



Валуженич Я.И.¹ ✉, Юдина О.А.², Рудой А.С.¹

¹ Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

² Республиканский клинический медицинский центр Управления делами
Президента Республики Беларусь, Минск, Беларусь

Роль трансформирующего фактора роста β в морфогенезе расширения и расслоения грудной аорты

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Валуженич Я.И. – дизайн и проведение исследования, обзор литературы, оформление статьи; Юдина О.А. – дизайн и проведение исследования, редактирование статьи; Рудой А.С. – концепция исследования.

Работа проведена в рамках задания 01.02 «Разработать и внедрить методы диагностики, лечения и медицинской профилактики разрыва (расслоения) наследственных аневризм грудной аорты» подпрограммы «Кардиология и кардиохирургия» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 годы.

Подана: 29.08.2022

Принята: 11.10.2022

Контакты: valiuzhenichdoc@gmail.com

Резюме

Цель. Установить особенности экспрессии TGF- β в стенке восходящего отдела аорты при аортопатиях различной этиологии.

Материалы и методы. Оценены локализация и интенсивность окрашивания диаминобензидином к трансформирующему фактору роста β в меди аорты у 60 пациентов с аортопатиями в возрасте от 18 до 57 лет при иммуногистохимическом исследовании.

Результаты. Позитивное окрашивание диаминобензидином к TGF- β было выявлено во всех слоях стенки аорты образцов всех исследованных групп. Ремоделирование стенки аорты явилось ответом на атеросклеротические, гемодинамические, воспалительные и диспластические процессы. Распределение TGF- β характеризовалось неравномерностью с наибольшей интенсивностью в меди. Выявлены статистически значимые отличия следующих параметров экспрессии TGF- β : средняя интенсивность всех пикселей в исследуемых группах ($p=0,02$); отношение сильнопозитивных пикселей к общему количеству пикселей ($p=0,02$); средняя интенсивность, исключая сильноположительные пиксели ($p=0,0008$); количество негативных пикселей ($p=0,0008$); сумма значений интенсивности для всех негативных пикселей ($p=0,016$); общее количество позитивных и негативных пикселей ($p=0,001$).

Выводы. Роль TGF- β в морфогенезе расширения и расслоения грудной аорты характеризуется широкой вариабельностью. Впервые получены данные о локализации и характере экспрессии тканевого TGF- β при аортопатиях, обусловленных АГ. Оценка локализации и характера экспрессии тканевого TGF- β в стенке аорты может послужить дополнительным критерием в дифференциальной диагностике этиологических факторов при аортопатиях и выборе дальнейшей тактики лекарственной терапии.



Ключевые слова: трансформирующий ростовой фактор роста β , расширение и расслоение грудной аорты, ремоделирование сосудистой стенки, аортопатия, морфогенез

Yaroslav I. Valiuzhenich¹ ✉, Ol'ga A. Udina², Andrei S. Rudoy¹

¹ Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

² Republican Clinical Medical Center of the Administration of the President of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus

Role of Transforming Growth Factor β in Morphogenesis of Dilation and Dissection of the Thoracic Aorta

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Yaroslav I. Valiuzhenich – research design and conduct, literature review, article design; Ol'ga A. Udina – research design and conduct, article editing; Andrei S. Rudoy – research concept.

The work was performed within the framework of the task 01.02 "To develop and implement methods of diagnosis, treatment and medical prevention of rupture (dissection) of hereditary thoracic aortic aneurysms" under the subprogram "Cardiology and cardiosurgery" of the SSTP "Scientific and technological support of quality and accessibility of medical services", 2021–2025.

Submitted: 29.08.2022

Accepted: 11.10.2022

Contacts: valiuzhenichdoc@gmail.com

Abstract

Purpose. To establish the features of TGF β expression in the wall of the ascending aorta in various aortopathies.

Materials and methods. The localization and intensity of staining with diaminbenzidine to transforming growth factor β in the aortic media in 60 patients with aortopathies aged 18 to 57 years were evaluated by immunohistochemistry.

Results. Positive staining with diaminbenzidine to TGF- β was detected in all layers of the aortic wall of samples from all studied groups. Remodeling of the aortic wall was a response to atherosclerotic, hemodynamic, inflammatory and dysplastic processes. The distribution of TGF- β was characterized by unevenness with the greatest intensity in the media. Statistically significant differences in the following IHC parameters were revealed: the average intensity of all pixels in the studied groups ($p=0.02$); analysis of the ratio of strongly positive pixels to the total number of pixels ($p=0.02$); medium intensity, excluding strongly positive pixels ($p=0.0008$); the number of negative pixels ($p=0.0008$); sums of intensity values for all negative pixels ($p=0.016$); analysis of the total number of pixels, positive and negative ($p=0.001$).

Conclusions. The role of TGF- β in morphogenesis of dilatation and dissection of the thoracic aorta is characterized by wide variability. For the first time, data were obtained on localization and expression pattern of tissue TGF- β in aortopathies caused by hypertension. Assessing the localization and expression pattern of tissue TGF- β in the aortic wall might serve as an additional criterion in the differential diagnosis of etiological factors in aortopathies and in the choice of further drug therapy tactics.

Keywords: transforming growth factor- β , dilatation and dissection of the thoracic aorta, remodeling of the vascular wall, aortopathy, morphogenesis

■ ВВЕДЕНИЕ

В основе развития патологии аорты, по данным научной литературы, лежат мультисистемные, плеiotропные изменения, приводящие к широкой вариабельности морфологической картины. Выявлена значимая роль трансформирующего фактора роста бета (TGF- β) при изучении патогенеза патологии аорты, роль которого особенно значима при наследственных нарушениях соединительной ткани [1]. TGF- β является представителем семейства димерных полипептидов, которые активно синтезируются многими типами клеток и широко распространены в тканях [2]. В настоящий момент известны три изоформы TGF- β (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3), играющие важную роль в регуляции роста и развития организма.

TGF- β может одновременно проявлять три основных типа биологической активности: ингибирует пролиферацию большинства клеток, но также может и стимулировать рост некоторых мезенхимальных клеток, оказывает иммуносупрессорный эффект, усиливает формирование межклеточного матрикса [3].

Известно, что TGF- β как медиатор фиброгенеза активируется в связи с повреждением сосудистой стенки. Активация TGF- β является результатом, отличным от причины повреждения сосудов [4]. Чрезмерная экспрессия TGF- β указывает на прогрессирование сочетанных заболеваний [5]. Плазменный TGF- β в последние годы привлек к себе внимание в качестве надежного биомаркера для оценки эффективности терапии ремоделирования аорты у пациентов с синдромом Марфана [6].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установить особенности экспрессии TGF- β в стенке восходящего отдела аорты при аортопатиях различной этиологии.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн работы был представлен когортным одномоментным исследованием по типу «случай – контроль». Материалом для исследования послужили фрагменты аневризмы грудной аорты, полученные во время ее протезирования в РНПЦ «Кардиология». Исследованы фрагменты аорты на границе расслоения и неизменной части, а также проксимальных и дистальных отделах резекции (не менее 6 фрагментов). Материал фиксирован 10%-ным нейтральным формалином, гистологическая проводка проведена по общепринятой методике. Исследование включало световую микроскопию образцов, окрашенных гематоксилином и эозином и пентахромом по Мовату, а также ИГХ-исследование с антителами к TGF- β 1, морфометрическую оценку и статистическую обработку полученных данных. Материал распределен на 4 исследуемые группы (ИГ) в соответствии с морфологической картиной и клиническим диагнозом:

- ИГ1 – генетические аортопатии: синдромные и несиндромные аортопатии, аортопатия, ассоциированная с двустворчатым аортальным клапаном (ДАК);

- ИГ2 – аортопатии, связанные с хронической ревматической болезнью сердца;
- ИГ3 – аортопатии, обусловленные артериальной гипертензией;
- ИГ4 – воспалительные аортопатии (IgG₄-ассоциированные, сифилитический мезоаортит, ассоциированные с инфекционным эндокардитом).

Для оптимизации гистологического заключения была применена стандартизированная номенклатура (в частности – гистопатологические дескрипторы) в соответствии с консенсусной документацией, относящейся к унифицированной номенклатуре для различных невоспалительных дегенеративных поражений аорты.

Выполнено сканирование препаратов, окрашенных моноклональными антителами к TGF-β, с использованием цифрового слайд-сканера MoticEasyScan для морфометрического анализа. Позитивное окрашивание диамибензидином к TGF-β было выявлено во всех слоях стенки аорты образцов всех исследованных групп. Ремоделирование стенки аорты явилось ответом на атеросклеротические, гемодинамические, воспалительные и диспластические процессы. Распределение TGF-β характеризовалось неравномерностью с наибольшей интенсивностью в меди аорты.

Микрофотографии (5–10 репрезентативных полей зрения) гистологических срезов импортировались в среду компьютерной программы AperioImageScope v12.4.3.5008 для количественной оценки результатов ИГХ-исследования. Оценен ряд показателей в максимально возможном количестве полей зрения по стандартному алгоритму подсчета позитивных пикселей PositivePixelCount v9. Рассчитаны следующие параметры для каждого цветового маркера: Nwp – количество слабопозитивных пикселей (желтый цвет на изображении разметки); Np – количество позитивных пикселей (оранжевый цвет на изображении с разметкой); Nsp – количество сильнопозитивных пикселей (красный цвет на изображении разметки); lwp – сумма значений интенсивности для всех слабопозитивных пикселей; lp – сумма значений интенсивности для всех позитивных пикселей; lsp – сумма значений интенсивности для всех сильнопозитивных пикселей; lavg – средняя интенсивность всех пикселей: $lavg = (lwp + lp + lsp) / (Nwp + Np + Nsp)$; Nsr – отношение сильнопозитивных пикселей к общему количеству пикселей $Nsr = Nsp / (Nwp + Np + Nsp)$; lwavg – средняя интенсивность, исключая сильноположительные пиксели: $lwavg = (lwp + lp) / (Nwp + Np)$; Nn – количество негативных пикселей (синий цвет на изображении с разметкой); ln – сумма значений интенсивности для всех негативных пикселей; NTotal – общее количество пикселей, позитивных и негативных ($Nwp + Np + Nsp + Nn$); позитивность – общее количество позитивных пикселей, деленное на общее количество пикселей: $(Nwp + Np + Nsp) / (Nwp + Np + Nsp + Nn)$.

Статистическая обработка полученных данных выполнена при помощи стандартного пакета программ Correspondence Analysis ППП Statistica 11.0. Полученные результаты обработаны с вычислением медианы (Me), 25-го и 75-го перцентилей, средней арифметической (M), ошибки средней арифметической (m). Для оценки характера распределения полученных данных использован критерий Колмогорова – Смирнова. Для сравнительной характеристики признаков использованы сравнение двух независимых выборок с помощью U-критерия Манна – Уитни, а также сравнение трех и более независимых выборок при помощи H-критерия Краскела – Уоллиса. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Позитивное окрашивание диаминбензидином к TGF- β было выявлено во всех слоях стенки аорты образцов всех исследованных групп. Ремоделирование стенки аорты явилось ответом на атеросклеротические, гемодинамические, воспалительные и диспластические процессы. Распределение TGF- β характеризовалось неравномерностью с наибольшей интенсивностью в медиі стенки аорты (рис. 1).

Межгрупповой дисперсионный анализ выявил статистически значимые отличия следующих параметров экспрессии TGF- β : средняя интенсивность всех пикселей в исследуемых группах ($p=0,02$) (рис. 2); отношение сильнопозитивных пикселей к общему количеству пикселей ($p=0,02$) (рис. 3); средняя интенсивность, исключая сильноположительные пиксели ($p=0,0008$) (рис. 4); количество негативных пикселей ($p=0,0008$) (рис. 5); сумма значений интенсивности для всех негативных пикселей ($p=0,016$) (рис. 6); общее количество позитивных и негативных пикселей ($p=0,001$) (рис. 7).

Число позитивных пикселей в ОГЗ значимо различалось со всеми группами и было максимальным среди них ($p<0,05$) (табл. 2).

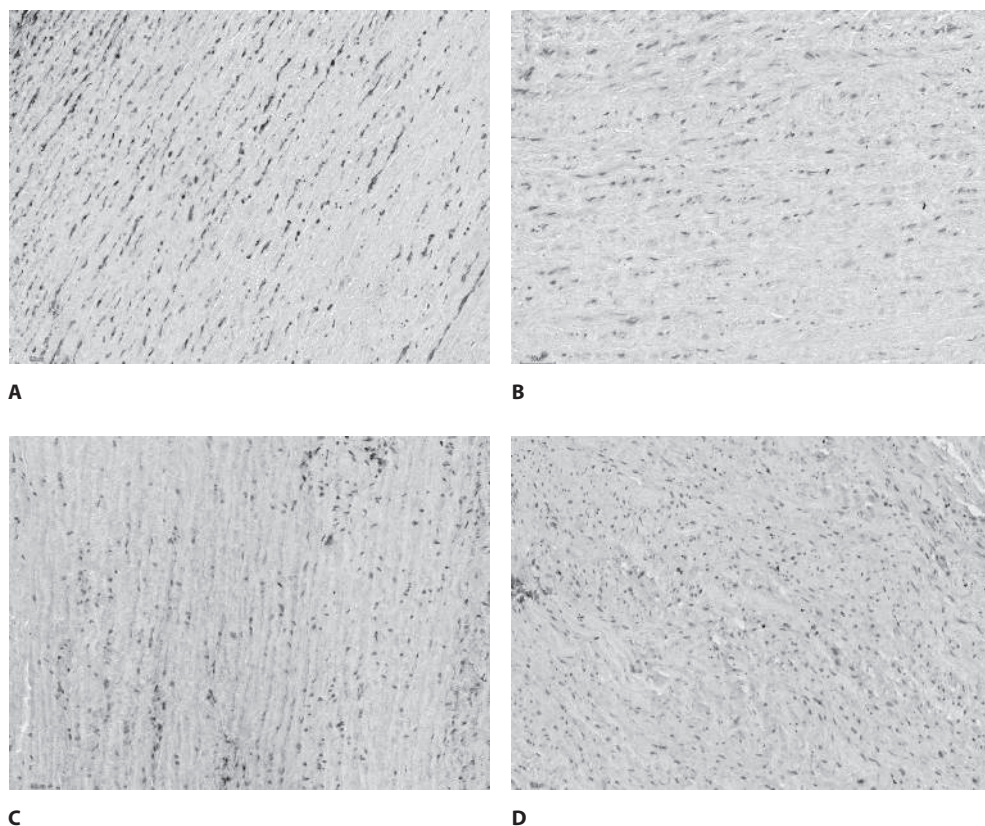


Рис. 1. Экспрессия TGF- β 1 в медиі в группах: А – ИГ1; В – ИГ2; С – ИГ3; D – ИГ4

Fig. 1. Expression of TGF- β 1 in media in groups: A – OG 1; B – OG 2; C – OG 3; D – OG 4

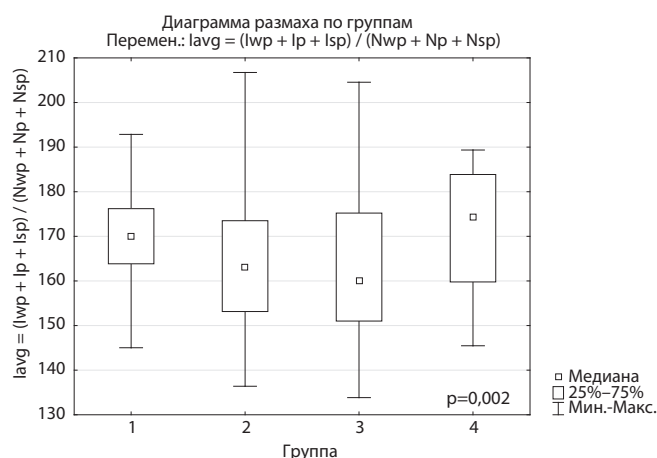


Рис. 2. Одномерный (межгрупповой) дисперсионный анализ средней интенсивности всех пикселей в исследуемых группах (критерий Краскела – Уоллиса)
Fig. 2. One-dimensional (intergroup) analysis of variance of the average intensity of all pixels in the studied groups (Kruskal – Wallis Test)

Средняя интенсивность всех пикселей была наибольшей в ИГ4 – 174,34 [159,79; 183,87] и ИГ1 – 170,035 [163,86; 176,22], а наименьшая в ИГ3 – 160,09 [151,01; 175,22] ($p=0,02$). Установлены значимые различия по средней интенсивности всех пикселей в ИГ1 и ИГ2 ($U=4846$, $p<0,05$), ИГ1 и ИГ3 ($U=1346$, $p<0,05$) (табл. 7). При оценке средней интенсивности, исключая сильноположительные пиксели, выявлено, что наибольшие показатели экспрессии определены в ИГ1 – 184 [173,5; 192,54], в ИГ3 показатель был минимальным – 183 [172,19; 193,43] ($p=0,0008$). Отмечены статистически

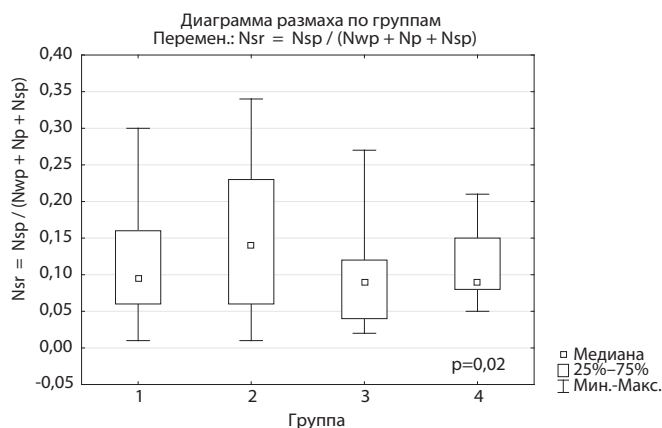


Рис. 3. Одномерный (межгрупповой) дисперсионный анализ отношения сильноположительных пикселей к общему количеству пикселей в исследуемых группах (критерий Краскела – Уоллиса)
Fig. 3. One-dimensional (intergroup) analysis of variance of the ratio of strongly positive pixels to total number of pixels in the studied groups (Kruskal – Wallis Test)

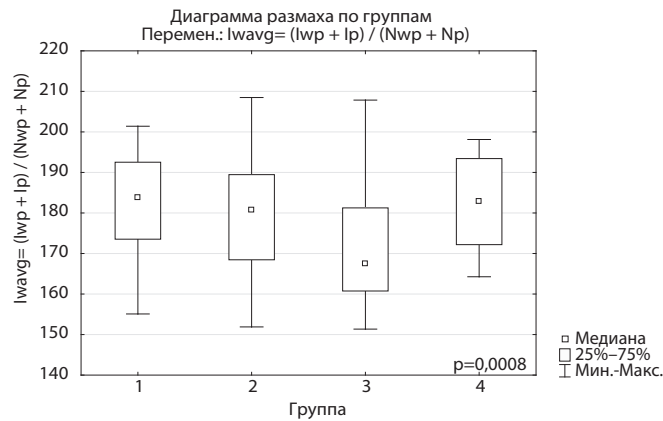


Рис. 4. Одномерный (межгрупповой) дисперсионный анализ средней интенсивности, исключая сильноположительные пиксели в исследуемых группах (критерий Краскела – Уоллиса)
Fig. 4. One-dimensional (intergroup) analysis of variance of average intensity, excluding strongly positive pixels in the studied groups (Kruskal – Wallis Test)

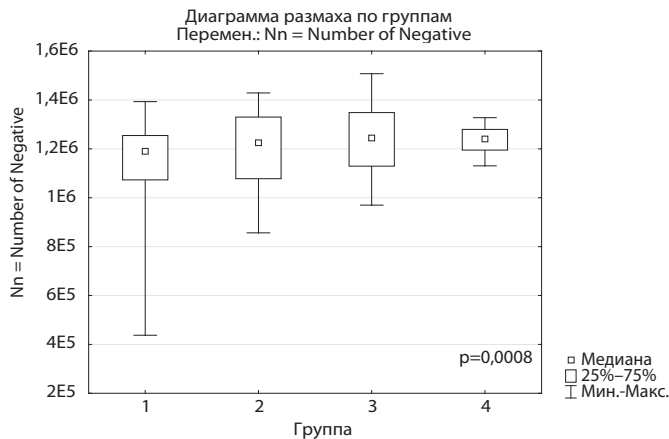


Рис. 5. Одномерный (межгрупповой) дисперсионный анализ количества негативных пикселей в исследуемых группах (критерий Краскела – Уоллиса)
Fig. 5. One-dimensional (intergroup) analysis of variance of negative pixels number in the studied groups (Kruskal – Wallis Test)

Таблица 1
Дисперсионный анализ $Nwp = \text{Number of Weak Positive}$ (Манна – Уитни)
Table 1
Analysis of Variance $Nwp = \text{Number of Weak Positive}$ (Mann – Whitney)

	ИГ1	ИГ2	ИГ3	ИГ4
Me (25–75%)	3502,5 [1655 – 14 829]	2820 [1039 – 11 269]	6785 [1761 – 14 270]	3772 [3009–5702]
ИГ1		$p=0,06$	$p=0,23$	$p=0,60$
ИГ2			$p=0,03$	$p=0,19$
ИГ3				$p=0,18$

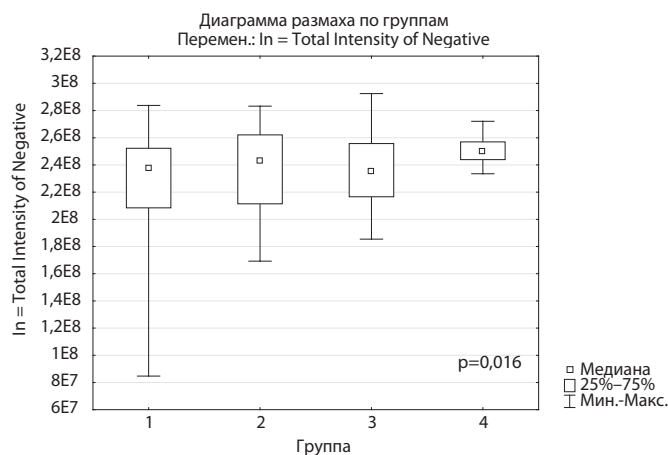


Рис. 6. Одномерный (межгрупповой) дисперсионный анализ суммы значений интенсивности для всех негативных пикселей в исследуемых группах (критерий Краскела – Уоллиса)
Fig. 6. One-dimensional (intergroup) analysis of variance of total intensity for all negative pixels in the studied groups (Kruskal – Wallis Test)

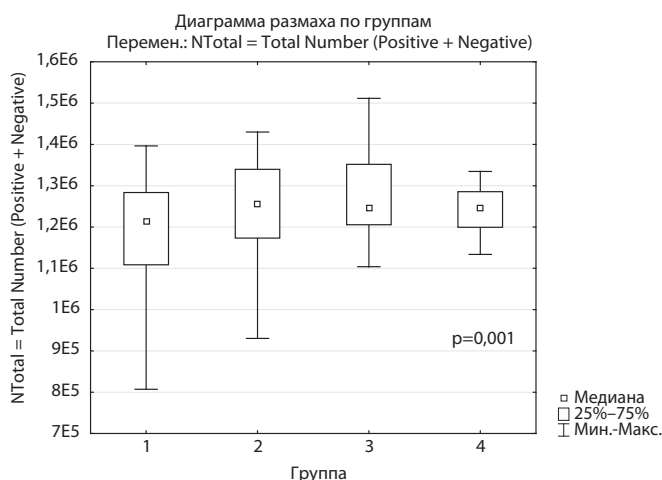


Рис. 7. Одномерный (межгрупповой) дисперсионный анализ общего количества пикселей, позитивных и негативных, в исследуемых группах (критерий Краскела – Уоллиса)
Fig. 7. One-dimensional (intergroup) analysis of variance of total number of pixels, both positive and negative, in the studied groups (Kruskal – Wallis test)

Таблица 2
Дисперсионный анализ Np = Number of Positive (Манна – Уитни)
Table 2
Analysis of Variance Np = Number of Positive (Mann – Whitney)

	ИГ1	ИГ2	ИГ3	ИГ4
Me (25–75%)	1187 [358 – 14 945]	1396 [314–6861]	5889 [1329 – 19 923]	1739 [652–4729]
ИГ1		p=0,60	p=0,03	p=0,86
ИГ2			p=0,007	p=0,66
ИГ3				p=0,04

Таблица 3
Дисперсионный анализ Nsp = Number of Strong Positive (медиа, адвентиции) (Манна – Уитни)
Table 3
Analysis of variance Nsp = Number of Strong Positive (media, adventitia) (Mann – Whitney)

	ИГ1	ИГ2	ИГ3	ИГ4
Me (25–75%)	474 [386–1297]	464 [382–1040]	648 [392–2469]	618 [419–1455]
ИГ1		p=0,72	p=0,48	p=0,54
ИГ2			p=0,27	p=0,38
ИГ3				p=0,89

Таблица 4
Дисперсионный анализ Iwp = Total Intensity of Weak Positive (Манна – Уитни)
Table 4
Analysis of Variance Iwp = Total Intensity of Weak Positive (Mann – Whitney)

	ИГ1	ИГ2	ИГ3	ИГ4
Me (25–75%)	685 234 [331 508 – 2 796 243]	552 230 [208 227 – 2 167 825]	1 305 576 [347 733 – 2 739 096]	747 055 [604 720 – 1 151 977]
ИГ1		p=0,06	p=0,24	p=0,61
ИГ2			p=0,04	p=0,19
ИГ3				p=0,18

Таблица 5
Дисперсионный анализ Ip = Total Intensity of Positive (Манна – Уитни)
Table 5
Analysis of variance Ip = Total Intensity of Positive (Mann – Whitney)

	ИГ1	ИГ2	ИГ3	ИГ4
Me (25–75%)	180 866 [53 987 – 2 140 894]	223 550 [44 887 – 1 084 176]	909 561 [215 215 – 3 019 759]	270 762 [101 194 – 705 410]
ИГ1		p=0,57	p=0,03	p=0,86
ИГ2			p=0,007	p=0,66
ИГ3				p=0,04

Таблица 6
Дисперсионный анализ Isp = Total Intensity of Strong Positive (Манна – Уитни)
Table 6
Analysis of Variance Isp = Total Intensity of Strong Positive (Mann – Whitney)

	ИГ1	ИГ2	ИГ3	ИГ4
Me (25–75%)	37 836 [31 684 – 102 282]	37 983 [31 614 – 79 770]	51 749 [32 875 – 185 935]	46 619 [33 349 – 111 549]
ИГ1		p=0,84	p=0,25	p=0,66
ИГ2			p=0,16	p=0,52
ИГ3				p=0,67

Таблица 7
Дисперсионный анализ Iavg = (Iwp + Ip + Isp) / (Nwp + Np + Nsp) (Манна – Уитни)
Table 7
Analysis of variance Iavg = (Iwp + Ip + Isp) / (Nwp + Np + Nsp) (Mann – Whitney)

	ИГ1	ИГ2	ИГ3	ИГ4
Me (25–75%)	170,035 [163,86–176,22]	163,03 [153,15–173,51]	160,09 [151,01–175,22]	174,34 [159,79–183,87]
ИГ1		p=0,0001	p=0,006	p=0,61
ИГ2			p=0,66	p=0,07
ИГ3				p=0,15

Таблица 8

Дисперсионный анализ $I_{wavg} = (I_{wp} + I_p) / (N_{wp} + N_p)$ (Манна – Уитни)

Table 8

ANOVA $I_{wavg} = (I_{wp} + I_p) / (N_{wp} + N_p)$ (Mann – Whitney)

	ИГ1	ИГ2	ИГ3	ИГ4
Me (25–75%)	184 [173,54–192,54]	180,69 [168,45–189,47]	167,55 [160,76–181,26]	183 [172,19–193,43]
ИГ1		p=0,03	p=0,0002	p=0,91
ИГ2			p=0,005	p=0,27
ИГ3				p=0,01

Таблица 9

Дисперсионный анализ $N_n = \text{Number of Negative}$ (Манна – Уитни)

Table 9

Analysis of variance $N_n = \text{Number of Negative}$ (Mann – Whitney)

	ИГ1	ИГ2	ИГ3	ИГ4
Me (25–75%)	1 189 402 [1 073 031 – 1 254 635]	1 225 063 [1 078 014 – 1 330 006]	1 242 840 [1 129 186 – 1 348 298]	1 241 029 [1 194 850 – 1 279 560]
ИГ1		p=0,001	p=0,003	p=0,03
ИГ2			p=0,34	p=0,97
ИГ3				p=0,10

Таблица 10

Дисперсионный анализ $I_n = \text{Total Intensity of Negative}$ (Манна – Уитни)

Table 10

Analysis of Variance $I_n = \text{Total Intensity of Negative}$ (Mann – Whitney)

	ИГ1	ИГ2	ИГ3	ИГ4
Me (25–75%)	237 702 361 [208 437 033 – 252 268 227]	242 714 473 [211 408 252 – 262 108 376]	234 848 764 [216 567 858 – 255 705 613]	249 649 213 [243 939 621 – 256 936 325]
ИГ1		p=0,04	p=0,22	p=0,01
ИГ2			p=0,98	p=0,16
ИГ3				p=0,10

Таблица 11

Дисперсионный анализ $N_{Total} = \text{Total Number (Positive + Negative)}$ (Манна – Уитни)

Table 11

Analysis of Variance $N_{Total} = \text{Total Number (Positive + Negative)}$ (Mann – Whitney)

	ИГ1	ИГ2	ИГ3	ИГ4
Me (25–75%)	1 215 161 [1 108 464 – 1 283 585]	1 257 495 [1 173 197 – 1 339 655]	1 245 480 [1 205 606 – 1 351 837]	1 247 582 [1 199 353 – 1 285 515]
ИГ1		p=0,002	p=0,001	p=0,11
ИГ2			p=0,30	p=0,73
ИГ3				p=0,58

Таблица 12

Дисперсионный анализ $A_{Total} = \text{Total Area (millimeter-squared)}$ (Манна – Уитни)

Table 12

Analysis of Variance $A_{Total} = \text{Total Area (millimeter-squared)}$ (Mann – Whitney)

	ИГ1	ИГ2	ИГ3	ИГ4
Me (25–75%)	–1 215 161 [–1 283 585 – –1 108 464]	–1 257 495 [–1 339 655 – –1 173 197]	–1 245 480 [–1 351 837 – –1 205 606]	–1 247 582 [–1 199 353 – –1 285 515]
ИГ1		p=0,002	p=0,001	p=0,11
ИГ2			p=0,30	p=0,73
ИГ3				p=0,58

значимые различия в ИГ1 и ИГ2 ($U=5706$, $p<0,05$); ИГ1 и ИГ3 ($U=1346$, $p<0,05$); ИГ2 и ИГ3 ($U=1258$, $p<0,05$) (табл. 8). Минимальное значение негативных пикселей было выявлено в ИГ1 – 1 189 402 [1 073 031; 1 254 635], максимальное число негативных пикселей – в ИГ3 и ИГ4 – 1 242 840 [1 129 186; 1 348 298] и 1 241 029 [1 194 850; 1 279 560] ($p=0,0008$). Медианы числа негативных пикселей имели различия в следующих группах: ИГ1 и ИГ2 ($U=5194$, $p<0,05$), ИГ1 и ИГ3 ($U=1531$, $p<0,05$), ИГ1 и ИГ4 ($U=653$, $p<0,05$) (табл. 9). Сумма значений интенсивности для всех негативных пикселей была наибольшей в ИГ4 – 249 649 213 [243 939 621; 256 936 325], а минимальной в ИГ1 – 237 702 361 [208 437 033; 252 268 227] ($p=0,016$). Значимые различия установлены между ИГ1 и ИГ2 ($U=5772$, $p<0,05$); ИГ1 и ИГ4 ($U=582$, $p<0,05$) (табл. 10).

■ ОБСУЖДЕНИЕ

В литературе не представлены данные о локализации и особенностях экспрессии TGF- β , а также о корреляции тканевого и сывороточного TGF- β при различных вариантах аортопатий.

Следует отметить, что, по данным некоторых авторов, TGF- β принимает участие в формировании патологических изменений стенки аорты и при атеросклеротическом генезе ее расширения и расслоения. Однако в литературе существуют некоторые разногласия относительно точной функции TGF- β при атеросклерозе [7, 8]. Отдельные авторы считают, что TGF- β , вероятнее всего, модулирует фиброзный и воспалительный компоненты поражения при атеросклерозе аорты, поясняя это тем, что TGF- β продуцируется как сосудистыми клетками, так и клетками воспаления. TGF- β также может участвовать и в развитии атеросклероза посредством передачи сигналов. Ряд исследований показал, что TGF- β способствует стабильному течению атеросклероза аорты, что нашло подтверждение в нашем исследовании. Низкие уровни тканевой экспрессии TGF- β в ИГ2 ассоциировались со стабильными атеросклеротическими бляшками в исследуемых образцах [9]. В экспериментальных работах показано, что повышенная экспрессия TGF- β макрофагами уменьшает развитие атеросклеротических поражений у мышей с дефицитом ApoE, стабилизирует существующие бляшки и может предотвращать разрыв нестабильной бляшки [10, 11]. Таким образом, экспрессия TGF- β выше при стабильных атеросклеротических процессах, чем при нестабильных [12].

Расширение и расслоение восходящего отдела аорты также может быть обусловлено повышением жесткости миокарда за счет фиброза. Фиброз миокарда является отличительной чертой патологического ремоделирования сердца при механическом или биохимическом стрессе, таком как гипертензия, перегрузка давлением, воспаление или инфаркт миокарда [13]. Генетические мышинные модели предоставили доказательства роли различных компонентов в сигнальном пути TGF- β повышения жесткости миокарда и развития сердечной недостаточности. Гипертрофия кардиомиоцитов и интерстициальный фиброз усиливаются в сердце мышей с повышенным уровнем циркулирующего TGF- β . Эти изменения являются результатом опосредованного снижения экспрессии интерстициальных коллагеназ [14]. TGF- β может оказывать как противовоспалительное, так и стимулирующее фиброз действие посредством ингибирующего эффекта T β RII на TGF- β [15].

Нами впервые получены данные о локализации и характере экспрессии тканевого TGF- β при АГ. Именно в образцах из группы пациентов с АГ было выявлено



наибольшее количество сильнопозитивных пикселей (648 [392; 2469]) и воспалительных аортопатий (618 [419; 1455]), что можно объяснить высокой активностью патологических процессов в сосудистой стенке. Гиперэкспрессия TGF- β при АГ может быть обусловлена такими факторами, как повышенный уровень ангиотензина II, повышенное системное АД, повышенное напряжение сдвига жидкости. Предыдущие исследования продемонстрировали, что циркулирующие уровни TGF- β в сыворотке положительно коррелируют со средним артериальным давлением у пациентов с хронической болезнью почек [16]. Экспрессия TGF- β при АГ носит дифференцированный характер и связана с полиморфизмом ДНК в промоторе: концентрация в плазме активного, а также кислотоактивируемого TGF- β находится под генетическим контролем (оценка наследуемости – 0,54) [17].

Полученные нами результаты о различиях суммы значений интенсивности для всех позитивных пикселей значимо различались в ИГ1 и ИГ3, ИГ2 и ИГ3 ($p=0,039$ и $p=0,007$ соответственно) и согласуются с данными литературы о стимуляции TGF- β экспрессии эндотелина-1 и ингибировании выработки оксида азота, приводящей к повышению проницаемости стенки сосудов [18, 19]. TGF- β потенцирует отложение белков внеклеточного матрикса в стенках сосудов, тем самым влияя на их жесткость и податливость [20]. Указанные изменения проявляются утолщением сосудистой стенки: так, в ИГ3 толщина была наибольшей среди ИГ и составляла 7886,233 мкм [1937,809; 5965,10]. Таким образом, TGF- β играет важную роль в регуляции АД и ремоделировании стенки аорты при АГ.

В группе пациентов ИГ1 (с ННСТ и двустворчатым аортальным клапаном) средняя интенсивность пикселей была значимо выше, чем в остальных группах, – 170,0 [163; 176], $p=0,001$. Указанные изменения отражают распространенность изменений в медиі при дисплазии соединительной ткани, которая реализуется через TGF- β -зависимые пути. Это предположение находит свое подтверждение и при оценке средней интенсивности, когда исключаются сильноположительные пиксели – 184 [173; 192], $p=0,05$. Полученные нами данные согласуются с предположением исследователей о том, что данные изменения стенки аорты обусловлены TGF- β -зависимым изменением фенотипа гладкомышечных клеток (ГМК) медиі с сократительного на секреторный [21]. Следует отметить, что исследователями установлено сходство между потерей передачи сигналов TGF- β в пораженных атеросклерозом коронарных артериях человека с усиленной передачей сигналов TGF- β и потерей сократительного фенотипа ГМК [22].

В нашем исследовании были выявлены изменения не только гладкомышечных клеток и эластических волокон в ИГ1, но и экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ), а также установлены различные паттерны их изменений. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что выраженное трансламмеллярное накопление ЭЦМ с гиперэкспрессией TGF- β характерно именно для пациентов с генетическими аортопатиями.

Также установлена роль TGF- β в индукции формирования аортопатий при вальвулопатиях аортального клапана [23]. Этот механизм также обусловлен накоплением ЭЦМ в створках аортального клапана, в котором узкоспециализированные структуры, такие как интерстициальные клетки, поддерживают гомеостаз ткани клапана, регулируя биосинтез ЭЦМ [24]. Поскольку TGF- β является мощным индуктором накопления и ремоделирования внеклеточного матрикса, существует

причинно-следственная связь между aberrантной активацией TGF- β , нарушением кровотока и изменениями функции клапана. Нарушение передачи сигналов TGF- β , активация интерстициальных клеток, пролиферация с фиброзом и утолщением створок рассматривается как наиболее вероятный механизм развития вальвулопатии и взаимосвязанных с ними аортопатий [25]. Хотя TGF- β может ингибировать пролиферацию, он может усиливать раннюю иммиграцию поврежденной ткани в мезенхимальные клетки за счет увеличения продукции матриксной металлопротеиназы-1 [26]. Эксперименты на животных на моделях Марфана показали, что активация TGF- β и одновременная активация матриксных металлопротеиназ, по-видимому, способствуют образованию аневризмы аорты, которая характеризуется выраженной медийной дегенерацией с уменьшением количества гладкомышечных клеток и накоплением внеклеточного матрикса [27, 28].

Развитие аневризмы аорты также может быть связано со значительно усиленной функцией передачи сигналов TGF- β /Smad в результате ремоделирования аорты, включающего как повреждение, так и восстановление vasa vasorum. Возможная роль TGF- β зачастую игнорируется исследователями при изучении сердечно-сосудистых заболеваний, поскольку его эффекты сильно зависят от окружающих тканей, а сигнальные каскады сложные и недостаточно определенные. Тем не менее, все большее число сердечно-сосудистых заболеваний связывают с мутациями или неправильно экспрессируемыми сигнальными компонентами TGF- β [29]. Условная инактивация генов, экспрессирующих компоненты передачи сигналов TGF- β в эндотелиальных клетках, приводит к формированию сосудистых фенотипов [30]. Исследования клеточных культур выявили ключевые взаимодействия между TGF- β и другими регуляторами ангиогенеза. Эти результаты обеспечивают механистическую основу для многофункционального поведения TGF- β . Кроме того, было обнаружено, что TGF- β играет важную роль в дифференцировке (сосудистых) стволовых клеток [31]. В результате TGF- β занял центральное место в исследованиях сосудов наряду с другими регуляторами ангиогенеза.

Участие TGF- β в патогенезе аневризмы аорты позволяет рассматривать антагонист ангиотензинпревращающих ферментов как потенциальный лекарственный препарат в терапии этого заболевания.

Установленные TGF- β пути морфогенеза будут способствовать решению вопросов диагностики и консервативной терапии аортопатий.

■ ВЫВОДЫ

1. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что роль TGF- β в морфогенезе расширения и расслоения грудной аорты характеризуется широкой вариабельностью.
2. Пациенты ИГ1 продемонстрировали выраженную расторможенность активности TGF- β -сигнальных каскадов, приведшей к развитию «ранней» аневризмы аорты.
3. Впервые получены данные о локализации и характере экспрессии тканевого TGF- β при аортопатиях, обусловленных АГ.
4. Низкие уровни экспрессии TGF- β в ИГ2 ассоциированы со стабилизацией атеросклеротического процесса.

5. Оценка локализации и характера экспрессии тканевого TGF- β в стенке аорты может послужить дополнительным критерием в дифференциальной диагностике этиологических факторов при аортопатиях и выборе дальнейшей тактики лекарственной терапии.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Timofeev E., Malev E., Zemtsovsky E. The activity of transforming growth factor- β in young age with marfanoid habitus. *Pediatrician (St. Petersburg)*. 2019;10(1):49–56. doi: 10.17816/ped10149-56
2. Harradine K.A., Akhurst R.J. Mutations of TGF β signaling molecules in human disease. *Annals of Medicine*. 2006;38(6):403–414. doi: 10.1080/07853890600919911
3. Hinck A.P., Mueller T.D., Springer T.A. Structural Biology and Evolution of the TGF- β Family. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2016;8(12):a022103. doi: 10.1101/cshperspect.a022103
4. Franken R., Radonic T., den Hartog A.W., Groenink M. COMPARE study group The revised role of TGF- β in aortic aneurysms in Marfan syndrome. *Neth Heart J*. 2015;23(2):116–121. doi: 10.1007/s12471-014-0622-0
5. Matt P., Schoenhoff F., Habashi J. GenTAC Consortium Circulating transforming growth factor-beta in Marfan syndrome. *Circulation*. 2009;120(6):526–532. doi: 10.1161/circulationaha.108.841981
6. Benke K., Ágg B., Szilveszter B. The role of transforming growth factor-beta in Marfan syndrome. *Cardiol J*. 2013;20(3):227–234. doi: 10.5603/CJ.2013.0066
7. Grainger D.J. Transforming growth factor- β and atherosclerosis: So far, so good for the protective cytokine hypothesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24:399–404. doi: 10.1161/01.atv.0000114567.76772.33
8. Toma I., McCaffrey T.A. Transforming growth factor- β and atherosclerosis: Interwoven atherogenic and atheroprotective aspects. *Cell Tissue Res*. 2012;347:155–175. doi: 10.1007/s00441-011-1189-3
9. Frutkin A.D., Otsuka G., Stempien-Otero A. TGF- β 1 limits plaque growth, stabilizes plaque structure, and prevents aortic dilation in apolipoprotein E-null mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29:1251–1257. doi: 10.1161/atvbaha.109.186593
10. Hobson K.G., Cho K., Adamson L.K. Burn-induced thymic apoptosis corresponds with altered TGF- β 1 and Smad 2/3. *J Surg Res*. 2002;105(1):4–9. doi: 10.1006/jsre.2002.6430
11. Reifenberg K. Overexpression of TGF- β 1 in macrophages reduces and stabilizes atherosclerotic plaques in ApoE-deficient mice. *PLoS One*. 2012;7(7):e40990. doi: 10.1371/journal.pone.0040990
12. Herder C., Peeters W., Zierer A. TGF- β 1 content in atherosclerotic plaques, TGF- β 1 serum concentrations and incident coronary events. *Eur J Clin Invest*. 2012;42:329–337. doi: 10.1111/j.1365-2362.2011.02587.x
13. Wang S. The endothelial-specific microRNA miR-126 governs vascular integrity and angiogenesis. *Developmental cell*. 2008;15(2):261–271. doi: 10.1016/j.devcel.2008.07.002
14. Rosenkranz S. Alterations of β -adrenergic signaling and cardiac hypertrophy in transgenic mice overexpressing TGF- β 1. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2002;283(3):1253–1262. doi: 10.1152/ajpheart.00578.2001
15. Xu J., Oakley J., McGee E.A. Stage-specific expression of Smad2 and Smad3 during folliculogenesis. *Biol Reprod*. 2002;66(6):1571–1578. doi: 10.1095/biolreprod66.6.1571
16. Li B., Khanna A., Sharma V. TGF- β 1 DNA polymorphisms, protein levels and blood pressure. *Hypertension*. 1999;33:271–275. doi: 10.1161/01.hyp.33.1.271
17. David J.G., Kirsten H., Mathias C. Specter, Genetic Control of the Circulating Concentration of Transforming Growth Factor Type β 1. *Human Molecular Genetics*. 1999;8(1):93–97. doi: 10.1093/hmg/8.1.93
18. Kurihara H., Yoshizumi M., Sugiyama T. Transforming growth factor- β stimulates the expression of endothelin mRNA by vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1989;159:1435–1440. doi: 10.1016/0006-291x(89)92270-5
19. Roberts A.B., Vodovotz Y., Roche N.S. Role of nitric oxide in antagonistic effects of transforming growth factor- β and interleukin-1 β on the beating rate of cultured cardiac myocytes. *Mol Endocrinol*. 1992;6:1921–1930. doi: 10.1210/mend.6.11.1282674
20. O'Callaghan C.J., Williams B. Mechanical strain-induced extracellular matrix production by human vascular smooth muscle cells; role of TGF- β 1. *Hypertension*. 2000;36:319–324. doi: 10.1161/01.HYP36.3.319
21. Gomez D., Owens G.K. Smooth muscle cell phenotypic switching in atherosclerosis. *Cardiovasc Res*. 2012;95:156–164. doi: 10.1093/cvr/cvs115
22. Chen P.Y., Qin L., Li G. Smooth muscle FGF/TGF- β cross talk regulates atherosclerosis progression. *EMBO Mol Med*. 2016;8:712–728. doi: 10.15252/emmm.201506181
23. Taylor P.M., Batten P., Brand N.J. The cardiac valve interstitial cell. *Int J Biochem Cell Biol*. 2003;35:113–118. doi: 10.1016/S1357-2725(02)00100-0
24. Hinton R.B., Yutzey K.E. Heart valve structure and function in development and disease. *Annu Rev Physiol*. 2011;73:29–46. doi: 10.1146/annurev-physiol-012110-142145
25. Hagler M.A., Hadley T.M., Zhang H. TGF- β signalling and reactive oxygen species drive fibrosis and matrix remodelling in myxomatous mitral valves. *Cardiovasc Res*. 2013;99:175–184. doi: 10.1093/cvr/cvt083
26. Gugjoo M.B., Amarpal, Abdelbaset-Ismael A. Mesenchymal stem cells with IGF-1 and TGF- β 1 in laminin gel for osteochondral defects in rabbits. *Biomed Pharmacother*. 2017;93:1165–1174. doi: 10.1016/j.biopha.2017.07.032
27. Xiong W., Meisinger T., Knispel R. MMP-2 regulates Erk1/2 phosphorylation and aortic dilatation in Marfan syndrome. *Circ Res*. 2012;110(12):e92–e101. doi: 10.1161/circresaha.112.268268
28. Wu D., Shen Y.H., Russell L. Molecular mechanisms of thoracic aortic dissection. *J Surg Res*. 2013;184(2):907–924. doi: 10.1016/j.jss.2013.06.007
29. Ten Dijke P., Arthur H.M. Extracellular control of TGF β signalling in vascular development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8(11):857–69. doi: 10.1038/nrm2262
30. Jakobsson L., van Meeteren L.A. Transforming growth factor β family members in regulation of vascular function: in the light of vascular conditional knockouts. *Exp Cell Res*. 2013;319(9):1264–70. doi: 10.1016/j.yexcr.2013.02.015
31. Watanabe N., Gavrieli M., Sedy J.R. BTLA is a lymphocyte inhibitory receptor with similarities to CTLA-4 and PD-1. *Nat Immunol*. 2003;4(7):670–9. doi: 10.1038/ni944