

Opšti pregledi
General reviews

MEHANIZMI TUBULOINTERSTICIJSKE FIBROZE
MECHANISMS OF TUBULOINTERSTITIAL FIBROSIS

Correspondence to:

Prof. dr sc.med. Ljubica Đukanović AMN-
SLD
Pere Velimirovića 54/15
11 000 Beograd
E-mail: mamatata@eunet.rs

Ljubica Đukanović¹ i Siniša Ristić²

¹Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Srbija;

²Medicinski fakultet Foča Univerziteta u Istočnom Sarajevu, Republika
Srpska, Bosna i Hercegovina

Ključne reči

tubulointersticijska fibroza, tranzicija
epitelnih ćelija u mezenhimske,
apoptoza

Key words

tubulointerstitial fibrosis, epithelial-
to-mesenchymal transition, apoptosis

Abstract

Tubulointerstitial fibrosis is characterized by the progressive accumulation of extracellular matrix proteins in the tubulointerstitial compartment that is considered the most significant predictor of chronic kidney disease progression. In the present article investigations of mechanisms of tubulointerstitial fibrosis are reviewed.

Different factors contribute to tubulointerstitial injury including glomerular proteinuria, chronic hypoxia, misdirected glomerular ultrafiltration, tubular protein leakage, direct toxic insults. Direct or indirect tubulointerstitial injury via oxidative stress and various effector molecules trigger cellular responses leading to development of tubulointerstitial fibrosis. These events involve: (1) influx and/or proliferation of lymphocytes/macrophages, fibrocytes, fibroblasts (2) response of tubular epithelial cell (3) apoptosis, (4) activation of fibroblasts and their phenotypic switch to myofibroblasts and (6) epithelial-to-mesenchymal transition of tubular epithelial cell. Numerous mediators, produced by tubular epithelial cells and inflammatory cells, participate in induction of these processes. Irrespective of the initial causes, interstitial fibrosis is a remarkably monotonous process characterized by *de novo* activation of α -smooth muscle actin (α -SMA SMA)-positive myofibroblasts, the principal effector cells that are responsible for the excess deposition of interstitial ECM under pathologic conditions. All these processes and mechanisms became targets for the treatment of renal fibrosis that have been validated in various animal models with the aim to find a possible key to an effective therapy for CKD.

UVOD

Intersticijum bubrega čini bogata mreža kapilara, dendritične ćelije i vezivno tkivo. Dendritične ćelije pripadaju sistemu mononuklearnih fagocita a njihova funkcija je da procesiraju i prezentuju antigene. Fibroblasti su najvažniji element vezivnog tkiva koji, pored toga što čine skelet intersticijuma, imaju i veoma važnu ulogu u produkciji regulatornih supstanci kao što je adenozin [1] i eritropoetin [2,3].

U bolestima bubrega dolazi do proširenja intersticijumskog prostora kako zbog infiltracije inflamatornim ćelijama tako i zbog abnormalne akumulacije ekstraćelijskog matriksa. Ta progresivna akumulacija proteina ekstraćelijskog matriksa u tubulointersticijskom prostoru predstavlja osnovnu karakteristiku tubulointersticijske fibroze, glavnog uzroka progresije hroničnih bolesti bubrega. Naime, sve progresivne bolesti bubrega, bez obzira na njihov uzrok i lokalizaciju primarnog oštećenja, odlikuje fibroza bubrežnog tkiva koja uključuje glomeruloskleroza, tubulointersticijsku fibrozu i promene na krvnim sudovima koje vode gubitku glomerularnih i peritubularnih kapilara. Od svih tih procesa, tubulointersticijska fibroza se pokazala kao najvažniji prediktor progresije hronične bolesti bubrega [4]. To su još sedamdesetih godina pokazale kliničkomorfološke

studije u kojima je uočeno da progresija različitih tipova glomerulonefritisa mnogo više zavisi od intenziteta tubulointersticijskih nego glomerulskih promena [5,6], što su kasnije potvrdili i brojni radovi [7-10]. Posebno je značajna karakteristika bubrega da proces fibroze progredira čak i kada je početna bolest izlečena. Najbolji primer je refluksna nefropatija u kojoj hroničnu insuficijenciju bubrega razvijaju i bolesnici kod kojih je vezikoureteralni refluks rešen i nemaju infekciju [11]. Progresija tubulointersticijske fibroze, a time i hronične bolesti bubrega, je ireverzibilan proces, dok je regresija fibroze dokazana u nekim drugim tkivima kao što je srce, jetra, koža [12-14].

Pošto se tubulointersticijska fibroza javlja kod svih hroničnih bolesti bubrega (hipertenzija, dijabetes, infekcije, vaskulitisi, glomerulonefritisi, cistična bolest i dr), smatra se da u njenoj osnovi stoje isti patofiziološki mehanizmi i procesi koji ne zavise od primarnog uzroka. Identifikacija tih procesa i mehanizama i delovanje na njih moglo bi da doprinese lečenju fibroze bubrega i posledične insuficijencije bubrega.

U ovom radu prikazana su dosadašnja istraživanja patogenetskih mehanizama tubulointersticijske fibroze.

Uzroci oštećenja epitelnih ćelija tubula i intersticijuma bubrega

Tubulointersticijska fibroza predstavlja neuspešan proces zarastanja tkiva bubrega koji, usled hroničnog oštećenja, ne vodi reparaciji tkiva nego fibrozi. Oštećenje tubula i intersticijuma mogu da indukuju različiti činioci prikazani na tabeli 1 [15,16].

Oštećenje epitelnih ćelija tubula mogu da indukuju:

- proteinurija
- infektivni agensi
- toksini
- lekovi
- imunski mehanizmi
- ishemija
- povećan intratubulski pritisak
- opstrukcija tubula cilindrima

Tabela 1. Najčešći uzroci oštećenja epitelnih ćelija tubula

Ovi činioci mogu direktno ili indirektno, indukujući oksidativni stres ili različite efektorne molekule, da podstaknu niz događaja koji se razvijaju delom postupno, a delom preplićući se i uzrokujući razvoj tubulointersticijske fibroze.

Mehanizmi tubulointersticijske fibroze

Oštećenje epitelnih tubulskih ćelija i intersticijuma bubrega pokreće sledeće procese koji učestvuju u nastanku tubulointersticijske fibroze: (1) infiltracija i/ili proliferacija limfocita, makrofaga, fibrocita, fibroblasta, (2) odgovor epitelnih ćelija tubula (3) apoptoza, (4) aktivacija fibroblasta i njihova fenotipska promena i (5) prelaz (tranzicija) epitelnih tubulskih ćelija u mezenhimske [15-18].

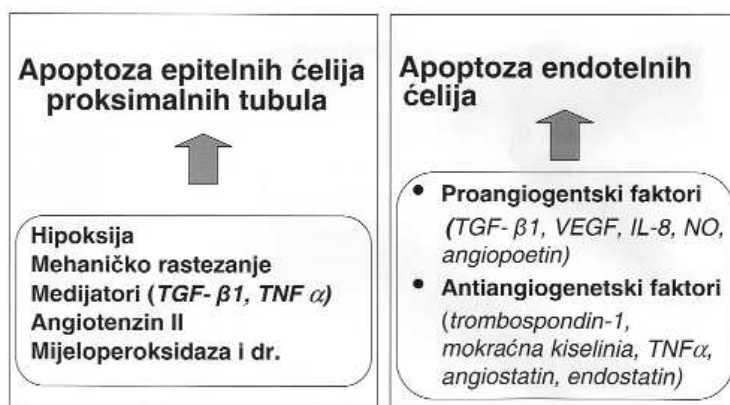
Infiltracija intersticijuma ćelijama inflamacije. Indukcija ekspresije adhezionih molekula i lokalnih hemotaktičkih faktora predstavlja jedan od prvih događaja koji slede posle oštećenja tubula, a koji vodi prodiranju i akumulaciji leukocita, posebno mononuklearnih makrofaga i T ćelija u intersticijum. Među ovim faktorima posebno su značajani monocitni hemotaktički protein-1 (engl. *monocyte chemoattractant protein-1*), faktor koji stimuliše kolonije makrofaga (engl. *macrophage-colony stimulating factor*), i dr. [16,19-22]. Postoje brojni dokazi da infiltracija intersticijuma bubrega makrofagima i njihova proliferacija ima ključnu ulogu u evoluciji tubulointersticijske fibroze. Makrofagi oslobađaju proinflamatorne citokine kao što su interleukin-1, transformišći faktor rasta beta (*TGF-β1*), trombocitni faktor rasta (*PDGF*), faktor nekroze tumora alfa (*TNF α*) i dr. od kojih neki imaju ne samo proinflamatorno dejstvo nego stimulišu sintezu i inhibišu degradaciju ekstraćelijskog matriksa. Centralnu ulogu ima *TGF-β* koga proizvode različite ćelije kao što su monocito-makrofagi i limfociti, a koji podstiče deobu fibroblasta, lučenje međućelijske materije vezivnog tkiva, a koči deobu većine ćelija. Pored toga, makrofagi oslobađaju proteaze i eikosanoide, a bogat su izvor reaktivnih kiseoničkih radikala. Direktni citotoksični efekat

ovih radikala vodi ne samo zapaljenju intersticijuma nego i stimulaciji sinteze kolagena i time razvoju intersticijske fibroze. Pored makrofaga i ostale ćelije koje infiltrišu intersticijum oslobađaju oksidante i citokine, a neki od njih (IL-2, γ -interferon) stimulišu makrofage da produkuju fibrogene citokine [15,19].

Uloga tubulskih ćelija u procesu tubulointersticijskog oštećenja. Bilo koji od ranije pomenutih činilaca koji uzrokuju tubulointersticijsko oštećenje može da vodi aktivaciji ćelija proksimalnih tubula i ekspresiji nuklearnog faktora- κ B i nuklearnog faktora transkripcije, a potom produkciji različitih medijatora. Produkcija inflamatornih citokina i komplementa može da pogorša oštećenje bilo direktno bilo indirektno pojačavajući infiltraciju intersticijuma inflamatornim ćelijama. S druge strane, medijatori koje oslobađaju inflamatorne ćelije mogu da aktivišu ćelije proksimalnih tubula. Tako su i tubulske ćelije i inflamatorne ćelije koje infiltrišu intersticijum uključene u proces inflamacije putem produkcije medijatora inflamacije.

Pored medijatora inflamacije aktivisane epitelne ćelije proksimalnih tubula oslobađaju i druge faktore rasta i hemokine među kojima IL-12, osteopontin, faktor koji stimuliše granulocitno-makrofagne kolonije (*GM-CSF*) i dr. Signalni molekuli koji ispoljavaju profibrogene dejstvo aktiviraju fibroblaste da proliferišu i sekretuju proteine ekstraćelijskog matriksa pa je krajnji ishod ove interakcije između epitelnih ćelija tubula i inflamatornih ćelija koje infiltrišu intersticijum prekomerna produkcija ekstraćelijskog matriksa i fibroza intersticijuma [15, 23, 24].

Apoptoza. Proliferacija i apoptoza epitelnih ćelija tubula opisana je u različitim akutnim i hroničnim tubulointersticijskim bolestima. U hroničnim tubulointersticijskim bolestima apoptoza može da nadjača proliferaciju pa vodi smanjenju broja ćelija i doprinosi razvoju intersticijske fibroze. Apoptozu tubulskih ćelija mogu da indukuju različiti poremećaji i medijatori: mehaničko rastezanje kakvo postoji u opstrukciji, hipoksija, brojni medijatori koje produkuju tubulske i inflamatorne ćelije koje infiltrišu intersticijum (shema 1). Među ovim medijatorima posebno je značajna uloga *TGF-β1* ali i angiotenzina II (*AngII*) koji indukuje *TGF-β1*, pa zatim *TNFα* i neki enzimi kao napr. mijeloperoksidaza koja se oslobađa iz makrofaga i neutrofila i katalizuje produkciju prooksidantnih supstanci. Mnogi od ovih medijatora imaju višestruka dejstva kao napr. *TGF-β1* koji posreduje i u nastanku apoptoze i fibroze [25,26].



Shema 1. Činioci koji indukuju apoptozu epitelnih ćelija proksimalnih tubula ili posreduju u regulaciji apoptoze endotelnih ćelija

Apoptoza epitelnih ćelija tubula je najizraženija u opstruktivnoj nefropatiji [25], ali je opisana i u drugim tubulointersticijskim bolestima kao što je hronična ciklosporinska nefropatija [21], endemska nefropatija [27] i dr.

Redukcija peritubulskih kapilara bila je opisana već u prvim radovima koji su ispitivali korelaciju između tubulointersticijske fibroze i funkcije bubrega [6]. Kasnije je pokazano da ova redukcija kapilara nastaje zbog povećane apoptoze, a smanjene proliferacije endotelnih ćelija. Faktori koji učestvuju u regulaciji apoptoze endotelnih ćelija mogu se podeliti na proangiogenetske (*VEGF*, azot oksid, *TGF-β1*, angiopoetin, fibroblastni faktor rasta, interleukin-8) i antiangiogenetske faktore (inhibicija azot oksida, trombospondin-1, mokraćna kiselina, *TNFα*, angiostatin, endostatin) [15,28] (shema 1). Opisano je da kod osoba sa hroničnom insuficijencijom bubrega postoji smanjena koncentracija proangiogenetskih, a povećana koncentracija antiangiogenetskih čimlac [29]. Redukcija peritubulskih kapilara, koja nastaje kao posledica ovih poremećaja, vodi smanjenom protoku krvi i nedovoljnom snabdevanju kiseonikom, a ta hronična tubulointersticijska hipoksija podstiče intersticijsku fibrozu i tubulsku atrofiju [30].

Fibroblasti. Bez obzira na početni uzrok oštećenja tubulskih ćelija, tubulointersticijska fibroza je proces u koji su uvek uključeni miofibroblasti, aktivisani fibroblasti koji se prepoznaju po ekspresiji glatkomišićnog aktina alfa (engl. *α-smooth muscle actin*, *α-SMA*). Njihova akumulacija je jedan od ključnih događaja, jer su miofibroblasti glavne efektorne ćelije odgovorne za prekomernu depoziciju intersticijskog ekstraćelijskog matriksa u hroničnim bolestima bubrega [31,32]. Poreklo miofibroblasta i njihova aktivacija bili su predmet brojnih istraživanja. Nesumnjivo je da su oni samo jednim delom nastali aktivacijom fibroblasta iz intersticijuma bubrega. Tokom nekoliko prethodnih godina studije sprovedene na eksperimentalnim modelima i bolesnicima posle transplantacije kostne srži su pokazale da jedan manji deo miofibroblasta u intersticijumu bubrega vodi poreklo od cirkulišućih prekursora iz kostne srži [33, 34]. Značajan procenat miofibroblasta potiče od epitelnih tubulskih ćelija od kojih nastaju procesom epitelno-mezenhimske tranzicije (engl. *epithelial-to-mesenchymal transition* - *EMT*) (tabela 2). U tom procesu epitelne tubulske ćelije gube svoj epitelni fenotip i stiču mezenhimski fenotip. To je jedan stepenasti proces u kom se najpre gubi interćelijska adhezija i ekspresija E-kadherina, dolazi do *de novo* ekspresije *α-SMA* i reorganizacije aktina pa zatim do raskidanja tubulske bazalne membrane i destrukcije tubula, što omogućava migraciju ćelija i akumulaciju miofibroblasta u intersticijumu [32,35]. *TGF-β* se smatra glavnim regulatorom indukcije *EMT*, a pored toga *TGF-β* i drugi faktori rasta koje proizvode epitelne ćelije tubula i makrofagi i limfociti u intersticijskim infiltratima podstiču fibroblaste da proliferišu i proizvode proteine ekstraćelijskog matriksa kao što je kolagen tip I i III, i fibronektin. Stimulisane epitelne ćelije tubula mogu takođe da proizvode fibrogene proteine i time doprinose razvoju tubulointersticijske fibroze [36,37]. Novosintetisani matriks remodeluju različite proteaze, među kojima posebno mesto zauzimaju dva sistema uključena u degradaciju ekstraćelijskog matriksa: sistem aktivacije plazminogena i matriks metaloproteinaze. Akumulacija matriksa nastaje kada je degradacija matriksa manja od sinteze [38].

Miofibroblasti, aktivisani fibroblasti, mogu u procesu tubulointersticijske fibroze da nastanu

- aktivacijom fibroblasta iz intersticijuma bubrega
- od epitelnih tubulskih ćelija kroz proces epitelno-mezenhimske tranzicije (*epithelial-to-mesenchymal transition*)
- od cirkulišućih ćelija iz kostne srži

Tabela 2. Poreklo miofibroblasta, glavnih efektornih ćelija u prekomernom odlaganju intersticijskog ekstraćelijskog matriksa tokom procesa tubulointersticijske fibroze

Mehanizmi tubulointersticijske fibroze kao ciljevi lečenja

Fibroza tkiva bubrega, kao uniformni proces koji odlikuje sve hronične progresivne bolesti bubrega, postala je veoma važan terapijski cilj. Istraživanja mehanizama tubulointersticijske fibroze imala su za cilj ne samo da objasne ovaj proces nego da doprinesu njenom lečenju. Inhibitori konvertaze angiotenzina i blokatori angiotenzin-2 receptora su prvi lekovi za koje je dokazano da mogu da utiču na progresiju fibroze tkiva bubrega. Poslednjih godina proveravana je efikasnost mnogih novih lekova koji pripadaju ovim grupama i njihovim kombinacijama kao i kombinacijama sa drugim sredstvima. Pregled ovih istraživanja nedavno su objavili Boor i saradnici [16] prikazavši brojne ciljeve koji su postavljani u lečenju renalne fibroze.

Zaključak

Tubulointersticijska fibroza je složen proces u kom učestvuje veliki broj ćelijskih i molekularnih medijatora. Uprkos njegovoj složenosti poslednjih godina otkriven je niz mehanizama nastanka i razvoja tubulointersticijske fibroze koji su postali ili mogu postati ciljevi terapijskih pokušaja usmerenih upravo ka ovim mehanizmima.

Apstrakt

Tubulointersticijska fibroza predstavlja progresivnu akumulaciju proteina ekstraćelijskog matriksa u tubulointersticijskom prostoru i smatra se najznačajnijim prediktorom progresije hroničnih bolesti bubrega. U ovom radu prikazana su istraživanja patogenetskih mehanizama tubulointersticijske fibroze i pokušaji njenog lečenja.

Oštećenje tubula i intersticijuma mogu da uzrokuju različiti činioci koji direktno ili indirektno, indukujući oksidativni stres ili različite efektorne molekule, podstiču niz događaja vodeći razvoju tubulointersticijske fibroze. Ovi događaji obuhvataju: (1) infiltraciju i proliferaciju limfocita, makrofaga, fibrocita, fibroblasta, (2) odgovor epitelnih ćelija tubula na faktore koji su uzrokovali oštećenje, (3) apoptozu, (4) aktivaciju fibroblasta i njihovu fenotipsku promenu i (5) tranziciju epitelnih tubulskih ćelija u mezenhimske. U indukciji ovih procesa učestvuju brojni medijatori koje proizvode tubulske i inflamatorne ćelije, ali i pojedini poremećaji koji u tim procesima nastaju (hipoksija, oksidativni stres). Jedan od ključnih događaja u procesu tubulointersticijske fibroze je akumulacija miofibroblasta, aktivisanih fibroblasta, koji predstavljaju glavne efektorne ćelije odgovorne za prekomerno odlaganje intersticijskog ekstraćelijskog matriksa u hroničnim bolestima bubrega. Otkriće mehanizama nastanka i razvoja tubulointersticijske fibroze podstaklo je brojna istraživanja čiji je cilj da se otkriju metode kojima bi se, utičući na ove mehanizme, mogao zaustaviti razvoj fibroze.

LITERATURA

1. Le Hir M, Kaissling B: Distribution and regulation of renal ecto-5-nucleotidase: implications for physiological functions of adenosine. *Am J Physiol.* 1993;264:F377–F387
2. Bachmann S, Le Hir M, Eckardt KU: Co-localization of erythropoietin mRNA and ecto-5-nucleotidase immunoreactivity in peritubular cells of rat renal cortex indicates that fibroblasts produce erythropoietin. *J Histochem Cytochem.* 1993;41:335–341
3. Maxwell PH, Osmond MK, Pugh CW, Heryet A, Nicholls LG, Tan CC, Doe BG, Ferguson DJ, Johnson MH, Ratcliffe PJ: Identification of the renal erythropoietin-producing cells using transgenic mice. *Kidney Int.* 1993;44:1149–1162.
4. Nangaku M: Mechanisms of tubulointerstitial injury in the kidney: final common pathways to end-stage renal failure. *Intern Med.* 2004; 43: 9–17
5. Schainuck LI, Striker GE, Cutler RE, Benditt EP: Structural-functional correlations in renal disease. II. The correlations. *Human Pathol.* 1970;1:631–641.
6. Bohle A, Christ H, Grund KE, Mackensen S: The role of the interstitium of the renal cortex in renal disease. *Contrib Nephrol.* 1979; 16:109-14.
7. Abe S, Amagasaki Y, Iyori S et al: Significance of tubulointerstitial lesions in biopsy specimens of glomerulonephritic patients. *Am J Nephrol.* 1989;9:30-7.
8. Grcevska L, Polenakovic: Tubular and interstitial lesions and mononuclear cell infiltration in primary forms of glomerulonephritis. *Ren Fail.* 1993;15:485-93.
9. Hruby Z, Smolska D, Filipowski H et al: The importance of tubulointerstitial injury in the early phase of primary glomerular disease. *J Intern Med.* 1998; 243:215-22
10. Bankovic-Calic N, Sindjic M, Milosavljevic M, Pavlovic S, Velimirovic D, Djukanovic Lj: Renal function and histologic findings in immunoglobulin A nephropathy. *Srp arh celok lek.* 1996;124 (Suppl 1):33-6.
11. Dhillon S, Higgins RM: Interstitial nephritis. *Postgrad Med J.* 1997;73:151-155
12. Delanian S, Porcher R, Balla-Mekias S, and Lefaix JL: Randomized, placebo-controlled trial of combined pentoxifylline, and tocopherol for regression of superficial radiation-induced fibrosis. *J Clin Oncol.* 2003;21:2545–2550.
13. Diez J, Querejeta R, Lopez B, Gonzalez A, Larman M, and Martinez Ubago JL: Losartan-dependent regression of myocardial fibrosis is associated with reduction of left ventricular chamber stiffness in hypertensive patients. *Circulation* 2002;105:2512–2517.
14. Farci P, Roskams T, Chessa L, Peddis G, Mazzoleni AP, Scioscia R, Serra G, Lai ME, Loy M, Caruso L, Desmet V, Purcell RH, and Balestrieri A: Long-term benefit of interferon therapy of chronic hepatitis D: regression of advanced hepatic fibrosis. *Gastroenterology* 2004;126: 1740–1749.
15. Nakagawa T, Kang D-H, Ohashi R et al: Tubulointerstitial disease: role of ischemia and microvascular disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2003; 12:233-41.
16. Boor P, Sebekova K, Ostendorf T, Floege J: Treatment targets in renal fibrosis. *Nephrol Dial Transplant.* 2007;22: 3391–3407.
17. Chatziantoniou C, Dussaule JC: Insights into the mechanisms of renal fibrosis: is it possible to achieve regression? *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005; 289: F227–F234.
18. Liu Y: Renal fibrosis: new insights into the pathogenesis and therapeutics. *Kidney Int.* 2006; 69: 213–217
19. Isbel NM, Nikolic-Paterson DJ, Hill PA, Dowling J, Atkins RC: Local macrophage proliferation correlates with increased renal M-CSF expression in human glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;16:1638-47
20. Tesch GH, Schwarting A, Kinoshita K, Lan HY, Rollins BJ, Kelley VR: Monocyte chemoattractant protein-1 promotes macrophage-mediated tubular injury, but not glomerular injury, in nephrotoxic serum nephritis. *J Clin Invest.* 1999;103: 73–80.
21. Cochran AL, Ricardo SD: Oxidant Stress and Regulation of Chemokines in the Development of Renal Interstitial Fibrosis. In: Razzaque MS, Taguchi T (eds): *Renal Fibrosis. Contrib Nephrol.* Basel: Karger; 2003;139:102–119.
22. Yoo KH, Thornhill BA, Forbes MS et al: Osteopontin regulates renal apoptosis and interstitial fibrosis in neonatal chronic unilateral ureteral obstruction. *Kidney Int.* 2006; 70:1735–1741.
23. Daha MR, vanKooten C: Is the proximal tubular cell a proinflammatory cell? *Nephrol Dial Transplant.* 2000;15(suppl 6):41-43.
24. Djukanovic Lj, Bankovic-Calic N, Pavlovic S, Sindjic M, Dimitrijevic J, Naumovic R: Tubulointerstitial injury in glomerulonephritis: causes and consequences. *BANTAO J.* 2003;1:24-26
25. Docherty NG, O'Sullivan OE, Healy DA, Fitzpatrick JM, Watson RW: Evidence that inhibition of tubular cell apoptosis protects against renal damage and development of fibrosis following ureteric obstruction. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2006;290: F4–F13.
26. Hotter G, Palacios L, and Sola A: Low O₂ and high CO₂ in LLC-PK1 cells culture mimics renal ischemia-induced apoptosis. *Lab Invest.*2004; 84:213–220.
27. Savin M, Bumbasirevic V, Djukanovic L, Petronic V: The significance of apoptosis for early diagnosis of Balkan nephropathy. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;16(Suppl 6):30-32.
28. Woolf AS, Gnudi L, Long DA: Roles of Angiopietins in Kidney Development and Disease. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20:239–244.
29. Futrakul N, Butthep P, Futrakul P. Altered vascular homeostasis in chronic kidney disease. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2008;38:201–207.
30. Higgins DF, Kimura K, Bernhardt WM et al: Hypoxia promotes fibrogenesis in vivo via HIF-1 stimulation of epithelial-to-mesenchymal transition. *J Clin Invest.* 2007;117:3810-20.
31. Badid C, Desmouliere A, Babici D, Hadj-Aissa A, McGregor B, Lefrancois N, Touraine JL, Laville M: Interstitial expression of alpha-SMA: an early marker of chronic renal allograft dysfunction. *Nephrol Dial Transplant.* 2002;17: 1993–1998.
32. Yang J, Liu Y: Dissection of key events in tubular epithelial to myofibroblast transition and its implications in renal interstitial fibrosis. *Am J Pathol.* 2001;159: 1465–1475.
33. Hinz B: Formation and function of the myofibroblast during tissue repair. *J Invest Dermatol.* 2007;127:526–537.
34. Kaissling V, Le Hir M: The renal cortical interstitium: morphological and functional aspects. *Histochem Cell Biol.* 2008;130:247–262.
35. Liu Y: Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: pathologic significance, molecular mechanism, and therapeutic intervention. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:1–12.
36. Okada H, Kikuta T, Kobayashi T, et al: Connective tissue growth factor expressed in tubular epithelium plays a pivotal role in renal fibrogenesis. *J Am Soc Nephrol.* 16: 133–143, 2005
37. Hertig A, Anglicheau D, Verine J, et al: Early Epithelial Phenotypic Changes Predict Graft Fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 2008;19: 1584–1591.
38. Rerolle JP, Hertig A, Nguyen G, Sraer JD, Rondeau EP. Plasminogen activator inhibitor type 1 is a potential target in renal fibrogenesis. *Kidney Int.* 2000;58: 1841-1850.