

клетками. Известно, что IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 α и его рецепторный антагонист IL-1RA способны продуцироваться опухолевыми клетками и проявляют себя как факторы усиления опухолевой прогрессии, активирующие ангиогенез и миграцию опухолевых клеток, а TNF- α , являясь индуктором апоптоза и неоангиогенеза, может вызывать усиление гибели лимфоцитов, находящихся на данной территории, и распространение туда опухолевых клеток.

Цель исследования. Изучить локальный (тканевой) уровень цитокинов при раке толстой и прямой кишки.

Материал и методы. Нами было проведено изучение локального уровня цитокинов (TNF- α , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 α , IL-1RA), выделенных из ткани опухоли, а также визуально не измененных участков кишки, отступая 1–3 см (перитуморальная зона) и 10 см (линия резекции) от края опухоли у 19 больных спорадическими аденокарциномами толстого кишечника и прямой кишки (III стадии), в возрасте от 36 до 76 лет. Первую группу составили образцы тканей толстой кишки (n=9), вторую – образцы тканей прямой кишки (n=10). Цитокины определяли иммуноферментным методом с помощью наборов «Вектор-Бест».

Результаты. Показано, что уровни большинства исследованных цитокинов в ткани опухоли не имеют статистически значимых различий в зависимости от ее локализации. Статистически достоверное отличие содержания цитокинов в опухоли наблюдается только по уровню IL-1 α , который был ниже в опухолях прямой кишки (при раке прямой кишки – $236 \pm 64,8$ пг/мл, при раке толстой кишки – $587 \pm 27,9$ пг/мл, $p < 0,05$). В ткани перитуморальной зоны, как и области линии резекции, различия уровня этого цито-

кина при раке толстой и прямой кишки были статистически недостоверны. Сопоставление уровней IL-1RA в исследуемых образцах показало, что в перитуморальной зоне его уровень в первой группе (2875 ± 369 пг/мл) был статистически достоверно ниже, чем во второй (4144 ± 466 пг/мл, $p < 0,05$). Различия уровней этого цитокина между тканью опухоли (4928 ± 166 пг/мл) и образцами немалигнизированной ткани (перитуморальная зона – 2875 ± 369 пг/мл, линия резекции – 3040 ± 344 пг/мл, $p < 0,05$) регистрируются только при раке толстой кишки, тогда как при раке прямой кишки они не наблюдаются. Уровень IL-2 в образцах ткани, отстоящей от опухоли толстой кишки на 1–3 см ($3,74 \pm 1,51$ пг/мл), также был ниже, чем в образцах ткани перитуморальной зоны опухоли прямой кишки ($12,1 \pm 3,37$ пг/мл, $p < 0,05$). Количество этого цитокина было минимальным в перитуморальной зоне образцов первой группы ($3,74 \pm 1,51$ пг/мл), а во второй группе – в ткани, взятой по линии резекции ($4,4 \pm 0,87$ пг/мл). При опухолях толстой кишки наблюдалось статистически достоверное снижение уровня IL-8 по мере удаления от опухоли ($514 \pm 5,66$ пг/мл), т.е. в ткани линии резекции (95 ± 21 пг/мл) он был ниже, чем в перитуморальной зоне (255 ± 48 пг/мл, $p < 0,05$), а при раке прямой кишки такой зависимости не выявлено.

Выводы. Изучение локального уровня цитокинов (TNF- α , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-1RA) показало, что независимо от локализации опухоли в толстой или прямой кишке их содержание было высоким в ткани опухоли по сравнению с немалигнизированными участками. Вероятно, найденные изменения свидетельствуют об аутокринной продукции опухолью исследованных цитокинов при аденокарциномах кишечника.

МАТРИКСНАЯ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗА-9 КАК ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ МОЛЕКУЛЯРНАЯ МИШЕНЬ ДЛЯ ТЕРАПИИ МЕЛАНОМЫ КОЖИ

М.Б. АКСЕНЕНКО

Красноярский государственный медицинский университет

Актуальность. Матриксная металлопротеиназа-9 (ММП-9) является ферментом

системы эндопептидаз, принимающих участие в деструкции внеклеточного матрикса, обеспе-

чении опухолевой инвазии и метастазирования. Кроме способности к процессам деградации компонентов межклеточного матрикса, отмечено участие ММП-9 в аутокринном типе регуляции апоптоза и клеточной пролиферации.

Цель исследования. Оценить роль матриксной металлопротеиназы-9 (ММП-9) в развитии меланомы кожи и определить возможность использования данного фермента в качестве патогенетической мишени при меланоме кожи.

Материал и методы. Было проведено исследование биоптатов кожи 102 пациентов с меланоцитарными новообразованиями кожи. Образцы кожи фиксировали в 10 % нейтральном забуференном формалине, срезы подвергали иммуногистохимическому окрашиванию по стандартной методике с моноклональными антителами к ММП-9 (Abcam, разведение 1:250). Клетки меланомы кожи культивировали в среде RPMI в CO₂-инкубаторе с 5 % содержанием CO₂. По достижении концентрации $1,5 \times 10^5$ клеток мл⁻¹ в клетки осуществлялась трансфекция интерферирующих РНК (иРНК) с помощью Lipofectamine 2000 (Invitrogen) и РНК. Иммуногистохимическое окрашивание клеток осуществлялось с использованием моноклональных антител к ММП-9 (Abcam, разведение 1:250), к PCNA (разведение 1:400). В отдельной серии экспериментов использовались скрамблированные последовательности РНК. В дальнейшем была создана экспериментальная модель меланомы кожи на мышах, линии C57 B16. Животные были разделены на 2 группы (контрольную и опытную) случайным образом. Трансплантация культуры опухолевых клеток меланомы B16 производилась путём подкожного введения 0,5 мл взвеси опухолевой

ткани в растворе Хенкса (1:10). На 10-е сут после трансплантации опухоли животным опытной группы было начато введение Inhibitor ММП-9 I (Calbiochem) в концентрации 5нМ. Животные контрольной группы оставались без лечения. Животные находились в эксперименте до естественной гибели, после чего производилась оценка выживаемости животных-опухоленосителей, производился расчёт торможения роста опухоли (ТРО) и увеличения продолжительности жизни животных (УПЖ).

Результаты. При оценке данных иммуногистохимического исследования было выявлено 3-кратное увеличение уровня ММП-9 в клетках меланомы кожи по сравнению с контролем. При оценке уровня экспрессии ММП-9 в клетках культуры меланомы иммуногистохимический (ИЦХ) индекс в контроле составил 244,25. На культуре клеток меланомы было произведено селективное ингибирование ММП-9, таким образом, показатель ИЦХ-индекс снизился до 100, оставаясь при этом на уровне 237,7 в клетках, инкубированных со скрамблированными РНК. Ингибирование ММП-9 вызывало снижение уровня клеточной пролиферации в 3 раза. При оценке выживаемости животных средняя продолжительность жизни животных (СПЖ) опытной группы увеличилась в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой, а показатель УПЖ составил 37 %. Таким образом, ингибитор ММП-9 оказывал биологически значимый эффект на продолжительность жизни животных-опухоленосителей.

Выводы. Селективное воздействие на активность матриксной металлопротеиназы-9 может быть использовано для формирования новых терапевтических стратегий при меланоме кожи.

ДЕПРЕССИЯ МАКРОФАГОВ И ИЗМЕНЕНИЕ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ИХ ТКАНЕВОГО ИНГИБИТОРА ПРИ РАЗВИТИИ И МЕТАСТАЗИРОВАНИИ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЛЕГКИХ ЛЬЮИС

Т.В. АЛЕКСЕЕНКО, С.Я. ЖАНАЕВА, Т.А. КОРОЛЕНКО

НИИ физиологии СО РАМН, г. Новосибирск

Актуальность. Известно, что матриксные металлопротеиназы (ММП), осуществляющие

деградацию основных компонентов внеклеточного матрикса, играют важную роль в развитии