

16. Carney R.M., et al. Depression as a risk factor for cardiac mortality and morbidity: a review of potential mechanisms // J Psychosom Res. — 2002. — № 53(4). — P. 897-902.
17. Goldberg D. Epidemiology of Mental Disorders in Primary Care Settings // Epidemiol Rev (1995) 17 (1): 182-190.
18. Lakatta E., Levy D. Arterial and cardiac aging: Major

- shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: The aging heart in health. // Circulation. — 2003. — Vol. 107. — P. 346.
19. Myers M.G., Haynes R.B., Rabkin S.W. Canadian hypertension society guidelines for ambulatory blood pressure monitoring // Am J Hypertens. — 1999. — Vol.12, № 11. — P. 1149-1157. 726.

Информация об авторах: Ларева Наталья Викторовна — д.м.н., заведующая кафедрой, 672090, г. Чита, ул. Горького 39а, ГБОУ ВПО ЧГМА, кафедра терапии ФПК и ППС, тел. (3022) 320085, 354324, e-mail: larevanv@mail.ru; Валова Татьяна Владимировна — заочный аспирант, e-mail: vo_lya@mail.ru

© АКСЕНЕНКО М.Б., РУКША Т.Г. — 2013
УДК: 616-091.81-06-085:615.35

ОЦЕНКА ВЗАИМОСВЯЗИ ИНГИБИРОВАНИЯ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-9 И СОДЕРЖАНИЯ КОЛЛАГЕНОВЫХ ВОЛОКОН В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ

Мария Борисовна Аксененко, Татьяна Геннадьевна Рукша
(Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, ректор — д.м.н., проф. И.П. Артюхов, кафедра патологической физиологии с курсом клинической патофизиологии им. проф. В.В. Иванова, зав. — д.м.н. Т.Г. Рукша)

Резюме. Целью данной работы стало изучение влияния ингибирования матриксной металлопротеиназы-9 на содержание коллагена внутренних органов животных. Исследование было проведено на 20 мышах, самках линии C57Bl6. Опытной группе в течение 7 дней вводили селективный ингибитор ММП-9 (Inhibitor MMP-9 I, фирма Calbiochem) в концентрации 5нМ, внутримышечно, 1 раз в сутки. В дальнейшем оценивалось количество коллагеновых волокон в следующих органах: печень, почки, селезенка, сердце, лёгкие. Ингибирование активности ММП-9 привело к значимому увеличению ($p<0,05$) количества коллагеновых волокон в лёгких, почках и сердце животных в опытной группе, что может быть связано с развитием в дальнейшем негативных эффектов при экспериментальной терапии ингибиторами металлопротеиназ.

Ключевые слова: матриксная металлопротеиназа-9, ингибиторы матриксных металлопротеиназ, коллаген.

INFLUENCE OF MATRIX METALLOPROTEINASE-9 SELECTIVE INHIBITION ON THE COLLAGENIC FIBRES CONTENT IN INTERNAL ORGANS

Maria Borisovna Aksenenko, Tatiana Gennadyevna Ruksha
(Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky)

Summary: Matrix metalloproteinase-9 inhibition effect on the collagen content of animals internals was the purpose of this work. Research was carried out on C57Bl6 mice. Selective MMP-9 inhibitor (Inhibitor MMP-9 I, Calbiochem) was administered to treatment group within 7 days in concentration 5nM, intramuscularly, daily. Then the amount of collagenic fibers was estimated in the liver, kidneys, spleen, heart, lungs. The inhibition of activity of MMP-9 led to significant increase ($p<0,05$) in amounts of collagenic fibers in lungs, kidneys and heart of animals in experimental group, that could be related to side-effects developing in application of MMPs.

Key words: matrix metalloproteinase-9, matrix metalloproteinases inhibitors, collagen.

Матриксные металлопротеиназы (ММП), принадлежащие к семейству протеолитических ферментов, хорошо известны благодаря их способности разрушать внеклеточный матрикс. ММП участвуют во многих физиологических и патологических процессах, таких как ангиогенез, старение, воспаление [14]. Не вызывает сомнений участие ММП в патогенезе злокачественных новообразований, подтверждением тому являются результаты различных исследований проводимые как *in vitro*, так и *in vivo* [13]. Помимо влияния ММП-9 на процессы инвазивного роста и метастазирования доказано участие ММП-9 и на более ранних этапах развития опухолевого процесса [3]. Кроме того ряд патологических состояний — ревматоидный артрит, остеоартрит, периодонтит, язвенная болезнь, аутоиммунные заболевания, гипертония, развиваются с нарушением регуляции деградации внеклеточного матрикса, а значит, с участием ММП [10].

Хотя доклинические исследования целого ряда различных синтетических ингибиторов ММП доказали их роль в качестве как цитостатических, так и антиангиогенных агентов, результаты клинических испытаний не всегда оправдывали ожидания [5]. Несмотря на это клинические исследования с ингибиторами матриксных металлопротеиназ часто выявляли серьезные побочные эффекты, в частности, развитие скелетно-мышечного

синдрома [7]. Как правило, наиболее выражены они были у более ранних неселективных ингибиторов матриксных металлопротеиназ, таких как маримастат и батимастат [12]. Эти побочные эффекты препятствовали дальнейшему созданию лекарственных средств на основе ингибиторов отдельных матриксных металлопротеиназ. Для объяснения причин развития скелетно-мышечного синдрома был предложен ряд гипотез, базирующихся на отсутствии селективности в отношении металлопротеиназ их синтетических ингибиторов [8].

Ремоделирование (то есть деградация или протеолиз) коллагеновых волокон внеклеточного матрикса осуществляется посредством матриксных металлопротеиназ (ММП) [4]. Особую роль отводят взаимоотношению ММП и количества коллагеновых волокон. Имеются данные о том, что ингибиторы ММП-9 могут использоваться в потенциальной терапии пациентов с риском развития сердечной недостаточности после перенесенного инфаркта миокарда за счёт уменьшения количества миобластоподобных клеток, которые являются основными клетками способными к синтезу коллагена, уменьшение же их количества может приводить к снижению накопления коллагена [2]. В это же время имеются данные о том, что селективное ингибирование отдельных ММП может наоборот увеличивать содержание коллагеновых волокон [9].

Таблица 1

Площадь, занимаемая коллагеновыми волокнами в различных органах, мкм² (M±m)

Изучаемый параметр		Контрольная группа	Опытная группа
Почка	Площадь, занимаемая коллагеновыми волокнами в базальных мембранах почечных клубочков, мкм ²	155,65±14,55	404,85±30,95*
	Площадь, занимаемая коллагеновыми волокнами в почечных канальцах, мкм ²	178±12,68	400±34,65*
Лёгкие	Площадь, занимаемая коллагеновыми волокнами в межальвеолярных капиллярах, мкм ²	457,75±40,04	801±88,44*
Сердце	Площадь, занимаемая коллагеновыми волокнами в перикарде, мкм ²	186,24±16,34	354,81±20,55*
	Площадь, занимаемая коллагеновыми волокнами в стенках аорты	220,81±18,25	394±14,38*
Печень	Площадь, занимаемая коллагеновыми волокнами в портальных трактах, образованных вокругдольковыми сосудами, мкм ²	158,72±16,52	168,63±10,24
Печень	Площадь, занимаемая коллагеновыми волокнами в портальных трактах, образованных междольковыми сосудами, мкм ²	952,33±80,34	1020±95,82
	Площадь, занимаемая коллагеновыми волокнами в стенках и окружении центральных вен, мкм ²	198±20,3	203±34,54
Селезёнка	Площадь, занимаемая коллагеновыми волокнами в трабекулах селезёнки, мкм ²	70,01±5,44	84±5,45
	Площадь, занимаемая коллагеновыми волокнами в капсуле селезёнки, мкм ²	60,02±3,65	64±6,69

Примечание: * – различия значимы по отношению к контролю, $p < 0,05$.

Цель работы: изучение влияния ингибирования ММП-9 на содержание коллагена внутренних органов экспериментальных животных.

Материалы и методы

Исследование было проведено на 20 мышах самках линии C57Bl/6 8-недельного возраста, массой 19,2±0,5 г. Животные были получены из Научного центра биомедицинских технологий РАМН, филиал «Столбовая». Все проводимые исследования выполнялись с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации по защите позвоночных животных, используемых для лабораторных и других целей. Животные были разделены случайным образом на 2 группы, по 10 животных в каждой группе.

Первую группу составили животные, которым на протяжении 7 дней вводили селективный ингибитор ММП-9 (Inhibitor MMP-9 I, фирма Calbiochem) в концентрации 5нМ, внутримышечно, 1 раз в сутки. В качестве контроля служит материал от интактных животных аналогичного с опытными возраста. Забор материала осуществлялся через 10 дней после последней инъекции ингибитора.

Материал фиксировали в 10% забуференном формалине. Из залитых в парафин объектов делали срезы толщиной 5мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Коллагеновые волокна выявляли путём окраски пикрофуксином по Ван Гизону [1]. Визуализацию производили при помощи микроскопа «Olympus BX-41» при помощи программы «Infinity Capture», камера (Lumenera Corporation) и software V.4.6.0. На полученных микрофотографиях с помощью программного обеспечения AutoCAD 2009 определялась площадь, занимаемая коллагеновыми волокнами в изучаемом органе.

Статистическую обработку результатов производили с использованием программы «Statistica v.6»: рассчитывали средние величины (M) и их стандартные ошибки (m). Значимость различий оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни при 95% уровне значимости.

Результаты и обсуждение

Изменения в структуре коллагена, его распределение в процессе ремоделирования зависит от регуляции ММП на трех уровнях: транскрипции, активации и ингибирования тканевыми ингибиторами металлопротеиназ (ТИММП) [13]. В ходе изучения гистологических препаратов, окрашенных пикрофуксином по Ван Гизону, были получены следующие результаты. Выявлено увеличение количества коллагеновых волокон в сравнении с контролем в межальвеолярных капиллярах лёгких ($p < 0,05$), а также при оценке количества коллагеновых волокон в перикарде и стенках аорты ($p < 0,05$). Эти данные подтверждают гипотезу о том, что ингибирование ММП-9 может увеличивать синтез коллагена фибробластов в сердце [11], а также тот факт, что при ингибировании ММП-9 количество коллагена увеличивается и указывает на стимулирование эффектов ремоделирования ткани, в

то время как при увеличении экспрессии ММП-9 наблюдался противоположный результат. В целом, вышеуказанные факты подтверждают, что ММП-1,-2,-9 и-13 являются важными регуляторами ремоделирования коллагена [6].

Не было выявлено статистически значимых различий при оценке содержания коллагеновых волокон в трабекулах и капсуле селезёнки ($p < 0,05$), а также при изучении площади занимаемой коллагеновыми волокнами в области триад, образованных как (мелкими вокругдольковыми) сосудами, так и более крупными (междольковыми) сосудами ($p < 0,05$). При изучении гистологических срезов печени, окрашенных пикрофуксином по Ван Гизону, где нами оценивалась площадь, занимаемая коллагеновыми волокнами в области триад, образованных как (мелкими вокругдольковыми) сосудами, так и более крупными (междольковыми) сосудами нами не было выявлено значимых различий ($p < 0,05$) (табл. 1).

Было выявлено увеличение количества коллагеновых волокон в базальных мембранах почечных клубочков и почечных канальцев ($p < 0,05$) (табл. 1) по сравнению с контрольной группой. Известно, что коллаген IV типа, в деградации которого и принимает участие ММП-9, содержится в базальных мембранах почечного клубочка (гломерулярная базальная мембрана) и почечных канальцев (тубулярная базальная мембрана). В клубочках базальная мембрана, наряду с обеспечением поддерживающей функции играет важную роль в качестве фильтра.

В заключение следует отметить, что ингибирование активности ММП-9 может приводить к увеличению количества коллагеновых волокон в лёгких, почках и сердце экспериментальных животных, что может являться подтверждением участия ММП-9 в процессах коллагенообразования и ремоделирования ткани, но также вызывать развитие негативных изменений при экспериментальной терапии селективными блокаторами ММП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнов С.Д., Шехтер А.Б., Степанов А.Г. Исследование остеиндуктивных и остеоиндуктивных свойств новой резорбируемой мембраны для направленной регенерации костной ткани в эксперименте *in vivo*. // Стоматология. — 2007. — №2. — С. 4-8.
2. Копица Н.П., Белая Н.В., Титаренко Н.В. Роль матричных металлопротеиназ в патогенезе постинфарктного ремоделирования левого желудочка. // Международный медицинский журнал. — 2010. — № 4. — С. 55-58.
3. Bergers G., Brekken R., McMahon G. et al. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. // *Nature Cell Biology*. — 2000. — №2. — P. 737-744.
4. Cauwe B. Van den Steen P.E., Opdenakker G. The biochemical, biological, and pathological kaleidoscope of cell surface substrates processed by matrix metalloproteinases. // *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. — 2007. — Vol. 42. №3. — P. 113-185.
5. Fisher J. F., Mobashery S. Recent advances in MMP inhibitor. // *Cancer and Metastasis Reviews*. — 2006. — Vol. 25. — P. 115-136.
6. Kerkvliet E.H.M., Jansen I.C., Schoenmaker T., et al. Collagen type I, III, and V differently modulate synthesis and activation of matrix metalloproteinases by cultured rabbit periosteal fibroblasts. // *Matrix Biology*. — 2003. — Vol. 22. — P. 217-277.
7. Manello F. Natural bio-drugs as matrix metalloproteinase inhibitors: new perspectives on the horizon? // *Recent Patents on Anticancer Drug Discovery*. — 2006. — Vol. 1. — P. 91-103.
8. Peterson J.T. The importance of estimating the therapeutic index in the development of matrix metalloproteinase inhibitors. // *Cardiovascular Research*. — 2006. — Vol. 69. № 3. — P. 677-687.
9. Quillard T., Tesmenitsky Y., Croce K., Travers R. et al. Selective inhibition of matrix metalloproteinase 13 (MMP-13) increases collagen content of established mouse atheromata. // *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. — 2011. — Vol.31. № 11. — P. 2464-2472.
10. Rundhaug J.E. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. — 2005. — Vol. 9. — P. 267-285.
11. Siwik D.A., Pagano P.J., Colucci W.S. Oxidative stress regulates collagen synthesis and matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts. // *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. — 2001. — Vol.280. №1. — P. 53-60.
12. Sparano J.A., Bernardo P., Stephenson P., Gradishar W.J. Randomized phase III trial of marimastat versus placebo in patients with metastatic breast cancer who have responding or stable disease after first-line chemotherapy: Eastern Cooperative Oncology Group trial E 2196. // *Journal of Clinical Oncology*. — 2004. — Vol.22. — P. 4683-4690.
13. Sternlicht M.D., Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. // *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. — 2001. — Vol. 17. — P. 463-516.
14. Yoon S.O., Park S.J., Yun C.H., Chung A.S. Roles of matrix metalloproteinases in tumor metastasis and angiogenesis. // *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. — 2003. — Vol. 36. №1. — P. 128-137.

Информация об авторах: Аксененко Мария Борисовна – ассистент кафедры, 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1 ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого Минздрава России, кафедра патологической физиологии с курсом клинической патофизиологии им.проф. В.В. Иванова, тел. (391) 2283649, e-mail: aksenenko_mariya@mail.ru; Рукша Татьяна Геннадьевна – д.м.н., заведующая кафедрой, e-mail: tatyana_ruksha@mail.ru

© РАСУЛОВ Р.И., ХАМАТОВ Р.К., ЗУБКОВ Р.А., ЗАГАЙНОВ А.С., НАЗАРОВА Д.В. — 2013
УДК: [616.348/.351-006.6+616.36-033.2]-089

ХИРУРГИЧЕСКАЯ ТАКТИКА ЛЕЧЕНИЯ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА С МЕТАСТАТИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ

Родион Исмагилович Расулов¹, Рафаил Камильевич Хаматов¹, Роман Александрович Зубков²,
Александр Сергеевич Загайнов³, Дарья Владимировна Назарова³

(¹Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования, ректор — д.м.н., проф. В.В. Шпрах, кафедра онкологии, зав. — д.м.н., проф. В.В. Дворниченко; ²Иркутский государственный медицинский университет, ректор — д.м.н. проф. И.В. Малов, кафедра онкологии и лучевой терапии, зав. — д.м.н., проф. В.В. Дворниченко; ³Иркутский областной онкологический диспансер, гл. врач — д.м.н., проф. В.В. Дворниченко)

Резюме. Обсуждены результаты лечения больных колоректальным раком с метастатическим поражением печени. Общее количество больных 210, временной интервал с 2001 по 2011 год. Приведены схемы комплексного лечения, а также показатели отдаленной общей выживаемости в сравнении с паллиативными вмешательствами и химиотерапией.

Ключевые слова: метастатический колоректальный рак, резекция печени, гемигепатэктомия, радиочастотная абляция, химиоэмболизация печеночной артерии.

SURGICAL TACTICS OF TREATMENT OF COLORECTAL CANCER WITH METASTATIC LESION OF LIVER

Rodion Rasulov¹, Rafail Hamatov¹, Roman Zubkov², Alexandr Zagaynov³, Darya Nazarova³

(¹Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Studies,
²Irkutsk State Medical University, ³Irkutsk Regional Oncological Hospital)

Summary: The results of treatment of patients with colorectal cancer with metastatic lesion of liver have been discussed. The general number of patients was 210, a time interval — from 2001 to 2011. Schemes of complex treatment, and also indicators of the remote general survival rate in comparison with palliative interventions and chemotherapy are provided.

Key words: metastatic colorectal cancer, liver resection, hemihepatectomy, radio frequency ablation, chemoembolisation of hepatic artery.

В настоящее время заболеваемость колоректальным раком в России составляет 34-38 на 100000 населения и опережает аналогичный показатель для рака желудка. За последние 10 лет рак толстой кишки занимает третье место среди всех онкологических нозологий уступаая только раку лёгкого и раку кожи. К сожалению, несмотря на широкое распространение фиброколоноскопии, до сих пор до 60% всех впервые выявленных больных имеют

метастазы в печень. Из них более половины — до 35% от всех впервые выявленных — погибают в течение 1 года. В Иркутской области за последние 10 лет ежегодно регистрируется почти 900 новых случаев рака толстой кишки. При этом около 300 больных с метастатическим поражением печени, кроме того, в эту группу больных входит почти 200 пациентов с ранее проведённым радикальным хирургическим лечением. Таким образом, в пределах