное репрограммирование ядра терминально дифференцированной соматической клетки доказано экспериментально. Оно происходит при его переносе в энуклеированную неоплодотворенную яйцеклетку [47], при слиянии зрелой специализированной клетки с эмбриональной стволовой [48-49]. Однако до сих пор остаются неизученными механизмы и факторы, регулирующие реализацию этого биологического феномена.

До 2008 года перепрограммированные клетки удавалось получать, лишь внедряя в их хромосомы дополнительные гены (с помощью встраивающихся в них видоизмененных вирусных ДНК), работа которых и возвращала клетки в «младенческое», недифференцированное, состояние. Как бы ни были эффективны подобные методы, они предусматривают изменение генома, и даже если внедренные гены, перепрограммировав клетки, перестают работать, полученная в итоге культура оказывается генетически неидентичной исходным клеткам — и всему организму, из которого они происходят. Поэтому перспектива внедрения в медицинских целях потомков таких клеток обратно в этот организм вызвала дополнительные опасения, связанные с возможными побочными эффектами их генетических отличий (в частности, внедрение новых генов нередко повреждает уже имеющиеся гены, что может повышать вероятность развития из таких клеток злокачественной опухоли). В 2008 году исследователям впервые удалось перепрограммировать клетки, не внося изменений в их геном или внося меньшие изменения, чем приходилось делать ранее. Внедрение некоторых генов удалось заменить воздействием определенных веществ. Кроме того, клетки мышей удалось перепрограммировать с помощью вирусов, не встраивающихся в геном: гены, встроенные в ДНК этих вирусов, работают в зараженной клетке, но не оказываются в составе ее хромосом и не передаются всем ее потомкам [50]. Наиболее важным успехом в репрограммировании стало открытие, что клетки могут быть репрограммированы путем избыточной экспрессии ключевых транскрипционных факторов [51]. Четыре транскрипционных фактора (Oct4, Sox2, Klf4 и Myc) могут быть действительно трансформированы в соматические клетки и при правильных условиях культивирования, будут репрограммированы некоторые из них в ESC-подобное состояние, обозначаемое 'induced pluripotent stem cells' (iPSCs) [52].

Одной из наиболее актуальных задач клинической науки нынешнего столетия является развитие терапевтических стратегий, способных обратить вспять прогрессирование сердечной недостаточности — основной причины инвалидности и смертности населения. Большие надежды в этом плане возлагаются на методы клеточной терапии, которые могли бы предотвратить образование соединительной рубцовой ткани вместо мышечной. Простейшим подходом к решению этой задачи могло бы быть перепрограммирование сердечных фибробластов непосредственно в организме путем доставки в сердце факторов транскрипции [53] или микроРНК [54-55]. Была предпринята попытка перепрограммировать сердечные фибробласты в кардиомиоцит-подобные клетки *in vivo* путем гиперэкспрессии в них факторов транскрипции Gata4, Mef2c и Tbx5 (GMT) [56]. В случае удачи, такой подход позволил бы превращать рубцовую ткань в мышечную непосредственно в сердце, без необходимости клеточной трансплантации. Эффективность такого перепрограммирования оказалась очень низкой, а фенотип полученных кардиомиоцитов существенно отличался от фенотипа нормальных зрелых кардиомиоцитов. Результатом чего явилась низкая выживаемость перепрограммированных клеток [57]. Позднее в опытах *in vitro* фенотип удалось несколько исправить (добавлением ESRRG, MESP1, Myocardin, ZFPM2 и TGF- β), но эффективность перепрограммирования осталась низкой [58]. Таким образом, необходимы дальнейшие технические усовершенствования, чтобы сделать эту технологию более применимой для лечения.

Методы перепрограммирования клеток, не предполагающие изменения их генома, пока работают менее эффективно, чем основанные на внедрении дополнительных генов в хромосомы, и некоторые из них пока позволяют перепрограммировать лишь клетки мыши, но не человека. Однако теперь, когда ясно, что перепрограммирование клеток без изменения генома принципиально осуществимо, есть все основания полагать, что технологии, лежащие в основе такого

перепрограммирования, будут развиты и усовершенствованы в недалеком будущем. Важная недавняя ветвь репрограммирования соответствует трансдифференцировке или трансверсии, при которой соматические клетки переключаются из одного состояния в другое, но при этом не обязательно возрастает онтогенетическая пластичность. Использование коктейля транскрипционных факторов успешно используется, чтобы трансдифференцировать ряд клеточных типов из одного клона в другой. Такое репрограммирование может произойти внутри клона. Так, например, конверсия экзокринных клеток в эндокринные клетки (обе энтодермального происхождения) или альтернативный поперечный переход клонов, как это было продемонстрировано при превращении фибробластов в нейроны (мезодермально-эктодермальное переключение клонов). Можно ожидать, что число типов клеток, которые могут стать предметом для трансдифференцировки будет постоянно расти благодаря новым комбинациям транскрипционных факторов, способных обеспечивать определенные клеточные особенности. Трансдифференцировка также обещает ряд потенциальных преимуществ по генерации клинически пригодных клеток, особенно в отношении эффективности конверсии, которая, по-видимому, в некоторых случаях достаточно высокая. Кроме того, клетки, возникающие с помощью этого пути, могут нести меньший риск генерации карцином, поскольку необходимые онкогены не используются в этой процедуре репрограммирования [59]. Рассмотренные в настоящей статье особенности метаплазии, трансдифференциации, эпителиально-мезенхимального перехода и клеточного репрограммирования позволяют представить лишь общие контуры событий, которые возникают при межклеточных взаимодействиях через активацию различных молекулярно-генетических путей. Ежегодное открытие новых факторов, участвующих в межклеточных взаимодействиях ставит перед исследователями важные задачи, которые возможно разрешить только при тесном международном сотрудничестве научного сообщества.

Заключение. Эпителиально-мезенхимный переход, метаплазия, трансдифференциация и репрограммирование клеток являются сложными динамичными патофизиологическими процессами, зависящими от взаимодействия скоординированных молекулярных сигнальных путей. Они играют ключевую роль во время эмбрионального развития, позволяя клеткам мигрировать для создания необходимых тканей и развития органов. Это объясняет постнатальные изменения тканей, возникающие при заживлении ран и фиброзе, их участие в инвазии и прогрессии опухолей. Понимание молекулярных механизмов, вовлеченных в эпителиально-мезенхимный переход, трансдифференциацию, метаплазию и репрограммирование может открыть новые перспективы в изучении канцерогенеза, создании эффективных таргетных лекарственных средств, действующих целенаправленно на определенный сигнальный путь или рецептор.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Аруин Л.И. О морфогенезе кишечной метаплазии слизистой оболочки желудка / Под ред. акад. АМН СССР В.Х. Василенко и проф. А.С. Логинова // *Актуальные вопросы гастроэнтерологии*: Сб. тр. – М., 1972. – С. 103-108.
2. Zeisberg M, Eric GN. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J. Clin. Invest.* 2009;119(6):429–1437.
3. Thiery JP, Sleeman JP. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2006;7(2):131-142.
4. Hay E.D. An overview of epithelio-mesenchymal transformation. *Acta Anat.* 1995;154:8–20.
5. Пасечник Д. Г. Роль эпителиально-мезенхимального перехода в генезе хронической болезни почек и почечно-клеточного рака (проблемы и перспективы). *Научовий вісник міжнародного гуманітарного університету*. 2014;6:30-33.
6. Kalluri R, Robert A. Weinberg. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J. Clin. Invest.* 2009;119(6):1420–1428.
7. Cowin P, Rowlands TM, Hatsell SJ. Cadherins and catenins in breast cancer. *Curr Opin Cell Biol.* 2005;17(5):499-508.
8. Bukholm IK, Nesland JM, Borresen-Dale AL. Re-expression of E-cadherin, alpha-catenin and beta-catenin, but not of gamma-catenin, in metastatic tissue from breast cancer patients. *J Pathol.* 2000;190(1):15-19.
9. Zhang XH, Liang X, Liang XH. The Mesenchymal-Epithelial Transition During In Vitro Decidualization. *Reprod. Sci.* 2013;20(4):354.–360.
10. Cano A., Perez-Moreno AA, Rodrigo I. The transcription factor snail controls epithelial-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression. *Nat Cell Biol.* 2000;2(2):76-83.
11. Hajra KM, Chen DY, Fearon ER. The SLUG zinc-finger protein represses E-cadherin in breast cancer. *Cancer Res.* 2002;62(6):1613-1618.
12. Nieto MA. The snail superfamily of zinc-finger transcription factors. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002;3(3):155-166.
13. Pedersen KB, Nesland JM, Fodstad O, Maelandsmo GM. Expression of S100A4, E-cadherin, alpha- and beta-catenin in breast cancer biopsies. *Br J Cancer.* 2002;87(11):1281-1286.
14. Yang MH, Wu KJ. TWIST activation by hypoxia inducible factor-1 (HIF-1): implications in metastasis and development. *Cell Cycle.* 2008;7(14):2090-2096.
15. Herreros AG, Peiro S, Nassour M, Savagner P. Snail family regulation and epithelial mesenchymal transitions in breast cancer progression. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2010;15(2):135-147.
16. Jiang YG, Luo Y, He DL. Role of Wnt/beta-catenin signaling pathway in epithelial-mesenchymal transition of human prostate cancer induced by hypoxia-inducible factor-1alpha. *Int J Urol.* 2007;14(11):1034-1039.
17. Battle E., Sancho E., Franci C. The transcription factor snail is a repressor of E-cadherin gene expression in epithelial tumour cells. *Nat Cell Biol.* 2000;2(2):84-89.
18. Kurrey NK, Bapat SA. Snail and Slug are major determinants of ovarian cancer invasiveness at the transcription level. *Gynecol Oncol.* 2005;97(1):155-165.
19. Scherbakov AM, Andreeva OE, Shatskaya VA, Krasil'nikov MA. The relationships between snail and estrogen receptor signaling in breast cancer cells. *Journal of cellular biochemistry.* 2012;113(6):2147-2155.
20. Vega S, Morales AV, Ocana OH. Snail blocks the cell cycle and confers resistance to cell death. *Genes Dev.* 2004;18(10):1131-1143.
21. Lamouille S, Jian Xu, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial–mesenchymal transition. *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* 2014;15():178–196.
22. Российский онкологический портал профессионального общества [Электронный ресурс] *Новости онкологии* 06.03.2014/URL:<http://www.rosoncweb.ru/news/oncology/2014/03/06/> (Дата обращения: 06.03.2014)
23. Hood JD, Cheresh DA. Role of integrins in cell invasion and migration. *Nat Rev Cancer.* 2002;2(2):91-100.

24. Лазаревич НЛ, Флейшман ДИ. Тканеспецифические транскрипционные факторы в прогрессии эпителиальных опухолей. Биохимия. 2008;73(5):735–750.
25. Eberhard D, Tosh D. Transdifferentiation and metaplasia as a paradigm for understanding development and disease. Cellular and molecular life sciences CMLS. 2008;65(1):33–40.
26. Kupffer C. Epithel und Drüsen des menschlichen Magens. Festschr. Arztl. Ver., München, 1883:22.
27. Virchow. Über Metaplasie. Virch. Arch. 1884:97.
28. Beresford WA. Direct transdifferentiation: Can cells change their phenotype without dividing? Cell Differ. Dev. 1990;29:81–93.
29. Chia-Ning Shen, Zoë D. Burke, David Tosh. Transdifferentiation, Metaplasia and Tissue Regeneration. Review. Organogenesis. 2004;1(2):36–44.
30. Eguchi G. Introduction: Transdifferentiation. Semin. Cell Biol. 1995;6:105–108.
31. Tosh D, Slack JMW. How cells change their phenotype. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2002;3:187–94.
32. Stemmermann GN. Intestinal metaplasia of the stomach. A status report. Cancer. 1994;74:556–564.
33. Chan CWM, Newton WA, Yinget L. Gastrointestinal differentiation marker Cytokeratin 20 is regulated by homeobox gene CDX1. PNAS. 2009;106(6):1936–1941.
34. Fukamachi H. Runx3 controls growth and differentiation of gastric epithelial cells in mammals. Dev. Growth and Differ. 2006;48(1):1–13.
35. Mutoh Hiroyuki, Sakurai Shinji, Satoh Kiichi. Development of Gastric Carcinoma from Intestinal Metaplasia in Cdx2-transgenic Mice. Cancer Research. 2004;64:7740–7747.
36. Eda A, Osawa H, Yanaka I. Expression of homeobox gene CDX2 precedes that of CDX1 during the progression of intestinal metaplasia. J. Gastroenterol. 2002;37(2):94–100.
37. Samuel K, Kent M Chu, John Moon Ching Luk. Expression of CDX2 and Li-cadherin in intestinal metaplasia and adenocarcinoma of the stomach. Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. 2004;45:4242.
38. Gehring WJ, Affolter M, Bürglin T. "Homeodomain proteins". Annual review of biochemistry. 1994;63:487–526.
39. Babu MM, Luscombe NM, Aravind L, Gerstein M, Teichmann SA. Structure and evolution of transcriptional regulatory networks. Curr. Opin. Struct. Biol. 2004;14(3):283–291.
40. Mutoh H, Sakurai S, Satoh K. Cdx1 induced intestinal metaplasia in the transgenic mouse stomach: comparative study with Cdx2 transgenic mice. Gut. 2004;53:1416–1423.
41. Patricia Mesquita, Almeida Raquel, Nuno Lunet. Metaplasia — A Transdifferentiation Process that Facilitates Cancer Development: The Model of Gastric Intestinal Metaplasia. Critical Reviews TM in Oncogenesis. 2006;12(1-2):3–26.
42. Dimmler A, Brabletz T. Transcription of Sonic Hedgehog, a Potential Factor for Gastric Morphogenesis and Gastric Mucosa Maintenance, Is Up-regulated in Acidic Conditions. Laboratory investigation. 2003;83(12):1829–1837.
43. Трумэн Д. Биохимия клеточной дифференцировки. М.: Муп, 1976. – 188 с.
44. Gutierrez-Gonzalez L, Wright NA. Biology of intestinal metaplasia in 2008: More than a simple phenotypic alteration. Dig. Liver Dis. 2008;40:510–522.
45. Kirchner T, Müller S, Hattori T, Mukaisyo K, Papadopoulos T, Brabletz T, Jung A. Metaplasia, intraepithelial neoplasia and early cancer of the stomach are related to dedifferentiated epithelial cells defined by cytokeratin-7 expression in gastritis / A. Jung // Virchows Arch. 2001;439(4):512–522.
46. Houghton J, Stoicov C, Nomura S. Gastric cancer originating from bone marrow-derived cells. Science. 2004;306:1568–1571.
47. Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. Nature. 1997;385(6619):810–813.
48. Cowan CA, Aitken J, Melton DA. Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells. Science. 2005;309:1369–1373.
49. Tada M, Takahama Y, Abe K. Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells. Curr. Biol. 2001;11:1553.
50. Gretchen V. Breakthrough of the year: Reprogramming cells. Science. 2008;322:1766–1767.
51. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell. 2006;126(4):663–676.
52. Shinya Y. Induced Pluripotent Stem Cells: Past, Present, and Future. Cell Stem Cell. 2012;10(6):678–684.
53. Wong AP, Rossant J. Generation of Lung Epithelium from Pluripotent Stem Cells. Current pathobiology reports. 2013;1(2):137–145.
54. Tilanthi MJ. MicroRNA-mediated in vitro and in vivo Direct Reprogramming of Cardiac Fibroblasts to Cardiomyocytes. Circ Res. 2012;110(11):1465–1473.
55. Ankur S, Shalu S. Adhesion strength-based, label-free isolation of human pluripotent stem cells. Nature Methods. 2013;10:438–444.
56. Mou H, Zhao R, Sherwood R, Ahfeldt T, Rajagopal J. Generation of multipotent lung and airway progenitors from mouse ESCs and patient-specific cystic fibrosis iPSCs. Cell stem cell. 2012;10(4):385–397.
57. Sheng C, Zheng Q, Wu J. Generation of dopaminergic neurons directly from mouse fibroblasts and fibroblast-derived neural progenitors. Cell Res;2012;22:769–772.
58. Lin Cheng. Generation of neural progenitor cells by chemical cocktails and hypoxia. Cell Research. 2014;24:665–679.
59. Richard P, Halley-Stott, Vincent Pasque, Gurdon JB. Nuclear reprogramming. Development. 2013;140:2468–2471.

Авторская справка

Мнихович Максим Валерьевич, кандидат медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник Центральной патологоанатомической лаборатории ФГБНУ НИИ морфологии человека, доцент кафедры патологической анатомии и клинической патологической анатомии педиатрического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия; e-mail: mnichmaxim@yandex.ru

Вернигородский Сергей Викторович, доктор медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии, судебной медицины и права ВНМУ имени Н.И. Пирогова; e-mail: vernsot@rambler.ru

Буньков Кирилл Вадимович, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры патологической анатомии Смоленского государственного медицинского университета, заведующий организационно-консультативным отделением им. проф. Д.П. Свистелина, врач-патологоанатом Смоленского областного института патологии, Смоленск, Россия; e-mail: grei.dorian2015@yandex.ru