

## АКТИВНОСТЬ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ-1, -9, -19, ТКАНЕВОГО ИНГИБИТОРА 1 В СТРУКТУРНЫХ КОМПОНЕНТАХ НЕФРОНА У КРЫС С ВОСХОДЯЩЕЙ ИНФЕКЦИЕЙ ПОЧЕК

© Рогова Л.Н., Филоненко О.С., Кудрин Р.А., Поветкина В.Н., Липов Д.С.

Волгоградский государственный медицинский университет (ВолгГМУ)

Россия, 400131, Волгоградская область, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1

Морфологические составляющие нефрона выполняют разные функции в мочевой системе. В состав каждой структурной компоненты входят матрикс и ферменты, регулирующие его ремоделирование в норме и при патологии.

**Цель** – определение активности металлопротеиназ -1, -9, -19, их тканевого ингибитора 1 в структурах сосудистого клубочка, проксимального, дистального отделов канальцев, петли канальцев, собирательной трубочки нефрона у крыс с экспериментальной восходящей инфекцией почек.

**Материалы и методы.** В эксперименте на 16 половозрелых крысах самках (так как у женского пола чаще, чем у мужчин, развивается воспалительный процесс в почках) [28] линии Вистар под рометаром и лидокаином (согласно инструкции) моделировали контрольную серию и восходящую инфекцию почек. При этом инокулировали в мочевой пузырь 0.1 мл суспензии кала инсулиновым шприцем путем инъекции, полученной из расчета 50 мг на 1 мл физиологического раствора с трехкратным фильтрованием через 3 слоя марли. Оценку и стандартизацию микробной обсемененности инокулюма облигатными представителями кишечной микробиоты выполняли путем посева приготовленной суспензии кала на среду Эндо и желточно-солевой агар – ЖСА с последующим подсчетом через 1-2 суток числа выросших колоний. При введении 0,1 мл суспензии в мочевой пузырь попадают микробы группы энтеробактерий – 27111,1±1911,6, стафилококков – 8333±1632,9. Контроль эффективности моделирования осуществлялся морфологическим методом. Через 31 сутки с момента моделирования забирали почки. Активность металлопротеиназ (ММП) оценивали иммуногистохимическим методом путем определения числа антигенпозитивных клеток к ММП и интенсивности их экспрессии.

**Результаты.** Проведенное исследование показало, что через 31 сутки с момента моделирования восходящей инфекции почек в сосудистом клубочке, петле канальцев активность изучаемых ММП и ТИМП увеличивалась. В проксимальном и дистальном канальцах на фоне увеличения активности ММП-19, а ММП-1 и ТИМП-1 уменьшалась. При этом в собирательных трубочках нарастала активность ММП-1, ММП-19 и ТИМП-1.

**Заключение.** Сравнительное исследование показало значимое смещение активности изучаемых металлопротеиназ и их тканевого ингибитора из коркового вещества, где расположены сосудистые клубочки, проксимальные и дистальные канальцы, в мозговое вещество – зону сосредоточения петель канальцев и собирательных трубочек.

**Ключевые слова:** металлопротеиназы; восходящая инфекция почек; воспаление; нефрон; сосудистый клубочек; проксимальный и дистальный отдел канальцев; петля канальцев; собирательная трубочка.

**Рогова Людмила Николаевна** – д-р мед. наук, профессор кафедры патофизиологии, ВолгГМУ, г. Волгоград. ORCID iD: 0000-0003-1046-0329. E-mail:rogova.ln@mail.ru

**Филоненко Оксана Сергеевна** – ассистент кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии, ВолгГМУ, г. Волгоград. ORCID iD: 0000-0003-3710-7277. E-mail: oksana.filonenko@inbox.ru (автор, ответственный за переписку)

**Кудрин Родион Александрович** – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой патофизиологии, клинической патофизиологии, ВолгГМУ, г. Волгоград. ORCID iD: 0000-0002-0022-6742. E-mail: rodion.kudrin76@yandex.ru

**Поветкина Виктория Николаевна** – канд. мед. наук, доцент кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии, ВолгГМУ, г. Волгоград. ORCID iD: 0000-0002-0910-5584. E-mail: vnpovetkina@gmail.com

**Липов Данил Сергеевич** – ассистент кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии, ВолгГМУ, г. Волгоград. ORCID iD: 0000-0003-2086-0369. E-mail: danillipov@yandex.ru

Структурно-функциональной единицей почек является нефрон, включающий сосудистый клубочек, проксимальный, дистальный отдел канальцев, петлю канальцев, собирательную трубочку. Каждый компонент выполняет определенные функции, направленные на поддержание параметров гомеостатического путем фильтрации, секреции, экскреции, биологических молекул из плазмы крови в мочу и резорбции из первичной мочи [1, 2]. Степень вовлечения каждого компонента нефрона в патологический процесс определяет клинические проявления почечных синдромов и болезней. Наименее изучена роль матрикса в патологии компонен-

тов нефрона и особенно роль металлопротеиназ, принимающих участие в его ремоделировании [3].

Целью исследования было определение активности металлопротеиназ-1, -9, -19 (ММП-1, ММП-9, ММП-19), их тканевого ингибитора 1 (ТИМП-1) в структурах сосудистого клубочка, проксимального, дистального отделов канальцев, петли канальцев, собирательной трубочки нефрона у крыс с экспериментальной восходящей инфекцией почек.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 16 крысах под рометаром и лидокаином (согласно инструкции). Крыс поделили на 2 серии. В первую вошло 8 крыс, на которых смоделировали восходящую инфекцию почек путем инъекции в просвет мочевого пузыря взвеси аутокаловых масс в физиологическом растворе в разведении полученной из расчета 50 мг на 1 мл физиологического раствора с трехкратным фильтрованием через 3 слоя марли. Вторая серия – контрольная, включающая 8 крыс. Крысам этой серии выполнили все манипуляции, что и в первой, но не моделировали воспаление. На момент включения в проводимое исследование животные во всех группах были сопоставимыми по породе, возрасту, полу (самки) и отсутствию видимой патологии развития. По уровню значения критерия Краскела-Уоллиса показатели массы и возраста в сравниваемых группах были однородными ( $p > 0,05$ ) (табл. 1). Контроль эффективности моделирования осуществлялся морфологическим методом, для чего гистологические мазки красили гематоксилин-эозином. Для оценки появления фиброза гистологические мазки красили по Массону. Почки забирали через 31 сутки с момента моделирования [4].

Активность металлопротеиназ оценивали иммуногистохимическим методом с использованием антител фирмы Novocastra. Для оценки активности ММП-1, -9, -19 и ТИМП-1 использовали полуколичественный метод, фиксируя интенсивность окрашивания и число иммунопозитивных клеток в почечных структурах.

В срезах оценивали удельное число (в %) положительно окрашенных клеток в 5 случайно выбранных полях зрения ( $\geq 500$  клеток), используя окуляр 10 и объектив 10.

Интенсивность иммуногистохимической реакции оценивали по всему образцу почки с последующим усреднением, используя полуколичественную шкалу, где 0 оценивался как негативная реакция (или отсутствие окрашивания),

1 – незначительная реакция; 2 – слаболожительная реакция или легкое окрашивание, 3 – умеренное окрашивание (или умеренная реакция), 4 – интенсивное окрашивание или выраженная реакция [4].

Статистический анализ данных производили с помощью программы «Statistika 7.0» (StatSoft). Рассчитывались параметры медианы (Me), а также 25% и 75% квартили (Q1 и Q3). Сравнения между группами проводили с помощью непараметрического анализа с использованием U критерия Манна-Уитни. Достоверными считались различия при  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что через 31 сутки с момента моделирования восходящей инфекции почек, в их тканях выявлялось умеренное число клеток, подвергшихся некрозу, в интерстициальном пространстве паренхимы выявлялось скопление клеток воспалительного инфильтрата. Каждый десятый сосудистый клубочек умеренно гипертрофирован с присутствием воспалительных элементов, каналцы утолщены, их просвет узкий. Просвет заполнен эозинофильными гомогенными массами. В цитоплазме эпителиальных клеток каналцев определяется вакуолизация и сглаженность мелкой исчерченности (рис. 1).

У крыс с экспериментальной восходящей инфекцией почек в сосудистых клубочках число клеток, экспрессирующих металлопротеиназы, по отношению к контролю увеличилось: ММП-1 на 21,15%,  $p \leq 0,05$ , ММП-9 на 9,7%,  $p \leq 0,05$ , ММП-19 на 13,65%,  $p \leq 0,05$ . Одновременно возросла и интенсивность их экспрессии: ММП-1,  $p \leq 0,05$ , ММП-9,  $p \leq 0,05$ , а ММП-19 значимо не изменилась,  $p \geq 0,1$ .

Число антигенпозитивных клеток к ТММП-1 возросло на 12,1%,  $p \leq 0,05$ . Выраженность его окраски также значительно возросла,  $p \leq 0,05$ .

Таблица 1

Table 1

Значение показателей (Me [Q1; Q3]) массы и возраста крыс в группах до исследования

The value of the indicators (Me [Q1; Q3]) weight and age of rats in groups before the study

Показатели Indicators	Группы Groups		p-value (Критерий Краскела-Уоллиса / Kruskal-Wallis test)
	Экспериментальная Experimental	Контрольная Control	
Масса, г Mass, g	318.50 [301.00; 323.00]	317.00 [305.00; 320.00]	0.289
Возраст, мес Age, months	16.00 [15.00; 17.00]	17 [15.00; 18.00]	0.647

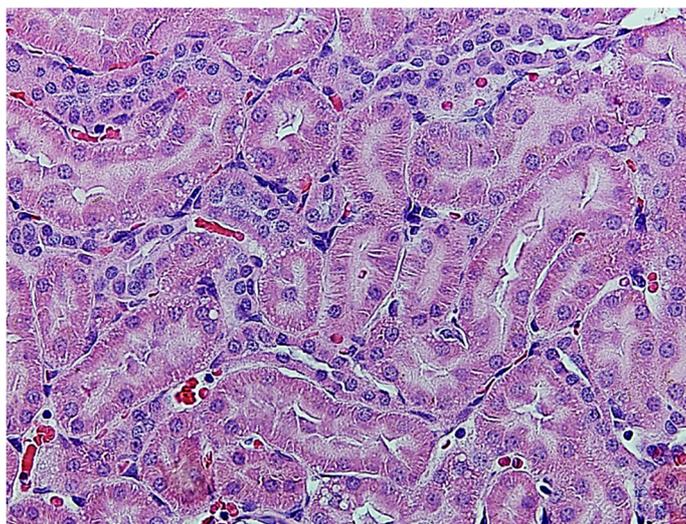


Рис. 1. Гистологическое строение почки крысы через 31 сутки после моделирования. Вакуолизация в цитоплазме эпителиальных клеток канальцев. Окраска гематоксилином и эозин-флоксин. Общее увеличение ×400.

Fig. 1. Histological structure of the rat kidney 31 days after modeling. Vacuolization in the cytoplasm of epithelial tubule cells. Staining with hematoxylin and eosin-phloxin. The total magnification is ×400.

Таблица 2

Table 2

Удельное число и интенсивность экспрессии иммунопозитивных клеток в почечных структурах экспериментальных животных (M[Q1;Q3])

The specific number and intensity of expression of immunopositive cells in the renal structures of experimental animals (M[Q1;Q3])

Исследуемые показатели Studied indicators	Группа Group	Структуры почек Kidney structures				
		Клубочки Glomeruli	ДК ДТ	ПК РТ	СТ СТ	ПК ЛН
		1.1[1;1]	3[3;3]	3[2.75;3.25]	0.6[0;1]	0.3[0;1]
MMP-1	Контроль Control	13[9;16.25]	88.4 [84.75;91.5]	91.25[89;95]	9.55[0;15]	2.3[0;3.75]
	Воспаление Inflammation	2.2 [2;3]* 34.65 [29.5;39]*	2 [2;2]* 47.85 [37;58.25]*	1 [1;1]* 36.1 [33.75;45]*	2.05 [2;2]* 71.35 [66.75;75.5]*	2[2;2]* 46.8 [43.75;51.25]*
MMP-9	Контроль Control	0.45 [0;1] 2.4[0;5]	3 [3;3] 55.35[53;57]	1.45 [1;2] 67.8[64.25;75]	1.3 [1;2] 87.1[85;90]	0.3 [0;1] 3.45[0;10]
	Воспаление Inflammation	2.05[2;2.25]* 12.1[10;15]*	2[2;2]* 49.95[45;56]	1.6[1;2] 61.6 [56.5;66.25]*	2.05[2;2]* 89.6[86.5;92]*	2[2;2]* 23.25 [21.5;25]*
MMP-19	Контроль Control	0.2 [0;0] 4.8[0;9.25]	0.15[0;0] 3.6[0;0]	0.5[0;1] 5.35[0;10.5]	0.2[0;0] 2.45[ ]	0.3[0;1] 7.1[0; ]
	Воспаление Inflammation	1[1;1]* 18.45 [15.75;24.25]*	2[2;2]* 26.1 [22.75;28.75]*	0.5[0;1] 33.7[0;63.5]	2[2;2]* 55.35 [53.25;59.25]*	1.3[1;2]* 62.55 [54.25;67]*
TIMP-1	Контроль Control	0.5 [0;1] 3.15[0;6]	3 [3;3] 88.4[85.5;91.5]	3 [2.75;3.25] 81.05[75;87.5]	0.5 [0;1] 11.35[0;23]	0.2 [0;0] 1.65[0;0]
	Воспаление Inflammation	3.1 [3;4]* 15.25 [12;17]*	2 [2;2]* 43.7 [41;47.25]*	2 [2;2]* 26.7 [23.75;29.25]*	2.05 [2;2]* 85.2 [83;89.25]*	2 [2;2]* 76.25 [71.75;79.25]*

Примечание: Статистически значимые различия по сравнению с \*контролем, † группой с индуцированным воспалением при p<0,05. ДК – дистальные канальца; ПК – проксимальные канальца; СТ – собирательные трубочки; ПК – петля канальцев.

Note: Statistically significant differences compared to \*control, † group with induced inflammation at p<0,05. DT – distal tubules; PT – proximal tubules; IS – interstitial cells; CT – collecting tubules; LH – Henle’s loop.

Анализ полученных данных показывает низкую активность в сосудистом клубочке ММП-1, ММП-9, ММП-19 как в контроле, так и при воспалении. На фоне экспериментальной восходящей инфекции почек выявляется увеличение числа антигенпозитивных клеток и интенсивности их экспрессии, что в абсолютных величинах отражает весьма умеренный прирост. Такие невысокие показатели активности изучаемых ферментов приводят, видимо, к умеренной проницаемости матрикса гломерул для биологических молекул в норме и при патологии.

Более значимо нарастает активность ММП-1 (коллагеназа), что, очевидно, связано с ее продукцией эндотелием, фибробластами, макрофагами, уровень которых при воспалении обычно возрастает на фоне увеличения активирующего влияния медиаторов воспаления [5].

Известно, что базальный уровень ММП-9 (желатиназа В) в разных тканях и в том числе почках обычно низкий [6]. Источником изучаемого фермента являются моноциты и фибробласты, активаторами их синтеза выступают цитокины, секретлируемые главным образом воспалительными клетками. Желатиназа В может обладать как про-, так и противовоспалительной активностью, стимулируя фиброгенный фактор и фиброз, интенсивность которого увеличивается.

В то же время в эпителии проксимального канальца нефрона у крыс с экспериментальным сформировавшимся деструктивно-воспалительным процессом по отношению к контролю количество клеток, антигенпозитивных к ММП-1 снижалось на 55,15%,  $p \leq 0,05$ , к ММП-19 увеличилось на 28,35%,  $p \leq 0,05$ , уровень ММП-9 значимо не изменялся,  $p \geq 0,1$ .

Интенсивность экспрессии ММП-1 снижалась,  $p \leq 0,05$ , но ММП-19 и ММП-9 оставались практически неизменными,  $p \geq 0,1$ ,  $p \geq 0,1$ , соответственно.

Определение ТИМП 1 в проксимальных канальцах у крыс с воспалением выявило резкое уменьшение числа антигенпозитивных клеток к ТИМП-1 на 54,35%  $p \leq 0,05$ , и интенсивность его экспрессии также снижалась,  $p \leq 0,05$ .

В проксимальных канальцах у крыс контрольной группы обращает на себя внимание максимально высокая активность ММП-1 и средней степени выраженности активность ММП-9, что связано с транспортной, резорбционной функцией проксимального канальца для белков, ионов, аминокислот, глюкозы и др.

Известно, что в норме наиболее активно резорбция профильтровавшихся компонентов плазмы крови происходит в проксимальных канальцах [7-9]. Значимым звеном в этом про-

цессе выступают специфические ферменты и эндоцитоз (пиноцитоз). Очевидно, не последнюю роль в транспорте путем эндоцитоза играют функциональное состояние матрикса и функциональная активность металлопротеиназ. Снижение числа клеток, антигенпозитивных к ММП-азам и уменьшение интенсивности их экспрессии в эпителии проксимальных канальцев, видимо, нарушает резорбцию и приводит к потере биологических молекул в мочу [8].

Известно, что воспалительный процесс при пиелонефрите характеризуется лейкоцитурией, а разрушение тканей почек сопровождается развитием протеинурии. При формировании воспалительного процесса в почках ферментативный процесс, с помощью которого осуществляется всасывание белка из просвета канальцев и дальнейшее превращение белков до полипептидов и аминокислот, может нарушаться, что отрицательно сказывается на процессах реабсорбции белка.

Уменьшение активности тканевого ингибитора сопряжено со значительным снижением числа и интенсивности экспрессии ММП-1 и ММП-9, что следует расценивать как защитно-приспособительную реакцию.

Одновременно в дистальных канальцах нефрона выявлено уменьшение числа антигенпозитивных клеток к ММП-1 на 43,55%,  $p \leq 0,05$ , к ММП-19 увеличение на 22,5%,  $p \leq 0,05$ , к ММП-9 значимо не изменялось,  $p \geq 0,1$ .

Интенсивность экспрессии ММП-1, ММП-9 уменьшалась одинаково,  $p \leq 0,05$ ,  $p \leq 0,05$ , соответственно, но ММП-19 значительно возрастала,  $p \leq 0,05$ .

В дистальном канальце число клеток, экспрессирующих ТИМП-1, уменьшилось на 46,4%,  $p \leq 0,05$ , также уменьшилась интенсивность его экспрессии,  $p \leq 0,05$ .

Анализ результатов показывает, что резкое уменьшение активности ММП-1 при одновременном небольшом увеличении ММП-19 и значительном снижении ТИМП-1, видимо, может быть расценено как защитно-приспособительная реакция, направленная на нормализацию реабсорбции и секреции в канальцах при воспалении. В то же время известно, что в проксимальном канальце из первичной мочи в норме калий реабсорбируется на 90%, натрий до 65%, кальций на 63%, а в дистальном отделе – калий – на 10%, натрий – на 9%, кальций – на 11% [8]. При нормальной скорости клубочковой фильтрации реабсорбируется примерно 98% белка. А при воспалении постепенно уменьшается до 45%, что, очевидно, является следствием нарушения металлопротеиназ [8].

Сравнительный анализ показателей активности изучаемых металлопротеиназ в тканях

проксимального и дистального канальцев у крыс с экспериментальным воспалением в почках показал однотипность их изменения: число антигенпозитивных клеток к ММП-1 и интенсивность их экспрессии уменьшались, к ММП-19 – увеличивалась, к ММП-9 – значимо не изменялась.

В следующем отделе нефрона в петле канальцев значительно увеличивалось число антигенпозитивных клеток к ММП-1 – на 39,5%,  $p \leq 0,05$ , интенсивность экспрессии также резко увеличивалась,  $p \leq 0,05$ . Реакция на ММП-9 увеличилась на 6,19%,  $p \leq 0,05$ , при этом интенсивность экспрессии также возросла,  $p \leq 0,05$ .

Количество клеток, экспрессирующих антигена к ММП-19, увеличилось на 55,45%,  $p \leq 0,05$ , выраженность экспрессии возросла,  $p \leq 0,05$ . Реакция клеток на ТИМП-1 увеличилась на 74,9%,  $p \leq 0,05$ , интенсивность реакции также возросла,  $p \leq 0,05$ .

Высокая активность ММП-1, -9, -19, приводит, очевидно, к деструкции матрикса и повышению транспорта ионов натрия и хлора в интерстиций почек, что формирует условия для отека паренхимы.

В собирательной трубчатке при интерстициальном нефрите число антигенпозитивных клеток к ММП-1 увеличилось на 61,8%,  $p \leq 0,05$ , выраженность экспрессии возросла,  $p \leq 0,05$ . Число клеток, антигенпозитивных к ММП-9, осталось практически неизменным,  $p \geq 0,1$ , выраженность экспрессии возросла,  $p \leq 0,05$ . Количество клеток, экспрессирующих антигена к ММП-19, увеличилось на 52,9%,  $p \leq 0,05$ , выраженность реакции возросла,  $p \leq 0,05$ . Реакция числа клеток, антигенпозитивных к ТИМП-1, увеличилась на 73,9%,  $p \leq 0,05$ , степень экспрессии также увеличилась,  $p \leq 0,05$ .

Основная задача собирательных трубочек заключается в концентрировании мочи [11, 12], но высокая активность металлопротеиназ, видимо, сопряжена с потерей нормального ремоделирования матрикса и нарушением концентрирующей функции почек, о чем свидетельствует снижение плотности мочи при воспалительных заболеваниях почек [13].

Анализ активности изучаемых металлопротеиназ в петле канальцев и собирательных трубочках выявляет значительное смещение активности ММП-1, ММП-19, а в петле канальцев и ММП-9, приближающееся к максимальной активности. Одновременно также резко возрастает активность ТИМП-1, что однозначно можно расценивать как защитно-приспособительную реакцию в зоне поворотно-противоточно-множительного механизма, регулирующего концентрирование и разведение мочи.

Таким образом, мы пришли к следующим выводам:

1. В сосудистом клубочке при деструктивно-воспалительном процессе незначительно изменяется активность ММП-1, ММП-19 и ТИМП-1, оставаясь на низком уровне.

2. В эпителии проксимального и дистального канальцев при воспалении до умеренных цифр снижается активность ММП-1, увеличивается ММП-19 при практически неизменно высоком уровне ММП-9.

3. На фоне воспаления в петле канальцев, и особенно в собирательных трубочках умеренно и выше среднего увеличивается активность ММП-1, -9, -19.

4. При воспалении в петле канальцев и собирательной трубчатке на фоне умеренного или значительного нарастания активности изучаемых металлопротеиназ определяется защитно-приспособительное повышение активности ТИМП-1.

5. Сравнительное исследование показало смещение активности изучаемых металлопротеиназ и их тканевого ингибитора из коркового вещества, где расположены сосудистые клубочки, проксимальные и дистальные канальцы, в мозговое вещество – зону сосредоточения петель канальцев и собирательных трубочек.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

#### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Автор заявляет об отсутствии финансирования.

#### СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Работа с животными соответствовала нормативам ГОСТа 33215-2014 от 01.07.2016 г. «Правила оборудования помещений и организации процедур при работе с лабораторными животными», а также требованиям СанПиН 2.2.1.3218-14 от 29.08.2014 № 51 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник и вивариев».

Этическая экспертиза научной работы, в рамках которой выполнено данное исследование, проведена локальным Этическим комитетом ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, регистрационный номер IRB 00005839 ORG0004900 (OHRP), справка № 2021001 от 12.01.2021 г.

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Page-McCaw A., Ewald A. J., Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodeling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007;8(3):221–233. DOI: 10.1038/nrm2125.
2. Баширова З.Р. Клинико-прогностическое значение факторов протеолиза у детей с аутосомно-доминантной поликистозной болезнью почек.

- Нефрология*. 2019;23(2):91–99 [Bashirova Z.R. Clinical and prognostic value of proteolysis factors in children with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Нефрология*. 2019;23(2):91–99 (in Russ.)]. DOI: 10.24884/1561-6274-2019-23-2-91-99. EDN: OLXKQS.
3. Perez N., Ostojic S., Volk M., Kapovic M., Peterlin B. Matrix metalloproteinases 1, 2, 3 and 9 functional single-nucleotide polymorphisms in idiopathic recurrent spontaneous abortion. *Reprod Biomed Online*. 2012;24(5):567–575. DOI: 10.1016/j.rbmo.2012.01.008.
  4. Zhao J., Wang L., Cao A., Jiang M., Chen X., Peng W. Renal Tubulointerstitial Fibrosis: A Review in Animal Models. *Journal of integrative Nephrology and Andrology*. 2015;2(3):75–80. DOI: 10.4103/2225-1243.161428.
  5. Docherty M.H., O'Sullivan E.D., Bonventre J.V., Ferenbach D.A. Cellular Senescence in the Kidney. *American Society of Nephrology*. 2019;30(5):726–736. DOI: 10.1681/ASN.2018121251.
  6. Григорьева И.Н., Рагино Ю.И. Роль матричных металлопротеиназ и некоторых цитокинов в развитии фиброза поджелудочной железы. *Современная гастроэнтерология*. 2013;(5):16–20 [Grigoryeva I.M., Ragino Yu.I. The role of matrix metalloproteinases and some cytokines in the development of pancreas fibrosis. *Sovremennaya gastroenterologiya*. 2013;(5):16–20 (in Russ.)]. EDN: RWGJWN.
  7. Hunter R.W., Bailey M.A. Hyperkalemia: pathophysiology, risk factors and consequences. *Nephrol Dial Transplant*. 2019;34(Suppl 3):iii2–iii11. DOI: 10.1093/ndt/gfz206.
  8. Ярмолинская М.И., Молотков А.С., Денисова В.М. Матричные металлопротеиназы и ингибиторы: классификация, механизм действия. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2012;10(1):113–125 [Yarmolinskaya M.I., Molotkov A.S., Denisova V.M. Matrix metalloproteinases and inhibitors : classification, mechanism of action. *Journal of obstetrics and womans diseases*. 2012;10(1):113–125 (in Russ.)]. EDN: PAIYTX.
  9. Коржевский Д.Э., 2005; Полянцев А.А. с соавт., 2011; PanJian-wei et al., 2005. С.65–69.
  10. Трисветова Е.Л. Гомеостаз магния и старение. *Медицинские новости*. 2018;281(2):45–50 [Trisvetova E.L. Magnesium homeostasis and aging. *Meditsinskie novosti*. 2018;281(2):45–50 (in Russ.)]. EDN: YRESFY.
  11. Chen S., Fu H., Wu S., Zhu W., Liao J., Hong X., Miao J., Luo C., et al. Tenascin-C protects against acute kidney injury by recruiting Wnt ligands. *Kidney Int*. 2019;95(1):62–74. DOI: 10.1016/j.kint.2018.08.029.
  12. Крутова А.С., Лучанинова В.Н., Семешина О.В., Ни А., Быкова О.Г. Роль матричных металлопротеиназ и их ингибиторов в физиопатологических процессах у детей с заболеваниями почек. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2020;1(79):11–15 [Krutova A.S., Luchaninova V.N., Semeshina O.V., Nee A., Bykova O.G. The role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in physiopathological processes in children with kidney disease. *Pacific medical journal*. 2020;1(79):11–15 (in Russ.)]. DOI: 10.34215/1609-1175-2020-1-11-15. EDN: ESWLHS.
  13. Осипова Н.А., Ниаури Д.А., Гзгзян А.М., Эмануэль В.Л. Анализ функционального состояния почек при недержании мочи у женщин. *Нефрология*. 2017;21(1):73–79 [Osipova N.A., Niauri D.A., Gzgzyan A.M., Emanuel V.L. *Нефрология*. 2017;21(1):73–79 (in Russ.)]. EDN: XVGWWF.

Поступила в редакцию 20.12.2022

Подписана в печать 25.09.2024

---

**Для цитирования:** Рогова Л.Н., Филоненко О.С., Кудрин Р.А., Поветкина В.Н., Липов Д.С. Активность матричных металлопротеиназ 1, 9, 19, тканевого ингибитора 1 в структурных компонентах нефрона у крыс с восходящей инфекцией почек. *Человек и его здоровье*. 2024;27(2):47–53. DOI: 10.21626/vestnik/2024-2/06. EDN: QEKKWE.

---

## ACTIVITY OF MATRIX METALLOPROTEINASES 1, 9, 19 TISSUE INHIBITOR 1 IN THE STRUCTURAL COMPONENTS OF A NEPHRON IN RATS WITH A DESTRUCTIVE-INFLAMMATORY PROCESS IN THE URINARY SYSTEM

© Rogova L.N., Filonenko O.S., Kudrin R.A., Povetkina V.N., Lipov D.S.

**Volgograd State Medical University (VolgSMU)**

1, Fallen Fighters Sq., Volgograd, Volgograd region, 400131, Russian Federation

Morphological components of the nephron perform different functions in the urinary system. Each structural component includes a matrix and enzymes that regulate its remodeling in normal and pathological conditions.

**Objective** – to determine the activity of metalloproteinases -1, -9, -19, their tissue inhibitor 1 in the structures of the vascular glomerulus, proximal, distal tubules, tubule loop, collecting tubule of the nephron in rats with experimental ascending kidney infection.

**Materials and methods.** In an experiment on 16 Wistar female rats (since the female sex develops an inflammatory process in the kidneys more often than men) [28] under rometar and lidocaine (according to the instructions), modeled a control series and an ascending kidneys infection. In this case 0,1ml of fecal suspension was inoculated into the bladder with an insulin syringe by injection, obtained at the rate of 50 mg per 1 ml of saline solution with triple filtration through 3 layers of gauze. The assessment and standardization of microbial contamination of inoculums by obligate representatives of the intestinal microbiota was performed by seeding a prepared suspension of feces on an Endo medium and yolk-salt agar-ZHSA with subsequent counting after 1-2 days, the purity of the grown colonies. When 0.1 ml of suspension is injected into the bladder, microbes of the Enterobacteria group is  $27111.1 \pm 1911.6$ , Staphylococcus is  $8333 \pm 1632.9$ . After 31 days from the moment of modeling, the kidneys were taken away. The activity of metalloproteinases (MMPs) was evaluated by immunohistochemical method by determining the number of antigen-positive cells to MMPs and the intensity of their expression.

**Results.** The study showed that after 31 days from the moment of modeling the destructive-inflammatory process in the system of urination in the vascular glomerulus, the loop of tubules, the activity of the studied MMP and TIMP increased. In the proximal and distal tubules, MMP 1 and TIMP 1 decreased against the background of increased activity of MMP 19. At the same time, the activity of MMP 1, MMP 19 and TIMP 1 increased in the collecting tubes.

**Conclusion.** A comparative study showed a significant shift in the activity of the studied metalloproteinases and their tissue inhibitor from the cortical substance, where the vascular glomeruli, proximal and distal tubules are located, to the medulla – the zone of concentration of the loops of tubules and collecting tubules.

**Keywords:** metalloproteinases; ascending kidneys infection; inflammation; nephron; vascular glomerulus; proximal and distal tubules; tubule loop; collecting tubule.

**Rogova Lyudmila N.** – Dr. Sci. (Med.), Professor at the Department of Pathophysiology, VolgSMU, Volgograd, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-1046-0329. E-mail: rogova.ln@mail.ru

**Filonenko Oksana S.** – Assistant at the Department of Pathophysiology, Clinical Pathophysiology, VolgSMU, Volgograd, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-3710-7277. E-mail: oksana.filonenko@inbox.ru (corresponding author)

**Kudrin Rodion A.** – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Department of the Department for Pathophysiology, Clinical Pathophysiology, VolgSMU, Volgograd, Russian Federation. ORCID iD: iD0000-0002-0022-6742. E-mail: rodion.kudrin76@yandex.ru

**Povetkina Victoria N.** – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor at the Department for Pathophysiology, Clinical Pathophysiology, VolgSMU, Volgograd, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-0910-5584. E-mail: vnpovetkina@gmail.com

**Lipov Danil S.** – Assistant at the Department of Pathophysiology, Clinical Pathophysiology, VolgSMU, Volgograd, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-2086-0369. E-mail: danillipov@yandex.ru

### CONFLICT OF INTEREST

The author declares the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

### SOURCE OF FINANCING

The author states that there is no funding for the study.

### COMPLIANCE WITH PRICIPLES OF ETHICS

Work with animals corresponded to the standards of GOST 33215-2014 dated 01.07.2016 "Rules of equipment of premises and organization of procedures when working with laboratory animals", as well as the requirements of SanPiN 2.2.1.3218-14 dated 29.08.2014 No. 51 "Sanitary and epidemiological requirements for the device, equipment and maintenance of experimental biological clinics and vivariums".

The ethical examination of the scientific work within the framework of which this study was carried out was conducted by the local ethics committee of the Federal State Budgetary Educational Institution of the Russian Ministry of Health, registration number IRB 00005839 ORG0004900 (OHRP), reference No. 2021001 dated 12.01.2021.

Received 20.12.2024

Accepted 25.09.2024

**For citation:** Rogova L.N., Filonenko O.S., Kudrin R.A., Povetkina V.N., Lipov D.S. Activity of matrix metalloproteinases 1, 9, 19 tissue inhibitor 1 in the structural components of a nephron in rats with a destructive-inflammatory process in the urinary system. *Humans and their health*. 2024;27(2):47–53. DOI: 10.21626/vestnik/2024-2/06. EDN: QEKKWE.