

4. Corleto J. A., Bravo-Hernández M., Kamizato K., Kakinohana O., Santucci C. [et al.]. Thoracic 9 spinal transection-induced model of muscle spasticity in the rat: a systematic electrophysiological and histopathological characterization. *PLoS One*. 2015;10(12):e0144642. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144642>
5. Takeoka A., Vollenweider I., Courtine G., Arber S. Muscle spindle feedback directs locomotor recovery and circuit reorganization after spinal cord injury. *Cell*. 2014;159(7):1626-1639. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.11.019>
6. Genêt F., Kulina I., Vaquette C., Torossian F., Millard S. [et al.]. Neurological heterotopic ossification following spinal cord injury is triggered by macrophage-mediated inflammation in muscle. *Journal of Pathology*. 2015;236(2):229-240. <https://doi.org/10.1002/path.4519>
7. Elder C. P., Apple D. F., Bickel C. S., Meyer R. A., Dudley G. A. Intramuscular fat and glucose tolerance after spinal cord injury – a cross-sectional study. *Spinal Cord*. 2004;42(12):711-716. <https://doi.org/10.1038/sj.sc.3101652>
8. O'Brien L. C., Chen Q., Savas J., Lesnfsky E. J., Gorgey A. S. Skeletal muscle mitochondrial mass is linked to lipid and metabolic profile in individuals with spinal cord injury. *European Journal of Applied Physiology*. 2017;117(11):2137-2147. <https://doi.org/10.1007/s00421-017-3687-9>
9. Burnham R., Martin T., Stein R., Bell G., MacLean I. [et al.]. Skeletal muscle fibre type transformation following spinal cord injury. *Spinal Cord*. 1997;35(2):86-91.
10. Harris R. L., Putman C. T., Rank M., Sanelli L., Bennett D. J. Spastic tail muscles recover from myofiber atrophy and myosin heavy chain transformations in chronic spinal rats. *Journal of Neurophysiology*. 2007;97(2):1040-1051. <https://doi.org/10.1152/jn.00622.2006>
11. Furlan J. C., Noonan V., Cadotte D. W., Fehlings M. G. Timing of Decompressive Surgery of Spinal Cord after Traumatic Spinal Cord Injury: An Evidence-Based Examination of Pre-Clinical and Clinical Studies. *Journal of Neurotrauma*. 2011; 28(8): 1371-1399. <https://doi.org/10.1089/neu.2009.1147>
12. Wei Z. J., Zhou X. H., Fan B. Y., Lin W., Ren Y. M. [et al.]. Proteomic and bioinformatic analyses of spinal cord injury-induced skeletal muscle atrophy in rats. *Molecular Medicine Report*. 2016;14(1):165-174. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5272>

Сведения об авторах:

Стогов Максим Валерьевич, доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии; тел.: 83522450538; e-mail: stogo_off@list.ru;

Кубрак Надежда Владимировна, младший научный сотрудник экспериментальной лаборатории; тел.: 83522430883; e-mail: kubrak2@mail.ru;

Киреева Елена Анатольевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии; тел.: 83522450538; e-mail: ea_tkachuk@mail.ru

© Коллектив авторов, 2019

УДК 616- 006.81-06-616.5-577.175.6

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14027>

ISSN – 2073-8137

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ НЕЙРОГЕННОЙ БОЛИ НА РЕЦЕПТОРНЫЙ СТАТУС КОЖИ И РАСТУЩЕЙ В НЕЙ ОПУХОЛИ У САМОК МЫШЕЙ С ПЕРЕВИВНОЙ МЕЛАНОМОЙ B16/F10

Е. М. Франциянц, В. А. Бандовкина, И. В. Каплиева,
Ю. А. Погорелова, Л. К. Трепитаки, И. М. Котиева

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт,
Ростов-на-Дону, Россия

EFFECT OF CHRONIC NEUROGENIC PAIN ON RECEPTOR STATUS OF THE SKIN AND GROWING SKIN TUMOR IN FEMALE MICE WITH TRANSPLANTABLE B16/F10 MELANOMA

Frantsiyants E. M., Bandovkina V. A., Kaplieva I. V.,
Pogorelova Yu. A., Trepitaki L. K., Kotieva I. M.

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Изучены изменения рецепторного статуса кожи и растущей в ней опухоли под влиянием хронической нейрогенной боли у самок мышей линии C57BL/6 (n=64) с перевивной меланомой B16/F10. В образцах кожи, опухоли и перифокальной зоны ИФА-методами определяли уровень рецепторов стероидных гормонов.

Хроническая боль оказывала влияние на рецепторный статус кожи, вызывая повышение содержания рецепторов эстрогенов и снижение уровня рецепторов андрогенов, что способствовало более раннему выходу опухоли, активному метастазированию и меньшему сроку жизни мышей в отличие от группы сравнения. Выход опухоли у всех животных вызывал однонаправленные изменения в коже рецепторов эстрогенов и разнонаправленные – рецепторов андрогенов и прогестерона. Образцы меланомы характеризовались повышенным содержанием всех исследован-

ных стероидных рецепторов, и эта особенность распространялась на перифокальную зону у животных с хронической болью. Гормональный дисбаланс, вызванный нейрогенной болью и обусловленный изменением содержания рецепторов стероидных гормонов в коже, способствует более раннему появлению перевивной меланомы, увеличению ее биологической агрессивности, проявляющейся в активном метастазировании.

Ключевые слова: рецепторы эстрогенов, рецепторы андрогенов, рецепторы прогестерона, меланома B16/F10, хроническая нейрогенная боль

The changes in the receptor status of the skin and growing skin tumor under the influence of chronic neurogenic pain in female C57BL/6 mice with transplantable B16/F10 melanoma were studied. Steroid hormone receptors were determined by ELISA in samples of the skin, tumor and perifocal tissues.

Chronic pain affected the receptor status of the skin, upregulating estrogen receptors and downregulating androgen receptors. Mice of the main group showed an early tumor onset, active metastasis and poor survival, compared to the comparison group. The tumor onset in animals of both groups caused similar changes in the skin levels of estrogen receptors and opposite changes in androgen and progesterone receptors. Melanoma samples were characterized by elevated levels of all the studied steroid receptors, similar to the perifocal tissues in animals of the main group. Hormonal imbalance caused by neurogenic pain and changes in the content of steroid hormone receptors in the skin contributes to an earlier onset of transplantable melanoma and enhances its biological aggressiveness shown through active metastasis.

Keywords: estrogen receptors, androgen receptors, progesterone receptors, B16/F10 melanoma, chronic neurogenic pain

Для цитирования: Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Каплиева И. В., Погорелова Ю. А., Трепитакки Л. К., Котиева И. М. ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ НЕЙРОГЕННОЙ БОЛИ НА РЕЦЕПТОРНЫЙ СТАТУС КОЖИ И РАСТУЩЕЙ В НЕЙ ОПУХОЛИ У САМОК МЫШЕЙ С ПЕРЕВИВНОЙ МЕЛАНОМОЙ B16/F10. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2019;14(1.2):250-255. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14027>

For citation: Frantsiyants E. M., Bandovkina V. A., Kaplieva I. V., Pogorelova Yu. A., Trepitaki L. K., Kotieva I. M. EFFECT OF CHRONIC NEUROGENIC PAIN ON RECEPTOR STATUS OF THE SKIN AND GROWING SKIN TUMOR IN FEMALE MICE WITH TRANSPLANTABLE B16/F10 MELANOMA. *Medical News of North Caucasus*. 2019;14(1.2):250-255. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14027> (In Russ.)

ХНБ – хроническая нейрогенная боль
ER α – рецепторы эстрогенов α
ER β – рецепторы эстрогенов β

RP4 – рецепторы прогестерона
RA – рецепторы андрогенов

Хроническая нейрогенная боль – частое сопутствующее состояние для разных патологий, включая и злокачественные опухоли. Боль, связанная с опухолевой трансформацией, может возникать у пациентов как в результате прогрессии самой опухоли, так и в ходе противоопухолевого лечения. Учитывая, что в настоящее время методы лечения хронической боли являются неудовлетворительными, исследование механизмов ноцицепции и антиноцицептивных эффектов остается в центре внимания [1, 2]. Исследования боли у людей затруднены в связи с субъективными и этическими ограничениями, что приводит к широкому использованию животных в качестве моделей для изучения боли [3].

Известно участие эстрогенов, прогестерона и андрогенов в процессах ноцицепции [4, 5, 6], что делает актуальной проблему изучения болевой чувствительности при гормонзависимых злокачественных новообразованиях. Меланома кожи – агрессивное злокачественное заболевание, в патогенезе которого гормональный фактор играет не последнюю роль. Известна повышенная частота выявления меланомы у женщин, но более тяжелое течение заболевания у мужчин [7, 8]. Различные лабораторные исследования с культивируемыми клетками и моделями животных поддерживают роль эстрогенов в содействии лучшей выживаемости среди женщин с меланомой [9].

Изменение рецепторного статуса при злокачественной патологии – значимый фактор в патогенезе заболевания. Клеточные эффекты стероидных гормонов опосредуются рецепторами, которые принадлежат к надсемейству рецепторов ядерных стероидных

гормонов. Многочисленные исследования показали, что аномальная экспрессия и функция рецепторов эстрогенов (ER) являются важными процессами в иницировании и развитии злокачественных заболеваний, а также влияют на эффективность противоопухолевой терапии [10, 11]. Ранее были проведены исследования, свидетельствующие о существенной роли гормонального компонента в патогенезе меланомы кожи, а также о модифицирующем влиянии хронического болевого синдрома на динамику роста перевивной меланомы у самок мышей линии C57Bl/6 [12, 13].

Учитывая слабую изученность влияния ХНБ на гормональный и рецепторный статус кожи в динамике роста меланомы, представляло интерес исследовать эти аспекты в эксперименте.

Целью работы явилось исследование влияния хронической нейрогенной боли на содержание рецепторов половых гормонов в коже и развивающейся в ней меланоме у самок с перевивной меланомой B16/F10.

Материал и методы. Работа выполнена на самках мышей линии C57BL/6 (n=64), 8-недельного возраста с начальной массой 21–22 г. В работе использовали клеточную линию мышинной, метастазирющей в легкие меланомы B16/F10, полученную из РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (г. Москва). Животные содержались при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище.

Животные были распределены на группы: интактные самки (n=7), контрольные самки (n=7) с воспроизведением модели ХНБ. Группу сравнения составили мыши со стандартной подкожной пере-

вивкой меланомы B16/F10 (n=22), а основную группу – самки (n=28), которым меланому B16/F10 перевивали через 2 недели после создания модели ХНБ. Все самки находились в состоянии диэструса. Мышам основной группы осуществляли перевязку седалищного нерва с двух сторон под ксила-золетилловым наркозом. Через 2 недели после заживления операционной раны подкожно под правую лопатку вводили 0,5 мл взвеси опухолевых клеток меланомы B16/F10 в физиологическом растворе в разведении 1:10. Животным из группы сравнения перевивали меланому B16/F10 подкожно в той же дозе и объёме, что и в основной группе, но без воспроизведения модели ХНБ. При стандартной перевивке опухоль появляется в 100 % случаев, достаточно быстро растёт и на 12–16 сутки роста метастазирует преимущественно гематогенно в легкие (60–90 %), реже – в печень и селезенку. Интактных, контрольных животных, а также мышей из основной группы и группы сравнения через 1, 2 и 3 недели эксперимента декапитуировали на гильотине. Опухоль, перифокальную зону и кожу выделяли на льду. Из тканей получали 10 % гомогенаты, приготовленные на 0,1М калий-фосфатном буфере pH 7,4, содержащем 0,1 % Твин-20 и 1 % БСА, в которых с помощью стандартных тест-систем ИФА определяли уровень: рецепторов эстрогенов – ER α , ER β (Cloud-Clone Corp. США, Китай), прогестерона (RP4) и андрогенов (RA) (CUSABIO, Китай).

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета Statistica 6,0 (Stat-Soft, 2001). Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M – ариф-

метическое среднее значение, а m – стандартная ошибка среднего. Оценка достоверности произведена с использованием t-критерия Стьюдента, уровень $P < 0,05$ принимали как значимый. При этом соблюдались общие рекомендации для медицинских исследований.

Результаты и обсуждение. Средняя продолжительность жизни для самок мышей основной группы составила $19,17 \pm 1,35$ дня, максимальная – 24 дня. В группе сравнения первая смерть наступила на 24 сутки, средняя продолжительность жизни составила $30,25 \pm 1,67$ дня, максимальная – 36 дней. Подкожные опухоли появлялись у мышей основной группы уже через 7 дней после перевивки, а у группы сравнения – через 10–12 дней. Ранее нами были проведены исследования изменения локального гормонального фона у самок мышей с перевивной меланомой B16/F10, которые свидетельствовали о существенном модифицирующем влиянии ХНБ на содержание в коже стероидных гормонов [13]. Различия в продолжительности жизни и сроках выхода опухоли мышей основной и группы сравнения сопровождались изменениями в гормонально-рецепторном статусе кожи. Сначала исследовали, каким образом ХНБ влияет на рецепторный статус у самок мышей без злокачественной меланомы (контрольная группа). У животных контрольной группы под влиянием ХНБ повысилось содержание рецепторов эстрогенов – ER α и ER β в среднем в 3,8 раза без изменения их соотношения и снизилась в 1,8 раза концентрация рецепторов андрогенов. Не обнаружено влияние ХНБ на уровень рецепторов к прогестерону (табл. 1).

Таблица 1

Содержание рецепторов стероидных гормонов в коже самок мышей с меланомой B16/F10 в самостоятельном и сочетанном с хронической нейрогенной болью вариантах

Образцы кожи	ER α нг/гтк	ER β нг/гтк	RP4 пг/гтк	RA нг/гтк	ER α /ER β У.е.
Исходно					
Интактная	2,2 \pm 0,2	2,02 \pm 0,19	0,21 \pm 0,02	0,22 \pm 0,02	1,09 \pm 0,01
ХНБ	8,1 \pm 0,7 ¹	8,03 \pm 0,7 ¹	0,215 \pm 0,02	0,122 \pm 0,01 ¹	1,01 \pm 0,1
Через 1 неделю					
B16	1,05 \pm 0,1 ^{1,3}	1,63 \pm 0,12 ^{1,3}	0,14 \pm 0,013 ^{1,3}	0,19 \pm 0,018	0,72 \pm 0,07 ¹
B16+ХНБ	4,3 \pm 0,43 ^{1,2}	8,5 \pm 0,08 ¹	0,26 \pm 0,02	0,602 \pm 0,06 ^{1,2}	0,51 \pm 0,05 ^{1,2}
Через 2 недели					
B16	0,86 \pm 0,08 ^{1,3}	1,8 \pm 0,18 ³	0,12 \pm 0,01 ^{1,3}	0,23 \pm 0,02 ³	0,60 \pm 0,06 ¹
B16+ХНБ	4,5 \pm 0,45 ^{1,2}	5,28 \pm 0,5 ^{1,2}	0,22 \pm 0,02	0,65 \pm 0,06 ^{1,2}	0,85 \pm 0,07
Через 3 недели					
B16	1,91 \pm 0,17 ³	2,6 \pm 0,26 ³	0,16 \pm 0,015 ¹	0,23 \pm 0,02 ³	0,73 \pm 0,07 ¹
B16+ХНБ	3,3 \pm 0,3 ^{1,2}	5,4 \pm 0,5 ^{1,2}	0,18 \pm 0,016	0,73 \pm 0,06 ^{1,2}	0,61 \pm 0,05 ^{1,2}

Примечание: ¹ – достоверно по сравнению с интактной кожей ($p < 0,05$); ² – достоверно по сравнению с контролем ($p < 0,05$); ³ – достоверно по сравнению с основной группой ($p < 0,05$).

Через 1 неделю после перевивки меланомы B16/F10 в коже самок основной группы найдено снижение относительно показателей в контрольной группе изначально высокого содержания ER α в 1,9 раза, без изменения уровня ER β , в результате чего снизилось соотношение ER α /ER β в 1,4 раза ($p < 0,05$). Кроме того, в этот срок исследования в неповрежденной коже самок повысился уровень рецепторов андрогенов в 4,9 раза ($p < 0,05$), но не изменилось содержание рецепторов прогестерона.

В последующие сроки исследования в коже самок основной группы варьировали только показатели рецепторов эстрогенов: начиная со 2 недели эксперимента снизился уровень ER β в 1,6 раза по сравнению с предыдущим сроком исследования. Через 3 не-

дели в коже значимо понизилось содержание ER α в 1,4 раза по сравнению с предыдущим этапом исследования ($p < 0,05$). Показатели остальных стероидных рецепторов оставались такими же, как и через 1 неделю после перевивки опухоли, то есть RP4 не отличался от показателей нормы, а RA превышал их в среднем в 5,6 раза.

В неповрежденной коже мышей группы сравнения через 1 неделю после перевивки меланомы также обнаружено снижение уровня рецепторов эстрогенов: ER α в 2,1 раза, а ER β на 24 %, со снижением соотношения ER α /ER β в 1,5 раза по сравнению с показателями соответствующего контроля (интактные мыши) ($p < 0,05$). Кроме того, снизилась в 1,5 раза концентрация рецепторов прогестерона, но не изменилось содержание ре-

цепторов андрогенов. Поскольку у самок с нейрогенной болью уровень ER был изначально высоким, то, несмотря на однонаправленное его снижение, содержание ER в коже самок основной группы все равно превышало показатели группы сравнения на всех этапах эксперимента. Кроме того, у самок основной группы в образцах кожи в динамике роста меланомы повышался уровень рецепторов андрогенов, превышая показатели в группе сравнения также на всех этапах эксперимента.

Уровень рецепторов эстрогенов обоих типов в меланоме у животных основной группы возрастал в среднем в 1,6–2 раза по сравнению с показателями соответствующего контроля на всех этапах исследования (табл. 2). Кроме того, в опухолевых

образцах у самок основной группы установлено повышение содержания RA более чем в 3 раза начиная с 1-й недели и RP4 в 1,7 раза начиная со второй недели эксперимента ($p < 0,05$). Следует отметить, что подобная направленность изменений была характерна для опухоли, растущей у самок мышей без нейрогенной боли (группа сравнения). Так, в образцах меланомы у самок группы сравнения установлен рост содержания ER α в среднем в 3,9 раза во все сроки исследования; ER β – в 2,3 раза через 2 недели, а через 3 недели – в 5,7 раза; RA в среднем в 1,4 раза во все сроки исследования и RP4 – в среднем в 2 раза на протяжении всего эксперимента (табл. 2).

Таблица 2

Содержание рецепторов стероидных гормонов в образцах опухоли у самок мышей с меланомой B16/F10 в самостоятельном и сочетанном с хронической нейрогенной болью вариантах

Образцы	ER α нг/гтк	ER β нг/гтк	R P4 пг/гтк	RA нг/гтк	ER α /ER β
Интактная кожа	2,2±0,2	2,02±0,19	0,21±0,02	0,22±0,02	1,09±0,01
Контроль	8,1±0,7 ¹	8,03±0,7 ¹	0,215±0,02	0,122±0,01 ¹	1,01±0,1
Опухоль					
1 неделя B16 + ХНБ	13,5±1,2 ^{1,2}	12,8±1,1 ^{1,2}	0,17±0,015 ^{1,2}	0,40±0,04 ^{1,2}	1,05±0,1
2 неделя B16 + ХНБ	16,62±1,5 ^{1,2}	15,95±1,4 ^{1,2}	0,36±0,03 ^{1,2}	0,34±0,03 ^{1,2}	1,04±0,1
2 неделя	8,6±0,75 ^{1,3}	4,7±0,35 ^{1,3}	0,44±0,04 ¹	0,3±0,03 ¹	1,83±0,17 ¹
3 неделя B16 + ХНБ	13,3±1,3 ^{1,2}	11,54±1,1 ^{1,2}	0,41±0,04 ^{1,2}	0,26±0,02 ²	1,15±0,1
3 неделя	9,1±0,9 ^{1,3}	11,77±1,1 ^{1,2}	0,41±0,04 ^{1,2}	0,29±0,02 ^{1,2}	0,77±0,06 ^{1,2}

Примечание: ¹ – достоверно по сравнению с интактной кожей ($p < 0,05$); ² – достоверно по сравнению с контролем ($p < 0,05$); ³ – достоверно по сравнению с основной группой ($p < 0,05$).

Однако в абсолютных величинах уровень рецепторов эстрогенов на этапе через 2 недели эксперимента в образцах группы сравнения был ниже, чем в основной группе: ER α – в 1,9 раза и ER β – в 3,3 раза. Содержание RA и RP4 в опухолевых образцах мышей основной группы и группы сравнения достоверных отличий не имело. Образцы ткани перифокальной зоны опухоли у мышей основной группы через 1 неделю эксперимента содержали такое же количество рецепторов эстрогенов, как и непораженная кожа в контроле, т. е. в 3,2 раза больше ER α и в 4,8 раза ER β , чем у интактных животных. В то же время уровень рецепторов прогестерона был в 2,2 раза ниже, а андрогенов в 6,8 раза выше, чем показатели в контрольной группе. В дина-

мике эксперимента в перифокальной зоне опухоли у самок основной группы резко возросло содержание рецепторов эстрогенов: ER α – в 2,5 раза через 2 недели и в 4 раза через 3 недели, а ER β – в 1,6 раза через 2 недели и в 3,7 раза через 3 недели относительно показателей контроля. В исследованных образцах, через 2 недели повысилось содержание RP4 – в 3,7 раза по сравнению с предыдущим сроком исследования и в 1,7 раза по сравнению с контролем, с нормализацией через 3 недели. Уровень рецепторов андрогенов через 2–3 недели эксперимента в перифокальной зоне у мышей основной группы так и оставался выше показателей контроля в среднем в 5,8 раза, превышая также и норму более чем в 3 раза (табл. 3).

Таблица 3

Содержание рецепторов стероидных гормонов в образцах перифокальной зоны у самок мышей с меланомой B16/F10 в самостоятельном и сочетанном с хронической нейрогенной болью вариантах

Образцы	ER α нг/гтк	ER β нг/гтк	R P4 пг/гтк	RA нг/гтк	ER α /ER β
Интактная кожа	2,2±0,2	2,02±0,19	0,21±0,02	0,22±0,02	1,09±0,01
Контроль	8,1±0,7 ¹	8,03±0,7 ¹	0,215±0,02	0,122±0,01 ¹	1,01±0,1
Перифокальная зона через 1 неделю					
B16 + ХНБ	7,0±0,7 ¹	9,7±0,95 ¹	0,10±0,01 ^{1,2}	0,83±0,08 ^{1,2}	0,72±0,06 ^{1,2}
2 неделя					
B16	3,9±0,32 ^{1,3}	7,73±0,71 ^{1,3}	0,18±0,01 ³	0,22±0,02 ³	0,5±0,05 ^{1,3}
B16 + ХНБ	19,93±1,8 ^{1,2}	12,44±1,2 ^{1,2}	0,37±0,03 ^{1,2}	0,67±0,05 ^{1,2}	1,6±0,15 ^{1,2}
3 неделя					
B16	3,4±0,32 ^{1,3}	6,56±0,58 ^{1,3}	0,18±0,01	0,23±0,02 ³	0,52±0,04 ^{1,3}
B16 + ХНБ	32,74±3,1 ^{1,2}	29,82±2,7 ^{1,2}	0,18±0,01	0,76±0,06 ^{1,2}	1,1±0,1

Примечание: ¹ – достоверно по сравнению с интактной кожей ($p < 0,05$); ² – достоверно по сравнению с контролем ($p < 0,05$); ³ – достоверно по сравнению с основной группой ($p < 0,05$).

У самок группы сравнения уровень рецепторов эстрогенов в перифокальной зоне опухоли через 2–3 недели оказался повышенным: ER α – в 1,7 раза через 2–3 недели; ER β – в среднем в 3,6 раза относительно нормы во все сроки наблюдения. Содержание рецепторов прогестерона и андрогенов в перифокальной зоне опухоли мышей группы сравнения не отличалось от показателей в интактной коже.

Таким образом, ХНБ оказывает существенное влияние на статус рецепторов половых гормонов в коже мышей. У самок контрольной группы в коже за счет повышения содержания рецепторов эстрогенов и снижения рецепторов андрогенов развивается хроническая гиперэстрогения и андрогеновая недостаточность, которые способствуют быстрому выходу перевивной меланомы. Перевивка и выход опухоли однонаправленно изменяли в коже содержание рецепторов эстрогенов у самок обеих групп, а модифицирующее влияние ХНБ оказывала на рецепторный статус андрогенов и прогестин. Рост уровня всех исследованных рецепторов в опухолевых образцах у самок обеих групп свидетельствует об аутокринно/паракринной регуляции меланомой пролиферативных процессов, способность к которой обсуждается в литературе [12, 14]. Основным фактором повышения агрессивности и метастатического потенциала меланомы у самок основной

группы, очевидно, является изменение метаболизма перифокальной зоны. В основной группе образцы ткани, непосредственно окружающей опухоль, характеризовались резким повышением содержания рецепторов всех стероидных гормонов, аналогично образцам самой меланомы. Этот факт мог явиться причиной ранней гибели животных от метастазирования, несмотря на относительно небольшие размеры опухоли.

Заключение. Гормональный дисбаланс, вызванный хронической нейрогенной болью и обусловленный изменением содержания рецепторов стероидных гормонов в коже, способствует более раннему появлению перевивной меланомы, увеличению ее биологической агрессивности, проявляющейся в активном метастазировании, и как следствие снижению продолжительности жизни животных.

Информированное согласие: Исследования проводились в соответствии с требованиями и условиями, изложенными в Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных, и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.03 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Конфликт интересов. Все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

- Machelska H., Chelik M. O. Recent advances in understanding neuropathic pain: glia, sex differences, and epigenetics. *F1000Research*. 2016;5:2743. <https://doi.org/10.12688/f1000research.9621.1>
- Абузарова Г. Р., Дарьялова С. Л., Сарманаева Р. Р. Нейропатическая боль в онкологии. *Онкология. Журнал им. П. А. Герцена*. 2013;1(4):86-90. [Abuzarova G. R., Daryalova S. L., Sarmanayeva R. R. Neyropaticheskaya bol v onkologii. *Onkologiya. Zhurnal im. P. A. Gertsena*. – *Oncology. Journal them. P. A. Herzen*. 2013;1(4):86-90. (In Russ.)].
- Deius J. R., Dvorakova L. S., Vetter I. Methods used to assess the behavior of pain in rodents. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2017;10:284. <https://doi.org/10.3389/fnfmol.2017.00284>
- Henry N. L., Conlon A., Kidwell K. M., Griffith K., Smerage J. B. [et al.]. The effect of estrogens on the depletion of pain sensitivity in aromatase inhibitor-treated women with early stage breast cancer. *Journal of Pain*. 2014;15(5):468-475. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2014.01.487>
- Maurer A. J., Lissounov A., Knezhevich I., Candido K. D., Knezhevich N. N. Pain and sex hormones: an overview of modern understanding. *Pain Management*. 2016;6(3):285-296. <https://doi.org/10.2217/pmt-2015-0002>
- Bartley E. J., Palit S., Kuhn B. L., Kerr K. L., Terry E. L. [et al.]. Natural variation in testosterone is associated with hypoalgesia in healthy women. *The Clinical Journal of Pain*. 2015;31(8):730-739. <https://doi.org/10.1097/AJP.0000000000000153>
- Mitchell D. L., Fernandez A. A., Garcia R., Paniker L., Lin K. [et al.]. Acute exposure to ultraviolet-B radiation modulates sex steroid hormones and receptor expression in the skin and may contribute to the sex bias of melanoma in a fish model. *Pigment Cell Melanoma Research*. 2014;27:408-417. <https://doi.org/10.1111/pcmr.12213>
- Liu F., Bessonova L., Taylor T. H., Ziogas A., Meyskens F. L. [et al.]. A unique gender difference in early onset melanoma implies that in addition to ultraviolet light exposure other causative factors are important. *Pigment Cell Melanoma Research*. 2013;26:128-135. <https://doi.org/10.1111/pcmr.12035>
- Roh M. R., Eliades P., Gupta S., Grant-Kels J. M., Tsao H. Cutaneous melanoma in women. *International Journal of Women's Dermatology*. 2017;1(1):21-25. <https://doi.org/10.1016/j.ijwd.2017.02.003>
- Hall G., Phillips T. J. Estrogen and skin: the effects of estrogen, menopause, and hormone replacement therapy on the skin. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2005;53(4):569-571. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2004.08.039>
- Rong C., Meinert E. F., Hess J. Estrogen Receptor Signaling in Radiotherapy: From Molecular Mechanisms to Clinical Studies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(3):713. <https://doi.org/10.3390/ijms19030713>
- Бандовкина В. А., Франциянц Е. М., Каплиева И. В., Козлова М. Б., Трепитаки Л. К. [и др.]. Особенности регуляции гормонального баланса кожи у самок мышей в динамике роста перевивной меланомы B16/F10. *Трансляционная медицина*. 2017;4(3):45-53. [Bandovkina V. A., Frantsiyants E. M., Kaplieva I. V., Kozlova M. B., Trepitaki L. K. [et al.]. Osobennosti regulyatsii gormonalnogo balansa kozhi u samok myshey v dinamike rosta perevivnoy melanomy B16/F10. *Translyatsionnaya meditsina*. – *Translational medicine*. 2017;4(3):45-53. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2017-4-3-45-53>
- Котиева И. М., Кит О. И., Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Каплиева И. В. [и др.]. Влияние хронической боли на уровень половых гормонов, пролактина и гонадотропных гормонов в сыворотке крови и патологически измененной коже у самок мышей в динамике роста злокачественной меланомы. *Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки*. 2018;198(2):106-116. [Kotieva I. M., Kit O. I., Frantsiyants E. M., Bandovkina V. A., Kaplieva I. V. [et al.]. Vliyaniye khronicheskoy boli na uroven polovykh gormonov, prolaktina i gonadotropnykh gormonov v syvorotke krovi i patologicheski izmenennoy kozhe u samok myshey v dinamike rosta zlokachestvennoy melanomy. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Severo-Kavkazskiy region. Seriya: Estestvennyye nauki*. – *Proceedings of Higher Educational Institutions. North Caucasus region. Series: Natural Sciences*. 2018;198(2):106-116. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.23683/0321-3005-2018-2-121-132>
- Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Комарова Е. Ф., Позднякова В. В., Погорелова Ю. А. Гормональный профиль меланомы и окружающих ее тканей. *Молекулярная медицина*. 2014;(6):48-51. [Frantsiyants E. M., Bandovkina V. A., Komarova E. F., Pozdnyakova V. V., Pogorelova Yu. A. Gormonalnyy profil melanomy i okruzhayushchikh yeye tkaney. *Molekulyarnaya meditsina*. – *Molecular medicine*. 2014;(6):48-51. (In Russ.)].

Сведения об авторах:

Франциянц Елена Михайловна, доктор биологических наук, профессор, заместитель генерального директора по науке, руководитель лаборатории «Изучение патогенеза злокачественных опухолей»; тел.: 89185354388; e-mail: super.gormon@yandex.ru; <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>

Бандовкина Валерия Ахтямовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник; тел.: 89054257627; e-mail: super.gormon@yandex.ru; valerryana@yandex.ru; <http://orcid.org/0000-0002-2302-8271>

Каплиева Ирина Викторовна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник; тел.: 89185350516; e-mail: kaplirina@yandex.ru; <http://orcid.org/0000-0002-3972-2452>

Погорелова Юлия Александровна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник; тел.: 89515163988; e-mail: flora-73@yandex.ru; <http://orcid.org/0000-0002-2674-9832>

Трепитачи Лидия Константиновна, научный сотрудник; тел.: 89525686817; e-mail: legolab69@yandex.ru; <http://orcid.org/0000-0002-9749-2747>

Котиева Инга Мовлиевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник; тел.: 89281755846; e-mail: kukulik70@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0003-0252-4708>

© Коллектив авторов, 2019

УДК 611-018.2+611-013:616-003.93

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14028>

ISSN – 2073-8137

ВЛИЯНИЕ АУТО- И КСЕНОГЕННЫХ ФИБРОБЛАСТОВ И ДЕРМАЛЬНОГО ЭКВИВАЛЕНТА НА СОДЕРЖАНИЕ МАКРОФАГОВ В ГРАНУЛЯЦИОННОЙ ТКАНИ ИШЕМИЗИРОВАННОЙ РАНЫ КОЖИ НА 12 СУТКИ РЕГЕНЕРАТИВНОГО ГИСТОГЕНЕЗА

Е. Ю. Шаповалова¹, Г. А. Демяшкин², Т. А. Бойко¹,
Ю. Г. Барановский¹, М. Н. Морозова¹, А. Г. Барановский¹, Е. С. Агеева¹

¹ Медицинская академия им. С. И. Георгиевского Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского, Симферополь, Россия

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Россия

INFLUENCE OF AUTO- AND XENOGENIC FIBROBLASTES AND DERMAL EQUIVALENT ON MACROPHAGE CONTENT IN GRANULATIVE TISSUE OF ISHEMIC CUTANEUS WOUND ON THE 12 DAY OF REGENERATIVE HISTOGENESIS

Shapovalova E. Yu.¹, Demyashkin G. A.², Boyko T. A.¹,
Baranovskiy Yu. G.¹, Morozova M. N.¹, Baranovskiy A. G.¹, Ageeva E. S.¹

¹ Medical Academy named by S. I. Georgievsky of V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia

² I. M. Sechenov First Moscow Medical University, Russia

На половозрелых мышцах линии C57/B1 определяли присутствие макрофагов в тканях регенерирующей модельной кожной ишемизированной раны после введения ауто- и ксеногенных фибробластов, а также после трансплантации дермального эквивалента с ксеногенными фибробластами. Макрофаги идентифицировали по наличию антигена CD68 моноклональными антителами иммуногистохимическим методом. Индекс макрофагов оценивали в процентах от количества иммуномеченых клеток относительно всех исследованных клеток в грануляционной ткани. На 12-й день заживления экспериментальной ишемизированной раны гистологическое строение биоптата после обкалывания раны ауто- и ксеногенными фибробластами на ростовой среде DMEMF₁₂ и после трансплантации дермального эквивалента с ксеногенными отличаются от контроля уровнем развития эпидермиса и статистически достоверным снижением индекса макрофагов. Получены результаты, свидетельствующие о статистически достоверном сокращении сроков воспаления и более раннем и активном образовании грануляционной ткани при использовании аутофибробластов.

Ключевые слова: раневой процесс, кожа, клеточные технологии, макрофаг, дермальный эквивалент, фибробласт