Показатели активности желатиназы В в покровном эпителии и собственной пластинке слизистой оболочки желудка при экспериментальной ацетатной язве у крыс

Рогова Л. Н., Шестернина Н. В., Поветкина В. Н., Старавойтов В. А., Фастова И. А., Замечник Т. В., Губанова Е. И., Дьячкова С. Ю., Попов Д. А.
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 400131, Россия, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1

Для цитирования: Рогова Л. Н., Шестернина Н. В., Поветкина В. Н., Старавойтов В. А., Фастова И. А., Замечник Т. В., Губанова Е. И., Дьячкова С. Ю., Попов Д. А. Показатели активности желатиназы В в покровном эпителии и собственной пластинке слизистой оболочки желудка при экспериментальной ацетатной язве у крыс. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2021;192(8): 150–153. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-192-8-150-153

✉ Для переписки:

**Шестернина
Наталья Владимировна,**
chemordakova.nat@mail.ru

Рогова Людмила Николаевна, д.м.н., профессор кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии
Шестернина Наталья Владимировна, к.м.н., доцент кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии
Поветкина Виктория Николаевна, к.м.н., доцент кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии
Старавойтов Владислав Алексеевич, к.м.н., доцент кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии
Фастова Ирина Алексеевна, к.м.н., доцент кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии
Замечник Татьяна Владимировна, к.м.н., доцент кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии
Губанова Екатерина Ивановна, д.м.н., профессор кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии
Дьячкова Светлана Юрьевна, к.м.н., доцент кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии
Попов Дмитрий Алексеевич, к.м.н., доцент кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии

Резюме

Цель: определить удельное число и интенсивность экспрессии желатиназа В-позитивных клеток в покровном эпителии слизистой оболочки желудка и собственной пластинке слизистой оболочки желудка (клеточный компонент) в области зоны язвенного дефекта у крыс с экспериментальной ацетатной язвой желудка.

Материалы и методы: в экспериментах на 18 белых крысах линии Вистар, поделенных на три группы: исходная (интактные), опытная (моделирование ацетатной язвы), контрольная (ложнооперированные) через 7 суток с момента моделирования получали ткани из зоны изъязвления или предполагаемой зоны изъязвления (исход, контроль). Далее оценивали морфологию и показатели, характеризующие активность желатиназы В.

Результаты: через 7 суток с момента моделирования язвенного дефекта в покровном эпителии слизистой оболочки желудка выявляется некоторое увеличение удельного числа желатиназа В-позитивных клеток на фоне умеренного накопления в нем лимфоцитов. В то время как в собственной пластинке слизистой оболочки (клеточный компонент) определяется значимое увеличение удельного числа желатиназа В-позитивных клеток при максимальной интенсивности их экспрессии и умеренное накопление клеток эффекторов альтерации тканей.

Заключение: через 7 суток с момента моделирования экспериментальной ацетатной язвы наиболее интенсивный воспалительно-деструктивный процесс происходит в собственной пластинке слизистой оболочки желудка, но не в покровном эпителии.

Ключевые слова: ацетатная язва, морфология, матричные металлопротеиназы (MMP), желатиназа В

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-192-8-150-153>

Parameters of the gelatinase B activity in the integument epithelium and the lamina propria of the gastric mucosa in experimental acetate ulcer in rats

L. N. Rogava, N. V. Shesternina, V. N. Povetkina, V. A. Staravoytov, I. A. Fastova, T. V. Zameshnik, E. I. Gubanova, S. Yu. Dyachkova, D. A. Popov
Federal State Government-Financed Educational Institution of Higher Education "Volgograd State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, 400131, Russian Federation

For citation: Rogava L. N., Shesternina N. V., Povetkina V. N., Staravoytov V. A., Fastova I. A., Zameshnik T. V., Gubanova E. I., Dyachkova S. Yu., Popov D. A. Parameters of the gelatinase B activity in the integument epithelium and the lamina propria of the gastric mucosa in experimental acetate ulcer in rats. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2021;192(8): 150–153. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-192-8-150-153

Lyudmila N. Rogova, MD, professor, Professor of the Department of pathophysiology, clinical pathophysiology;
ORCID: 0000-0003-1046-0329

Nataliya V. Shesternina, Cand. of Med. Sci., Associate Professor of the Department of pathophysiology, clinical pathophysiology; ORCID: 0000-0002-3261-3851

Victoria N. Povetkina, Cand. of Med. Sci., Associate Professor of the Department of pathophysiology, clinical pathophysiology;
ORCID: 0000-0002-0910-5584

Vladislav A. Staravoytov, Cand. of Med. Sci., Associate Professor of the Department of pathophysiology, clinical pathophysiology; ORCID: 0000-0002-2620-3872

Irina A. Fastova, Cand. of Med. Sci., Associate Professor of the Department of pathophysiology, clinical pathophysiology;
ORCID: 0000-0003-0094-5349

Tatyana V. Zameshnik, Cand. of Med. Sci., Associate Professor of the Department of pathophysiology, clinical pathophysiology; ORCID: 0000-0002-2031-4846

Ekaterina I. Gubanova, MD, professor, Professor of the Department of pathophysiology, clinical pathophysiology;
ORCID: 0000-0003-1140-2235

Svetlana Yu. Dyachkova, Cand. of Med. Sci., Associate Professor of the Department of pathophysiology, clinical pathophysiology; ORCID: 0000-0002-3264-3321

Dmitry A. Popov, Cand. of Med. Sci., Associate Professor of the Department of pathophysiology, clinical pathophysiology;
ORCID: 0000-0003-3610-0233

✉ *Corresponding author:*
Shesternina
Nataliya Vladimirovna
chemordakova.nat@mail.ru

Summary

Objective: to determine the specific number and expression intensity of gelatinase B-positive cells in the gastric surface epithelium and lamina propria (cell component) in the area of the ulcerous defect in rats with experimental acetate ulcer of the stomach.

Materials and methods: 18 white Wistar rats were divided into three groups: initial (intact), experimental (modeling of an acetate ulcer) and control (falsely operated) in the experiment. Tissues were obtained from the ulceration zone or the presumed ulceration zone (in the initial and control groups) to assess morphological changes and also indicators, characterizing the activity of gelatinase B 7 days after the simulation of the experiment.

Results and Discussion. It was revealed some increase in the specific number of gelatinase B-positive cells against the background of moderate accumulation of lymphocytes in the integument epithelium of the gastric mucosa. A significant increase in the specific number of gelatinase B-positive cells at the maximum intensity of its expression and a moderate accumulation of effector cells of tissue alterations was determined in the cellular component of the lamina propria of the gastric mucosa at the same time.

Keywords: acetate ulcer, morphology, matrix metalloproteinases (MMP), gelatinase B

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Известно, что под влиянием различных экзо- и эндогенных факторов нарушается баланс между факторами агрессии и протективными механизмами, приводящий к формированию язвенного дефекта желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Высокая кислотность, чрезмерная активация пепсиногенов,

свободных радикалов, дуоденогастральный рефлюкс относятся к хорошо известным агрессивным факторам [1].

Язвенный дефект желудка и двенадцатиперстной кишки представляет собой зону некроза и острого или хронического воспаления в зависи-

мости от характера причинного фактора. В зоне острофазного ответа происходит деструкция межклеточного матрикса металлопротеиназами (коллагеназами, желатиназами, стромелиназами), с последующим восстановлением разрушенных структур [2,3]. Турна А. А. (2010) показала, что в тканях зоны воспаления активируются металлопротеиназы –3, –7, –9, разрушающие межклеточные структуры и опосредованно через цитокины, активирующие ростовые факторы, которые стимулируют пролиферацию [4]. Аналогичные изменения происходят, вероятно, и в слизистой оболочке желудка при язвенной болезни, представляющей собой зону хронического воспаления, иницииро-

ванного *Helicobacter pylori*, а также при ацетатной, химически индуцируемой язве [5].

Известно, что стенка желудка включает несколько видов тканей, имеющих разное морфофункциональное назначение и в разной степени вовлеченных в механизмы реактивности при действии повреждающих агентов.

Цель: определить удельное число и интенсивность экспрессии желатиназы В-позитивных клеток в покровном эпителии слизистой оболочки желудка (ПЭ СОЖ) и собственной пластинке слизистой оболочки желудка (СП СОЖ) (клеточный компонент) в области зоны язвенного дефекта у крыс с экспериментальной ацетатной язвой (ЭАЯ) желудка.

Материал и методы исследования

Эксперименты выполнены на 18 белых крысах линии Вистар обоего пола массой $198 \pm 3,8$ г, находящихся на стандартной диете. У всех экспериментальных животных производили морфологическое и иммуногистохимическое исследование тканей зоны язвенного дефекта желудка. Животные были поделены на три группы по 6 крыс. Первую группу составляли интактные животные (исходное состояние). Во вторую группу (контрольная) входили животные, которым выполняли те же манипуляции, что и во третьей группе, но без нанесения повреждения стенки желудка. Крысам третьей группы моделировали ацетатную язву в препилорическом отделе желудка по методу Окабэ С. (2004) под рометаром и лидокаином (согласно инструкции) [6].

Животных выводили из эксперимента через 7 суток с момента моделирования и производили забор тканей желудка из препилорического отдела для морфологического и иммуногистохимического исследования с предварительной оценкой площади язвенного дефекта методом планиметрии.

Фиксацию материала, проводку, приготовление парафиновых срезов и окраску гематоксилин-эозином проводили по общепринятой методике. Морфологические изменения, количество клеток воспалительного инфильтрата оценивали

в препаратах по визуально-аналоговой шкале в пределах СП СОЖ (клеточный компонент) и подслизистой основы (ПО).

Активность металлопротеиназы оценивали по удельному числу и интенсивности экспрессии желатиназы В-позитивных клеток иммуногистохимическим методом по стандартной методике с использованием антител фирмы «Novocastra» (NCL-MMP9, для парафиновых блоков, рабочее разведение 1:40). В препаратах ПЭСОЖ и СП СОЖ (клеточный компонент) при 400-кратном увеличении оценивали удельное число (в %) положительно окрашенных клеток в 5-ти случайно выбранных полях зрения (≥ 500 клеток). Реакция окрашивания оценивалась как негативная – 0 баллов, слабая – 1 балл, средняя (умеренная) – 2 балла и выраженная – 3 балла.

Средние величины при нормальном распределении выражали как $M \pm m$, значимость различий оценивали по коэффициенту Стьюдента; при распределении отличным от нормального – как медиана (Me), 25 и 75 перцентиль, достоверность различий оценивали с применением критерия Уилкоксона при уровне значимости $Q < 0,05$. Результаты исследований обрабатывали методом вариационной статистики с использованием стандартного пакета анализа с помощью электронных таблиц Excel.

Результаты исследования и их обсуждение

Как видно из таблицы 1, у интактных животных удельное число и интенсивность экспрессии желатиназы В-позитивных клеток в ПЭ СОЖ была слабо выражена как по числу $10[10; 10]$, так и по интенсивности окраски антиген позитивных клеток $1,5[1; 2]$. В СП СОЖ (клеточный компонент) удельное число и интенсивность экспрессии антиген позитивных клеток составляли, соответственно, $15[2,5; 20]$ и $1,5[0,25; 2]$.

В контрольной группе отмечалась некоторая активация желатиназы В как в ПЭ СОЖ $42,5[17,5; 48,75]$, так и в СП СОЖ (клеточный компонент) $32,5[12,5; 48,75]$, $Q \geq 0,05$.

При сформированной ЭАЯ желудка в ПЭ СОЖ выявлялось значимое увеличение интенсивности экспрессии изучаемой металлопротеиназы с $1,5[1; 2]$ до $3[3; 3]$, $Q \leq 0,05$ на фоне наметившейся

тенденции к увеличению удельного числа желатиназы В-позитивных клеток, $Q \geq 0,05$. Наряду с этим в СПСОЖ (клеточный компонент) выявлялось увеличение числа желатиназы В-позитивных клеток с $32,5[12,5; 48,75]$ до $77,5[55; 100]$, ($Q < 0,05$) при одновременной максимально возросшей интенсивности экспрессии с $2,0[1,25; 2,0]$ до $3,0[3,0; 3,0]$, ($Q < 0,05$), (Таблица 1).

Анализ полученных результатов показывает, что в исходном состоянии большая активность желатиназы В выявляется в СПСОЖ (клеточный компонент), что отражает наличие большего удельного веса соединительной ткани в структуре СП СОЖ.

В контрольной серии при весьма умеренном травмирующем воздействии на серозную оболочку ЖКТ, увеличивается число клеток, экспрессирующих желатиназу В в СП СОЖ (клеточный

Показатели		Исходное состояние	Контроль	Ацетатная язва
Покровный эпителий СОЖ	удельное число	10[10;10]	42,5[17,5;48,75]	52,5[50;62,5]
	интенсивность экспрессии	1,5[1;2]	1,5[1;2]	3[3;3]*
СПСО (клеточный компонент СОЖ)	удельное число	15[2,5;20]	32,5[12,5;48,75]	77,5[55;100]*
	интенсивность экспрессии	1,5[0,25;2]	2[1,25;2]	3[3;3]*

Таблица 1

Удельное число и интенсивность экспрессии желатиназы В-позитивных клеток при экспериментальной ацетатной язве желудка через 7 суток с момента моделирования [25 и 75 перцентили]

Примечание:

* – достоверность различий между показателями в контрольной группе и при экспериментальной ацетатной язве желудка, $Q < 0,05$.

компонент), но еще более – в ПЭ СОЖ, где, очевидно, возрастает скорость стрессовой реструктуризации цилиндрического железистого эпителия.

При сформировавшейся ацетатной язве возрастает удельное число желатиназы В-позитивных клеток в ПЭ СОЖ, особенно в СП СОЖ (клеточный компонент).

Высокая активность экспрессии желатиназы В в различных отделах СОЖ отражает, очевидно, как напряжение деструктивно-воспалительных, так и активацию пролиферативных (регенерационных) процессов, протекающих в этих тканях при формировании язвы.

Для доказательства высказанного предположения провели морфологическое и цитологическое исследование.

Через 7 суток с момента моделирования формируется типичный язвенный дефект, обычно кратерообразной формы с грануляционным валом, отечностью, гиперемией, а также геморрагиями в слизистой оболочке площадью $30,95 \pm 6,7 \text{ мм}^2$.

При этом по морфологическим показателям оценка в баллах язвенного дефекта выглядит следующим образом: глубина язвенного дефекта 1[1;2], фибриноидный некроз 1[0;1], грануляционная

ткань 1[0,5;1] и сосудистый компонент ПО 2[1;2] (Ме [25 и 75 перцентили]).

В группе контроля через 7 суток с момента моделирования в СПСОЖ, по сравнению с исходным состоянием, степень инфильтрации нейтрофилами, макрофагами, лимфоцитами, плазматическими клетками и эозинофилами практически не изменялась.

Анализ полученных результатов показывает, что через 7 суток с момента моделирования ЭАЯ при визуальной и морфологической оценке формируется типичный язвенный дефект. Цитологическая картина инфильтрации тканей в собственной пластинке слизистой оболочки желудка, проявляющаяся увеличением количества макрофагов, нейтрофилов и лимфоцитов на фоне нарастания удельного числа и интенсивности экспрессии желатиназы В-позитивных клеток, свидетельствует о воспалительно-деструктивном процессе в этой области.

Таким образом, через 7 суток с момента моделирования экспериментальной ацетатной язвы наиболее интенсивный воспалительно-деструктивный процесс происходит в собственной пластинке слизистой оболочки желудка, но не в покровном эпителии.

Литература | References

- Khasigov P. Z., Podobed O. V., Ktsoeva S. A., et al. Matrix metalloproteinase of normal human tissues. *Biochemistry (Moscow)*. 2001. Vol. 66, no. 2, pp. 130–140. (in Russ.)
- L. N. Rogova, V. N. Povetkina, N. V. Grigoryeva, et al. Vliyanie stressa na formirovanie eksperimental'noj acetatnoj yazy u stressustojchivyh i stressneustojchivyh kryis [The effects of stress on experimental acetate ulcer formation in stress tolerant and stress non-resistant rats]. *Journal of VolgSMU*, 2014;4(52):112–115. (in Russ.)
Рогова Л. Н., Поветкина В. Н., Григорьева Н. В., и соавт. Влияние стресса на формирование экспериментальной ацетатной язвы у стрессустойчивых и стресснеустойчивых крыс // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2014. № 4 (52). С. 112–115.
- Rogova L. N., Shesternina N. V., Zabolotneva K. O., Staravojtov V. A. Aggressivnye faktory i mekhanizmy zashchity tkanej zheludочно-kishechnogo trakta, ih rol' v patologii. [Aggressive factors and mechanisms of protection of gastrointestinal tract tissues, their role in pathology]. *Volgograd, VolgGMU Publ.*, 2014. 136 p.
Рогова Л. Н., Шестернина Н. В., Заболотнева К. О., Старавойтов В. А. Агрессивные факторы и механизмы защиты тканей желудочно-кишечного тракта, их роль в патологии. – Волгоград, изд-во ВолГМУ, 2014–136с.
- Turna A. A. Aktivnost' matriksnyh metalloproteinaz pri razlichnyh patogeneticheskikh variantah vospaleniya. Diss. dokt. med. nauk [Activity of matrix metalloproteinases in various pathogenetic variants of inflammation Dr. med. sci. diss]. Moscow, 2010. 225 p.
Турна А. А. Активность матриксных металлопротеиназ при различных патогенетических вариантах воспаления: автореф. дис. ... док. мед. наук., Москва, 2010. – 225с.
- Trubitsyna I. E., Stvolinsky S. L., Kulikova O. I., et al. Protective effect of the new compound – salicyl-carnosine – on the formation of chronic acetate gastric ulcer in rats. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2019;163(3): 58–64. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682–8658-ecg-163–3–58–64
Трубицына И. Е., Стволинский С. Л., Куликова О. И., Федорова Т. Н., Тарасова Т. В., Ефремов Л. И., Михайлова З. Ф., Варванина Г. Г. Защитное действие нового соединения – салицил-карнозин – на процесс формирования хронической ацетатной язвы желудка у крыс. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2019;163(3): 58–64. DOI: 10.31146/1682–8658-ecg-163–3–58–64
- Okabe S, Amagase K. An overview of acetic acid ulcer models – the history and state of the art of peptic ulcer research. *Biol Pharm Bull*. 2005 Aug;28(8):1321–41. doi: 10.1248/bpb.28.1321. PMID: 16079471