

## Роль рецептора активатора плазминогена урокиназного типа в регуляции ангиогенных свойств Sca1+ васкулогенных клеток-предшественниц

К. В. Дергилев<sup>1,3\*</sup>, З. И. Цоколаева<sup>1,2</sup>, И. Б. Белоглазова<sup>1</sup>, Ю. Д. Василец<sup>1</sup>,  
Д. О. Трактунев<sup>3</sup>, Б. Н. Кульбицкий<sup>4,5</sup>, Е. В. Парфенова<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup> Лаборатория ангиогенеза, Институт экспериментальной кардиологии, Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Минздрава России, Россия, 121552, г. Москва, ул. 3-я Черепковская, д. 15а

<sup>2</sup> Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии (ФНКЦ РР), Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

<sup>3</sup> Центр регенеративной медицины, Медицинское отделение, Медицинский колледж, Университет Флориды, США, Флорида 32610, Гейнсвилл, M421, 1600 SW Арчер рд.

<sup>4</sup> НИИ Морфологии человека,

Россия, 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3

<sup>5</sup> Кафедра судебной медицины Российского университета дружбы народов, Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

<sup>6</sup> Лаборатория постгеномных технологий в медицине, факультет фундаментальной медицины, Московский Государственный университет им. М. В. Ломоносова, Россия, 119192, г. Москва, Ломоносовский пр-т, д. 27, стр. 1

**Для цитирования:** К. В. Дергилев, З. И. Цоколаева, И. Б. Белоглазова, Ю. Д. Василец, Д. О. Трактунев, Б. Н. Кульбицкий, Е. В. Парфенова. Роль рецептора активатора плазминогена урокиназного типа в регуляции ангиогенных свойств Sca1+ васкулогенных клеток-предшественниц. *Общая реаниматология*. 2022; 18 (2): 76–82. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2022-2-76-82> [На русск. и англ.]

### Резюме

Ключевым этапом, определяющим течение регенеративных процессов в постинфарктном сердце, является формирование новой сосудистой сети. Известно, что рецептор активатора плазминогена урокиназного типа (uPAR) играет важную роль в регуляции функций эндотелиальных клеток и процессах постнатального ангиогенеза. При этом его участие в регуляции свойств сосудистых клеток-предшественниц остается не изученным.

**Цель исследования.** Оценить экспрессию uPAR на поверхности резидентных кардиальных васкулогенных клеток-предшественников (ркВКП) и его влияние на ангиогенные свойства клеток *in vitro*, а также — постинфарктную васкуляризацию сердца.

**Материалы и методы.** В работе использовали модель инфаркта миокарда у мыши, иммунофлуоресцентные методы исследования криосрезов для проведения характеристики сосудов и ркВКП, оценку ангиогенных свойств васкулогенных клеток предшественников методом «tube assay» и индукции дифференцировки в специализированной среде.

**Результаты.** Обнаружили, что большинство Sca-1+ ркВКП экспрессируют на своей поверхности урокиназный рецептор и маркеры эндотелиальных клеток, способны к пролиферации и интеграции в состав новообразованных сосудов в зоне повреждения, что указывает на возможное их участие в процессе васкуляризации после инфаркта. После острого ишемического повреждения в миокарде uPAR-/- животных наблюдали нарушение аккумуляции васкулогенных прогениторных клеток (8+2 и 27+7 клеток в поле зрения, соответственно;  $p=0,032$ ) и процессов васкуляризации (85+11 и 166+25 капилляров в поле зрения, соответственно;  $p=0,033$ ), в сравнении с животными дикого типа. Проведенные исследования показали, что Sca-1+ ркВКП, полученные из сердец uPAR-/- мышей демонстрировали сниженную способность к формированию капилляроподобных структур и эндотелиальной дифференцировке, в сравнении с Sca-1+ ркВКП из сердец мышей дикого типа.

**Заключение.** Таким образом, дефицит uPAR может приводить к нарушению васкулогенных свойств Sca-1+ ркВКП, что, вероятно, связано с потерей регуляторного влияния специфических лигандов и способностью взаимодействовать с сигнальными медиаторами, такими как интегрин. С позиции регенеративной медицины модуляция активности uPAR может рассматриваться как потенциальная мишень для направленной регуляции свойств васкулогенных клеток-предшественниц и процессов постнатального ангиогенеза.

### ХАЙЛАЙТ

Рецептор активатора плазминогена урокиназного типа вовлечен в регуляцию ангиогенных свойств Sca1+ васкулогенных клеток-предшественниц.

Адрес для корреспонденции:

Константин Владимирович Дергилев  
E-mail: doctorkote@gmail.com

Correspondence to:

Konstantin V. Dergilev  
E-mail: doctorkote@gmail.com

**Ключевые слова:** урокиназный рецептор; васкулогенные клетки; васкулогенез; ангиогенез

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ 17-15-01368П и РФФИ 19-015-00231.

## Role of Urokinase-Type Plasminogen Activator Receptor in the Regulation of Angiogenic Properties of Sca1+ Vasculogenic Progenitor Cells

Konstantin V. Dergilev<sup>1,3\*</sup>, Zoya I. Tsokolaeva<sup>1,2</sup>, Irina B. Beloglazova<sup>1</sup>, Yuliya D. Vasilets<sup>1</sup>, Dmitry O. Traktuev<sup>3</sup>, Nikolay B. Kulbitsky<sup>4,5</sup>, Elena V. Parfenova<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Angiogenesis, Experimental Cardiology Institute, National Medical Research Center for Cardiology, Ministry of Health of Russia,

15a Cherepkovskaya 3rd Str., 121552 Moscow, Russia

<sup>2</sup> V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, 25 Petrovka Str., Bldg. 2, 107031 Moscow, Russia

<sup>3</sup> Center for Regenerative Medicine, Department of Medicine, College of Medicine, University of Florida, 1600 SW Archer Rd, M421 Gainesville, FL 32610 USA

<sup>4</sup> Research Institute of Human Morphology, 3 Tsyurupy Str., 117418 Moscow, Russia

<sup>5</sup> Forensic Medicine Department, Peoples Friendship University of Russia, 6 Miklukho-Maklaya Str., 117198 Moscow, Russia

<sup>6</sup> Laboratory of Postgenomic Technologies in Medicine, Fundamental Medicine Department, Lomonosov Moscow State University, 27 Lomonosovsky Ave., Bldg. 1, 119192 Moscow, Russia

### Summary

Neovascularization is the key process determining myocardial regeneration after infarction. The urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR) is known to play an important role in the regulation of endothelial cell function and postnatal angiogenesis. However, uPAR its involvement in the regulation of the properties of vascular progenitor cells remains poorly studied.

**Aim:** to evaluate uPAR expression on the surface of resident cardiac vascular progenitor cells (rcVPCs) and its impact on angiogenic cell properties in vitro as well as postinfarction cardiac vascularization.

**Materials and Methods.** We used immunofluorescent analysis of cryosections of a murine myocardial infarction model to characterize vessels and rcVPCs, and evaluated the angiogenic properties potential of vasculogenic progenitor cells using the «tube assay» and induction of inducing differentiation in a specialized medium.

**Results.** We have found that the majority of Sca-1+ rcVPCs express the urokinase receptor and endothelial cell markers on their surface and are capable of proliferation and integration into the newly formed vessels in the injured area, indicating their possible involvement in the contribution to vascularization process after infarction. After acute ischemic injury, the accumulation of vasculogenic progenitor cells (8+2 and 27+7 cells per visual field, respectively;  $P=0.032$ ) and vascularization processes (85+11 and 166+25 capillaries per visual field, respectively;  $P=0.033$ ) were observed in myocardium of uPAR<sup>-/-</sup> animals, compared with wild-type animals. Our studies demonstrated that Sca-1+ rcVPCs derived from uPAR<sup>-/-</sup> murine hearts demonstrated a reduced ability to form capillary-like structures and endothelial differentiation compared with Sca-1+ rcVPCs from hearts of wild-type mice.

**Conclusion.** Thus, uPAR deficiency may lead to impaired vasculogenic properties of Sca-1+ rcVPCs, which is likely due to the loss of regulatory influence of specific ligands and the ability to interact with signaling mediators such as integrins. From the viewpoint of regenerative medicine, the modulation of uPAR activity can be considered as a potential target promising approach for targeted regulation of vasculogenic progenitor cells properties and postnatal angiogenesis.

### HIGHLIGHT

The urokinase-type plasminogen activator receptor is involved in the regulation of the angiogenic properties of Sca1+ vasculogenic progenitor cells.

**Keywords:** urokinase receptor; vasculogenic cells; vasculogenesis; angiogenesis

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Funding.** This work was supported by the Russian Science Foundation grants 17-15-01368P and RFBR 19-015-00231.

Full text of the article in Eng. on [www.reanimatology.com](http://www.reanimatology.com)

### Введение

Инфаркт миокарда характеризуется массивной гибелью клеток миокарда и сопровождается выраженными изменениями на генетическом, молекулярном и клеточном уров-

нях, которые приводят к изменению архитектоники, размеров и постепенной потере функции сердца [1–3]. Острое ишемической повреждение сердечной мышцы сопровождается запуском репаративной реакции, неотъемле-

## Материал и методы

мым компонентом которой является образование новой сосудистой сети и восстановление тканевой перфузии. Оказалось, что классический механизм васкулогенеза, т. е. формирование новых сосудов за счет циркулирующих эндотелиальных клеток-предшественников из костного мозга, вносит минимальный вклад в реваскуляризацию поврежденного сердца [4, 5]. Формирование новых сосудов происходит исключительно за счет эндогенного пула клеток эндотелия и резидентных кардиальных васкулогенных клеток-предшественников (рКВКП), присутствующих в миокарде [4]. Ряд исследовательских групп выделили и охарактеризовали рКВКП, полученные из сердца, на основе экспрессии поверхностного маркера Sca-1. Эта популяция кардиальных клеток характеризуется отсутствием экспрессии эндотелиальных (CD31) и гемопоэтических маркеров (CD45), они демонстрируют профиль поверхностных маркеров мезенхимальных клеток (CD34-, CD29+, CD90+, CD105+ и CD44+) и, как сообщается, способны дифференцироваться в направлении эндотелиальных и гладкомышечных клеток [6–8]. Несмотря на длительную историю изучения этих клеток, точные механизмы, контролирующие васкулогенное поведение рКВКП, остаются малоизученными.

В рамках данного исследования было сделано предположение, что в регуляции состояния рКВКП может принимать участие рецептор активатора плазминогена урокиназного типа (uPAR). uPAR закреплен в мембране через ГФИ-якорь, что позволяет ему быть подвижным в мембранном бислое и локально концентрировать протеолитическую активность урокиназы в направлении движения клетки. Запускаемый урокиназой каскад протеолитических реакций, включающих локальное образование плазмينا и активацию матриксных металлопротеиназ, способствует разрушению внеклеточного матрикса на пути движущейся клетки, активации факторов роста и высвобождению факторов роста, секвестрированных в матриксе [9–11]. Однако, помимо активации внеклеточного протеолиза большинство клеточных ответов, модулированных урокиназой системой, требует трансмембранной сигнализации, которая опосредуется взаимодействием uPAR с белками-посредниками, обеспечивающими передачу сигналов на внутриклеточные пути, регулирующие состояние клеток.

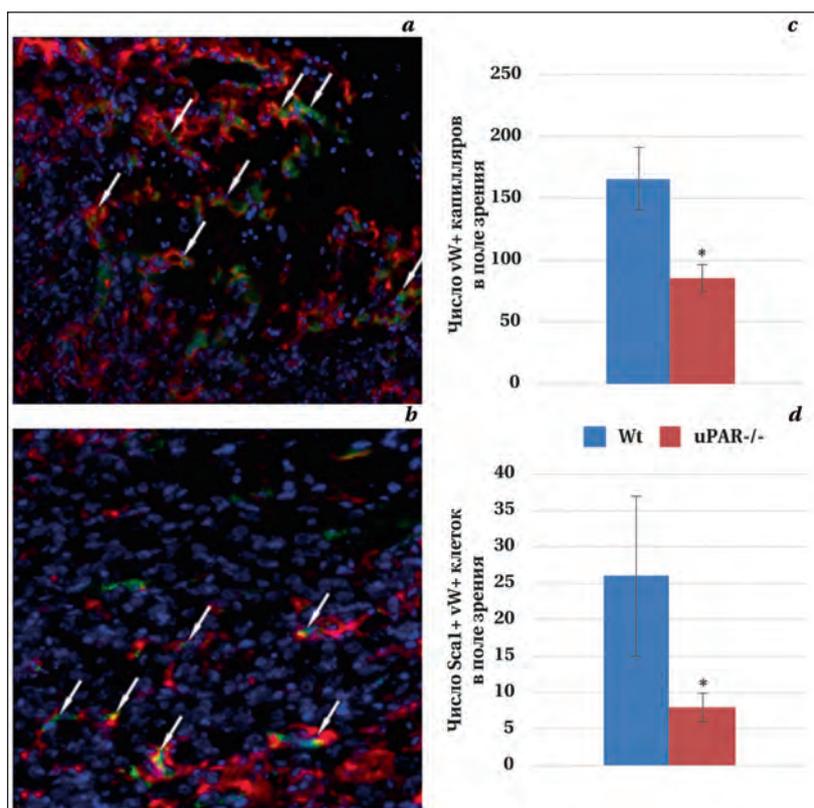
Цель исследования — оценить экспрессию uPAR на поверхности рКВКП и его влияние на ангиогенные свойства клеток *in vitro*, а также — постинфарктную васкуляризацию сердца.

**Животные.** В работе использовали самцов мышей линии C57BL/129 (дикого типа) и нокаутных по гену uPAR (uPAR-/- мыши) [12], предоставленные на безвозмездной основе факультетом фундаментальной медицины Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова. Генотипирование животных проводилось методом ПЦР в соответствии с протоколом компании-разработчика. Эксперименты были одобрены этическим комитетом ФГБУ НМИЦ кардиологии.

**Моделирование инфаркта миокарда.** Экспериментальный инфаркт миокарда выполнили в соответствии с протоколом, описанным ранее [13]. В каждой группе (C57BL/129 (дикого типа) и нокаутных по гену uPAR (uPAR-/- мыши)) было по 15 мышей.

**Детекция сосудов в сердце мыши.** Крeiosрезы сердец фиксировали в 4% растворе параформальдегида, отмывали в растворе фосфатно-солевого буфера, окрашивали антителами к фактору фон Виллебранда (vW) («BD», США), в течение 1 ч, затем промывали и окрашивали антителами, конъюгированными с Alexa Fluor 594 («Invitrogen», США). Для детекции гладкомышечного альфа-актина проводили дополнительное окрашивание антителами, конъюгированными с красителем FITC (Sigma). Характеристику Sca-1+ рКВКП проводили путем окрашивания ткани антителами к маркерам Sc1 («Biolegend», США), uPAR («Santa Cruz», США), CD34 («Abcam», США), CD34 («Abcam», США) в течение 1 ч, затем промывали и окрашивали антителами, конъюгированными с Alexa Fluor 488, 594 («Invitrogen», США). Ядра клеток окрашивали с помощью DAPI («Sigma», США). Морфометрический анализ сосудов проводили путем подсчета числа vW+ капилляров и vW+Sc1+ сосудов в поле зрения с помощью программы Image J («NIH», США).

**Получение культуры Sca-1+ рКВКП.** Для получения Sca-1+ рКВКП сердца мышей (Wt и uPAR-/-) извлекали из грудной полости, промывали в растворе Кребса-Рингера с гепарином, переносили в ферментативный раствор (коллагеназа А («Roche»), рабочая концентрация 1 мг/мл) и инкубировали 2 раза по 30 минут при 37°C в термошейкере Hybaid («Thermo Scientific», США). После этого извлекали сердца, к полученной суспензии клеток добавляли 5 мл среды для инактивации фермента и центрифугировали при 300 g в течение 10 минут. Осадок ресуспендировали в среде: IMDM, содержащая 2% фетальной сыворотки теленка, добавку B27, 20 ng/ml EGF и 40 ng/ml bFGF, и переносили в чашки, покрытые желатином. На следующий день полученную культуру клеток использовали для проведения иммуномагнитной селекции с использованием коммерческих наборов и MS колонок для селекции компании Miltenyi biotec. На первом этапе выполняли деплецию клеток гематопоэтического ряда с помощью «Lineage Cell Depletion Kit», а далее позитивную селекцию Sca-1+ рКВКП с помощью набора «Cardiac Progenitor Cell Isolation Kit



**Рис. 1. Sca1+ резидентные кардиальные васкулогенные клетки-предшественники экспрессируют фактор фон Виллебранда (vW) и урокиназный рецептор (uPAR).**

**Примечание.** *a* — vW (красный), Sca1 (зеленый). *b* — uPAR (красный), Sca1 (зеленый). Желтое окрашивание указывает на сококализацию сигналов. *c* — данные количественной оценки содержания капилляров в зоне постинфарктного некроза (5-й день после инфаркта миокарда) у животных дикого типа и uPAR<sup>-/-</sup> мышей. *d* — данные количественной оценки содержания Sca1+vW+ капилляров в зоне постинфарктного некроза (5-й день после инфаркта миокарда) у животных дикого типа и uPAR<sup>-/-</sup> мышей. Для рис. 1–3 данные представили в виде среднего значения ± стандартное отклонение (M ± SD). \* —  $p < 0,05$ .

(Sca-1)». Иммуномагнитную селекцию проводили строго в соответствии с рекомендациями компании-изготовителя наборов реагентов.

**Формирование капилляроподобных структур Sca-1+ ркВКП на поверхности Matrigel.** Оценку способности Sca-1+ ркВКП к «эндотелиоподобному» поведению проводили с использованием модели формирования капилляроподобных структур на поверхности Matrigel™. Охлажденный Matrigel™ («BD Bioscience», США) наносили по 350 мкл на 24-луночный культуральный планшет и инкубировали в инкубаторе 1 час при 37°C, до полной полимеризации до консистенции геля. Клетки снимали с культуральных чашек раствором Accutase™ и ресуспендировали в среде EGM-2 Endothelial Cell Growth Medium-2, дополненной VEGF (10 нг/мл). В качестве положительного контроля использовали клетки эндотелия, культивируемые в EGM-2 Endothelial Cell Growth Medium-2, дополненной VEGF (10 нг/мл). Клетки высаживали в лунки с Matrigel™ в количестве 80 000 на лунку. По истечении 5 часов клетки фиксировали 1% раствором формалина. Микрофо-

тографии 5 случайно выбранных полей в каждой лунке получали с помощью инвертированного микроскопа Axiovert200 M («Zeiss», Германия). Обсчет проводили в программе Image J («NIH», США).

**Дифференцировка Sca-1+ ркВКП в эндотелиальном направлении.** Для индукции дифференцировки клеток в сосудистом направлении использовали дифференцировочную среду, описанную ранее [14], (DMEM/F12, дополненная 10% фетальной сывороткой теленка, инсулин-трансферрин-селенитом, и 10 нг /мл VEGF). Замену дифференцировочной среды проводили каждые 24 часа. Клетки культивировали в течение 14 дней. Эндотелиальную дифференцировку тестировали путем иммунофлуоресцентного окрашивания клеток антителами фактору фон Виллебранда («DAKO», США) и вторичных антител, конъюгированных с флуоресцентной меткой. Количественный обсчет клеток, дифференцированных в эндотелиальном направлении, проводили с помощью программы Image J («NIH», США).

**Микроскопия и анализ изображений.** Анализ клеток и криосрезов миокарда проводили с использованием флуоресцентного микроскопа Axiovert 200 M («Carl Zeiss», Германия) и программного

обеспечения AxioVision 3.1 («Carl Zeiss», Германия).

**Статистический анализ.** Оценку «нормальности» распределения проводили с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Статистическую значимость различий между выборками оценивали с помощью *U*-критерия Манна–Уитни. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Statistica 8.0 (StatSoft, Inc.). Данные представили в виде среднего значения ± стандартное отклонение (M ± SD).

## Результаты

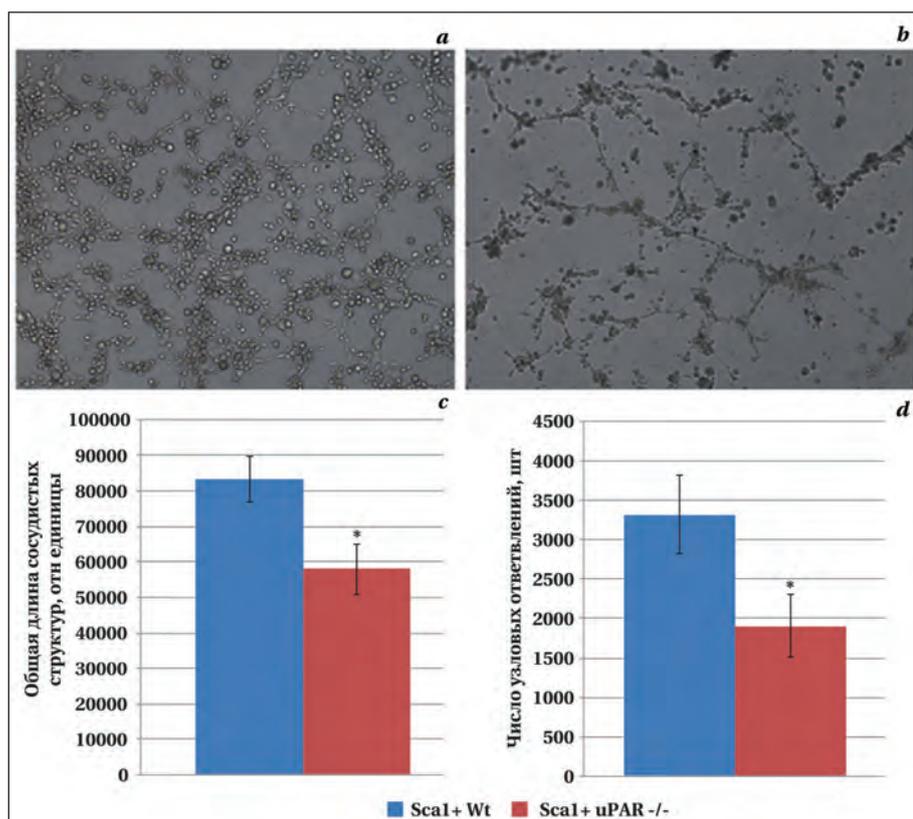
На 5-й день после инфаркта миокарда отметили двукратное снижение общего числа капилляров у uPAR<sup>-/-</sup> животных в зоне некроза (рис. 1, *c*), в сравнении с животными дикого типа (85±11 и 166±25 капилляров в поле зрения, соответственно;  $p = 0,033$ ), что указывает на нарушение процесса васкуляризации миокарда после острого ишемического повреждения.

Учитывая выявленные различия в формировании сосудов выполнили анализ содержания васкулогенных прогениторных клеток,

которые могут участвовать в их образовании. В сравнении с мышами дикого типа у uPAR<sup>-/-</sup> животных наблюдали 3-кратное снижение числа Sca-1<sup>+</sup> прогениторных клеток (рис. 1, *a, d*) (27+7 и 8+2 клеток в поле зрения, соответственно;  $p=0,032$ ), которые способны дифференцироваться в сосудистом направлении и секретировать проангиогенные факторы роста [6]. Большинство Sca-1<sup>+</sup> ркВКП экспрессировали на своей поверхности урокиназный рецептор (рис. 1, *c*) и характеризовались отсутствием маркеров клеток гематопоэтического ряда (CD34 и CD45), что исключает их костномозговое происхождение. Обнаружили, что часть Sca-1<sup>+</sup> ркВКП сокоагулируется с маркерами эндотелиальных клеток (CD31, vWF) и входят в состав новообразованных сосудов как в зоне некроза, так и в перинфарктной области.

Учитывая выявленные признаки снижения васкуляризации зоны повреждения у uPAR<sup>-/-</sup> животных провели эксперименты по оценке ангиогенных свойств этих клеток *in vitro* (рис. 2).

Проведенные исследования показали, что Sca-1<sup>+</sup> ркВКП, полученные из сердец uPAR<sup>-/-</sup> мышцей, демонстрировали сниженную способность к формированию капиллярноподобных структур, в сравнении с Sca-1<sup>+</sup> ркВКП из сердец мышцей дикого типа (рис. 2, *a, b*). Морфометрические обсчеты показали (рис. 2, *c, d*), что общая длина сосудистых структур (57969+6998 (Sca1+uPAR<sup>-/-</sup>) и 83302+6464 (Sca1+Wt) относительных единиц;  $p=0,037$ ) и их способность к ветвлению (1900+397 (Sca1+uPAR<sup>-/-</sup>) и 3322+501 (Sca1+Wt);  $p=0,036$ ) была снижена в Sca-1<sup>+</sup> ркВКП в сравнении с контрольными клетками. Нарушения эндотелиоподобного поведения сочетались с нарушением способности Sca-1<sup>+</sup> ркВКП к эндотелиальной дифференцировке, индуцированной специализированной средой (рис. 3). Культивирование Sca-1<sup>+</sup> ркВКП (из сердец uPAR<sup>-/-</sup> и мышцей дикого типа) способствовало формированию капиллярноподобных

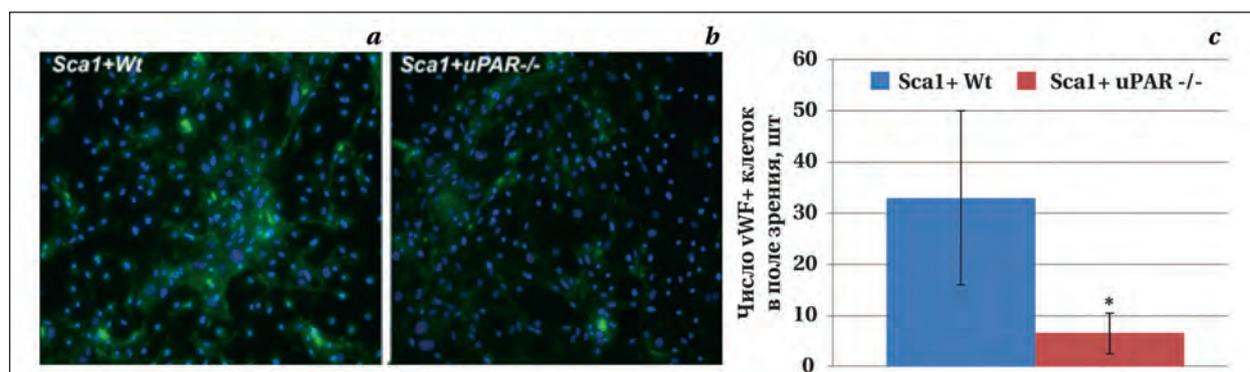


**Рис. 2.** Репрезентация способности Sca-1<sup>+</sup> ркВКП, выделенных из сердец мышцей дикого типа (*a*) и uPAR<sup>-/-</sup> (*b*), к формированию капиллярноподобных структур *in vitro*. **Примечание.** *c, d* — данные количественной оценки общей длины сосудистых структур, образованных Sca-1<sup>+</sup> ркВКП из сердец мышцей uPAR<sup>-/-</sup> и дикого типа, и их способности к ветвлению. \* —  $p<0,05$ .

структур. При этом способность Sca-1<sup>+</sup> ркВКП, полученные из сердец uPAR<sup>-/-</sup>, к формированию vWF+ сосудистых структур был в 5 раз меньше, в сравнении с клетками из сердец животных дикого типа (7+4 (Sca1+uPAR<sup>-/-</sup>) и 33+17 (Sca1+Wt) фон Виллебранд+ клеточных структур в поле зрения;  $p=0,01$ ) (рис. 3).

### Обсуждение

Проведенные исследования показали, что часть Sca-1<sup>+</sup> ркВКП экспрессируют на своей поверхности маркеры эндотелиальных клеток, способны к пролиферации и интеграции в состав новообразованных сосудов в зоне повреждения, что указывает на возможное их участие в процессе васкуляризации после инфаркта. Показали, что на поверхности большинства Sca-1<sup>+</sup> ркВКП локализуется урокиназный рецептор, который может участвовать в регуляции функций ркВКП, за счет взаимодействия урокиназой и/или витронектином [15, 16]. При взаимодействии uPAR со специфическими лигандами [17–19] происходит активация внутриклеточных сигнальных каскадов, способствующих адгезии, распластыванию клеток, дифференцировке в сосудистом направлении [20–22]. Следовательно, можно предположить, что та-



**Рис. 3.** Репрезентация дифференцировочной способности Sca-1+ рКВКП, выделенных из сердец мышей uPAR<sup>-/-</sup> и дикого типа.

**Примечание.** a, b — окрашивание Sca-1+ рКВКП антителами к маркеру эндотелиальных клеток — фактору фон Виллебранда (vWF) (зеленый) после культивирования в дифференцировочной среде. c — данные количественной оценки числа vWF+ структур после культивирования в дифференцировочной среде. \* —  $p < 0,05$ .

кого рода взаимодействие служит потенциальным стимулом для регуляции функций рКВКП. Действительно, в сердце uPAR<sup>-/-</sup> животных после острого ишемического повреждения наблюдали сниженную аккумуляцию Sca-1+ васкулогенных прогениторных клеток и нарушение процессов постинфарктной васкуляризации, в сравнении с животными дикого типа. Кроме того, Sca-1+ рКВКП, полученные из сердец uPAR<sup>-/-</sup> мышей, демонстрировали сниженную способность к эндотелиоподобному поведению (формированию капиллярноподобных структур) и ангиогенной дифференцировке *in vitro*, в сравнении с Sca-1+ рКВКП из сердец мышей дикого типа. Нарушение взаимодействий между uPAR и интегринами ведет к подавлению активности малых Rho GTPases Rac и Cdc42, тем самым ингибируя их участие в перестройке цитоскелета и подвижности клеток что приводит к потере способности клеток к интеграции в формирующиеся сосуды и способности участвовать в васкулогенезе [23]. Выявленные изменения имеют сходные черты с васкулопатией, наблюдаемой у пациентов с системной склеродермией, у которых наблюдается расщепление uPAR между первым и вторым доменами с помощью MMP12 [24, 25]. Избыточная продукция MMP12 в клетках эндотелия и нарушение функции uPAR приводило к подавлению uPA-индуциро-

ванной миграции, инвазии, пролиферации сосудистых клеток и процессов формирования капиллярноподобных структур на поверхности матригеля [26, 27]. При этом обработка анти-MMP-12 моноклональными антителами способствовало восстановлению ангиогенной активности клеток эндотелия, включая их способности к миграции, инвазии и формированию сосудистых структур [24, 27]. Кроме того, тем же коллективом авторов было показано, что в расщепление uPAR в эндотелиальных клетках при системной склеродермии приводит к потере интегрин-опосредованной связи uPAR с активным цитоскелетом [28–30], что является ключевым этапом формирования сосудистых отростков.

## Заключение

Таким образом, дефицит uPAR ведет к нарушению васкулогенных свойств Sca-1+ рКВКП, что, вероятно, связано с потерей регуляторного влияния специфических лигандов и способностью взаимодействовать с сигнальными медиаторами, такими как интегрины. С позиции регенеративной медицины модуляция активности uPAR может рассматриваться как потенциальная мишень для направленной регуляции свойств васкулогенных клеток-предшественниц и процессов постнатального ангиогенеза.

## Литература

- Arjmand B., Abedi M., Arabi M., Alavi-Moghadam S., Rezaei-Tavirani M., Hadavandkhani M., Tayanloo-Beik A., Kordi R., Roudsari P.P., Larjani B. Regenerative Medicine for the Treatment of Ischemic Heart Disease: Status and Future Perspectives. *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9: 704903. DOI: 10.3389/fcell.2021.704903.
- Vidal-Calés P., Cepas-Guillén P.L., Brugaletta S., Sabaté M. New Interventional Therapies beyond Stenting to Treat ST-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction. *J Cardiovasc Dev Dis.* 2021; 8 (9): 100. DOI: 10.3390/jcdd8090100.
- Viola M., de Jager S.C.A., Sluijter J.P.G. Targeting Inflammation after Myocardial Infarction: A Therapeutic Opportunity for Extracellular Vesicles? *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (15): 7831. DOI: 10.3390/ijms22157831.
- He L., Huang X., Kanisicak O., Li Yi., Wang Y., Li Y., Pu W., Liu Q., Zhang H., Tian X., Zhao H., Liu X., Zhang S., Nie Yu., Hu S., Miao X., Dong Wang Q., Wang F., Chen T., Xu Q., Lui K., Molkentin J. D., Zhou B. Pre-existing endothelial cells mediate cardiac neovascularization after injury. *J Clin Invest.* 2017. DOI: 10.1172/JCI93868. PMID: 2865034. PMID: 28650345. PMID: PMC5531398.
- Дергилев К.В., Цоколаева З.И., Белоглазова И.Б., Ратнер Е.И., Молокотина Ю.Д., Парфенова Е.В. Характеристика ангиогенных свойств c-kit+ клеток миокарда. *Гены и клетки.* 2018; 14 (3): 86–93. DOI: 10.23868/201811038.
- Scalise M., Marino F., Cianflone E., Mancuso T., Marotta P., Aquila L., Torella M., Nadal-Ginard B., Torella D. Heterogeneity of Adult Cardiac Stem Cells. *Adv Exp Med Biol.* 2019; 1169: 141–178. DOI: 10.1007/978-3-030-24108-7\_8. PMID: 31487023.
- Bhartiya D., Flora Y., Sharma D., Mohammad S.A. Two Stem Cell Populations Including VSELs and CSCs Detected in the Pericardium of Adult Mouse Heart. *Stem Cell Rev Rep.* 2021; 17 (2): 685–693. DOI: 10.1007/s12015-021-10119-9.
- Iancu C.B., Iancu D., Renfea I., Hostiuc S., Dermengiu D., Rusu M.C. Molecular signatures of cardiac stem cells. *Rom J Morphol Embryol.* 2015; 56 (4): 1255–1262. PMID: 26743269.

9. *Santi L.A., Napolitano F, Montuori N, Ragno P.* The Urokinase Receptor: A Multifunctional Receptor in Cancer Cell Biology. Therapeutic Implications. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (8): 4111. DOI: 10.3390/ijms22084111. PMID: 33923400. PMCID: PMC8073738.
10. *Dergilev K.V, Stepanova V.V, Beloglazova I.B., Tsokolayev Z.I., Parfenova E.V.* Multifaced Roles of the Urokinase System in the Regulation of Stem Cell Niches. *Acta Naturae.* 2018; 10 (4): 19–32. PMID: 30713759. PMCID: PMC6351041.
11. *Baart V.M., Howast R.D., de Geus-Oei L.F, Quax P.H.A., Kuppen P.J.K., Vahrmeijer A.L, Sier C.E.M.* Molecular imaging of the urokinase plasminogen activator receptor: opportunities beyond cancer. *EJNMMI Res.* 2020; 10 (1): 87. DOI: 10.1186/s13550-020-00673-7. PMID: 32725278. PMCID: PMC7387399.
12. *Dewerchin M., Nuffelen A.V, Wallays G., Bouché A., Moons L., Carmeliet P, Mulligan R.C., Collen D.* Generation and characterization of urokinase receptor-deficient mice. *J Clin Invest.* 1996; 97 (3): 870–878. PMID: 8609247. PMCID: PMC507128. DOI: 10.1172/JCI118489.
13. *Dergilev K.V, Tsokolaeva Z.I., Beloglazova I.B., Ratner E.I., Molokotina Yu.D., Parfenova E.V.* Angiogenic properties of myocardial c-kit+ cells. *Genes & Cells.* 2018; 13 (3): 82–88. DOI: 10.23868/201811038.
14. *Xiao Q., Zeng L., Zhang Z., Margariti A., Ali Z.A., Channon K.M., Xu Q., Hu Y.* Sca-1+ progenitors derived from embryonic stem cells differentiate into endothelial cells capable of vascular repair after arterial injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006; 26 (10): 2244–2251. DOI: 10.1161/01.ATV.0000240251.50215.50.
15. *Dergilev K.V, Tsokolaeva Z.I., Beloglazova I.B., Zubkova E.S., Ratner E.I., Molokotina Y.D., Parfenova E.V.* Urokinase Receptor Regulates Adhesion of Progenitor Cardiac Cells to Vitronectin. *Bull Exp Biol Med.* 2019; 167 (3): 315–319. DOI: 10.1007/s10517-019-04517-w. PMID: 31346863.
16. *Li Santi A., Napolitano F, Montuori N., Ragno P.* The Urokinase Receptor: A Multifunctional Receptor in Cancer Cell Biology. Therapeutic Implications. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (8): 4111. DOI: 10.3390/ijms22084111.
17. *Jia C., Malone H.M., Keasey M.P, Lovins C., Elam J., Hagg T.* Blood Vitronectin Induces Detrimental Brain Interleukin-6 and Correlates With Outcomes After Stroke Only in Female Mice. *Stroke.* 2020; 51 (5): 1587–1595. DOI: 10.1161/STROKEAHA.120.029036.
18. *Keasey M.P, Jia C., Pimentel L.F, Sante R.R., Lovins C., Hagg T.* Blood vitronectin is a major activator of LIF and IL-6 in the brain through integrin-FAK and uPAR signaling. *J Cell Sci.* 2018; 131 (3): jcs202580. DOI: 10.1242/jcs.202580.
19. *Napolitano F, Montuori N.* The Role of the Plasminogen Activation System in Angioedema: Novel Insights on the Pathogenesis. *J Clin Med.* 2021; 10 (3): 518. DOI: 10.3390/jcm10030518.
20. *Gorrasi A., Petrone A.M., Li Santi A., Alfieri M., Montuori N., Ragno P.* New Pieces in the Puzzle of uPAR Role in Cell Migration Mechanisms. *Cells.* 2020; 9 (12): 2531. DOI: 10.3390/cells9122531.
21. *Heydarkhan-Hagvall S., Gluck J.M., Delman C., Jung M., Ehsani N., Full S., Shemin R.J.* The effect of vitronectin on the differentiation of embryonic stem cells in a 3D culture system. *Biomaterials.* 2012 (7): 2032–2040. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.11.065. PMID: 22169822. PMCID: PMC7731733.
22. *Ferraris G.M., Schulte C., Buttiglione V, De Lorenzi V, Piontini A., Galluzzi M., Podestà A., Madsen C.D., Sidenius N.* The interaction between uPAR and vitronectin triggers ligand-independent adhesion signalling by integrins. *EMBO J.* 2014; 33 (21): 2458–2472. DOI: 10.15252/emboj.201387611. PMID: 25168639.
23. *Chilla A., Margheri F, Biagioni A., Del Rosso M., Fibbi G., Laurenzana A.* Mature and progenitor endothelial cells perform angiogenesis also under protease inhibition: the amoeboid angiogenesis. *J Exp Clin Cancer Res.* 2018; 37 (1): 74. DOI: 10.1186/s13046-018-0742-2.
24. *Manetti M., Rosa I., Fazi M., Guiducci S., Carmeliet P, Ibba-Manneschi L., Matucci-Cerinic M.* Systemic sclerosis-like histopathological features in the myocardium of uPAR-deficient mice. *Ann Rheum Dis.* 2016; 75 (2): 474–478. DOI: 10.1136/annrheumdis-2015-207803. PMID: 26269399.
25. *Manetti M., Rosa I., Milia A.F, Guiducci S., Carmeliet P, Ibba-Manneschi L., Matucci-Cerinic M.* Inactivation of urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR) gene induces dermal and pulmonary fibrosis and peripheral microvasculopathy in mice: a new model of experimental scleroderma? *Ann Rheum Dis.* 2014; 73 (9): 1700–1709. DOI: 10.1136/annrheumdis-2013-203706. PMID: 23852693.
26. *D'Alessio S., Fibbi G., Cinelli M., Guiducci S., Del Rosso A., Margheri F, Serrati S., Pucci M., Kahaleh B., Fan P, Annunziato E, Cosmi L., Liotta F, Matucci-Cerinic M., Del Rosso M.* Matrix metalloproteinase 12-dependent cleavage of urokinase receptor in systemic sclerosis microvascular endothelial cells results in impaired angiogenesis. *Arthritis Rheum.* 2004; 50 (10): 3275–3285. DOI: 10.1002/art.2056212. PMID: 15476218.
27. *Serrati S., Cinelli M., Margheri F, Guiducci S., Del Rosso A., Pucci M., Fibbi G., Bazzichi L., Bombardieri S., Matucci-Cerinic M., Del Rosso M.* Systemic sclerosis fibroblasts inhibit in vitro angiogenesis by MMP-12-dependent cleavage of the endothelial cell urokinase receptor. *J Pathol.* 2006; 210 (2): 240–248. DOI: 10.1002/path.2048. PMID: 16917801.
28. *Margheri F, Luciani C., Taddei M.L., Giannoni E., Laurenzana A., Biagioni A., Chilla A., Chiarugi P, Fibbi G., Del Rosso M.* The receptor for urokinase-plasminogen activator (uPAR) controls plasticity of cancer cell movement in mesenchymal and amoeboid migration style. *Oncotarget.* 2014 30; 5 (6): 1538–1553. DOI: 10.18632/oncotarget.1754. PMID: 24681666.
29. *Bernstein A.M., Twining S.S., Warejcka D.J., Tall E., Masur S.K.* Urokinase receptor cleavage: a crucial step in fibroblast-to-myofibroblast differentiation. *Mol Biol Cell.* 2007; 18 (7): 2716–2727. DOI: 10.1091/mbc.e06-10-0912. PMID: 17507651.
30. *Bernstein A.M., Greenberg R.S., Taliana L., Masur S.K.* Urokinase anchors uPAR to the actin cytoskeleton. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004; 45 (9): 2967–2977. DOI: 10.1167/iovs.04-0030. PMID: 15326109.

Поступила 02.09.2021

Принята 14.10.2021

www.reanimatology.com, принято в печать 28.01.22