

Влияние TGF-β1 и VEGF на процессы ангио- и нефрогенеза

Л.О. Севергина¹, Э.С. Севергина¹, Л.В. Леонова², Л.М. Рапопорт³

¹Кафедра патологической анатомии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России;

²кафедра патологической анатомии педиатрического факультета ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва;

³кафедра урологии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России

Контакты: Любовь Олеговна Севергина losevergina@gmail.com

На светооптическом и иммуногистохимическом уровнях изучены биоптаты почек детей с врожденным гидронефрозом в возрасте от 3 дней до 12 лет, полученные при нефрэктомии, с целью установления влияния факторов роста на процессы васкуляризации почки и созревания почечной ткани.

Показано, что слабая экспрессия VEGF при более выраженной экспрессии TGF-β1 и его рецепторов — R1 и R2 — на различных структурах нефункционирующих или гипопластических почек у детей раннего возраста может быть критерием нарушенного ангио- и нефрогенеза.

Ключевые слова: факторы роста, ангиогенез, нефрогенез

TGF-β1 and VEGF influence on angio- and nephrogenesis processes

L.O. Severgina¹, E.S. Severgina¹, L.V. Leonova², L.M. Rapoport³

¹Department of Morbid Anatomy, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia;

²Department of Morbid Anatomy, Faculty of Pediatrics, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia, Moscow;

³Department of Urology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia

Kidney biopsies obtained from 3 days — 12 years children with congenital hydronephrosis during nephrectomy operation were investigated under the light microscopy in our study. Also we did immunohistochemical reactions. The aim of our study was to reveal the growth factor influence on maturation and vascularisation of kidney parenchyma.

We showed, that the low VEGF expression in association with higher expression of TGF-β1 and its receptors — R1 and R2 — on different structures of nonfunctioning or hypoplastic kidneys in children might be a criterion of abnormal angio- and nephrogenesis.

Key words: growth factors, angiogenesis, nephrogenesis

Процессы нефрогенеза и васкуляризации почки посредством как ангио-, так и васкулогенеза тесно сопряжены и происходят одновременно; роль васкулогенеза в эмбриональном развитии почки очевидна, поскольку он обеспечивает последовательные этапы формирования почечных структур. Оба этих процесса контролируются факторами роста, компонентами экстрацеллюлярного матрикса и мембранными рецепторами клеток-мишеней. Это и делает необходимым изучение взаимодействия различных факторов, в том числе ответственных за развитие сосудов и определяющих нормальный нефрогенез.

Дефекты сосудистого компонента в почках проявляются наличием добавочных артерий, их извилистостью (кинкинг), нарушением топографии, неправильным или рассыпным ветвлением, нарушением структуры стенок артерий различного уровня, начиная с междольевых и заканчивая афферентной и эфферентной артериолами. Одной из весомых причин ангио-

дисплазии является нарушение взаимодействия факторов роста, среди которых наиболее значимыми являются VEGF и TGF-β1. При этом TGF-β1, который представляет собой потенциально мультифункциональный полипептид, относится к ингибиторам ангиогенеза; он подавляет дифференцировку эндотелиальных клеток, стимулирует их апоптоз, в то время как VEGF оказывает противоположное действие: он играет ведущую роль в созревании и дифференцировке эндотелиальных клеток, формировании сети капилляров в сосудистых клубочках и пролиферации тубулярного эпителия [1–3, 6, 7]. Кроме того, VEGF способен стимулировать эндотелиальные клетки, запуская процесс ангиогенеза, а снижение выработки VEGF может привести к нарушению всей системы васкуляризации почки человека [2, 4, 5, 8]. В нормальных условиях эффекты данных факторов роста уравновешивают друг друга, а нарушение их взаимодействия приводит к сбою механизмов ангиогенеза, дисбалансу

васкуляризации и в конечном итоге к дизэмбриогенезу.

Для определения роли VEGF и TGF- β 1 в сопряженных процессах ангио- и нефрогенеза было проведено светооптическое (включая окраски гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону) и иммуногистохимическое исследование (ИГХИ) с определением уровня экспрессии TGF- β 1, его рецепторов (R1 и R2) и VEGF в биоптатах почек 35 детей с врожденным гидронефрозом в возрасте от 3 дней до 12 лет, находящихся на лечении в детской ГКБ № 13 им. Н.Ф. Филатова. Данное ограничение по возрасту связано с тем, что созревание почечных структур происходит до 12 лет, когда и завершается процесс нефрогенеза.

Безусловный интерес представляют наблюдения с ранней нефрэктомией, проведенной у детей первых дней и месяцев жизни по поводу нефункционирующей почки, когда имеют место наиболее выраженные нарушения как ангио-, так и нефрогенеза в виде гипоплазии почечной ткани.

У 3-дневного ребенка (нефункционирующая почка, нефрэктомия) в паренхиме почки обнаружены многочисленные беспорядочно разбросанные гломерулярные кисты, группы недифференцированных канальцев, выстланных крупными кубическими эпителиальными клетками. Вблизи кист – несколько близко расположенных срезов сосудов одного диаметра, преимущественно крупных (кинкинг); вокруг гломерулярных кист и сосудов сформированы соединительнотканые муфты.

В другом биоптате (ребенок в возрасте 1 месяц, нефункционирующая почка, нефрэктомия) найдены признаки нарушения строения сосудистых стенок дуговой и междолевой артерий, афферентных артериол в виде утолщения и разволокнения их стенок с дезориентацией пучков гладкомышечных волокон и нарушением целостности внутренней эластической мембраны. Отмечено гроздьевидное расположение гломерул, вблизи – группы недифференцированных канальцев, выстланных крупным кубическим эпителием.

Таким образом, светооптическое исследование выявило у этих детей незрелость почечной ткани в сочетании с признаками дизангиогенеза.

При проведении ИГХИ определялась очень слабая экспрессия VEGF на нефротелии зрелых проксимальных и дистальных канальцев, гломерулярном эндотелии (рис. 1) и слабая – на гладкомышечных клетках артерий различного диаметра.

Отмечена выраженная мозаичная экспрессия TGF- β 1 в виде мелких гранул в нефроцитах собирательных трубочек, нефротелии гломерулярных кист, эндотелии капилляров гломерул и клетках интерстиция. Кроме того, отмечена его слабая экспрессия на гладкомышечных клетках приносящей и выносящей

артериол. Что же касается рецепторов данного фактора – TGF- β 1 R1, то выявлена их выраженная экспрессия на кубическом эпителии недифференцированных канальцев и более слабая экспрессия на нефроцитах канальцев мозгового слоя и в гладкомышечных клетках артериол в виде мелких гранул.

У детей от 1 до 5 лет при морфологическом исследовании также найдены признаки дизангиогенеза в виде кинкинга: между корковым и мозговым веществом несколько тангенциальных и поперечных срезов дуговой артерии одинакового диаметра; разрыхление и дезорганизация слоев стенок междольковых и дуговых артерий с вакуолизацией цитоплазмы гладкомышечных клеток. Часто встречались группы недифференцированных канальцев – проявление гипоплазии почечной ткани.

При ИГХИ отмечена экспрессия TGF- β 1 в цитоплазме нефроцитов проксимальных и дистальных канальцев, особенно в недифференцированных канальцах и в подоцитах гломерул. Выявленная экспрессия TGF- β 1 R1 выявлена на нефроцитах проксимальных и дистальных канальцев и на более крупном кубическом эпителии недифференцированных канальцев (рис. 2), на нефроцитах собирательных трубочек, расположенных вблизи артерий; TGF- β 1 R2 также экспрессировались на поверхности нефроцитов большинства проксимальных и дистальных канальцев, собирательных трубочек и на кубическом эпителии недифференцированных канальцев. Экспрессия VEGF на эпителии канальцев, эндотелии капилляров клубочков была выражена слабо.

В биоптатах почек детей старшего возраста (6–12 лет) обнаружены признаки патологической извитости артерий преимущественно большого диаметра. Так, на границе коркового и мозгового слоев – тангенциальные и поперечные срезы дуговой артерии с дезоргани-

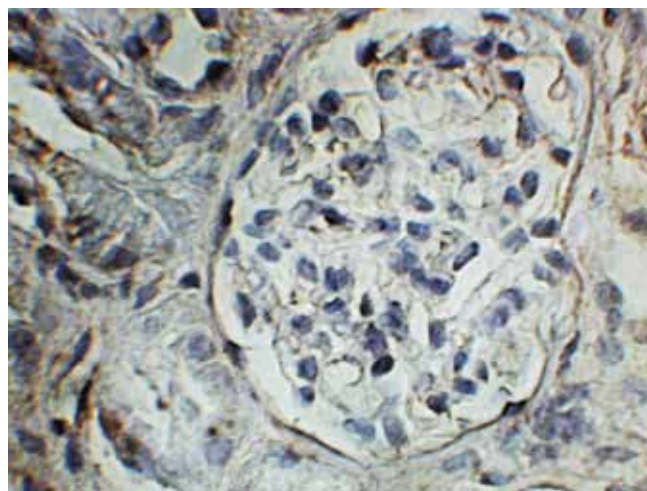


Рис. 1. Слабая экспрессия VEGF в цитоплазме гломерулярных клеток и нефроцитов проксимальных извитых канальцев, $\times 400$

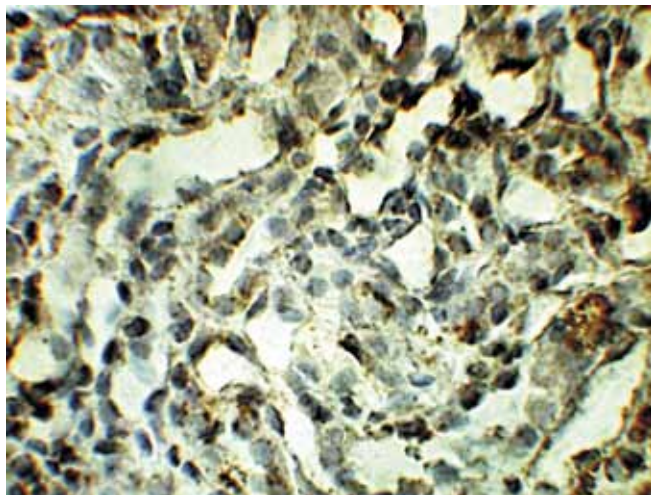


Рис. 2. Экспрессия TGF-β1 R1 на нефроцитах проксимальных и дистальных извитых канальцев, ×200

зацией пучков гладкомышечных клеток мышечного слоя; в нескольких наблюдениях — признаки извитости афферентной артериолы с утолщением ее стенок за счет гипертрофии мышечного слоя. В одном наблюдении определялись многочисленные гломерулярные кисты и единичные недифференцированные канальцы.

ИГХИ позволило обнаружить экспрессию TGF-β1 в апикальной части нефроцитов проксимальных и дистальных канальцев, гладкомышечных клетках артерий различного калибра; TGF-β1 R1 давали более слабую, а TGF-β1 R2 — интенсивную экспрессию на апикальной части нефроцитов проксимальных и дистальных канальцев, а также на части гломерулярных клеток (рис. 3). Отмечена слабая экспрессия VEGF в цитоплазме большинства нефроцитов проксимальных ка-

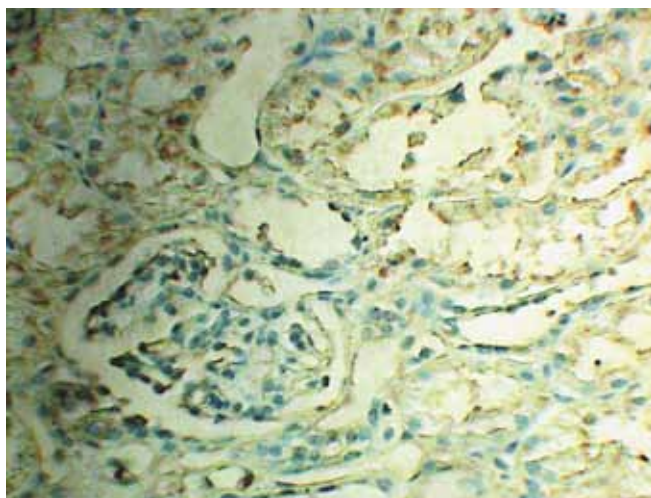


Рис. 3. Экспрессия TGF-β1 R2 на нефроцитах проксимальных и дистальных извитых канальцев, на гломерулярных клетках, ×400

нальцев, эндотелии капилляров клубочка, нефротелии, гладкомышечных клетках стенок сосудов разного диаметра и более выраженная его экспрессия в кубическом эпителии недифференцированных канальцев.

Таким образом, проведенное ИГХИ интраоперационных биоптатов почек детей разного возраста с врожденным гидронефрозом позволило отметить преимущественно слабую или очень слабую экспрессию VEGF и в целом более выраженную экспрессию TGF-β1 и его рецепторов (R1 и R2) на различных структурах: нефроцитах проксимальных и дистальных канальцев, собирательных трубочек и канальцев мозгового слоя, кубическом эпителии недифференцированных канальцев, эндотелии и подоцитах капилляров клубочков, гладкомышечных клетках стенок сосудов, нефротелии, выстилающем гломерулярные кисты.

В биоптатах почек детей первого года жизни нами была обнаружена очень слабая экспрессия VEGF на гломерулярном эндотелии и на нефроцитах проксимальных и дистальных канальцев, что служит подтверждением его влияния на процессы пролиферации и дифференцировки как гломерулярных клеток, так и тубулярного эпителия. Таким образом, аномально низкий уровень его экспрессии как раз и сопряжен с нарушением нефрогенеза и недоразвитием почечной ткани. При этом в процессе ненарушенного нефрогенеза на ранних стадиях развития почки VEGF верифицируется во всех структурах метанефроса, а на поздних стадиях экспрессируется более интенсивно в коллекторной системе почки и слабее в дифференцированных нефронах и в интерстиции [2, 7].

Нами отмечено, что экспрессия TGF-β1 и его рецепторов R1 и R2 была значительной не только в нефроцитах проксимальных и дистальных канальцев, на что указывают и другие авторы [9], но и в незрелом кубическом эпителии недифференцированных канальцев почек с признаками гипоплазии. Данные изменения подтверждают способность TGF-β1 поддерживать незрелый фенотип тубулярных клеток и индуцировать их апоптоз.

Таким образом, слабая экспрессия VEGF при более выраженной экспрессии TGF-β1 и его рецепторов R1 и R2 на различных структурах нефункционирующих или гипопластических почек у детей раннего возраста рассматривается нами как показатель нарушенного ангио- и нефрогенеза. Также можно отметить разницу, хотя и не столь существенную, при определении этих факторов в различных возрастных группах: незначительное усиление экспрессии VEGF и ослабление экспрессии TGF-β1 по мере снижения тяжести гипопластических изменений в почках детей, что трактуется нами как прямая коррелятивная зависимость между этими показателями.



ЛИТЕРАТУРА

1. Bertolino P., Deckers M., Lebrin F., Ten Dijke P. Transforming growth factor-beta signal transduction in angiogenesis and vascular disorders. *Chest* 2005;128(6 Suppl):585S-90S.
2. Carev D., Saraga M., Saraga-Babic M. Involvement of FGF and BMP family proteins and VEGF in early human kidney development. *Histol Histopathol* 2008;23(7):853-62.
3. Lebrin F., Deckers M., Bertolino P., Ten Dijke P. TGF-beta receptor function in the endothelium. *Cardiovasc Res* 2005;65(3):599-608.
4. Ferrari G., Cook B.D., Terushkin V. et al. Transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta1) induces angiogenesis through vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated apoptosis. *J Cell Physiol* 2009;219(2):449-58.
5. Gomez R.A., Norwood V.F., Tufro-McReddie A. Development of the kidney vasculature. *Microsc Res Tech* 1997;39(3):254-60.
6. Kim B.S., Goligorsky M.S. Role of VEGF in kidney development, microvascular maintenance and pathophysiology of renal disease. *Korean J Intern Med* 2003;18(2):65-75.
7. Sequeira Lopez M.L., Gomez R.A. Development of the renal arterioles. *J Am Soc Nephrol* 2011;22(12):2156-65.
8. Tufro A., Norwood V.F., Carey R.M., Gomez R.A. Vascular endothelial growth factor induces nephrogenesis and vasculogenesis. *J Am Soc Nephrol* 1999;10(10):2125-34.
9. Zhoy Y., Takahashi G., Shinagava T. et al. Increased transforming growth factor-beta1 and tubulointerstitial fibrosis in rats with congenital hydronephrosis. *Int J Urol* 2002;9(9):491-500.