

УДК 612.017:616.61

© Е.И. Слободян, 2014.

ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК

Е.И. Слободян

Кафедра педиатрии с курсом физиотерапии ФПО (зав. кафедрой – проф. Н.Н. Каладзе), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет имени С.И.Георгиевского».

VALUE DEFINITION EPIDERMAL GROWTH FACTOR IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE

O.I. Slobodian

SUMMARY

The article shows the results of experimental and clinical studies investigating the role of epidermal growth factor as a marker of disease progression and monitor the effectiveness of therapy in patients with chronic kidney disease. Thus, determination of EGF level in biological samples may serve as a useful diagnostic and prognostic parameter in patients at various stages of chronic kidney disease. In particular, the determination of EGF in the serum for assessment of overall response of the organism and to assess the local tubulointerstitial status when determining EGF in urine.

ЗНАЧЕННЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЕПІДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТУ У ХВОРИХ З ХРОНІЧНОЮ ХВОРОБОЮ НИРОК

O.I. Слободян

РЕЗЮМЕ

У статті показані дані експериментальних і клінічних досліджень, які вивчають роль епідермального фактора росту в якості маркера прогресування та контролю ефективності терапії при хронічній хворобі нирок. Визначення рівня EGF в біологічних середовищах може служити корисним діагностичним та прогностичним параметром для пацієнтів на різних стадіях хронічної хвороби нирок. Зокрема, при визначенні EGF в сироватці крові для оцінки загальної реакції організму і для оцінки локального тубулоінтерстиціального статусу при визначенні EGF в сечі.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, эпидермальный фактор роста.

В настоящее время огромное число фундаментальных исследований сфокусировано на поиске новых рациональных подходов к диагностике пролиферативных процессов в почечной ткани на ранних патохимических стадиях. Понимание молекулярных механизмов, ответственных за про- и антифиброгенную активность различных цитокинов и факторов роста, открывает новые пути контроля развития и прогрессирования хронической болезни почек (ХБП). Одним из объектов, активно изучаемых в последние годы в качестве нового маркера эпителиально-мезенхимальной трансформации, является эпидермальный фактор роста (EGF).

EGF обладает сильными митогенными свойствами для клеток различного происхождения. Он стимулирует пролиферацию эпидермальных и эпителиальных клеток, таких как фибробласты, эпителиальные клетки почек, эндотелиальные, а также эмбриональные клетки. Органогенез окончательной почки был бы невозможен без существенной роли EGF, поскольку он и его рецепторы (EGFR) участвуют в формировании канальцев в эмбриогенезе [21]. Формирование всех органов, и, в частности, почек, основано на активации в разное время различных факторов роста: инсулиноподобного, эпидермаль-

ного, факторов роста фибробластов и др. Все они ингибируют апоптоз и, таким образом, влияют на развитие почек, защищая клетки метанефрогенной ткани от апоптоза на стадии формирования метанефроса [3, 16].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования [18], посвященные изучению онтогенеза почечного EGF на примере микродиссекции сегментов нефрона мыши, выявили увеличение концентрации иммунореактивного EGF на миллиграмм белка в 20 раз с 1 до 3 недели жизни, достижение самого высокого уровня на 5-7 неделях, снижение на 10 неделе. Самое высокое содержание EGF наблюдалось в толстом восходящем колоне петли Генле, что в 4,5 раза превышало его содержание в проксимальных канальцах и в 3 раза концентрацию в дистальных канальцах и собирательных трубочках. Эти данные позволили сделать вывод о выраженных отличиях онтогенеза почечного EGF и неоднородности его присутствия в различных отделах нефрона. Первое экспериментальное исследование человеческой почки [15], направленное на изучение локализации EGF и его рецептора EGFR у здоровых людей и после острого тубулоинтерстициального повреждения, показало преимущественную

локализацию EGF и EGFR на апикальной поверхности тубулярных клеток, локализующихся в петле Генле и в меньшей степени – в извитых дистальных канальцах. Экспрессия белка EGFR обнаружена в эндотелиальных клетках клубочков, перитубулярных капиллярах, артериолах, вдоль толстого восходящего колена петли Генле и дистальных извитых канальцев преимущественно вдоль базолатеральной мембраны. Образцы почек после острого тубулоинтерстициального повреждения имели резкое снижение экспрессии EGF, в то время как EGFR показал лишь незначительные изменения, что позволило авторам предположить их важное значение в патогенезе острого тубулоинтерстициального повреждения.

Даже в фазе латентного воспаления имеет место изменение уровней цитокинов в различных биологических средах, прогрессирующее в фазе активного воспаления параллельно с усугублением морфофункциональных расстройств, в силу чего у пациентов с пузырно-мочеточниковым рефлюксом в 30-60 % формируется нефросклероз [5]. Изучение гистологических результатов образцов почек детей с тяжелыми рефлюкс-нефропатиями выявили выраженное подавление иммунореактивности EGF в проксимальных канальцах, тогда как в здоровых почках имела место выраженная экспрессия EGF, что позволило авторам сделать вывод о ключевой роли EGF, синтезируемого тубулярными элементами, в патогенезе тубулоинтерстициального повреждения при рефлюкс-нефропатии. Этими же исследователями выявлено снижение экспрессии IGF-1 и IGF-1R в проксимальных канальцах почек у больных с рефлюкс-нефропатией, что имело сильную корреляционную связь с тяжестью тубулярного апоптоза по сравнению с контрольной группой [9, 10].

Исследования в эксперименте роли EGF, TGF- β и их рецепторов в патогенезе аутосомно-рецессивного поликистоза почек у мышей, выявили аномальную выраженность EGF в культуре почек больных мышей по сравнению со здоровыми [12]. В работах Е.Н. Врублевской, С.Л. Коварского и соавторов [2, 4] пришли к выводу, что низкая концентрация EGF в содержимом кист свидетельствует об активности патологического процесса кистообразования, так как в связанном с рецепторами состоянии этот полипептид стимулирует процесс пролиферации эпителия, а значит и активизирует рост кистозной полости. Высокая концентрация этого фактора в моче, говорит об активности его выработки пролиферирующим эпителием. Образование новых эпителиальных клеток должно сопровождаться активацией процессов их физиологической гибели (апоптозом), регулируемым антагонистом EGF - трансформирующим фактором роста TGF- β , который также ингибирует деградацию коллагена. Высокое содержание данного фактора в моче и содержимом кист свидетельствует об активности процессов, происходящих в почеч-

ной ткани. Поэтому снижение концентрации трансформирующего фактора TGF- β и нормализация эпидермального фактора EGF в биологических средах после проведенного лечения и исчезновения полости кисты свидетельствует о стабилизации патологического процесса роста полости кисты.

Изучению уровней EGF в моче у больных с IgA-нефропатией, проводимому ежегодно на протяжении $5,6 \pm 3,1$ лет, посвящена работа М. Stangou, E. Alexopoulos и соавторов [25]. Уровни EGF в моче были снижены по сравнению с контрольной группой и снижались в процессе прогрессирования заболевания. EGF достоверно коррелировал с клиренсом креатинина ($r = 0,5$; $p = 0,005$), что позволило авторам сделать заключение о целесообразности серийного исследования уровня мочевого EGF как маркера эффективности терапии и исхода заболевания.

Значительное подавление экспрессии EGF по сравнению с контрольной группой выявлено при интраоперационной почечной биопсии у детей с обструкцией пиелоретрального сегмента и рецидивирующей инфекцией мочевой системы [26].

В педиатрической практике особенно привлекательным является исследование биомаркеров мочи в силу своей неинвазивности. Определение EGF мочи у детей с обструкцией пиело-уретрального сегмента и рецидивирующей инфекцией мочевыводящих путей показало значительное снижение его концентрации по сравнению с контролем, что коррелировало со значительным снижением экспрессии гена EGF, который был напрямую связан со степенью тубулярных повреждений. Хирургическое лечение привело к улучшению почечных функций и заметному повышению концентрации EGF мочи [17]. Л.Б. Меновщикова, А.И. Гуревич, С.Г. Врублевский и соавторы, занимаясь изучением роли EGF также выявили резкое снижение его уровня в моче у детей с гидронефрозом, что составило $1,4 \pm 0,4$ нг/мл (норма 8-19 нг/мл) и коррелировало с морфологическими изменениями в почке: наличием признаков гипопластической дисплазии гломерул, канальцевых кист, групп незрелых тубулярных структур и очаговых воспалительных и склеротических изменений в паренхиме почки, лоханке и мочеточнике. Нормализация уровня EGF после проведенного оперативного лечения свидетельствовала о ликвидации обструкции и возможности использования данного маркера в оценке резервных возможностей паренхимы при гидронефрозе [1]. В работе же М.А. Таха, А.А. Shokei и др. [19], напротив, не рекомендуют использовать определение EGF мочи для рутинной диагностики гидронефроза на фоне одностороннего стеноза пиело-уретрального сегмента мочеточника, т.к. в данном исследовании отсутствовала существенная разница исследуемого показателя до операции у больных и в контрольной группе, и без значительной разницы в уровне EGF в образцах

мочи, исследуемых на 1, 2, 3, 6, 9 и 12 месяцах после операции.

Изучение регуляции болезни почек по лигандам рецепторов EGF значительно расширилось в последние годы. В эксперименте и в естественных условиях были представлены прямые доказательства роли сигнализации EGF - EGFR в почках. Последние исследования внесли весомый вклад в достижение понимания роли семейства EGF в развитии гипертонии путем влияния на регуляцию реабсорбции натрия в собирательных трубочках [14].

В работе N.N. Zheleznova, P.D. Wilson, A. Staruchenko также обсуждается роль семейства EGF в возможной регуляции ионного транспорта натрия в нормальных и поликистозных почках грызунов [27].

При фокально-сегментарном некротизирующем гломерулонефрите процент полумесечцев при биопсии почек имел отрицательную корреляционную связь ($p=0,001$) с уровнем EGF экскретируемого с мочой, что авторы связывают с неблагоприятным прогнозом. Напротив, увеличение экскреции с мочой EGF предопределяло благополучный исход заболевания [11].

При остром повреждении почек ишемического генеза [21] в исследуемых образцах мочи, взятых на 1, 3, 7 дни заболевания и через 3 месяца, выявлено увеличение уровня EGF в моче у пациентов с функциональным восстановлением и наоборот, что позволило авторам рассматривать снижение уровня мочевого EGF при остром повреждении почек в качестве предиктора смертности пациентов в течение 3 месяцев. Более ранние исследования на животных моделях острого повреждения почек показали, что активация EGFR способствует пролиферации клеток почечных канальцев. Активация EGFR и его экзогенных лигандов, таких как EGF, может повысить восстановление структуры и функции почек после острого повреждения.

Также выраженный дефицит EGF при исследовании реципиентов почечного аллотрансплантата в состоянии острого клеточного отторжения и с острым тубулярным повреждением на фоне хронического токсического эффекта циклоспорина А выявили S. Di Paolo, L. Gesualdo с соавторами [20], как при иммуногистохимическом исследовании, так и в экскреции с мочой, что свидетельствует о регуляторном влиянии EGF в механизме отторжения почечного аллотрансплантата.

Однако, недавние исследования [23, 24] показали, что активация EGFR также способствует развитию и прогрессированию заболеваний почек в животных моделях обструктивной уропатии, диабетической нефропатии, гипертонической нефропатии и гломерулонефрита с помощью механизмов, участвующих в активации почечных интерстициальных фибробластов, индукции тубулярной атрофии, перепроизводстве воспалительных факторов и повреждении сосудов. В совокупности эти результаты по-

казывают, что тяжелые острые повреждения почек приводят к устойчивой активации EGFR, которая необходима для репаративной реакции клеток почечных канальцев на начальном этапе, но в конечном итоге приводит к активному фиброгенезу.

Значительные различия ($p<0,001$) были обнаружены между концентрацией EGF сыворотки крови пациентов, страдающих хронической почечной недостаточностью с высоким сердечно-сосудистым риском, находящихся на гемодиализе, по сравнению с контрольной группой. Наиболее высокий показатель EGF был выявлен в группе больных с ХПН, развившейся на фоне сахарного диабета, по сравнению с пациентами, где причиной ХПН являлись пиелонефрит и гломерулонефрит [10].

ВЫВОДЫ

Таким образом, определение уровня EGF в биологических средах может служить в качестве полезного диагностического и прогностического параметра для пациентов на разных стадиях хронической болезни почек, как для оценки общей реакции организма при определении EGF в сыворотке крови, так и для оценки локального тубулоинтерстициального статуса при определении EGF в моче.

ЛИТЕРАТУРА

1. Врублевский С.Г. Особенности репаративных процессов в паренхиме и восстановления уродинамики после хирургической коррекции гидронефроза у детей / С.Г. Врублевский, А.И. Гуревич // Мат-лы I Российского съезда урологов-андрологов. - Москва, 2008. - С. 91.
2. Диагностика и лечебная тактика при солитарных кистозных поражениях почек у детей / Е.Н. Врублевская, С.Л. Коварский, С.Г. Врублевский и др. // Андрология и генитальная хирургия. - 2010. - №2. - С. 92-93.
3. Игнатова М.С. Проблемы нефрологии детского возраста на современном этапе развития / М.С. Игнатова // Нефрология и диализ. - 2011. - Т.13, № 32. - С.66-75.
4. Мультикистозная дисплазия почек (клиническая картина, диагностика, тактика лечения) / Е.Н. Врублевская, С.Л. Коварский, С.Г. Врублевский и др. // Вопросы практической педиатрии. - 2010. - Том 5, №3. - С. 52-55.
5. Патогенетические основы и современные возможности ранней диагностики нефросклероза у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом / Д.А. Морозов, В.В. Моррисон, О.Л. Морозова и др. // Саратовский научно-медицинский журнал. - 2011. - Т. 7, №1. - С. 151-157.
6. Утц И.А. Современные аспекты межклеточных взаимодействий и их роль в генезе тубулоинтерстициальных нефропатий / И.А. Утц, Н.Б. Захарова, М.Л. Костина // Саратовский научно-медицинский журнал. - 2007. - Т. 3, №3. - С. 44 - 49.

7. A novel inhibitor of tumor necrosis factor-converting enzyme ameliorates polycystic kidney disease / K.M. Dell, R. Nemo, W.E. Sweeney // *Kidney International*. – 2001. – Vol. 60. – P. 1240–1248.
8. Chertin B. Epidermal growth factor and monocyte chemotactic peptide-1 expression in reflux nephropathy / B. Chertin, A. Farkas, P. Puri // *European urology*. – 2003 - Vol. 44, ¹ 1. - Đ. 144-149.
9. Chertin B. Insulin-like growth factor-1 expression in reflux nephropathy / B. Chertin, A. Farkas, P. Puri // *Pediatric surgery international*. – 2004. - Vol. 20, ¹ 4. – Đ. 283-289.
10. Cytokines and growth factors in mostly atherosclerotic patients on hemodialysis determined by biochip array technology / J. Sertic, J. Slavicek, N. Bozina et al. // *Clin Chem Lab Med*. – 2007. - Vol. 45, № 10. – P. 1347-1352.
11. EGF-related growth factor in the pathogenesis of murine ARPKD / K.M. Dell, R. Nemo, W.E. Sweeney et al. // *Kidney International*. – 2004. - Vol. 65, № 6 – P. 2018–2029.
12. Epidermal growth factor in the kidney and relationship to hypertension / A. Starushenko, O. Palygin, D.V. Ilatovskaya et al. // *Am J Physiol Renal Physiol*. – 2013. - Vol. 305, № 1. – P. 12-20.
13. Expression of epidermal growth factor and its receptor in normal and diseased human kidney : An immunohistochemical and in situ hybridization study / L. Gesualdo, S. Dipaolo, A. Salabro, S. Milanis et al. // *Congress of the Nordic Societies of Nephrology* ¹ 10, Oslo, Norvege, 1996. - Vol. 49, ¹ 3. - Đ. 918-932 (50 ref.), Đ. 656-665.
14. Hammerman M.R. Growth factors in renal development / M.R. Hammerman // *Seminars in Nephrology*. - 1995. – Vol.15, ¹ 4. - Đ. 291-299.
15. MCP-1 and EGF renal expression and urine excretion in human congenital obstructive nephropathy / G. Grandaliano, L. Gesualdo, F. Bartoli et al. // *Kidney Int*. - 2000. - Vol. 58, №1. – P. 182-192.
16. Oka Y. Epidermal growth factor in the mouse kidney: developmental changes and intranephron localizations / Y. Oka, K. Fujiwara, H. Endou // *Pediatric Nephrology*. - 1988, Vol. 2, Issue 1, P 124-128.
17. Pelvi-ureteric junction obstruction in children: the role of urinary transforming growth factor -beta and epidermal growth factor / M.A. Taha, A.A. Shokei, H.G. Osman et al. // *BJU Int*. – 2007. – Vol. 99, № 4. – P. 899-903.
18. Renal expression and urinary concentration of EGF and IL-6 in acutely dysfunctioning kidney transplanted patients / S. Di Paolo, L. Gesualdo, G. Stallone et al. // *Nephrol Dial Transplant*. – 1997. - Vol. 12, № 12. – P. 2687-2693.
19. Savill J.S. Apoptosis and the Kidney / J.S. Savill // *J. Am. Soc Nephrol*. - 1994. – Vol.5. – P.12-21.
20. Simultaneous monitoring of multiple urinary cytokines may predict renal and patient outcome in ischemic AKI / O. Kwon, K. Ahn, B. Zhang et al. // *Ren Fail.* – 2010. - Vol. 32, № 6. – P. 699-708.
21. Sustained activation of EGFR triggers renal fibrogenesis after acute kidney injury / J. Tang, N. Liu, E. Tolbert et al. // *Am J Pathol*. – 2013. - Vol. 183, № 1. - P. 160-172.
22. Tang J. Role of epidermal growth factor receptor in acute and chronic kidney injury / J. Tang, N. Liu, S. Zhuang // *Kidney Int*. – 2013. - Vol. 83, № 5. – P. 804-810.
23. Urinary levels of epidermal growth factor , interleukin-6 and monocyte chemoattractant protein-1 may act as predictor markers of renal function outcome in immunoglobulin A nephropathy / M. Stangou, E. Alexopoulos, A. Papagianni et al. // *Nephrology*. - 2009. - Vol. 14, № 6. – P. 613-620.
24. Xanthogranulomatous pyelonephritis is associated with higher tissue expression of monocyte chemotactic protein-1 / F. Bartoli, L. Gesualdo, F. Niglio et al. // *Eur J Pediatr Surg*. - 2007. - Vol. 17, № 5. - P.365-369.
25. Zheleznova N.N. Epidermal growth factor - mediated proliferation and sodium transport in normal and PKD epithelial cells / N.N. Zheleznova, P.D. Wilson, A. Starushenko // *Biochim Biophys Acta*. – 2011. - Vol. 1812, № 10. – P. 1301-1313.