

## РОЛЬ ЖЕЛАТИНАЗЫ В КАК ЗВЕНА ПАТОГЕНЕЗА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ ЭНДОМЕТРИЯ

*К. Ю. Тухаева, Л. Н. Рогова, Л. В. Ткаченко*

*Волгоградский государственный медицинский университет,  
кафедра патологической физиологии и клинической патофизиологии*

В статье представлены данные о роли удельного числа и интенсивности экспрессии желатиназа-В-позитивных клеток в патогенезе хронического воспаления эндометрия в эксперименте. В эксперименте на белых крысах самках линии Вистар определено уменьшение удельного числа и интенсивности экспрессии желатиназа-В-позитивных клеток в железистом эпителии и, еще в большей степени, в клеточном компоненте стромы при моделировании воспаления эндометрия. Выявлена роль желатиназы В в хронизации воспаления.

*Ключевые слова:* желатиназа В, воспаление, эндометрий

## CONTRIBUTION OF GELATINASE B TO THE PATHOGENESIS OF EXPERIMENTALLY-INDUCED CHRONIC INFLAMMATION OF THE ENDOMETRIUM

*K. Yu. Tikhaeva, L. N. Rogova, L. V. Tkachenko*

*Volgograd State Medical University,  
Department for Pathological Physiology and Clinical Pathophysiology*

The article discusses the role of gelatinase B positive cell expression in the pathogenesis of experimentally-induced chronic inflammation of the endometrium. The study of white female Wistar rats with experimentally-induced endometrial inflammation showed a reduction in the specific number and intensity of gelatinase B positive cell expression in the glandular epithelium and, to a larger extent, in the cellular stroma. Gelatinase B has been reported to play a role in chronization of inflammation.

*Key words:* gelatinase B, inflammation, endometrium.

Матриксные металлопротеиназы (ММП) — семейство цинковых металлопротеиназ, основная функция которых — обмен белков межклеточного матрикса. Все ММП синтезируются и секретируются рядом клеток: фибробластами, эпителиальными клетками, фагоцитами, лимфоцитами и онкогенно-трансформированными клетками опухолей [2, 5].

В настоящее время известно более 30 ММП, объединенных в 5 различных групп: коллагеназы, желатиназы, стромелизины, матрилизины и мембранно-связанные ММП (МС-ММП).

Эти ферменты — основа таких физиологических процессов, как морфогенез, резорбция и ремоделирование тканей, миграция, адгезия, дифференцировка и пролиферация клеток. Хорошо изучена роль желатиназы В в патогенезе некоторых патологических состояний (ревматоидный артрит, гломерулонефрит, пародонтиты, изъязвление роговой оболочки глаз и др.). Повреждение любого типа тканей инициирует процессы воспаления, которое, в свою очередь, завершается ремоделированием ткани. В современной литературе нет исчерпывающей и однозначной информации о значении желатиназы В в патогенезе хронического воспаления эндометрия [3, 4, 6].

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Выявление роли удельного числа и интенсивности экспрессии желатиназы В в ткани эндометрия у крыс на фоне хронического экспериментального воспаления эндометрия.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты были выполнены на 40 половозрелых самках белых крыс линии Вистар массой  $(198 \pm 3,8)$  г с соблюдением стандартов: положений Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964 г.), этическими принципами Европейского научного фонда (ESF), приказом МЗ СССР №755 от 12.08.77 «О мерах по дальнейшему совершенствованию форм работы с использованием экспериментальных животных», Приказом МЗ СССР № 1179 от 10.10.1983 г., рекомендациями научного центра биомедицинских технологий РАМН (Копаладзе Р.А., 2004), положениями биоэтической концепцией трех «R» (Replacement, Reduction, Refinement) (Рассел и Бреч, 1959) и Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (Шалимов, 1990, Березовская, 1993, Зуффин, 1993); Федеральным законом от 24.04.1995 г. № 52-ФЗ «О животном мире», стандарты GLP — правила лабораторной практики (приказ министерства здравоохранения Российской Федерации от 19.06.2003 г. № 266).

Животные перед экспериментом были разделены на 3 группы. В 1-й группе ( $n = 10$ ) определяли изучаемые параметры в исходном состоянии, во второй — контрольная серия ( $n = 10$ ) — выполняли те же манипуляции, что и в основной (третьей группе), но не моделировали хроническое воспаление эндометрия, в третьей ( $n = 20$ ) моделировали хроническое воспаление эндометрия путем введения в полость матки аутокаловой взвеси в объеме 0,1 мл. С третьего дня после операции

животным 2-й и 3-й групп проводили антибактериальную терапию препаратом широкого спектра действия Цефтриаксон в соответствии с весом животного в течение 7 дней [6].

На 51-е сутки выводили животных из эксперимента, путем введения летальной дозы Рометара. Предварительно получив кровь из подключичной и нижней полой вен, осуществляли забор ткани для гистологического и иммуногистохимического исследования. Полученный препарат фиксировали в нейтральном забуференном формалине и после обезвоживания в серии спиртов возрастающей концентрации заливали парафином по общепринятой методике. Гистологические методы включали окраску гематоксилин-эозином. Исследование экспрессии ММП-9 было проведено иммуногистохимическим методом по стандартной методике с использованием антител фирмы «Новокастра» ММП-9 (NCL-MMP9, для парафиновых блоков, рабочее разведение 1:40), (Кокосадзе Н. В., Заводиленко К. В., 2006; Mac C. D. et al., 1993). В препаратах при 400-кратном увеличении оценивали удельное число (в %) положительно окрашенных клеток в 5 случайно выбранных полях зрения ( $\geq 500$  клеток). Реакция окрашивания оценивалась как негативная — 0 баллов, слабая — 1 балл, средняя (умеренная) — 2 балла и выраженная — 3 балла.

Для оценки морфологической картины ткани эндометрия применяли полуколичественный метод, позволяющий определить выраженность лимфоцитарной, плазмочитарной инфильтрации стромы эндометрия в биопсийном материале, разработанный Э. А. Казачковой [1].

Для статистической обработки результатов исследования использовали критерий Стьюдента (средние величины выражали как  $M \pm m$ ). При распределении, отличном от нормального, использовали критерий Вилкоксона (средние величины выражали как Me [25 и 75 перцентиль]) и корреляцию по Спирмену.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты представлены в табл. 1 и 2.

При гистологическом исследовании тканей эндометрия у крыс первой группы выявлены единичные нейтрофилы, лимфоциты, округлые железы нормального строения, артерии без особенностей. Во второй (контрольной) группе на сроке наблюдения морфологическая картина была практически идентичная показателям в исходном состоянии.

В то же время, как видно из табл. 1, статистически достоверных различий в показателях клеточной инфильтрации эндометрия между первой и второй группами не выявлено: число нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов, плазмочитов и эозинофилов в исходном состоянии: 1 [0;1]; 1 [0;1]; 1 [1;1]; 1 [0;1]; 0 [0;0]; 1 [1;2], в контроле: 1 [1;2], ( $Q > 0,1$ ); 1 [0;1], ( $Q > 0,1$ ); 1 [0,25;1], ( $Q > 0,1$ ); 0 [0;0], ( $Q > 0,1$ ); 1 [1;0], ( $Q > 0,1$ ) соответственно.

В третьей группе в гистологическом материале обнаружены: воспалительные инфильтраты из лимфоидных элементов, в меньшей степени из лейкоцитов, расположенных чаще вокруг желез и кровеносных сосудов, реже диффузно, плазматические клетки, единичные макрофаги, слабовыраженный фиброз стро-

Таблица 1

**Показатели клеточного инфильтрата в эндометрии (Me [25 и 75 перцентили]), баллы**

Группы	Нейтрофил	Макрофаг	Лимфоцит	Плазмочит	Эозинофил
1	1 [0;1]	1 [0;1]	1 [1;1]	0 [0;0]	1 [1;2]
2	1 [1;2]	1 [0;1]	1 [0,25;1]	0 [0;0]	1 [1;0]
3	1 [0;1]	1,5 [1,5;2]	2,5 [1,5;3]	2 [1;3]	1,5 [1,5;2]
Q	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1
Q <sup>1</sup>	>0,1	<0,05	<0,01	<0,001	<0,01

Примечание. Q — достоверность различий между исходным состоянием и контролем; Q<sup>1</sup> — достоверность различий между группой с экспериментальным хроническим воспалением эндометрия и контролем.

Таблица 2

**Удельное число и интенсивность экспрессии желатиназа-B-позитивных клеток в тканях эндометрия на фоне экспериментального хронического воспаления эндометрия (Me [25 и 75 перцентили]), баллы**

Показатели		Группа 1	Группа 2	Группа 3	Q	Q <sup>1</sup>
Строма	удельное число	28 [26;30]	28 [20;30]	18 [17;20]	>0,1	<0,05
	интенсивность экспрессии	2 [0;1]	2 [0;2]	0 [1;2]	>0,1	<0,05
Железистый эпителий	удельное число	29 [28;30]	30 [28;30]	26,5 [22;25]	>0,1	>0,1
	интенсивность экспрессии	2 [0;1]	2 [0;1]	1 [1;2]	>0,1	<0,05

Примечание. Q — достоверность различий между исходным состоянием и контролем; Q<sup>1</sup> — достоверность различий между группой с экспериментальным хроническим воспалением эндометрия и контролем.

мы, незначительный склероз стенок артерий эндометрия. У животных третьей группы значимо увеличился уровень макрофагов 1,5 [1,5;2], ( $Q < 0,05$ ), лимфоцитов 2,5 [1,5;3], ( $Q < 0,01$ ), плазмоцитов 2 [1;3], ( $Q < 0,001$ ), эозинофилов 1,5 [1,5;2], ( $Q < 0,01$ ).

В клеточном компоненте стромы и эпителии желез эндометрия удельное число и интенсивность экспрессии желатиназа-В-позитивных клеток в группах контроля и в исходном состоянии значимо не отличалось. Обращает на себя внимание достаточно высокие уровни указанных показателей в контроле и в исходном состоянии, что указывает на важную роль желатиназы В в гомеостазе эндометрия. На 51-е сутки после моделирования воспаления эндометрия в клеточном компоненте стромы число клеток, положительно реагирующих на антитела, уменьшилось с 28 [20;30] до 18 [17;20]  $Q < 0,05$ , интенсивность экспрессии резко снизилась с 2 [0;2] до 0 [1;2] баллов;  $Q < 0,05$ . В эпителии желез удельное число желатиназа-В-положительных клеток значимо не изменилось  $Q > 0,1$ , но статистически значимо уменьшилась интенсивность экспрессии с 2 [0;1] до 1 [1;2] баллов,  $Q < 0,05$ .

Известно, что железистый эпителий эндометрия секретирует гликоген и мукополисахариды, необходимые для предимплантационного периода жизнедеятельности эмбриона. Периодическое усиление пролиферации и репарации в эндометрии, очевидно, реализуется за счет активности металлопротеиназ, в том числе желатиназы В, принимающей участие в ремоделировании тканей. В связи с тем что удельное число и интенсивность экспрессии — это два показателя, суммарно отражающие активность желатиназы В в тканях, можно полагать, что обнаруженное снижение уровней этих величин на фоне морфологических признаков воспаления могут быть показателями нарушения механизмов ремоделирования и пролиферации в зоне воспаления, в частности свидетельствовать о его хронизации.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Через 51-е сутки с момента моделирования воспаления эндометрия в эксперименте удельное чис-

ло и интенсивность экспрессии желатиназа-В-позитивных клеток в большей степени уменьшилось в клеточном компоненте стромы в сравнении с железистым эпителием. Данные показатели на фоне морфологических признаков воспаления свидетельствуют об участии изучаемого фермента в хронизации воспаления.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Казачкова, Э. А. Патогенез, клинико-морфологическая характеристика и лечение воспалительных заболеваний матки и придатков: дис. ... д-ра мед. наук / Э. А. Казачков. — Челябинск, 2000. — 303 с.
2. Потеряева О. Н. Антонов А. Р., Ким Н. О., Некрасова М. Ф. // Фундаментальные и прикладные проблемы медицины и биологии. — 2006. — № 3. — С. 40—40.
3. Рогова Л. Н. Матриксные металлопротеиназы, их роль в физиологических и патологических процессах (обзор) // Вестн. новых мед. технологий. — Тула, 2011. — Т. 18, № 2. — С. 86—89.
4. Рогова Л. Н., Шестернина Н. В., Старавойтов В. А. Влияние магнийсодержащей композиции на магниевый баланс, интенсивность пероксидации и активность антиоксидантных ферментов у крыс с ацетатной язвой желудка // Вестн. новых мед. технологий. — Тула, 2011. — Т. 18, № 2. — С. 89—91.
5. Соловьева Н. И. // Биоорганическая химия. — 1998. — Т. 24, № 4. — С. 245—255.
6. Тихаева К. Ю., Ткаченко Л. В., Рогова Л. Н., Куркин Д. В. Метод моделирования хронического воспаления эндометрия и его патогенетическое обоснование // Волгоградский научно-медицинский журнал. — Волгоград, 2015. — Т. 45, № 1. — С. 31—34.
7. Egeblad M., Werb Z. // Nat. Rev. Cancer. — 2002. — Vol. 2, № 3. — P. 161—174.

## Контактная информация

**Тихаева Ксения Юрьевна** — ассистент кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: tikhaeva34@gmail.com