

УДК 616.34-002-018.7-091.818

DOI: 10.20538/1682-0363-2018-1-121-129

Для цитирования: Матвеева Н.Ю., Матвеев Ю.А., Калиниченко С.Г., Едранов С.С., Каминский Ю.В. Значение апоптоза энтероцитов при воспалительных заболеваниях кишечника. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (1): 121–129.

## Значение апоптоза энтероцитов при воспалительных заболеваниях кишечника

Матвеева Н.Ю., Матвеев Ю.А., Калиниченко С.Г., Едранов С.С., Каминский Ю.В.

Тихоокеанский государственный медицинский университет (ТГМУ)  
Россия, 690002, г. Владивосток, пр. Острякова, 2

### РЕЗЮМЕ

**Цель** — исследовать локализацию клеток, экспрессирующих виллин, p53, Vcl-2 и PUMA, в слизистой оболочке кишечника при неинфекционных колитах.

**Материалы и методы.** На материале 20 аутопсий и 40 биопсий тонкого и толстого отделов кишечника исследованы морфология и локализация иммунореактивных маркеров апоптоза при язвенном колите (ЯК) и болезни Крона (БК).

**Результаты.** В фокусе специфического воспаления слизистой оболочки кишечника обнаруживаются клетки, в разной степени экспрессирующие анти- и проапоптотические молекулы. В контрольной группе антиапоптотические факторы (виллин и Vcl-2) определяются преимущественно в энтероцитах, проапоптотические факторы (p53 и PUMA) — в клетках собственной пластинки слизистой оболочки. При ЯК и БК установлена обратная корреляция между числом клеток, экспрессирующих p53/PUMA, и количеством виллин- и Vcl-2-иммунопозитивных клеток. При этом проапоптотические молекулы выявляются и в энтероцитах, и в клетках собственной пластинки слизистой оболочки кишечника.

**Заключение.** Полученные данные указывают на значительную роль апоптоза в патоморфогенезе хронического неинфекционного воспаления кишечника. Хронизация процесса и характер структурных повреждений в стенке кишечника при ЯК и БК связаны с нарушением баланса регуляторных анти- и проапоптотических факторов. Клетки, экспрессирующие эти факторы, показывают обратную численную зависимость.

**Ключевые слова:** язвенный колит, болезнь Крона, p53, Vcl-2, PUMA, виллин, неинфекционное воспаление.

### ВВЕДЕНИЕ

Группу неинфекционных воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) составляют болезнь Крона (БК), язвенный колит (ЯК) и недифференцируемый колит [1, 2]. У этих заболеваний много общего: хроническое рецидивирующее аутоиммунное воспаление кишечника неясного происхождения, идентичные клинико-морфологические проявления и аналогичные лечебные подходы [2].

Структурная целостность кишечника и эффективный интестинальный барьер обеспечиваются равновесием процессов пролиферации и запрограммированной гибели клеток. Дисрегуляция апоптоза и некроптоза приводит к развитию ВЗК, а в сочетании с нарушением иммунного ответа создается порочный круг для постоянного поддержания кишечного воспаления [3].

Апоптоз клеток слизистой оболочки при ВЗК развивается как стадийный процесс. Его запуск и поддержание контролируют соответствующие анти- и проапоптотические факторы, среди которых p53, Vcl-2 и PUMA принадлежит основная

✉ Матвеева Наталья Юрьевна, e-mail: nymatveeva@mail.ru.

регулирующая роль [4, 5]. Для эпителия кишечника установлен специфический антиапоптотический пептид виллин, который препятствует выходу митохондриального цитохрома С в цитозоль [6]. Однако взаимосвязь экспрессии виллина с другими факторами апоптоза у больных ВЗК остается невыясненной.

Цель настоящей работы состояла в исследовании локализации клеток, экспрессирующих виллин, p53, Bcl-2 и PUMA, в слизистой оболочке кишечника при неинфекционных колитах.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использован материал стенки тонкой и толстой кишки, полученный при патологоанатомическом вскрытии 20 больных (15 женщин и 5 мужчин) в возрасте 25–75 лет (средний возраст составил  $45,5 \pm 2,8$ ) с клиническим диагнозом БК (фрагменты подвздошной кишки) в 12 случаях и ЯК (фрагменты ободочной кишки) – в восьми. Параллельно изучались образцы тонкой и толстой кишки, взятые во время резекции по поводу ЯК – 35 случаев и БК – пять случаев. Возраст больных 28–80 лет (средний возраст  $52,2 \pm 2,3$ ), мужчин – 16, женщин – 24. Продолжительность болезни с момента установления диагноза: 28 случаев (46,6%) – менее двух лет, 15 случаев (25%) – от двух до четырех лет, 11 случаев (18,3%) – от четырех до шести лет, шесть случаев (10%) – более шести лет. В качестве контроля изучали фрагменты тонкой и толстой кишки у 20 практически здоровых людей, погибших вследствие травм, сопоставимых по возрасту и полу.

Материал получали во Владивостокском патологоанатомическом бюро согласно Приказу МЗ России № 354н от 06.06.2013 г. «О порядке проведения патологоанатомических вскрытий», Приказу МЗ РФ № 179н от 24.03.2016 г. «О правилах проведения патологоанатомических исследований» и Приказу Минздравсоцразвития РФ № 346н от 12.05.2010 г. «Порядок организации и производства судебно-медицинских экспертиз в государственных судебно-экспертных учреждениях Российской Федерации».

Иммуногистохимическое исследование проведено на материале ранних вскрытий (2 ч после констатации биологической смерти). Материал фиксировали в 10%-м нейтральном формалине на фосфатном буфере в течение 24 ч, после чего промывали в 0,1 М Na-фосфатном буфере (рН 7,2) с 6–7-кратной сменой раствора, заливали в парафин по общепринятой методике. Срезы толщиной 10 мкм монтировали на предмет-

ные стекла, депарафинировали и инкубировали с мышиными моноклональными первичными антителами против виллина, p53, Bcl-2, PUMA (Abcam, США), разведенными в отношении 1 : 200 в фосфатном буфере, содержащем Тритон X-100 и нормальную сыворотку козы, в течение ночи при комнатной температуре. После промывки срезы в течение 1 ч инкубировали в растворе биотинилированных вторичных антител против иммуноглобулина (Ig) G кролика, выработанных у козы, при разведении 1 : 100 (Vector Laboratories, США), а затем в растворе авидин-пероксидазного комплекса (Vectastain ABC Kit, Vector Laboratories, США). Срезы выдерживали в 0,03%-м растворе диаминобензидина и 0,01%-й перекиси водорода на фосфатном буфере в течение 10–20 мин, затем промывали, обезвоживали и заключали в бальзам по обычным правилам. В качестве контроля из среды исключали первичные антитела, окрашивание клеток отсутствовало. Часть срезов докрашивали гематоксилином и эозином.

Препараты просматривали в световом микроскопе AxioScore A1 (Carl Zeiss, Германия) и фотографировали с помощью цифровой камеры AxioCam ICc3 (Carl Zeiss, Германия). Количественный анализ данных проводили с помощью окуляр-морфометрической сетки при увеличении объектива  $\times 40$ . Значение каждого показателя вычисляли не менее чем в 20 полях зрения. Морфометрическую обработку полученных фотографий проводили с помощью пакета программ AxioVision 4.8.1. Относительную плотность клеток вычисляли в единице объема ткани (из расчета на  $0,01 \text{ мм}^2$ ) с учетом поправки на толщину среза и диаметр ядра. Статистический анализ результатов проводили с использованием пакета программ Statistica for Windows, версия 6.0. Данные количественного анализа представляли в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего  $M \pm m$ . Для оценки значимости полученных результатов применяли *t*-критерий Стьюдента, значение доверительного интервала  $p < 0,05$  считали статистически значимым.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В контрольной группе и непораженных отделах толстого и тонкого кишечника патологических изменений в структуре слизистой оболочки не наблюдалось. При исследовании локализации виллина и Bcl-2 иммунопозитивная реакция выявлялась преимущественно в энтероцитах крипт, в зоне пролиферации эпителия и немногочисленных клетках собственной пластинки. Топография

экспрессии p53 и PUMA имеет иной характер: экспрессия молекул наблюдается в клетках сое-

динительной ткани и небольшом количестве эпителия крипт (рис. 1).

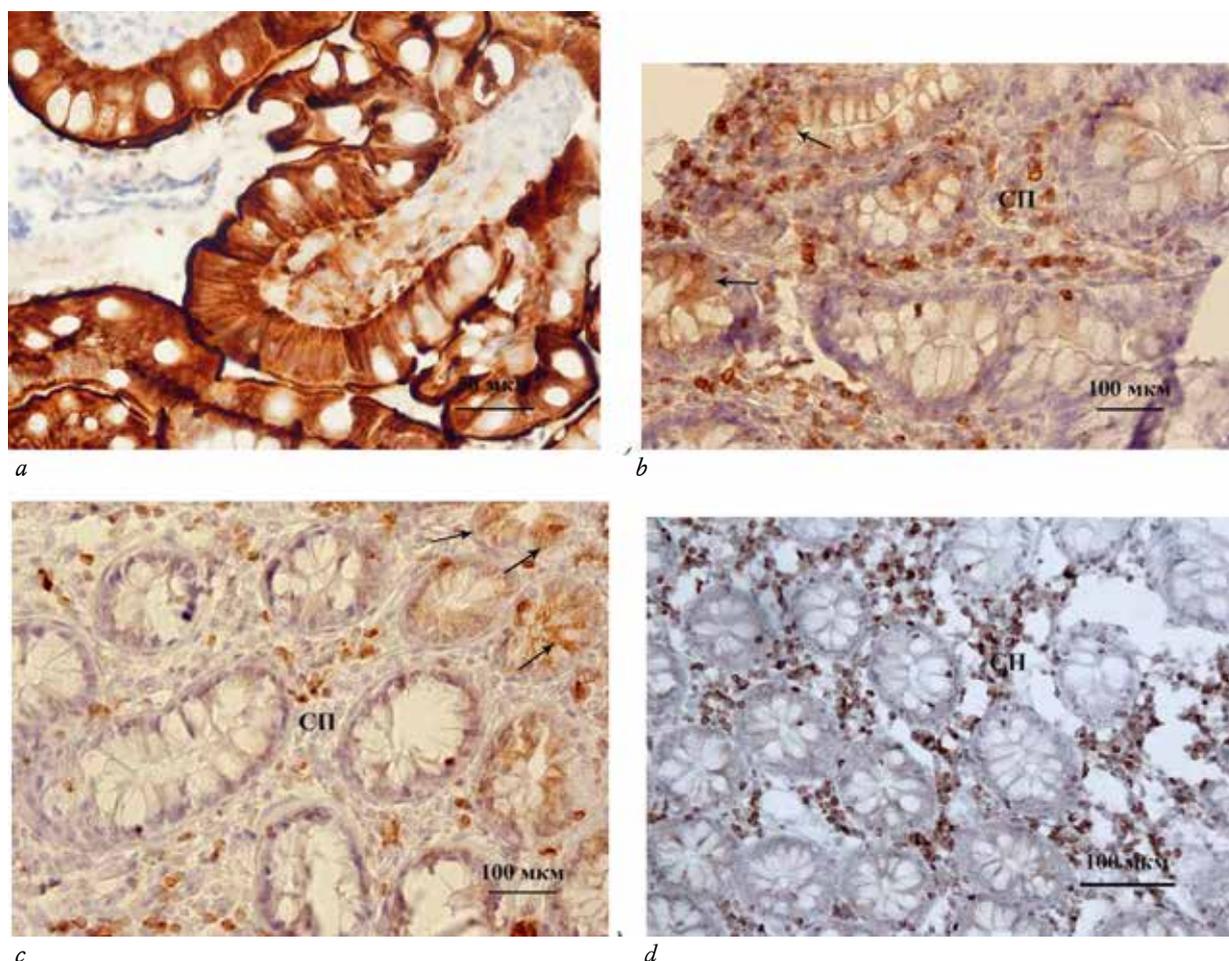


Рис. 1. Распределение villin-, Bcl-2-, p53-, PUMA-иммунореактивных клеток слизистой оболочки ободочной кишки человека: *a* – villin-позитивные энтероциты крипты; *b* – Bcl-2-иммунореактивные энтероциты в зоне пролиферации эпителия крипт (стрелки) и единичные клетки собственной пластинки (СП); *c* – экспрессия p53 в энтероцитах (стрелки) и клетках соединительной ткани СП; *d* – умеренное количество PUMA-иммунопозитивных клеток с преимущественной локализацией в СП. Препараты докрашены гематоксилином

Fig. 1. Distribution of villin-, Bcl-2-, p53-, PUMA-immunoreactive cells of the human colon mucosa: *a* – villin-positive cryptsite enterocytes; *b* – Bcl-2-immunoreactive enterocytes in the proliferation zone of the crypt epithelium (arrows) and single cells of the intrinsic plate; *c* – p53 expression in enterocytes (arrows) and cells of connective tissue of the self-lamina; *d* – moderate number of PUMA immunopositive cells with predominant localization in the intrinsic plate. Specimens are stained with hematoxylin

В 43 исследованных случаях (средний возраст  $48,8 \pm 4,7$ ) обнаруживались специфические для ЯК признаки: диффузное воспаление слизистой оболочки с преобладанием в воспалительном инфильтрате лимфоцитов и плазмочитов ( $n = 38$ ), синус-гистиоцитоз в лимфоузлах брыжейки ( $n = 17$ ), уплощение и истончение слизистой оболочки ( $n = 35$ ), деформация крипт ( $n = 21$ ), множество крипт-абсцессов ( $n = 22$ ), исчезновение бокаловидных клеток и появление в ямках крипт оксифильных клеток Панета ( $n = 29$ ) (рис. 2, *a, б*).

При исследовании параллельных срезов выявлялась слабая экспрессия villina и Bcl-2 с преимущественной локализацией в энтероцитах, а также в дискретной популяции клеток собственной пластинки слизистой оболочки. На участках толстой кишки, где отсутствует положительная иммунореактивность к villину и Bcl-2, отмечалась высокая экспрессия p53 и PUMA (рис. 3).

Во всех 17 случаях БК (средний возраст составил  $53,1 \pm 4,5$ ) наблюдались различной степени выраженности структурные изменения стенки

подвздошной кишки: фиброз ( $n = 9$ ), фокальное воспаление слизистой оболочки и подслизистой основы ( $n = 17$ ), изредка встречается и трансмуральное поражение стенки кишки ( $n = 5$ ), выражена мукоидизация ( $n = 11$ ), увеличение размеров инфильтратов с развитием большого количества лимфоидных фолликулов ( $n = 13$ ) (рис. 2, *в*, *з*). Единичные эпителиоидноклеточные

гранулемы без некроза ( $n = 6$ ) определяются в различных сегментах толстой кишки – как в зоне деструктивных поражений, так и в участках нормальной слизистой оболочки. На параллельных срезах отмечаются высокая иммунопозитивная реакция p53 и PUMA в эпителиоцитах и клетках собственной пластинки слизистой оболочки и слабая экспрессия виллина и Vcl-2 (рис. 4).

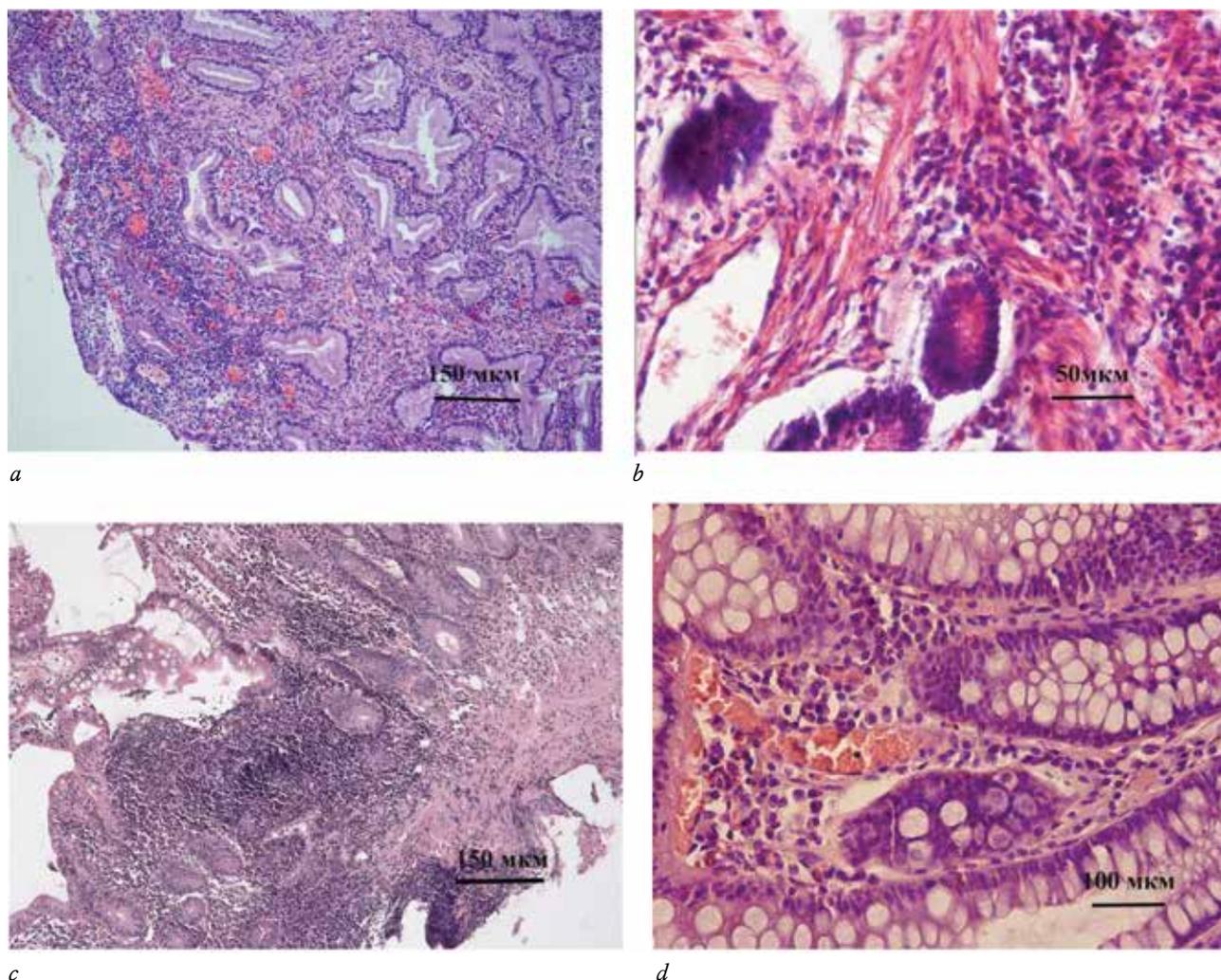


Рис. 2. Патоморфология слизистой оболочки кишечника при воспалительных заболеваниях кишечника: *a* – воспаление слизистой оболочки ободочной кишки, множественная деформация крипт при язвенном колите; *b* – крипт-абсцессы слизистой оболочки ободочной кишки при язвенном колите; *c* – трансмуральное воспаление стенки подвздошной кишки при болезни Крона; *d* – выраженная мукоидизация кишечного эпителия подвздошной кишки при болезни Крона. Окраска гематоксилином и эозином

Fig. 2. Pathomorphology of the intestinal mucosa in inflammatory bowel diseases: *a* – inflammation of the mucosa of the colon, multiple deformation of crypts with ulcerative colitis; *b* – crypt-abscesses of the mucous membrane of the colon with ulcerative colitis; *c* – transmural inflammation of the ileum wall in Crohn's disease; *d* – marked mucoidization of the intestinal epithelium of the ileum in Crohn's disease. Staining with hematoxylin and eosin

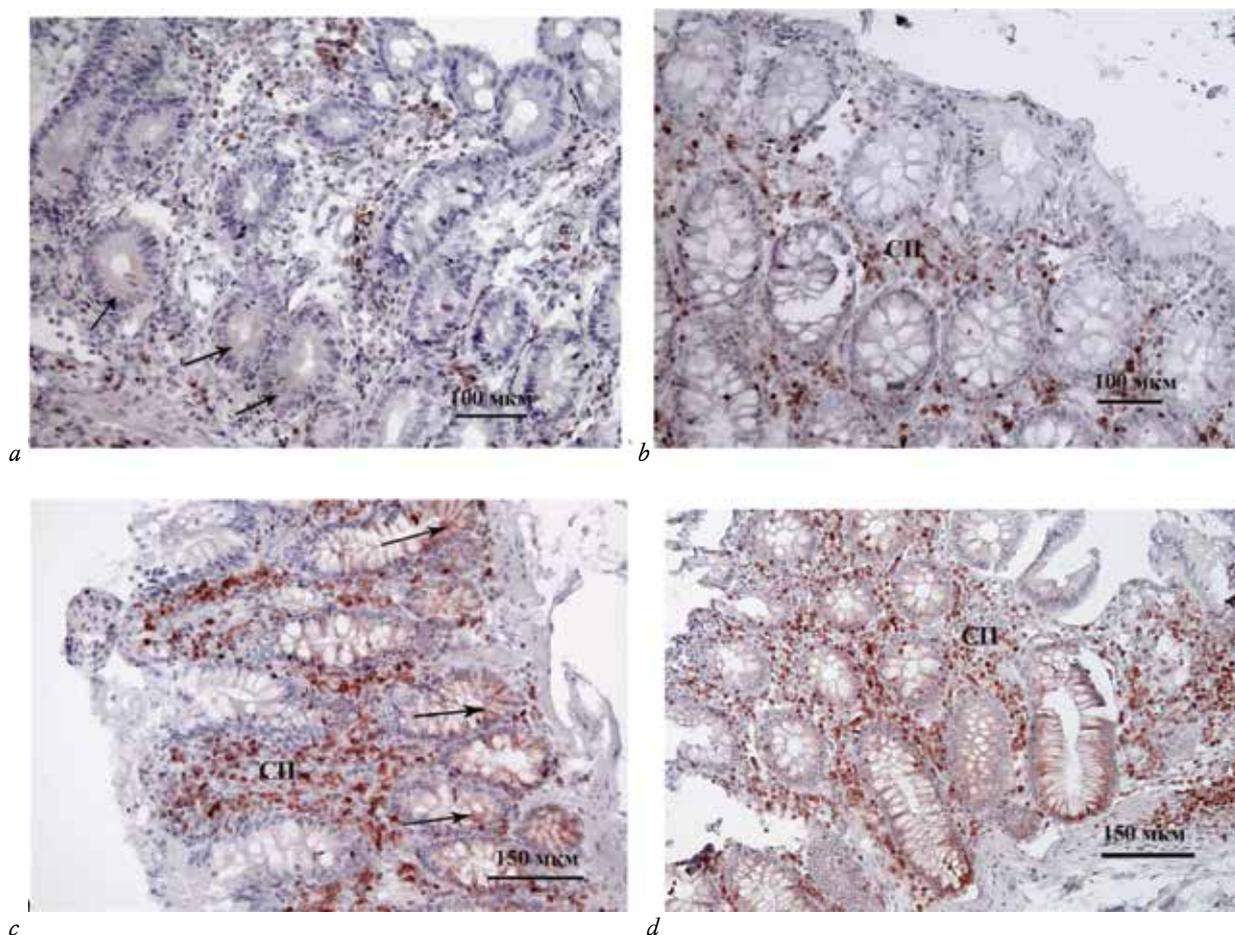


Рис. 3. Виллин-, Bcl-2-, p53-, PUMA-иммунореактивные клетки слизистой оболочки ободочной кишки при язвенном колите: *a* – слабая экспрессия виллина в энтероцитах (стрелки); *b* – маркируется небольшое количество Bcl-2-иммунопозитивных клеток СП; *c* – активная экспрессия p53 в энтероцитах (стрелки) и клетках собственной пластинки (СП); *d* – PUMA-позитивные клетки локализуются преимущественно в СП. Препараты докрашены гематоксилином

Fig. 3. Willin-, Bcl-2-, p53-, PUMA-immunoreactive cells of the mucosa of the colon with ulcerative colitis: *a* – weak expression of villin in enterocytes (arrows); *b* – a small number of Bcl-2 immunopositive cells of the intrinsic plate (SP) is labeled; *c* – active expression of p53 in enterocytes (arrows) and cells of self-lamina; *d* – PUMA-positive cells are localized mainly in their own plate. Specimens are stained with hematoxylin

Количественный анализ показал дифференцированный характер распределения маркированных клеток в разных отделах слизистой оболочки. При этом количество клеток, экспрессирующих p53/PUMA, значительно превалирует над численностью клеток, экспрессирующих виллин/Bcl-2 (таблица).

## ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе установлены динамика экспрессии про- и антиапоптотических факторов и их взаимосвязь с комплексом морфологических изменений в стенке тонкой и толстой кишки при болезни Крона и язвенном колите. Морфологические и иммуногистохимические данные по ис-

следованию аутопсийного и биопсийного материала свидетельствуют об идентичности изменений в слизистой оболочке кишечника при ЯК и БК. Это позволяет предполагать общие механизмы патоморфогенеза ВЗК, по-видимому, аутоиммунного происхождения [7–9].

Хроническое неинфекционное воспаление кишечника характеризуется повышенным апоптозом энтероцитов. Количественная оценка исследованных маркеров в аутопсийном и биопсийном материале продемонстрировала примерно сходные результаты. Установленный факт, с одной стороны, указывает на минимальные посмертные изменения исследованных тканей, а с другой – на одинаковую вовлеченность регуляторных молекул в патогенез ВЗК.

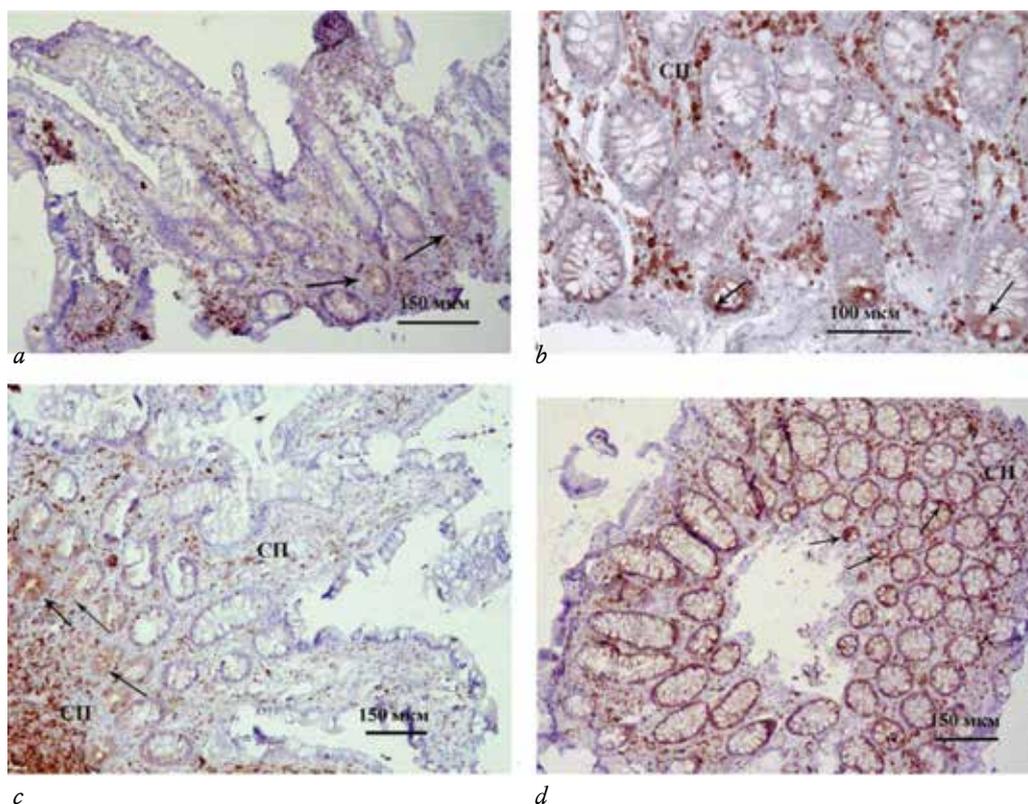


Рис. 4. Виллин-, Bcl-2-, p53-, PUMA-иммунореактивные клетки слизистой оболочки подвздошной и ободочной кишки при болезни Крона: *a* – слабая экспрессия виллина в энтероцитах крипт подвздошной кишки (стрелки); *b* – редкие Bcl-2-позитивные энтероциты (стрелки) и клетки СП подвздошной кишки; *c* – p53-иммунореактивные клетки эпителия (стрелки) и СП подвздошной кишки; *d* – PUMA-реактивные энтероциты (стрелки) и клетки СП ободочной кишки. Препараты докрашены гематоксилином

Fig. 4. Willin-, Bcl-2-, p53-, PUMA-immunoreactive cells of the ileum and colon of the Crohn's disease: *a* – weak expression of villin in enterocytes of ileum crypt (arrows); *b* – rare Bcl-2-positive enterocytes (arrows) and cells of the own plate (SP) of the ileum; *c* – p53-immunoreactive cells of the epithelium (arrows) and intrinsic plate of the ileum (SP); *d* – PUMA-reactive enterocytes (arrows) and cells of the own plate of the colon. Specimens are stained with hematoxylin

Т а б л и ц а

Плотность виллин-, Bcl-2-, p53-, PUMA-иммунореактивных эпителиальных клеток в 0,01 мм <sup>2</sup> слизистой оболочки кишечника, $M \pm m$										
Маркер	Материал	Контроль <i>n</i> = 20				БК <i>n</i> = 17	ЯК <i>n</i> = 43			
		ПК <i>n</i> = 8	ВО <i>n</i> = 4	ПО <i>n</i> = 5	НО <i>n</i> = 3	ПК <i>n</i> = 17	ВО <i>n</i> = 12	ПО <i>n</i> = 14	НО <i>n</i> = 17	
Виллин	аутопсия	8,7 ± 1,7	12,6 ± 1,4	9,3 ± 1,3	9,6 ± 1,3	3,1 ± 0,7*	4,8 ± 1,3*	2,5 ± 1,9*	3,8 ± 1,8*	
	биопсия	–	–	–	–	2,7 ± 0,5♦	2,7 ± 0,4■	1,9 ± 0,4■	2,3 ± 0,2■	
Bcl-2	аутопсия	18,0 ± 2,7	15,4 ± 3,3	13,7 ± 2,3	21,0 ± 3,4	5,2 ± 1,6*	1,9 ± 0,3*	5,0 ± 2,2*	1,8 ± 0,3*	
	биопсия	–	–	–	–	3,3 ± 0,4♦	1,7 ± 0,2■	2,7 ± 0,5■	1,3 ± 0,2■	
p53	аутопсия	5,3 ± 0,8	7,2 ± 1,3	7,6 ± 1,4	3,2 ± 0,3	25,1 ± 8,3*	26,1 ± 1,7*	22,1 ± 1,9*	24,2 ± 5,2*	
	биопсия	–	–	–	–	27,3 ± 2,4♦	36,1 ± 4,7■	31,2 ± 3,4■	23,2 ± 3,8■	
PUMA	аутопсия	3,0 ± 0,3	6,1 ± 1,2	4,6 ± 0,7	6,6 ± 1,3	28,2 ± 1,8*	18,9 ± 4,1*	21,7 ± 1,9*	18,3 ± 6,2*	
	биопсия	–	–	–	–	21,8 ± 3,3♦	26,5 ± 4,6■	19,3 ± 2,7■	28,3 ± 4,6■	

П р и м е ч а н и е. ПК – подвздошная кишка, ВО – восходящая ободочная кишка, ПО – поперечная ободочная кишка, НО – нисходящая ободочная кишка. \* отличие от величины соответствующего показателя в группе «Контроль» статистически значимо при  $p < 0,05$ . ♦ отличие от величины соответствующего показателя в группе «БК» (аутопсия) статистически значимо при  $p < 0,05$ . ■ отличие от величины соответствующего показателя в группе «ЯК» (аутопсия) статистически значимо при  $p < 0,05$ .

Во всех исследованных случаях отмечается снижение численности виллин-иммунопозитивных клеток и их способности нарабатывать Bcl-2. В энтероцитах виллин ассоциирован с цитоскелетом микроворсинок и выступает основным регуляторным фактором поддержания целостности актиновых микрофиламентов [6, 10]. При апоптозе возникает реорганизация актина, который становится мишенью каспазы-3. В результате запуска процесса происходят распад актиновых филаментов и апоптотическая фрагментация мембран [11]. Уменьшение количества виллина предрасполагает к апоптозу кишечного эпителия с последующим развитием хронического воспаления [6, 12].

Эпителиальные клетки слизистой оболочки кишечника постоянно обновляются. Этот процесс включает миграцию клеток из кишечных крипт к верхушке ворсинок. Наибольшая экспрессия виллина наблюдается на апикальном домене эпителия, указывая на полярность. Морфологическая потеря полярности клетками кишечного эпителия в случаях отсутствия виллина является одним из наиболее значительных индикаторов дисплазии и неоплазии [9, 13].

Таким образом, иммуноцитохимическую экспрессию виллина можно рассматривать как показатель устойчивости энтероцитов к инициирующим апоптоз факторам. По нашим данным, во всех исследованных случаях ВЗК плотность р53- и PUMA-иммунореактивных клеток примерно одинакова, что может указывать на однотипное участие апоптоза в патоморфогенезе этих заболеваний. Обнаруженный в данном исследовании комплекс морфологических признаков воспаления слизистой оболочки кишечника с преобладанием в инфильтрате лимфоцитов, плазмочитов и тучных клеток указывает на наличие иммунного компонента. Разнообразную клеточную инфильтрацию дополняет, очевидно, экспрессия провоспалительных цитокинов, в частности TNF, что способствует хронизации процесса и усугублению структурных изменений стенки кишечника, приводящих к дисплазии и неоплазии [14–16].

Патоморфогенез рецидивирующего воспаления и его хронизация сопровождаются закономерными изменениями интенсивности и характера апоптоза [17, 18]. Известно, что при активной экспрессии Bcl-2 в клетках непораженных отделов толстого и тонкого кишечника отмечается низкая активность проапоптотической молекулы р53 [1, 14]. При воспалении слизистой оболочки, напротив, резко возрастает экспрессия р53 и достоверно снижается экспрессия Bcl-2, это неизменно вызывает высокоую апоптотическую ак-

тивность клеток слизистой оболочки кишечника, что подтвердили наши исследования. Кроме того, активированный р53 способен репрессировать протоонкоген Bcl-2, а Bcl-2, в свою очередь, угнетает проапоптотическую функцию р53 [8, 19].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Патоморфогенез болезни Крона и язвенного колита связан с нарушением баланса пролиферации и запрограммированной гибели клеток. Хронизация рецидивирующего воспаления сопровождается увеличением экспрессии проапоптотических факторов р53 и PUMA и снижением антиапоптотических факторов Bcl-2 и виллина в слизистой оболочке кишечника. Регуляция экспрессии этих факторов может представлять мишень для прецизионной фармакологической коррекции данных нарушений.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ И ВКЛАД АВТОРОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## ВКЛАД АВТОРОВ

Матвеева Н.Ю. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации. Матвеев Ю.А. – обоснование рукописи, анализ и интерпретация данных. Калиниченко С.Г. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации. Едранов С.С. – обоснование рукописи, анализ и интерпретация данных. Каминский Ю.В. – разработка концепции и дизайна, проверка критически важного интеллектуального содержания.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

## СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено междисциплинарным комитетом по этике ТГМУ (протокол № 8 от 27.04.2015 г.).

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Günther C., Neumann H., Neurath M., Becker C. Apoptosis, necrosis and necroptosis: cell death regulation in the intestinal epithelium. *Gut*. 2013; 62 (7): 1062–1071. DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301364.
- Falkhoury M., Negruli R., Mooranean A., Al-Salami H. Inflammatory bowel disease: clinical aspects and treatments falami. *J. of Inflamm. Research*. 2014; 7: 113–120. DOI: 10.2147/JIR.S65979.

3. Dagenais M., Douglas T., Saleh M. Role of programmed necrosis and cell death in intestinal inflammation. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2014; 30 (6): 566–575. DOI: 10.1097/MOG.000000000000117.
4. Калиниченко С.Г., Матвеева Н.Ю. Морфологическая характеристика апоптоза и его значение в нейрогенезе. *Морфология.* 2007; 131 (2): 16–28. [Kalinichenko S.G., Matveeva N.Ju. Morphological characteristics of apoptosis and its significance in neurogenesis. *Morfologija – Neuroscience and Behavior Physiology.* 2007; 131 (2): 16–28 (in Russ.)].
5. Матвеева Н.Ю. Апоптоз: морфологические особенности и молекулярные механизмы. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2003; 4: 12–16. [Matveeva N.Ju. Apoptosis: morphologic features and molecular mechanisms. *Tihookeanskij medicinskij zbornal – Pacific Medical Journal.* 2003; 4: 12–16 (in Russ.)].
6. Wang Y., Kamalakkannan S., Siddigi M., Sudeep P., Tomar A., Khurana S. A novel role for villin in intestinal epithelial cell survival. *The J. of Biology Chemistry.* 2008; 283 (14): 9454–9464. DOI:10.1074/jbc.M707962200.
7. Fonsca-Gamarillo G., Yamamoto-Furusho J. Immunoregulatory pathways involved in inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis.* 2015; 21 (9): 2188–2193. DOI: 10.1097/MIB.0000000000000477.
8. Billmeier U., Dieterich W., Neurath M.F., Atreya R. Molecular mechanism of action of anti-tumor necrosis factor antibodies in inflammatory bowel diseases. *World J. Gastroenterol.* 2016; 22 (42): 9300–9313.
9. Seidelin J. Regulation of antiapoptotic and cytoprotective pathways in colonic epithelial cells in ulcerative colitis. *Scand J. Gastroenterol.* 2016; 51: 1–29. DOI: 10.3109/00365521.2016.1101245.
10. Christophi G.P., Rong R., Holtzapple P.G., Massa P.T., Landas S.K. Immune markers and differential signaling networks in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Inflamm. Bowel Diseases.* 2012; 18 (12): 2342–2356. DOI: 10.1002/ibd.22957.
11. Chen L., Park S.M., Turner J.R., Peter M.E. Cell death in the colonic epithelium during inflammatory bowel diseases: CD95/Fas and beyond. *Inflamm. Bowel Dis.* 2010; 16 (6): 1071–1076. DOI: 10.1002/ibd.21191.
12. Nunes T., Bernardazzi C., de Souza H.S. Cell death and inflammatory bowel diseases: apoptosis, necrosis, and autophagy in the intestinal epithelium. *Biomed. Res. Int.* 2014; 2014: 218493. DOI: 10.1155/2014/218493.
13. Каминский Ю.В., Матвеев Ю.А., Матвеева Н.Ю. Патоморфогенез идиопатических колитов. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2016; 3: 42–45. DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2016.3.42–45. [Kaminskij Ju.V., Matveev Ju.A., Matveeva N.Ju. Pathomorphogenesis of idiopathic colitis. *Tihookeanskij medicinskij zbornal – Pacific Medical Journal.* 2016; 3: 42–45 (in Russ.)].
14. Dirisina R., Katzman R., Goretsky T., Managlia E., Mittal N., Williams D., Qiu W., Yu J., Handel N., Zhang L., Barrett T. p53 and PUMA independently regulate apoptosis of intestinal epithelial cells in patients and mice with colitis. *Gastroenterol.* 2011; 141 (3): 1036–1045. DOI: 10.1053/j.gastro.2011.05.032.
15. Qin W., Bin Wu, Wang X., Buchanan M., Regueiro M., Hartman D., Schoen R., Yu J., Zhang L. Puma-mediated intestinal epithelial apoptosis contributes to ulcerative colitis in human and mice. *The J. of Clinical Investigation.* 2011; 121 (5): 1722–1732. DOI: 10.1172/JCI42917.
16. Ślebioda T., Kmiec Z. Tumor necrosis factor superfamily members in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Mediators of Inflammation.* 2014; 2014: 325129. DOI: 10.1155/2014/325129.
17. Dubikov A.I., Kalinichenko S.G. Small molecules regulating apoptosis in the synovium in rheumatoid arthritis. *Scand J. Rheumatol.* 2010; 39 (5): 368–372. DOI: 10.3109/03009741003742771.
18. Popp C., Nichita L., Voiosu T., Bastian A., Cioplea M., Micu G., Pop G., Sticlaru L., Bengus A., Voiosu A., Mateescu R.B. Expression profile of p53 and p21 in large bowel mucosa as biomarkers of inflammatory-related carcinogenesis in ulcerative colitis. *Disease Markers.* 2016; 2016: 3625279. DOI: 10.1155/2016/3625279.
19. Horvath B., Liu G., Wu X., Lai K., Shen B., Liu X. Overexpression of p53 predicts colorectal neoplasia risk in patients with inflammatory bowel disease and mucosa changes indefinite for dysplasia. *Gastroenterol. Report.* 2015; 3 (4): 344–349. DOI: 10.1093/gastro/gov022.

Поступила в редакцию 06.06.2017

Утверждена к печати 06.02.2018

Матвеева Наталья Юрьевна, д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, ТГМУ, г. Владивосток.

Матвеев Юрий Андреевич, ассистент кафедры патологической анатомии и судебной медицины, ТГМУ, г. Владивосток.

Калиниченко Сергей Георгиевич, д-р мед. наук, профессор, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, ТГМУ, г. Владивосток.

Едранов Сергей Сергеевич, д-р мед. наук, профессор, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, ТГМУ, г. Владивосток.

Каминский Юрий Валентинович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патологической анатомии и судебной медицины, ТГМУ, г. Владивосток.

(✉) Матвеева Наталья Юрьевна, e-mail: nymatveeva@mail.ru.

УДК 616.34-002-018.7-091.818

DOI: 10.20538/1682-0363-2018-1-121-129

For citation: Matveeva N.Yu., Matveev Yu.A., Kalinichenko S.G., Edranov S.S., Kaminskiy Yu.V. The role of apoptosis of enterocytes in inflammatory bowel diseases. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018; 17 (1): 121–129.

## The role of apoptosis of enterocytes in inflammatory bowel diseases

Matveeva N.Yu., Matveev Yu.A., Kalinichenko S.G., Edranov S.S., Kaminskiy Yu.V.

*Pacific State Medical University*  
2, Ostrakova Av., Vladivostok, 690002, Russian Federation

### ABSTRACT

**Purpose.** Study the topography of cells, expressing villin, p53, Bcl-2, and PUMA in the intestinal mucosa in the non-infectious colitis.

**Materials and methods.** We studied the morphology and localization of the immunoreactive markers of apoptosis in small intestine and bowel with ulcerative colitis and Crohn's disease, using the material of 20 autopsies and 40 biopsies.

**Results.** In the focus of the specific inflammation in the mucosa, we discovered numerous cells, in various degrees expressing anti- and proapoptotic molecules. In the control material, the antiapoptotic factors (villin and Bcl-2) localized mainly in the enterocytes, while the proapoptotic factors (p53 and PUMA) were expressed in the cells of the lamina propria of the mucosa. The reverse correlation between the number of cells expressing p53/PUMA and the villin/Bcl-2 positive cells had been discovered. At the same time proapoptotic molecules were discovered in the enterocytes and in the cells of the lamina propria of intestinal mucosa.

**Conclusion.** The obtained data points to the important role of apoptosis in pathomorphogenesis of chronic non-infectious intestinal inflammation. The chronization of the process and the nature of the intestinal damage in the UC and CD are connected with balance of the regulative anti- and proapoptotic factors. The cells, expressing those factors, demonstrate the reverse number dependence.

**Key words:** ulcerative colitis, Crohn's disease, p53, Bcl-2, PUMA, villin, non-infectious inflammation.

### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

### SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

### CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The study approved by the ethics committee under the Pacific State Medical University (Protocol No. 8 of April 27, 2015).

Received 06.06.2017

Accepted 06.02.2018

Matveeva Natalia Yu., DM, Head of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation.

Matveev Yuri A., Assistant, Department Pathology and Forensic Medicine, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation.

Kalinichenko Sergey G., DM, Professor, Department of Histology, Cytology and Embryology, Pacific State Medical University, Vladivostok Russian Federation.

Edranov Sergey S., DM, Professor, Department of Histology, Cytology and Embryology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation.

Kaminskiy Yuri V., DM, Head of the Department Pathology and Forensic Medicine, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation.

✉ Matveeva Natalia Yu., e-mail: nymatveeva@mail.ru.