

висимости от проведенного анестезиологического пособия: тотальная внутривенная анестезия – ТВВА (пропофол) – 55 человек; комбинированная анестезия (изофлюран+ пропофол) – 83 пациента; комбинированная анестезия (севофлюран+ пропофол) – 85 пациентов и комбинированная внутривенно-эпидуральная анестезия (пропофол+эпидуральная анестезия) – 51 больной. Осуществлено иммунотипирование следующих форм иммуноцитов: CD3<sup>+</sup> — зрелые Т-лимфоциты (диагностикумы Beckman Coulter, № А07746); CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> — Т-хелперы (№ А07750); CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> — Т-супрессоры и киллеры (№ А07757); CD19<sup>+</sup> — В-лимфоциты (№ 6603859). Проведена реакция торможения миграции лимфоцитов с фитогемагглютинином.

**Результаты и обсуждение.** Показатель содержания общих лимфоцитов в крови имел определенную зависимость от проведенного анестезиологического пособия. Степень различий по нему у больных, оперированных под ТВВА, с контрольной группой составила 32,9%, при ингаляционной анестезии изофлюраном и севофлюраном показатель был примерно равным 20,5 и 19,0% и при комбинированной анестезии оказался наименьшим – 12,4% ( $p < 0,01$ ,  $p < 0,05$ ,  $p < 0,05$ ;  $p < 0,05$  соответственно). При этом различия с группой ТВВА во всех остальных случаях также достигали степени статистической значимости ( $p < 0,05$ ).

Параллельно показателю числа лимфоцитов в группах оперированных больных снижалось число CD3<sup>+</sup>-лимфоцитов, хотя в процентном отношении изменения данного параметра были, напротив, наименьшими у больных, анестезиологическое пособие которых осуществлялось в виде ТВВА. Тем не менее степень снижения абсолютного показателя составила в среднем 26,9; 22,8; 23,4 и 13,8% ( $p < 0,01$ ,  $p < 0,05$ ,  $p < 0,05$ ,  $p < 0,05$ ). Уменьшение числа Т-лимфоцитов у больных со злокачественными новообразованиями органов ЖКТ, оперированных и включенных в наше исследование, происходило как за счет CD4<sup>+</sup>-клеток, так и CD8<sup>+</sup>-клеток.

Наиболее выраженное снижение абсолютного числа как CD4<sup>+</sup>-, так и CD8<sup>+</sup>-клеток было зарегистрировано в группе ТВВА (на 28,1 и 30,8% относительного среднего показателя в контрольной группе,  $p < 0,05$  в обоих случаях). Несколько менее выраженные различия характеризовали показатели содержания Т-хелперов и клеток CD8<sup>+</sup> при остальных способах анестезии. Использование комбинированного способа (внутривенно-эпидуральная анестезия) определило отсутствие статистически значимых различий с контролем по концентрации CD4<sup>+</sup>-клеток. Значительным было также снижение абсолютно числа В-лимфоцитов, но только в группах ТВВА и ингаляционной анестезии севофлюраном (на 37,5 и 29,2%) по отношению к контрольной группе. Эти особенности оказались в целом сонаправлены с общей характеристикой показателей клеточного звена в группе ТВВА, в определенной мере отличались от общих характеристик динамики системы иммунитета при применении ингаляционного наркоза севофлюраном.

**Заключение.** Данные анализа показателей клеточного звена иммунной системы свидетельствуют о наличии существенных различий, ассоциированных с методикой проведенной анестезии. Наиболее высокие показатели с наименьшим отклонением от уровня контрольной группы были зарегистрированы у пациентов, получавших комбинированную внутривенно-эпидуральную анестезию.

Взаимосвязь между степенью антиноцицептивной защиты и иммунной системой может быть опосредована реакцией неспецифических механизмов регуляции, в том числе вегетативной нервной системы, медиаторы которой, как известно, воздействуют на основные механизмы пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток.

Полученные результаты являются основанием для использования комбинированной анестезии с обязательным включением методов регионарной (в частности, эпидуральной) анестезии именно у онкологических больных, у которых состояние механизмов клеточного иммунитета в послеоперационном периоде является одним из ключевых моментов полной элиминации новообразования.

*Н.В. Палкина, Т.Г. Рукша*

## ХАРАКТЕР ИЗМЕНЕНИЯ РОСТА МЕЛАНОМЫ КОЖИ *IN VIVO* ПРИ СЕЛЕКТИВНОМ ИНГИБИРОВАНИИ ММП-9 И НЕСЕЛЕКТИВНОМ ИНГИБИРОВАНИИ ММП-9 И ММП-13

ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, кафедра патологической физиологии с курсом клинической патофизиологии им. проф. В.В. Иванова, г. Красноярск, Россия

Участие матриксных металлопротеиназ (ММП) в опухолевой трансформации, а также в процессах инвазии и метастазирования доказано *in vitro* и *in vivo*. ММП участвуют в процессах канцерогенеза, воздействуя на компоненты межклеточного матрикса, на межклеточные взаимодействия, а также продуцируя различные биологически активные молекулы (Потеряева О.Н., 2010). Ретроспективный анализ исследований экспрессии ММП у онкологических больных показывает, что повышенные экспрессии многих ММП, включая также ММП-9 и ММП-13, в первичной опухоли и/или метастазах позитивно ассоциированы с такими характеристиками, как низкая дифференцировка опухолевых клеток, высокая инвазивность, высокая метастатическая активность, плохой прогноз, сокращение продолжительности жизни (Ганусевич И.И., 2010). Одним из механизмов опухолевого роста является деградация внеклеточного матрикса, которая является результатом сложного каскада реакций, в которых многие ММП действуют синергично. (Хасигов П.З., Подобед О.В., 2001).

Цель исследования — оценить массу и объем первичных опухолевых узлов в условиях селективного ингибирования ММП-9 и неселективного ингибирования ММП-9 и ММП-13 у мышей с перевиваемой меланомой.

**Материал и методы.** Мыши линии С57В16, половозрелые самки в возрасте 8–10 нед, массой от 19 до 26 г с перевитой меланомой В16, 3 группы — контрольная и две опытных по 7 в каждой группе. На 14-й день после трансплантации опухолевых клеток животным в опытных группах начата терапия ингибитором ММП-9 (ММП-9 Inhibitor I, производитель — "Calbiochem", США) в различных дозировках — для селективного ингибирования ММП-9 в 1-й опытной группе и неселективного ингибирования

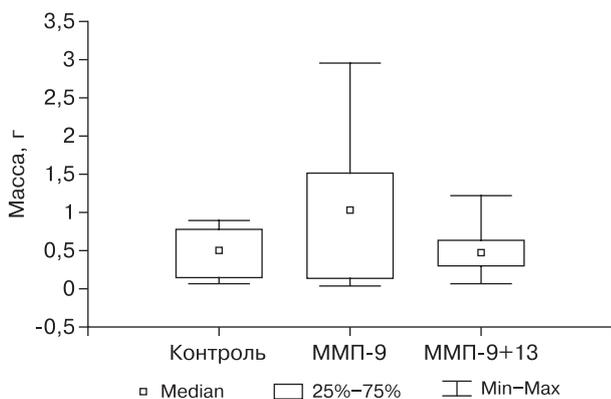


Рис. 1. Масса опухолевого узла в исследуемых группах.

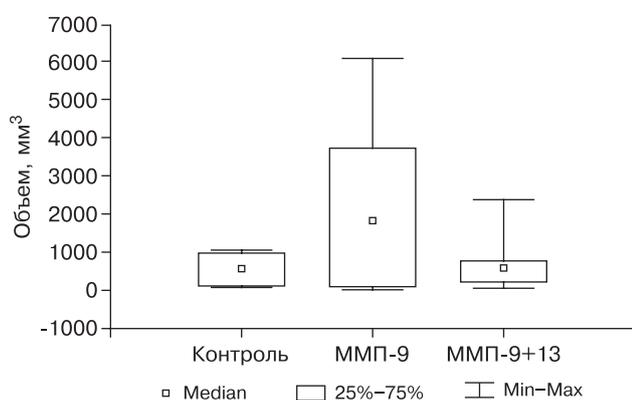


Рис. 2. Объем опухолевого узла в исследуемых группах.

ММП-9 и ММП-13 во 2-й опытной группе. Препарат вводился внутримышечно 1 раз в день в течение 7 дней. После 7-дневной терапии мыши из всех групп выводились из эксперимента путем эвтаназии. При вскрытии извлекался опухолевый узел, проводилось определение массы и объема узла. Объем узла вычислялся по формуле – длина (в мм) · ширину (в мм) · высоту, мм. При сравнении данных использовали непараметрический дисперсионный анализ Краскела—Уоллиса для трех независимых групп. Различия между сравниваемыми показателями считали достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждени.** При сравнении исследуемых групп по массе опухолевого узла, достоверных различий не выявлено ( $p = 0,45$ ), но обнаружена отчетливая тенденция к увеличению массы первичного опухолевого узла в группе мышей, получавших терапию ингибитором в дозе, селективно ингибирующей ММП-9 (рис. 1).

Аналогичные результаты получены при анализе объема опухолевых узлов – достоверных различий между группами не выявлено ( $p = 0,37$ ), но также определялась тенденция к увеличению объема первичного опухолевого узла в группе с ингибированной ММП-9 (рис. 2).

**Заключение.** Таким образом, ингибирование ММП—9 и ММП-13 не оказывает выраженного противоопухолевого эффекта, что может быть связано с активацией в данном случае других металлопротеиназ, компенсирующих недостаточность эффектов ингибированных ферментов.

*Н.В. Палкина, Т.Г. Рукша*

## АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНГИБИРОВАНИЯ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ: ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ ОБЪЕМОВ ПЕРВИЧНЫХ ОПУХОЛЕВЫХ УЗЛОВ ПРИ СЕЛЕКТИВНОМ ИНГИБИРОВАНИИ ММП-9 И НЕСЕЛЕКТИВНОМ ИНГИБИРОВАНИИ ММП-9 И ММП-13 НА МОДЕЛИ МЕЛАНОМЫ КОЖИ *IN VIVO*

ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, кафедра патологической физиологии с курсом клинической патофизиологии им. проф. В.В. Иванова, г. Красноярск, Россия

Многие клинические работы подтверждают важную роль матриксных металлопротеиназ (ММП) в развитии опухолей. ММП-9 (желатиназа В) обеспечивает ангиогенез в опухолевой ткани, тем самым способствуя ее росту (Клишо Е.В. и соавт., 2003). Но большинство ММП выделяются не раковыми клетками непосредственно, а клетками стромы вокруг опухоли. Поскольку в формировании опухоли важную роль играет стромальная окружающая среда, то ММП, изменяя ее, могут вносить вклад в развитие рака на начальных стадиях (Sternlicht M. и соавт., 2000). Например, ММП-13, также известная как коллагеназа-3, обладает широкой субстратной специфичностью и играет важную роль в инвазии и метастазировании опухолей. ММП-13 впервые была обнаружена в строме опухолей молочной железы и не определялась в эпителии как нормальной, так и опухолевой ткани (Blasi F., Stoppelli M., 1998). Возможно, что опухолевые клетки, секретируя различные полипептиды, способны стимулировать продукцию ММП-13 фибробластами – клетками стромы. Опухолевая индукция секреции этой металлопротеиназы фибробластами представляет еще один пример комплексных взаимодействий, встречающихся между стромальными и раковыми клетками при прогрессии опухоли.

Цель исследования — оценить изменения объемов первичных опухолевых узлов в эксперименте в условиях селективного ингибирования ММП-9 и неселективного ингибирования ММП-9 и ММП-13 на модели меланомы *in vivo*.

**Материал и методы.** Мыши линии C57Bl6, половозрелые самки в возрасте 8—10 нед, массой от 19 до 26 г с перевитой меланомой B16; 3 группы — контрольная и 2 опытных по 7 в каждой группе. На 14-й день после трансплантации опухолевых клеток, живым в опытных группах начата терапия ингибитором ММП-9 (MMP-9 Inhibitor I, производитель — "Calbiochem", США) в различных дозировках – для селективного ингибирования ММП-9 в 1-й опытной группе и неселективного ингибирования ММП-9 и ММП-13 во 2-й опытной группе. Препарат вводился внутримышечно 1 раз в день в течение 7 дней.

Оценка объема опухолевого узла проводилась 1 раз в 3 суток с 5-го дня трансплантации меланомы и вплоть до окончания терапии ингибитором путем измерения длины и ширины узла. Приблизительный объем опухоли рассчитывался по формуле: (длина, мм · ширину, мм)<sup>2</sup>/2.