

- thology and genetics of tumours of the lung, pleura, thymus and heart. Lyon: IARC Press; 2004.
20. *Ploton D., Menager M., Jeannesson P., Himber G., Pigeon F., Adnet J.J.* Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level. *Histochem. J.* 1986; 18(1): 5—14.
 21. *Aubele M., Biesterfeld S., Derenzini M., Hufnagl P., Martin H., Ofner D.* et al. Guidelines of AgNOR quantitation. *Zbl. Pathol.* 1994; 140(1): 107—8.
 22. *Derenzini M., Trere D.* Standardization of interphase Ag-NOR measurement by means of an automated image analysis system using lymphocytes as an internal control. *J. Pathol.* 1991; 165(4): 337—42.
 23. *Ceccarelli C., Trere D., Santini D., Taffurelli M., Chieco P., Derenzini M.* AgNORs in breast tumours. *Micron* 2000; 31(2): 143—9.
 24. *Giuffre G., Mormandi F., Barresi V., Bordi C., Tuccari G., Barresi G.* Quantity of AgNORs in gastric endocrine carcinoid tumours as a potential prognostic tool. *Eur. J. Histochem.* 2006; 50(1): 45—50.
 25. *Kobyakov D.S.* Comparative analysis of the proliferative activity of the epithelial cells of adenomas and colon cancer. *Dr. med. sci. Diss. Tomsk; 2006* (in Russian).
 26. *Kaneko S., Ishida T., Sugio K., Yokoyama H., Sugimachi K.* Nucleolar organizer regions as a prognostic indicator for stage I non-small cell lung cancer. *Cancer Res.* 1991; 51(15): 4008—11.
 27. *Lorenzato M., Abboud P., Lechki C., Browarnyj F., O'Donohue M.F., Ploton D.* et al. Proliferation assessment in breast cancer: a double-staining technique for AgNOR quantification in MIB-1 positive cells especially adapted for image cytometry. *Micron.* 2000; 31(2): 151—9.

Поступила 26.04.13

© И.В. БЕРЕЗОВСКИЙ, С.Д. ФОКЕЕВ, 2013

УДК 616.37-006.6-092:612.112.91-092.9

И.В. Березовский, С.Д. Фокеев

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА ЭЛАСТАЗЫ НЕЙТРОФИЛОВ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ МЫШЕЙ ПРИ РАКЕ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

ГБОУ ВПО "Алтайский государственный медицинский университет" Минздрава России, 656038, г. Барнаул

Ингибитор эластазы нейтрофилов (ZD0892) повышает выживаемость мышей в эксперименте при раке поджелудочной железы. Этот эффект усиливается при совместном применении ZD0892 с кселодой (антиметаболит, противоопухолевый препарат для приема внутрь, производное фторпиримидина карбамата) за счет торможения роста первичной опухоли поджелудочной железы.

Ключевые слова: рак поджелудочной железы, выживаемость, ингибитор эластазы нейтрофилов, кселода.

THE INFLUENCE OF NEUTROPHIL ELASTASE INHIBITORS ON MICE WITH THE PANCREATIC CANCER SURVIVAL DURING EXPERIMENT.

I.V. Berezovsky, S. D. Fokeev

The Altai State of Medical University of the Ministry of Health of Russia, 656038, Barnaul, Russian Federation

Inhibitor neutrophil elastase (ZD0892) increases mice survival with the pancreatic cancer in experiment. This effect amplifies at application of ZD0892 with xelody (antimetabolite, antineoplastic drug, fluoropyrimidine carbamate derivative), which inhibits primary tumor growing in the pancreatic cancer.

Key words: pancreatic cancer, survival, inhibitor neutrophil elastase, xelody.

Одной из проблем рака поджелудочной железы являются поздняя диагностика и его выявление в запущенных стадиях, что отражается на низком проценте радикально пролеченных больных [1]. Все это, а также раннее метастазирование первичной опухоли при отсутствии клинических проявлений на начальных стадиях заболевания предрасполагают к плохому прогнозу [2]. Имеются данные, что на развитие злокачественной опухоли влияют нейтрофилы человека [3, 6]. Нейтрофилы стимулируют развитие рака поджелудочной железы, но чаще всего это действие они оказывают на более поздних стадиях заболевания [3—5].

Цель исследования — изучить влияние ингибитора эластазы нейтрофилов на выживаемость мышей с раком поджелудочной железы в эксперименте.

Для корреспонденции: *Фокеев Сергей Дмитриевич* — д-р мед. наук, проф. каф. факультетской хирургии им. проф. И.И. Неймарка с курсом хирургии ФПК и ППС; 656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40, e-mail: fokeev.sergey@yandex.ru.

Материал и методы

Для определения роли ингибитора эластазы нейтрофилов в прогрессии панкреатической аденокарциномы использовалась специальная модель протоковой аденокарциномы поджелудочной железы — 6606 PDA у мышей. В эксперименте использованы 60 животных в возрасте 8—12 нед массой 20—25 г. Мышам в стерильных условиях проводился наркоз (Pentobarbitalnarkose — 60 мг/кг), они фиксировались (рис. 1), затем выполнялась срединная лапаротомия, выделялась головка поджелудочной железы (рис. 2) и непосредственно в нее вводили 250 тыс. клеток протоковой аденокарциномы поджелудочной железы — 6606 PDA (рис. 3).

После введения опухолевых клеток лапаротомная рана ушивалась. Через 2 нед после инъекции опухолевых клеток в головку поджелудочной железы с помощью специальной иглы в желудок ежедневно в одной и той же дозе вводились препараты — физиологический раствор, ингибитор эластазы нейтрофилов, кселода и

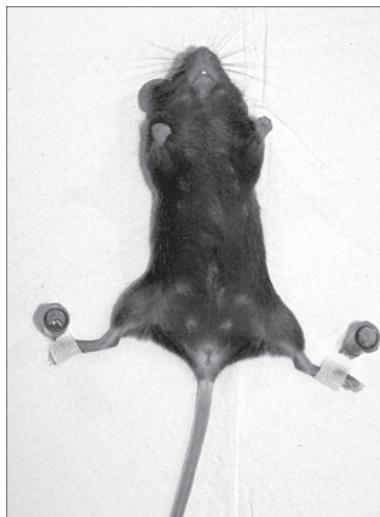


Рис. 1. Фиксация мыши к операционному столу под наркозом.



Рис. 2. Срединная лапаротомия, мобилизация головки поджелудочной железы.

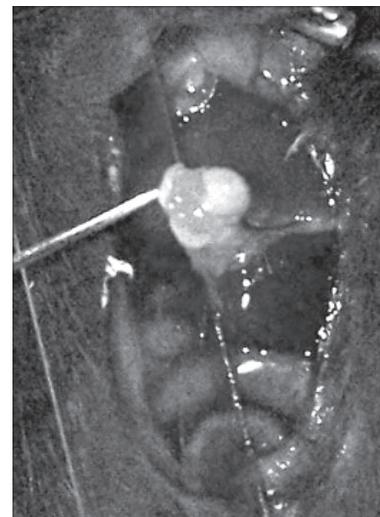


Рис. 3. Введение в головку поджелудочной железы 250 тыс. клеток протоковой аденокарциномы поджелудочной железы (6606 PDA).

их сочетание. У животных ежедневно на протяжении 110 дней исследовалась брюшная полость на предмет пальпаторно определяемой опухоли, а также изучалась их выживаемость.

Для оценки эффективности влияния ингибитора эластазы нейтрофилов на выживаемость мышей со злокачественной опухолью поджелудочной железы в эксперименте все животные были разделены на 2 группы (табл. 1).

1-я группа (сравнения) — 15 мышей. В этой группе животным вводили в желудок физиологический раствор (NaCl).

2-я группа (основная) — 45 животных. Она была разделена на 3 подгруппы:

подгруппа А — 15 мышей, которым вводили в желудок ZD0892;

подгруппа В — 15 животных, которым вводили в желудок кселоду;

подгруппа С — 15 мышей, которым вводили в желудок ZD0892 и кселоду.

Результаты и обсуждение

При изучении выживаемости животных в эксперименте в группе сравнения к 30-м суткам наблюдения в живых оставалось 80% мышей, что меньше на 15,6%, чем в основной группе, — 95,6% ($p > 0,1$). Статистически значимые различия появлялись к 60-м суткам наблюдения: в группе сравнения выживаемость отмечена у 33,3% мышей, что меньше на 24,5%, чем в основной группе, — у 57,8% ($p < 0,05$), и эта тенденция сохранялась к 90-м суткам наблюдения — в группе сравнения она была у 6,7% экспериментальных животных, что было меньше на 22,2%, чем в основной группе, — у 28,9% ($p < 0,05$), к 110-м суткам наблюдения выживаемость была только в основной группе — у 2,2% мышей.

Интерес представляет выживаемость экспериментальных животных в основной группе в зависимости от того, какие препараты они получали.

В подгруппе А к 30-м суткам наблюдения выживаемость имела место у 100% мышей, что больше на 20%, чем в группе сравнения, — у 80% ($p > 0,05$). Различия имели место с подгруппой В, выживаемость в которой была на 13,3% меньше, чем в подгруппе А, и составляла 86,7% ($p > 0,1$), статистических различий выживаемости между подгруппами А и С не наблюдалось. К 60-м суткам выживаемость в подгруппе А составляла 73,3%, что было боль-

ше на 40%, чем в группе сравнения, — 33,3% ($p < 0,05$; различия статистически значимы), и больше на 33,3%, чем в подгруппе В, — 40% ($p > 0,05$) и на 13,3%, чем в подгруппе С, — 60% ($p > 0,25$). Выживаемость к 90-м суткам наблюдения за животными была в подгруппе А 33,3%, что больше на 26,6%, чем в группе сравнения, — 6,7% ($p > 0,05$) и на 20%, чем в подгруппе В, — 13,3% ($p > 0,1$), но меньше на 6,7%, чем в подгруппе С, — 40% ($p > 0,5$).

В подгруппе В выживаемость к 30-м суткам наблюдения составляла 86,7%, что было больше на 6,7%, чем в группе сравнения, — 80% ($p > 0,5$), но меньше на 13,3%, чем в подгруппах А и С, где выживаемость составляла 100% ($p > 0,1$). К 60-м суткам выживаемость в подгруппе В была 40%, что было больше на 6,7%, чем в группе сравнения, — 33,3% ($p > 0,2$), но меньше на 33,3%, чем в подгруппе А, — 73,3% ($p > 0,05$) и на 20%, чем в подгруппе С, — 60% ($p > 0,25$). К 90-м суткам наблюдения за экспериментальными животными выживаемость в подгруппе В составляла 13,3%, что больше на 6,6% ($p > 0,5$), чем в группе сравнения, но меньше на 20%, чем в подгруппе А, — 33,3% ($p > 0,1$) и на 26,7%, чем в подгруппе С, — 40% ($p > 0,05$).

Выживаемость в подгруппе С к 30-м суткам наблюдения была 100%, что больше на 20%, чем в группе сравнения, — 80% ($p > 0,05$), к 60-м суткам она соответствовала 60%, что больше, чем в группе сравнения, на 26,7%, и составляла 33,3% ($p > 0,1$), к 90-м суткам выжи-

Таблица 1

Характеристика групп экспериментальных животных

Группа животных	Число животных в зависимости от проводимого лечения	Вводимые <i>per os</i> препараты
1-я (сравнения)	15	0,9% NaCl
2-я (основная):	45	
в том числе в подгруппах:		
А	15	ZD0892
В	15	Кселода
С	15	ZD0892 и кселода
Всего...	60	

Выживаемость животных в группах эксперимента

Группа и подгруппы животных	n	Сутки наблюдения							
		до 30		60		90		110	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Сравнения (1)	15	12	80,0	5	33,3	1	6,7	—	—
Основная (2)	45	43	95,6	26	57,8	13	28,9	1	2,2
p_{1-2}			>0,1		>0,05		<0,05		
подгруппа А	15	15	100	11	73,3	5	33,3	—	—
p_{1-A}			>0,05		<0,05		>0,05		
подгруппа В	15	13	86,7	6	40	2	13,3	—	—
p_{1-B}			>0,5		>0,2		>0,5		
p_{A-B}			>0,1		>0,05		>0,1		
подгруппа С	15	15	100	9	60	6	40	1	6,7
p_{1-C}			>0,05		>0,1		<0,05		
p_{A-C}			>0,5		>0,25		>0,5		
p_{B-C}			>0,1		>0,25		>0,05		
Всего ...	60	55	91,7	31	51,7	14	23,3	1	1,7

ваемость в подгруппе С составляла 40%, что оказалось больше на 33,3%, чем в группе сравнения, — 6,7% ($p < 0,05$), различия статистически значимы. К 110-м суткам выживаемость наблюдалась только в подгруппе С и составляла 6,7% (табл.2).

При исследовании брюшной полости выживших экспериментальных животных на предмет определяемой опухоли к 30-м суткам она пальпировалась в группе сравнения у 33,3% мышей, что было больше на 12,4%, чем в основной группе, — у 20,9% ($p > 0,25$). Эта тенденция усиливалась к 60-м суткам наблюдения; так, в группе сравнения она определялась у 60%, что было больше на 33,1%, чем в основной группе, — у 26,9% мышей ($p > 0,1$). К 90-м суткам у 100% экспериментальных животных определялась опухоль в брюшной полости, что было больше на 53,8%, чем в группе сравнения, — у 46,2% ($p < 0,002$), различия статистически значимы.

К 30-м суткам наблюдения за выжившими экспериментальными животными в основной группе, в подгруппе А, опухоль в брюшной полости определялась у 33,3% мышей, что было сопоставимо с группой сравнения — у 33,3%, но было больше на 2,5%, чем в подгруппе В, — у 30,8% ($p > 0,5$), в этот период времени опухоль в брюшной полости в подгруппе С пальпаторно не определялась — 0% ($p < 0,05$), различия статистически значимо. К 60-м суткам опухоль в брюшной полости в подгруппе А выявлена у 36,3% экспериментальных мышей, что было меньше на 23,7%, чем в группе сравнения, — у 60% ($p > 0,25$) и на 3%, чем в подгруппе В, — у 33,3% ($p > 0,25$), но значительно больше на 25,2%, чем в подгруппе С, — у 11,1% мышей ($p > 0,1$). К 90-м суткам наблюдения в подгруппе А опухоль в брюшной полости была выявлена у 60% мышей, что меньше на 40%, чем в группе сравнения, — у 100% ($p > 0,05$), что аналогично с подгруппой В — у 100% ($p > 0,25$) мышей, но значительно больше на 43,3%, чем в подгруппе С, — у 16,7% выживших мышей. В подгруппе В к 30-м суткам опухоль в брюшной полости выявлялась у 30,8% мышей, что было меньше на 2,5%, чем в группе сравнения, — у 33,3% ($p > 0,5$), но больше на 30,8%, чем в подгруппе С, — 0% ($p < 0,05$), различия статистически значимы. К 60-м суткам опухоль определяли у 33,3% экспериментальных мышей, что было меньше на 26,7%, чем в группе сравнения, — у 60%, но больше на 25,5%, чем в подгруппе С, — у 11,1% ($p > 0,25$). К 90-м суткам наблюдения опухоль в брюшной полости определялась в подгруппе В — у 100% мышей, что было идентично группе сравнения, но больше на 40%, чем в подгруппе А, — у 60% экспериментальных животных ($p > 0,25$) и на 83,3%, чем в подгруппе С, — у 16,7% мышей ($p < 0,001$), различия статистически значимы. В подгруппе С к 30-м суткам опухоль в брюшной полости у экспериментальных мы-

Таблица 3

Частота пальпаторно определяемой опухоли в брюшной полости среди выживших животных

Группа и подгруппы животных	Процент пальпаторно определяемой опухоли у мышей относительно выживших к этому сроку на этапах наблюдения, сут											
	до 30			к 60-м			к 90-м			к 110-м		
	выжили	абс.	%	выжили	абс.	%	выжили	абс.	%	выжили	абс.	%
Сравнения (1)	12	4	33,3	5	3	60	1	1	100	—	—	—
Основная (2)	43	0	20,9	26	7	26,9	13	6	46,2	1	—	—
p_{1-2}			>0,25			>0,1			<0,002			
подгруппа А	15	5	33,3	11	4	36,3	5	3	60	—	—	—
p_{1-A}			>0,5			<0,25			>0,05			
подгруппа В	13	4	30,8	6	2	33,3	2	2	100	—	—	—
p_{1-B}			>0,5			>0,25			>0,5			
p_{A-B}			>0,5			>0,5			>0,25			
подгруппа С	15	—	—	9	1	11,1	6	1	16,7	1	—	—
p_{1-C}			<0,05			>0,05			<0,001			
p_{A-C}			<0,05			>0,1			>0,1			
p_{B-C}			<0,05			>0,25			<0,001			
Всего ...	55	13	23,6	31	10	32,2	14	7	50	1	—	—

шей не определялась, но в группе сравнения она выявлена у 33,3% ($p < 0,05$), различия статистически значимы; к 60-м суткам опухоль в брюшной полости выявлена у 11,1% мышей, что было меньше на 48,9%, чем в группе сравнения, — у 60% ($p > 0,05$); к 90-м суткам это различие достигало 83,3%, в группе сравнения в этот период опухоль пальпировалась у выживших животных в 100% ($p < 0,001$), различия статистически значимы (табл. 3).

Таким образом, сочетание ингибитора эластазы нейтрофилов совместно с химиопрепаратом кселодой способно повышать выживаемость мышей с привитой протоковой аденокарциномой поджелудочной железы — 6606 PDA и замедлять рост первичной опухоли в брюшной полости у мышей в эксперименте.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лазарев А.Ф., Петрова В.Д., Перица Н.А., Секержинская Е.Л. Гемзар в паллиативном лечении больных с распространенным раком поджелудочной железы. В кн.: Актуальные вопросы онкогастроэнтерологии. Барнаул; 2003; т. 1: 200—2.
2. Loos M., Kleeff J., Friess H., Buchler M.W. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2008; 1138: 169.
3. Esposito I., Menicagli M., Funel N., Bergmann F., Boggi U., Mosca F., Bevilacqua G., Campani D. Inflammatory cells contribute to the generation of an angiogenic phenotype in pancreatic ductal adenocarcinoma. J. Clin. Pathol. 2004; 57: 630—6.
4. Wislez M., Antoine M., Rabbe N., Gounant V., Poulot V., Lavole A., Fleury-Feith J., Cadranet J. Neutrophils promote aerogenous spread of lung adenocarcinoma with bronchioloalveolar carcinoma features. Clin. Cancer Res. 2007; 13: 3518—27.
5. Klink M., Jastrzebska K., Nowak M., Bednarska K., Szpakowski M., Szylo K., Sulowska Z. Ovarian cancer cells modulate human blood neutrophils response to activation in vitro. Scand. J. Immunol. 2008; 68: 328—36.
6. Sun Z., Yang P. Role of imbalance between neutrophil elastase and alpha 1-antitrypsin in cancer development and progression. Lancet Oncol. 2004; 5: 182—90.

REFERENCES

1. Lazarev A.F., Petrova V.D., Perina N.A., Sekerzhinskaya E.L. Gemzar in palliative treatment of patients with a widespread pancreatic cancer. In: Topical issues of an onkogastroenterologiya. Barnaul. 2003; 1: 200—2 (in Russian).
2. Loos M., Kleeff J., Friess H., Buchler M. W. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2008; 1138: 169.
3. Esposito I., Menicagli M., Funel N., Bergmann F., Boggi U., Mosca F., Bevilacqua G., Campani D. Inflammatory cells contribute to the generation of an angiogenic phenotype in pancreatic ductal adenocarcinoma. J. Clin. Pathol. 2004; 57: 630—6.
4. Wislez M., Antoine M., Rabbe N., Gounant V., Poulot V., Lavole A., Fleury-Feith J., Cadranet J. Neutrophils promote aerogenous spread of lung adenocarcinoma with bronchioloalveolar carcinoma features. Clin. Cancer Res. 2007; 13: 3518—27.
5. Klink M., Jastrzebska K., Nowak M., Bednarska K., Szpakowski M., Szylo K., Sulowska Z. Ovarian cancer cells modulate human blood neutrophils response to activation in vitro. Scand. J. Immunol. 2008; 68: 328—36.
6. Sun Z., Yang P. Role of imbalance between neutrophil elastase and alpha 1-antitrypsin in cancer development and progression. Lancet Oncol. 2004; 5: 182—90.

Поступила 26.04.13

© А.П. КОЛЕСНИК, 2013

УДК 616.24-006-04-085.277.3-091.8-078.33

А.П. Колесник

ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ HER2-NEU В ПЕРВИЧНОЙ ОПУХОЛИ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ АДЬЮВАНТНОЙ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ С I—II СТАДИЕЙ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

Запорожский государственный медицинский университет, 69035, г. Запорожье, Украина

Рак легкого является "мировым лидером" в структуре заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований. Хирургическое лечение остается основным методом, который позволяет вылечить пациента. Однако у 50% больных после операции наступает прогрессирование заболевания, что связано с наличием микрометастазов уже на момент выполнения операции. В связи с этим необходимо определить группу больных, у которых будет эффективным использование адьювантной полихимиотерапии для улучшения выживаемости. Выделить эту группу пациентов возможно с помощью молекулярных прогностических маркеров. Целью нашего исследования было изучение эффективности адьювантной полихимиотерапии у больных с ранними стадиями немелкоклеточного рака легкого (НМКРЛ) в зависимости от экспрессии HER2-Neu в первичной опухоли. Оценка экспрессии HER2-Neu проведена у 243 больных. Гиперэкспрессия маркера выявлена у 70 (28,8%) пациентов, а отсутствие экспрессии HER2-Neu у 173 (71,2%) больных. Нами не выявлено связи между уровнем экспрессии HER2-Neu в первичной опухоли больных с ранними стадиями НМКРЛ, полом, возрастом пациентов, локализацией, гистологической формой и морфологической дифференцировкой опухоли, критерием Т. Однако отмечается, что у больных с N1 и II стадией НМКРЛ чаще встречается гиперэкспрессия HER2-Neu ($p=0,0001$ и $p=0,001$ соответственно). Кроме того, выявлено значительное ухудшение выживаемости больных с ранними стадиями НМКРЛ при наличии в первичной опухоли гиперэкспрессии HER2-Neu ($p < 0,0001$). У больных с отсутствием экспрессии HER2-Neu в опухоли наблюдается выраженный эффект от проведенной адьювантной полихимиотерапии, что позволяет индивидуализировать данный вид лечения и избежать необоснованного назначения токсической терапии.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, выживаемость, прогноз, адьювантная полихимиотерапия.