

Для цитирования: Кит О.И., Котиева И.М., Франциянц Е.М., Сурикова Е.И., Каплиева И.В., Бандовкина В.А., Трепитаки Л.К., Нескубина И.В., Погорелова Ю.А. Влияние хронической нейрогенной боли на динамику функционирования NO-системы в процессе роста меланомы B16/F10 у самцов мышей. Сибирский онкологический журнал. 2021; 20(3): 67–75. – doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-3-67-75

For citation: Kit O.I., Kotieva I.M., Frantsiyants E.M., Surikova E.I., Kaplieva I.V., Bandovkina V.A., Trepitaki L.K., Neskubina I.V., Pogorelova U.A. Influence of chronic neurogenic pain on the dynamics of the NO-system functioning during melanoma B16/F10 growth in male mice. Siberian Journal of Oncology. 2021; 20(3): 67–75. – doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-3-67-75

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ НЕЙРОГЕННОЙ БОЛИ НА ДИНАМИКУ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ NO-СИСТЕМЫ В ПРОЦЕССЕ РОСТА МЕЛАНОМЫ B16/F10 У САМЦОВ МЫШЕЙ

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

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Россия
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63. E-mail: sunsur2000@mail.ru

Аннотация

В связи с выявлением половых различий в росте меланомы B16/F10 на фоне хронической нейрогенной боли (ХрБ) и изменением системы проангиогенных факторов роста **цель исследования** состояла в изучении уровня компонентов NO-системы у самцов мышей в процессе роста перевивной меланомы B16/F10 на фоне ХрБ. **Материал и методы.** В эксперименте использовали 66 самцов мышей линии C57BL/6. Создавали модель подкожного роста меланомы B16/F10 (в течение 3 нед) на фоне состояния ХрБ (перевязка седалищных нервов). В не пораженной опухолью коже и в ткани меланомы определяли концентрации NOS-2, NOS-3, L-аргинина, цитруллина, общего нитрита, нитротирозина и АДМА методом ИФА. **Результаты.** В коже и в ткани опухоли выявлен значительно повышенный уровень NO-синтазы с 1-й нед роста опухоли на фоне ХрБ, сниженный уровень общего нитрита в коже, разнонаправленная динамика уровня АДМА и аргинина, стабильно повышенный уровень цитруллина в коже и в опухоли в динамике роста опухоли на фоне ХрБ. **Заключение.** У самцов мышей при росте меланомы B16 на фоне ХрБ уже с 1-й нед выявлено более активное функционирование NO-системы, чем при стандартном росте опухоли, что может обуславливать большую скорость роста меланомы при ХрБ. Отличительной особенностью был значительно более высокий уровень цитруллина в коже и опухоли у самцов, в отличие от меланомы при стандартном росте, что может быть результатом ингибирования синтеза аргинина и формирования опухоли, аукоотрофной по аргинину.

Ключевые слова: меланома B16/F10, хроническая боль, кожа, опухоль, мышцы, NO-система.

INFLUENCE OF CHRONIC NEUROGENIC PAIN ON THE DYNAMICS OF THE NO-SYSTEM FUNCTIONING DURING MELANOMA B16/F10 GROWTH IN MALE MICE

O.I. Kit, I.M. Kotieva, E.M. Frantsiyants, E.I. Surikova, I.V. Kaplieva,
V.A. Bandovkina, L.K. Trepitaki, I.V. Neskubina, U.A. Pogorelova

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russia
63, 14 Liniya, Rostov-on-Don, 344037, Russia. E-mail: sunsur2000@mail.ru

Abstract

Since B16/F10 melanoma demonstrated gender differences in its growth in the presence of chronic neuropathic pain (CNP) and changes in the system of proangiogenic growth factors, **the aim of the study was** to analyze levels of components of the NO-system in male mice during the growth of transplantable B16/F10 melanoma in the presence of CNP. **Material and Methods.** 66 male mice C57BL/6 were used in the experiment. A model of subcutaneous growth of B16/F10 melanoma (during 3 weeks) was created in the CNP presence (sciatic nerve ligation). Concentrations of NOS-2, NOS-3, L-arginine, citrulline, total nitrite, nitrotyrosine and ADMA were determined by ELISA in intact and tumor tissues. **Results.** A significant increase in levels of NO-synthases was revealed in the skin and tumor tissues in the tumor growth with CNP from week 1, as well as a decrease in the level of total nitrite in the skin, multidirectional dynamics of ADMA and arginine levels, a steadily increased level of citrulline in the skin and tumor in the dynamics of tumor growth with CNP. **Conclusions.** Male mice with B16 melanoma growing in the presence of CNP demonstrated a more active functioning of the NO-system already from week 1, compared to standard tumor growth, which might result in a greater rate of growth of melanoma with CNP. Significantly higher skin and tumor levels of citrulline in males were a distinctive feature, in contrast to melanoma with standard growth, which could be the result of inhibition of arginine synthesis and formation of a tumor auxotrophic for arginine.

Key words: B16/F10 melanoma, chronic neurogenic pain, skin, tumor, mice, NO-system.

Введение

Результаты эпидемиологических исследований показывают, что частота нейрогенной боли в популяциях разных стран мира составляет 6–7 % [1]. У онкологических пациентов боль, имеющая свою специфику, содержит и нейрогенный компонент, ее встречаемость достигает 33–40 %, увеличиваясь в терминальной стадии заболевания до 90 % [2, 3]. Исследования, проводимые в этой области, свидетельствуют о существовании половых различий в болевой чувствительности, тяжести боли, ответах на боль, в механизмах формирования и развития боли [1, 4–7]. С другой стороны, анализ эпидемиологических данных по меланоме кожи показал наличие различий у мужчин и женщин в частоте заболеваемости, выживаемости, в характере течения меланомы не только у людей, но и в эксперименте [8–10].

В проведенных нами исследованиях на модели роста и развития перевивной меланомы B16/F10 на фоне экспериментальной хронической нейрогенной боли была обнаружена не только активация роста опухоли, но и установлены половые различия в течении злокачественного процесса [11, 12]. Возможным механизмом такой стимуляции роста опухоли может быть активация неоангиогенеза. Показана роль ангиогенеза при боли [13, 14]. Хроническую боль сопровождает хроническое воспаление, реализующееся через сложную сеть цитокинов, производимых глиальными и иммунными клетками [5, 15]. Воспаление и ангиогенез частично связаны через белки семейства VEGF [13], которые опосредуют ангио- и лимфангиогенез и в процессе роста опухоли. Данные литературы подтверждают и результаты наших исследований, показавшие изменение состояния системы проангиогенных факторов роста у мышей в состоянии хронической нейрогенной боли и при росте меланомы на фоне боли [16]. При этом были выявлены различия в динамике содержания компонентов

вазоактивной NO-системы у самок мышей в состоянии хронической боли, при обычном росте меланомы и при росте опухоли на фоне хронической нейрогенной боли [17].

Функционирование системы оксида азота (NO-система) значительно изменяется как по мере развития боли, так и в процессе канцерогенеза [18–21], компоненты которой опосредуют не только действие проангиогенных факторов, но и выполняют важную роль в активации различных митогенных путей, а также в процессах метастазирования [22–24]. Дозозависимость проопухолевых эффектов NO обеспечивается через регуляцию экспрессии NO-синтаз и метаболическую регуляцию их активности. Центральным звеном регуляции активности ферментов является доступность субстрата – аргинина и уровень ингибитора – асимметричного диметиларгинина (АДМА) [23]. Кроме того, NO может быть получен из нитрата и нитрита, особенно в гипоксических условиях [25]. Также показана важная роль в канцерогенезе второго продукта реакции – цитруллина, участвующего в метаболической перестройке и в процессах цитруллинирования белков, сопровождающих опухолевую прогрессию [26–28].

Цель исследования состояла в изучении уровня компонентов NO-системы у самцов мышей в процессе роста перевивной меланомы B16/F10 на фоне ХрБ.

Материал и методы

Самцов мышей линии C57BL/6 (n=66) 8-недельного возраста с начальной массой 21–22 г получали из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий «Андреевка» ФМБА» (Московская область). Линия мышшиной меланомы B16/F10 была получена из РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН (г. Москва). Работу с животными проводили в соответствии с требованиями, изложенными в «Международных рекомендациях по проведению

медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики». Исследование проводили в следующих группах: интактные самцы (n=7), контрольная группа – модель хронической нейрогенной боли (ХрБ) (n=7), группа сравнения – стандартная подкожная перевивка меланомы B16/F10 (n=25), основная группа – подкожная перевивка меланомы B16/F10 через 2 нед после создания модели ХрБ (n=27). Животных из основной группы сравнивали с контрольной группой (с ХрБ), группу сравнения (рост меланомы) – с интактными мышами. Моделирование ХрБ перевязкой седалищного нерва с обеих сторон, процедура перевивки меланомы B16/F10, ход эксперимента и подготовка гомогенатов описаны ранее [11, 16]. Все процедуры проводили в соответствии с международными правилами работы с животными (European Communities Council Directive, 86/609/EEC). Методами ИФА определяли концентрации NOS-2, NOS-3 (Cloud-Clone Corp., США), L-аргинина, L-цитруллина, асимметричного диметиларгинина АДМА (Immundiagnostik, Германия), общего нитрита (R&D systems, США) и нитротирозина (NucultBiotech, Нидерланды). Полученные результаты пересчитывали на грамм ткани.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ Microsoft Excel 2010 и Statistica 10.0, в каждой группе определяли среднее значение ± стандартная ошибка. Значимость различий между группами оценивали с помощью критериев Стьюдента и Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$, при $0,05 < p < 0,1$ считали, что различия обнаружены на уровне статистической тенденции.

Результаты

В коже самцов мышей с хронической болью по сравнению с группой интактных самцов (табл. 1) обнаружено очень значительное увеличение концентрации NOS-3 и NOS-2 – в 34,7 и в 10,2 раза соответственно ($p < 0,001$), их ингибитора АДМА – в 1,96 раза ($p < 0,05$). Концентрация общего нитрита была ниже в 2,4 раза ($p < 0,001$).

У самцов мышей из группы сравнения в не пораженной опухолью коже на 1-й нед после перевивки опухоли статистически значимо была снижена концентрация NOS-3 – в 4,4 раза ($p < 0,01$), цитруллина – на 46,8 % ($p < 0,01$) и нитротирозина – на 31,6 % ($p < 0,05$), при этом концентрация АДМА была увеличена на 61,5 % ($p < 0,05$) по сравнению с уровнем у интактных животных. На 2-й нед, при появлении опухоли в коже самцов оставалась по-прежнему сниженной концентрация NOS-3 и цитруллина – в среднем в 2,55 раза ($p < 0,01$), однако при этом наблюдалось повышение концентрации общего нитрита в 1,82 раза ($p < 0,05$) по сравнению с уровнем у интактных животных. На 3-й нед экспе-

римента значимо изменялись практически все исследованные показатели: снизились концентрации NOS-3 в 3,7 раза, NOS-2 на 34,9 %, цитруллина на 47,7 %, нитротирозина на 23,8 % ($p < 0,05$ – $p < 0,01$), выросли концентрации АДМА в 3,0 раза и аргинина в 1,75 раза ($p < 0,05$ – $p < 0,01$) по сравнению с уровнем у интактных животных.

В непораженной опухолью коже на протяжении 3 нед у самцов мышей основной группы концентрация NOS-3 оставалась значительно выше уровня в группе сравнения – в среднем в 83 раза ($p < 0,001$), однако ниже по сравнению с уровнем в контрольной группе (хроническая боль) – в среднем на 39 % ($p < 0,05$; $p < 0,001$). Концентрация NOS-2 статистически значимо снизилась к 3-й нед, достигнув минимального уровня за весь период наблюдения – на 42 % ниже, чем на предыдущих сроках ($p < 0,001$). При этом она оставалась в среднем в 4,7 раза ($p < 0,001$) выше значений в группе сравнения, но ниже уровня в контрольной группе в 3,2 раза ($p < 0,001$). Концентрация АДМА на протяжении 3 нед наблюдения не изменялась, оставаясь выше уровня как в контрольной группе – в среднем на 50 % ($p < 0,01$ – $0,05 < p < 0,1$), так и в группе сравнения – в среднем в 2,1 раза ($p < 0,001$).

Концентрация аргинина на протяжении 3 нед после перевивки опухоли также статистически значимо не изменялась и не отличалась от уровня в контрольной группе, оставаясь выше уровня в группе сравнения в среднем на 74 % ($p < 0,001$). Концентрация общего нитрита была статистически значимо повышена на 1-й нед – на 68,7 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, но к 3-й нед она снижалась, достигая значений в контрольной группе, при этом становясь статистически значимо ниже значений в группе сравнения в 2,3 раза ($p < 0,001$). Концентрация цитруллина в процессе роста опухоли на фоне боли постепенно увеличивалась, достигая значимо более высоких значений, чем на соответствующем предыдущем сроке наблюдения, а также по сравнению с уровнем в контрольной группе и в группе сравнения: к 3-й нед – в 4,7 раза ($p < 0,001$) и в 8,9 раза ($p < 0,001$) соответственно (табл. 1).

У самцов мышей из группы сравнения в ткани опухоли (табл. 2) было обнаружено, что на 2-й нед (появление опухоли) концентрация NOS-3 была значимо снижена – в 3,2 раза ($p < 0,01$), а концентрация АДМА увеличена в 6,6 раза ($p < 0,001$) по сравнению с уровнем в здоровой коже интактных самцов. На 3-й нед эксперимента концентрация NOS-3 была значимо выше значения на 2-й нед в 2,4 раза ($p < 0,05$) и не отличалась от уровня в здоровой коже интактных самцов. Концентрация NOS-2 была в среднем на 47,4 % ниже, чем на 2-й нед роста и чем в коже интактных самцов ($p < 0,05$ – $p < 0,01$). Выявлено статистически значимое увеличение концентрации АДМА – в 6,3 раза ($p < 0,001$) по сравнению с уровнем в коже интактных животных. Изменение концентраций аргинина,

Таблица 1/ Table 1

Динамика концентрации компонентов NO-системы в коже самцов мышей
Changes in the concentration of NO-system components in the skin of male mice

Группы экспериментальных животных/ Groups of experimental animals	NOS-3, нг/г ткани/ NOS-3, ng/g tissue	NOS-2, нг/г ткани/ NOS-2, ng/g tissue	АДМА, мкМ/г ткани/ ADMA μM / g tissue	Аргинин, мкМ/г ткани/ Arginine, μM / g tissue	Общий нитрит, мкМ/г ткани/ Total nitrite, μM / g tissue	L-цитруллин, мкМ/г ткани/ L-citrullin, μM / g tissue	Нитротирозин, нМ/г ткани/ Nitrotyrosin, nM / g tissue
Кожа интактная/ Intact skin	0,48 ± 0,03	0,96 ± 0,11	0,26 ± 0,02	72,5 ± 6,5	9,6 ± 0,7	21,8 ± 1,4	0,96 ± 0,07
Кожа на фоне ХрБ (контроль)/ Skin with presence of chronic pain (control)	16,2 ± 1,6 p ₁ <0,001	9,8 ± 1,1 p ₁ <0,001	0,51 ± 0,08 p ₁ <0,05	102,5 ± 12,9 0,1>p ₁ >0,05	4,1 ± 0,6 p ₁ <0,001	21,8 ± 1,8	1,1 ± 0,01
1-я нед роста B16/F10/Week 1 of B16/F10 growth							
Группа сравнения/ Comparison group	0,11 ± 0,01 p ₁ <0,01	1,26 ± 0,17	0,42 ± 0,03 p ₁ <0,05	62,9 ± 5,8	10,3 ± 1,8	11,6 ± 0,9 p ₁ <0,01	0,66 ± 0,02 p ₁ <0,05
Основная группа/ Main group	10,1 ± 0,4 p ₁ <0,001 p _к <0,001 p ₄ <0,001	5,1 ± 0,2 p ₁ <0,001 p _к <0,001 p ₄ <0,001	0,86 ± 0,06 p ₁ <0,001 p _к <0,01 p ₄ <0,001	122,8 ± 3,8 p ₁ <0,001 p ₄ <0,001	6,85 ± 0,9 p ₁ <0,05 p _к <0,05	48,6 ± 4,1 p ₁ <0,01 p _к <0,01 p ₄ <0,001	0,82 ± 0,09 p _к <0,05
2-я нед роста B16/F10/Week 2 of B16/F10 growth							
Группа сравнения/ Main group	0,19 ± 0,03 p ₁ <0,01	1,1 ± 0,2	0,32 ± 0,04	73,3 ± 4,8	17,5 ± 1,6 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	8,5 ± 1,1 p ₁ <0,001 0,1>p ₂ >0,05	0,8 ± 0,08
Основная группа/ Main group	13,8 ± 1,0 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01 p ₄ <0,001	5,57 ± 0,48 p ₁ <0,001 p _к <0,01 p ₄ <0,001	0,73 ± 0,06 p ₁ <0,001 p _к <0,05 p ₄ <0,001	112,1 ± 4,7 p ₁ <0,001 p ₄ <0,001	3,27 ± 0,28 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₄ <0,001	81,6 ± 2,4 p ₁ <0,001 p _к <0,001 p ₂ <0,001 p ₄ <0,001	0,94 ± 0,07
3-я нед роста B16/F10/Week 3 of B16/F10 growth							
Группа сравнения/ Comparison group	0,13 ± 0,01 p ₁ <0,001	0,62 ± 0,06 p ₁ <0,05 p ₃ <0,05	0,79 ± 0,09 p ₁ <0,01 p ₃ <0,001	127,3 ± 9,2 p ₁ <0,05 p ₃ <0,001	8,08 ± 0,78 p ₃ <0,001	11,4 ± 1,4 p ₁ <0,05	0,73 ± 0,04 p ₁ <0,05
Основная группа/ Main group	10,9 ± 1,2 p ₁ <0,001 p _к <0,05 0,05<p ₃ <0,1 p ₄ <0,001	3,1 ± 0,2 p ₁ <0,001 p _к <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001 p ₄ <0,001	0,69 ± 0,05 p ₁ <0,001 0,05<p _к <0,1	128,8 ± 6,8 p ₁ <0,001	3,5 ± 0,2 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₄ <0,001	102,0 ± 4,7 p ₁ <0,001 p _к <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001 p ₄ <0,001	0,87 ± 0,06

Примечание: статистически значимые различия: p_к – относительно уровня в контроле – кожа животных с хронической болью; p₁ – относительно уровня у интактных животных; p₂ – относительно уровня на 1-й нед роста меланомы в соответствующей группе; p₃ – относительно уровня на 2-й нед роста меланомы в соответствующей группе; p₄ – относительно уровня в группе сравнения на соответствующем сроке наблюдения.

Notes: statistically significant differences: p_к – relative to the level in the control – the skin of animals with chronic pain, p₁ – relative to the level in intact animals, p₂ – relative to the level at 1 week of melanoma growth in the corresponding group, p₃ – relative to the level at 2 weeks of melanoma growth in the corresponding group, p₄ – relative to the level in the comparison group at the appropriate follow-up period.

цитруллина и нитротирозина обнаружено только на уровне статистической тенденции в сравнении с показателями в коже интактных самцов.

У самцов мышей основной группы в ткани опухоли было выявлено, что концентрация NOS-3 в течение 3-х нед наблюдения значимо не изменялась и была многократно выше уровня значений в ткани опухоли самцов мышей группы сравнения, оставаясь стабильно ниже уровня в коже мышей контрольной группы (хроническая боль) – в среднем на 34 % (p<0,05– p<0,01). В отличие от этого концентрация NOS-2 с течением времени статистически значимо снижалась как по сравнению с уровнем

на 1-й нед после перевивки – в среднем на 45 % (p<0,01–p<0,001), так и по сравнению с уровнем в коже мышей контрольной группы – до 4,3 раза на 3-й нед (p<0,001). При этом концентрация NOS-2 оставалась значительно выше уровня фермента в ткани опухоли в группе сравнения – в среднем в 3,3 раза (p<0,001). Концентрация АДМА в ткани опухоли на протяжении трех недель была ниже в среднем в 2 раза (p<0,05–p<0,001), чем в коже животных контрольной группы, и ниже уровня в опухоли самцов группы сравнения – в среднем в 4,8 раза (p<0,001).

Концентрация аргинина на 1-й нед была в 4,5 раза (p<0,001) ниже ее уровня в коже мышей

Таблица 2/ Table 2

Динамика концентрации компонентов NO-системы в ткани опухоли у самцов мышей
Changes in the concentration of NO-system components in the tumor tissue in male mice

Группы экспериментальных животных/ Groups of experimental animals	NOS-3, нг/г ткани/ NOS-3, ng/g tissue	NOS-2, нг/г ткани/ NOS-2, ng/g tissue	АДМА, мкМ/г ткани/ ADMA μM / g tissue	Аргинин, мкМ/г ткани/ Arginine, μM / g tissue	Общий нитрит, мкМ/г ткани/ Total nitrite, μM / g tissue	L-цитруллин, мкМ/г ткани/ L-citrullin, μM / g tissue	Нитротирозин, нМ/г ткани/ Nitrotyrosin, nM / g tissue
Кожа интактная/ Intact skin	0,48 ± 0,03	0,96 ± 0,11	0,26 ± 0,02	72,5 ± 6,5	9,6 ± 0,7	21,8 ± 1,4	0,96 ± 0,07
Кожа на фоне боли (контроль)/ Skin with presence of chronic pain (control)	16,2 ± 1,6 p ₁ <0,001	9,8 ± 1,1 p ₁ <0,001	0,51 ± 0,08 p ₁ <0,05	102,5 ± 12,9 0,1>p ₁ >0,05	4,1 ± 0,6 p ₁ <0,001	21,8 ± 1,8	1,1 ± 0,014
1-я нед роста B16/F10/Week 1 of B16/F10 growth							
Группа сравнения/ Comparison group	Опухоль отсутствует/no tumor						
Основная группа/ Main group	11,0 ± 0,7 p _к <0,01	4,82 ± 0,39 p _к <0,001	0,16 ± 0,02 p _к <0,001	22,9 ± 2,5 p _к <0,001	5,59 ± 0,7	80,4 ± 2,6 p _к <0,001	1,16 ± 0,1
2-я нед роста B16/F10/Week 2 of B16/F10 growth							
Группа сравнения/ Comparison group	0,15 ± 0,02 p ₁ <0,01	1,2 ± 0,06	1,71 ± 0,22 p ₁ <0,001	79,6 ± 6,1	11,8 ± 1,5	25,7 ± 1,9	1,04 ± 0,09
Основная группа/ Main group	11,1 ± 1,1 p _к <0,05 p ₄ <0,001	3,0 ± 0,4 p _к <0,001 p ₂ <0,01 p ₄ <0,001	0,44 ± 0,05 p ₂ <0,001 p ₄ <0,001	34,1 ± 2,6 p _к <0,001 p ₂ <0,01 p ₄ <0,001	5,80 ± 0,57 p _к <0,05 p ₄ <0,001	72,9 ± 8,4 p _к <0,001 p ₄ <0,001	1,29 ± 0,11
3-я нед роста B16/F10/Week 3 of B16/F10 growth							
Группа сравнения/ Comparison group	0,36 ± 0,037 p ₃ <0,05	0,56 ± 0,028 p ₁ <0,01 p ₃ <0,05	1,64 ± 0,13 p ₁ <0,001	51,3 ± 5,6 0,1>p ₁ >0,05 p ₃ <0,05	8,1 ± 0,8	15,0 ± 1,6 0,1>p ₁ >0,05 p ₃ <0,01	1,31 ± 0,18 0,1>p ₁ >0,05
Основная группа/ Main group	10,6 ± 0,8 p _к <0,01 p ₄ <0,001	2,27 ± 0,2 p _к <0,001 p ₄ <0,001	0,29 ± 0,02 p _к <0,05 p ₃ <0,01 p ₄ <0,001	33,5 ± 2,6 p _к <0,001 p ₄ <0,01	5,69 ± 0,54 p _к <0,05 p ₄ <0,01	97,7 ± 4,7 p _к <0,001 p ₃ <0,05 p ₄ <0,001	1,25 ± 0,09

Примечание: статистически значимые различия: p_к – относительно уровня в контроле – кожа животных с хронической болью; p₁ – относительно уровня у интактных животных; p₂ – относительно уровня на 1-й нед роста меланомы в соответствующей группе; p₃ – относительно уровня на 2 неделе роста меланомы в соответствующей группе; p₄ – относительно уровня в группе сравнения на соответствующем сроке наблюдения.

Notes: statistically significant differences: p_к – relative to the level in the control – the skin of animals with chronic pain, p₁ – relative to the level in intact animals, p₂ – relative to the level at 1 week of melanoma growth in the corresponding group, p₃ – relative to the level at 2 weeks of melanoma growth in the corresponding group, p₄ – relative to the level in the comparison group at the appropriate follow-up period.

контрольной группы. По мере роста опухоли она выросла в среднем на 47 % (p<0,01) на 2–3-й нед после перевивки (по сравнению со значениями в ткани опухоли на 1-й нед), оставаясь, однако, по-прежнему ниже уровня в контрольной группе – в 3 раза и в группе сравнения – в среднем на 46 % (p<0,01–p<0,001). Концентрация общего нитрита в течение всего срока наблюдения была стабильно ниже уровня в опухоли мышей группы сравнения – в среднем на 40 % (p<0,01–p<0,001). При этом концентрация цитрулина была значительно более высокой, чем в коже животных контрольной группы – в 3,7–4,5 раза (p<0,001) и в ткани опухоли группы сравнения – в 2,8–6,5 раза (p<0,001), достигая максимального увеличения на 3-й нед.

Обсуждение

Результаты исследования показали, что в состоянии хронической нейрогенной боли в коже самцов мышей наблюдаются неоднозначные изменения уровня компонентов NO-системы. С одной стороны, значительно выраженное увеличение концентрации обеих изоформ ферментов – эндотелиальной NOS-3 и индуцибельной NOS-2 – позволяет предположить активацию функционирования системы, при этом наблюдаемое снижение уровня общего нитрита может быть связано с активацией процесса нитрозилирования макромолекул. Важность данной модификации белков для ингибирования апоптоза и стимуляции пролиферации в клетках меланомы была показана ранее [29, 30]. Аналогичные, но менее выраженные изменения были обнаружены у самок мышей с хронической

болью [17]. Возможно, такие изменения способствуют формированию состояния воспаления в коже и более раннему появлению подкожных опухолей у мышей (самок и самцов) с ростом меланомы на фоне хронической нейрогенной боли [11, 12]. С другой стороны, увеличение уровня ингибитора NO-синтаз асимметричного диметиларгинина (АДМА), выявленное у самцов, может быть проявлением мобильной регуляции этих ферментов и метаболизма аргинина по другим путям, не связанным с работой NO-синтаз.

При росте опухоли после стандартной перевивки у самцов, в отличие от самок, изменения содержания компонентов NO-системы наблюдаются уже с 1-й нед роста опухоли [17]. В непораженной коже и в ткани опухоли наблюдаются снижение уровня ферментов и цитруллина, нарастание уровня аргинина и АДМА, что может свидетельствовать об ингибировании работы системы NO-синтаз в отличие от самок [17].

В динамике роста меланомы В16 на фоне хронической нейрогенной боли в коже и в опухоли у самцов мышей наблюдался значительно более высокий уровень изоформ NOS-3 и NOS-2, чем в группе со стандартной перевивкой опухоли и чем у самок мышей [17]. Это является признаком более активного функционирования системы NO-синтаз у самцов мышей, особенно на 1-й нед роста опухоли на фоне боли, когда был обнаружен максимальный уровень NOS-2 и общего нитрита в коже и максимальный уровень NOS-2 и минимальный уровень АДМА и аргинина в опухоли. Возможно, этим объясняется большая скорость роста опухолей у самцов [12].

Экспрессия и активность NOS-3 увеличиваются при активации сигнального пути VEGFA [31, 32]. На модели меланомы, выросшей у мышей с дефицитом эндотелиальной NOS-3, было обнаружено, что опухоль имела меньшее количество сосудов по сравнению с меланомой, выросшей у животных дикого типа. При этом на этой же модели показано, что удаление индуцибельной NOS-2 в стромальных клетках не влияло на ангиогенез и морфологию сосудов [31]. Однако в исследовании H. Vahora et al. показано, что активация транскрипции NOS-2 опосредует участие других факторов в процессе ангиогенеза (EGF, COX-2, ANGPTL4) [22].

Отличительной особенностью являлось стабильное нарастание уровня цитруллина в коже в динамике роста опухоли на фоне боли, а также значительно

более высокий уровень цитруллина в ткани опухоли у самцов в основной группе, чем у самцов в группе сравнения и у самок в основной группе [17]. Известно, что накопление цитруллина может быть связано как со значительной активацией NO-синтаз, так и с ингибированием его реакции с аспаратом в реакциях синтеза аргинина из цитруллина за счет снижения экспрессии фермента аргинин-сукцинат-синтетазы (АСС1), показанного для некоторых видов опухолей, в том числе для меланомы [33, 34]. Однако в условиях настоящего эксперимента у животных после стандартной перевивки меланомы В16 таких выраженных изменений концентрации цитруллина не обнаружено. Снижение экспрессии АСС1 и ингибирование таким образом синтеза аргинин-сукцината поддерживает пул аспартата для синтеза нуклеотидов и обеспечивает активность пролиферации опухолевых клеток, способствуя прогрессированию опухоли [23, 26, 35].

Кроме того, в данном исследовании обнаружена динамика концентрации ингибитора NO-синтаз АДМА, которая в комплексе с изменениями других показателей, на наш взгляд, может свидетельствовать об активации на определенных этапах роста опухоли NOS-независимого метаболизма аргинина (через аргиназу и/или другие ферменты его деградации): при обычном росте меланомы В16 у самцов мышей это отмечалось в ткани опухоли на 2–3 нед после перевивки, в группе с ростом меланомы на фоне хронической боли такая картина наблюдалась в непораженной коже на 1-й и 2-й нед после перевивки опухоли. В то время как в ткани опухоли отмечалось более активное функционирование системы NO-синтаз в течение 3-х нед наблюдения в отличие от самок [17].

Заключение

Таким образом, у самцов мышей при росте меланомы В16 на фоне хронической нейрогенной боли уже с 1-й нед после перевивки наблюдалось более активное функционирование NO-системы, чем после стандартной перевивки опухоли и чем у самок мышей, создавая условия для NO-зависимой стимуляции роста опухоли. Отличительной особенностью был значительно более высокий уровень цитруллина в коже и опухоли у самцов, в отличие от меланомы после стандартной перевивки, что может свидетельствовать об ингибировании синтеза аргинина и формировании опухоли, аутокотрофной по аргинину.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. van Hecke O., Austin S.K., Khan R.A., Smith B.H., Torrance N. Neuropathic pain in the general population: a systematic review of epidemiological studies. *Pain*. 2014 Apr; 155(4): 654–662. doi: 10.1016/j.pain.2013.11.013.
2. Каприн А.Д., Абузарова Г.Р., Хороненко В.Э., Алексеева Г.С., Костин А.А., Старинский В.В., Алексеев Б.Я., Александрова Л.М. Фармакотерапия хронического болевого синдрома у онкологических пациентов. М., 2015. 48 с. [Каприн А.Д., Абузарова Г.Р., Хороненко В.Э., Алексеева Г.С., Костин А.А., Старинский В.В., Алексеев Б.Я., Александрова Л.М.

Pharmacotherapy of chronic pain syndrome in cancer patients. Moscow, 2015. 48 p. (in Russian)].

3. Mulvey M.R., Boland E.G., Bouhassira D., Freynhagen R., Hardy J., Hjermstad M.J., Mercadante S., Pérez C., Bennett M.I. Neuropathic pain in cancer: systematic review, performance of screening tools and analysis of symptom profiles. *Br J Anaesth*. 2017 Oct 1; 119(4): 765–774. doi: 10.1093/bja/aex175.
4. Rosen S., Ham B., Mogil J.S. Sex differences in neuroimmunity and pain. *J Neurosci Res*. 2017 Jan 2; 95(1–2): 500–508. doi: 10.1002/jnr.23831.

5. Price T.J., Ray P.R. Recent advances toward understanding the mysteries of the acute to chronic pain transition. *Curr Opin Physiol*. 2019 Oct; 11: 42–50. doi: 10.1016/j.cophys.2019.05.015.
6. Vacca V., Marinelli S., Pieroni L., Urbani A., Luvisetto S., Pavone F. Higher pain perception and lack of recovery from neuropathic pain in females: a behavioural, immunohistochemical, and proteomic investigation on sex-related differences in mice. *Pain*. 2014; 155(2): 388–402. doi: 10.1016/j.pain.2013.10.027.
7. Rovner G.S., Sunnerhagen K.S., Björkdahl A., Gerdle B., Börsbo B., Johansson F., Gillanders D. Chronic pain and sex-differences; women accept and move, while men feel blue. *PLoS One*. 2017 Apr 25; 12(4): e0175737. doi: 10.1371/journal.pone.0175737.
8. El Sharouni M.A., Witkamp A.J., Sigurdsson V., van Diest P.J., Louwman M.W.J., Kukutsch N.A. Sex matters: men with melanoma have a worse prognosis than women. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019 Nov; 33(11): 2062–2067. doi: 10.1111/jdv.15760.
9. Yuan T.A., Lu Y., Edwards K., Jakowitz J., Meyskens F.L., Liu-Smith F. Race-, Age-, and Anatomic Site-Specific Gender Differences in Cutaneous Melanoma Suggest Differential Mechanisms of Early- and Late-Onset Melanoma. *Int J Environ Res Public Health*. 2019; 16(6): 908. doi: 10.3390/ijerph16060908.
10. Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Трештаки Л.К., Черярина Н.Д., Димитриади С.Н., Пржедецкий Ю.В. Влияние роста перивитальной меланомы B16/F10 на функционирование гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и тиреоидной осей организма у самок и самцов мышей. Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. 2017; 3–2(195–2): 118–124. [Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Kaplieva I.V., Trepitaki L.K., Cheryarina N.D., Dimitriadi S.N., Przhedetskiy Y.V. Influence of transplantable B16/F10 melanoma growth on hypothalamic-pituitary-adrenal and thyroid axes in male and female mice. Bulletin of higher education institutes north caucasus region natural sciences. 2017; 3–2(195–2): 118–124. (in Russian)].
11. Кит О.И., Франциянц Е.М., Котиева И.М., Каплиева И.В., Трештаки Л.К., Бандовкина В.А., Розенко Л.Я., Черярина Н.Д., Погорелова Ю.А. Некоторые механизмы повышения злокачественности меланомы на фоне хронической боли у самок мышей. Российский журнал боли. 2017; 2(53): 14–20. [Kit O.I., Frantsiyants E.M., Kotieva I.M., Kaplieva I.V., Trepitaki L.K., Bandovkina V.A., Rozenko L.Ya., Cheryarina N.D., Pogorelova Yu.A. Some mechanisms of increasing malignancy of B16/F10 melanoma in female mice with chronic pain. Russian Journal of Pain. 2017; 2(53): 14–20. (in Russian)].
12. Кит О.И., Котиева И.М., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Трештаки Л.К., Бандовкина В.А., Нескубина И.В., Сурикова Е.И., Черярина Н.Д., Погорелова Ю.А., Немашкалова Л.А. Влияние хронической нейропатической боли на течение злокачественного процесса меланомы B16/F10 у самок мышей. Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. 2019; 1(201): 106–111. [Kit O.I., Kotieva I.M., Frantsiyants E.M., Kaplieva I.V., Trepitaki L.K., Bandovkina V.A., Nesukubina I.V., Surikova E.I., Cheryarina N.D., Pogorelova J.A., Nemashkalova L.A. Influence of chronic neuropathic pain on the course of malignant B16/F10 melanoma in male mice. Bulletin of higher education institutes North Caucasus region. Natural sciences. 2019; 1(201): 106–111. (in Russian)].
13. Bonnet C.S., Walsh D.A. Osteoarthritis, angiogenesis and inflammation. *Rheumatology (Oxford)*. 2005; 44(1): 7–16. doi: 10.1093/rheumatology/keh344.
14. Llorián-Salvador M., González-Rodríguez S. Painful Understanding of VEGF. *Front Pharmacol*. 2018 Nov 6; 9: 1267. doi: 10.3389/fphar.2018.01267.
15. Calvo M., Dawes J.M., Bennett D.L. The role of the immune system in the generation of neuropathic pain. *Lancet Neurol*. 2012 Jul; 11(7): 629–42. doi: 10.1016/S1474-4422(12)70134-5.
16. Кит О.И., Котиева И.М., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Трештаки Л.К., Бандовкина В.А., Розенко Л.Я., Черярина Н.Д., Погорелова Ю.А. Регуляция ангиогенеза факторами роста в интактной и патологически измененной коже самок мышей при злокачественной меланоме, развивающейся на фоне хронической боли. Российский журнал боли. 2017; 3–4(54): 17–25. [Keith O.I., Kotieva I.M., Frantsiyants E.M., Kaplieva I.V., Trepitaki L.K., Bandovkina V.A., Rozenko L.Ya., Cheryarina N.D., Pogorelova Yu.A. Regulation of angiogenesis by growth factors in intact and pathologically altered skin of female mice with malignant melanoma developing against the background of chronic pain. Russian Journal of Pain. 2017; 3–4(54): 17–25. (in Russian)].
17. Кит О.И., Франциянц Е.М., Котиева И.М., Сурикова Е.И., Каплиева И.В., Бандовкина В.А., Трештаки Л.К., Погорелова Ю.А., Сидоренко Ю.С. Динамика концентрации компонентов NO-системы в процессе роста меланомы B16/F10 на фоне хронической нейрогенной боли у самок мышей. Вопросы онкологии. 2019; 65(6): 898–903. [Kit O.I., Frantsiyants E.M., Kotieva I.M., Surikova E.I., Kaplieva I.V., Bandovkina V.A., Trepitaki L.K., Pogorelova J.U.A., Sidorenko Yu.S. Dynamics of concentrations of no-system components during B16/F10 melanoma growth in female mice with chronic neurogenic pain. *Problems in Oncology*. 2019; 65(6): 898–903. (in Russian)].
18. Горошинская И.А., Сурикова Е.И., Айрапетов К.Г., Нескубина И.В., Шалашная Е.В., Немашкалова Л.А., Качесова П.С. Содержание производных оксида азота в крови онкологических больных с церебральными метастазами с различной степенью эндогенной интоксикации. Сибирский онкологический журнал. 2009; (6): 44–47. [Goroshinskaya I.A., Surikova E.I., Airapetov K.G., Nesukubina I.V., Shalashnaya E.V., Nemashkalova L.A., Kachesova P.S. The content of nitric oxide derivatives in the blood of cancer patients with cerebral metastases with varying degrees of endogenous intoxication. *Siberian Journal of Oncology*. 2009; (6): 44–47. (in Russian)].
19. Somasundaram V., Basudhar D., Bharadwaj G., No J.H., Ridnour L.A., Cheng R.Y.S., Fujita M., Thomas D.D., Anderson S.K., McVicar D.W., Wink D.A. Molecular Mechanisms of Nitric Oxide in Cancer Progression, Signal Transduction, and Metabolism. *Antioxid Redox Signal*. 2019 Mar 10; 30(8): 1124–1143. doi: 10.1089/ars.2018.7527.
20. Saleh A., Stathopoulou M.G., Dadé S., Ndiaye N.C., Azimi-Nezhad M., Murray H., Masson C., Lamont J., Fitzgerald P., Visvikis-Siest S. Angiogenesis related genes NOS3, CD14, MMP3 and IL4R are associated to VEGF gene expression and circulating levels in healthy adults. *BMC Med Genet*. 2015 Oct 5; 16: 90. doi: 10.1186/s12881-015-0234-6.
21. Yang Y., Zhang J., Liu Y., Zheng Y., Bo J., Zhou X., Wang J., Ma Z. Role of nitric oxide synthase in the development of bone cancer pain and effect of L-NMMA. *Mol Med Rep*. 2016; 13(2): 1220–6. doi: 10.3892/mmr.2015.4647.
22. Vahora H., Khan M.A., Alalami U., Hussain A. The Potential Role of Nitric Oxide in Halting Cancer Progression Through Chemoprevention. *J Cancer Prev*. 2016 Mar; 21(1): 1–12. doi: 10.15430/JCP.2016.21.1.1.
23. Keshet R., Erez A. Arginine and the metabolic regulation of nitric oxide synthesis in cancer. *Dis Model Mech*. 2018 Aug 6; 11(8): dmm033332. doi: 10.1242/dmm.033332.
24. Mishra D., Patel V., Banerjee D. Nitric Oxide and S-Nitrosylation in Cancers: Emphasis on Breast Cancer. *Breast Cancer (Auckl)*. 2020 Jan 22; 14: 1178223419882688. doi: 10.1177/1178223419882688.
25. Lundberg J.O., Weitzberg E., Gladwin M.T. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nat Rev Drug Discov*. 2008 Feb; 7(2): 156–67. doi: 10.1038/nrd2466.
26. Nagamani S.C., Erez A. A metabolic link between the urea cycle and cancer cell proliferation. *Mol Cell Oncol*. 2016 Feb 18; 3(2): e1127314. doi: 10.1080/23723556.2015.1127314.
27. Song S., Yu Y. Progression on Citrullination of Proteins in Gastrointestinal Cancers. *Front Oncol*. 2019 Jan 23; 9: 15. doi: 10.3389/fonc.2019.00015.
28. Yuzhalin A.E. Citrullination in Cancer. *Cancer Res*. 2019 Apr; 79(7): 1274–84. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-2797.
29. Qin Y., Kwon J., Li L., Rosenblatt K.P., Zhang S., Chen L., Jayachandran G., Grimm E.A. The S-nitrosylation-mediated modification of p53 leads to altered DNA binding and associates with inactivity of p53 in human melanoma cells. *Cancer Research*. 2012; 72 (8 Suppl.): 4988–88. doi: 10.1158/1538-7445.AM2012-4988.
30. Lopez-Rivera E., Jayaraman P., Parikh F., Davies M.A., Ekmekcioglu S., Izadmehr S., Milton D.R., Chipuk J.E., Grimm E.A., Estrada Y., Aguirre-Ghiso J., Sikora A.G. Inducible nitric oxide synthase drives mTOR pathway activation and proliferation of human melanoma by reversible nitrosylation of TSC-2. *Cancer Res*. 2014; 74(4): 1067–78. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-0588.
31. Kashiwagi S., Izumi Y., Gohongi T., Demou Z.N., Xu L., Huang P.L., Buerk D.G., Munn L.L., Jain R.K., Fukumura D. NO mediates mural cell recruitment and vessel morphogenesis in murine melanomas and tissue-engineered blood vessels. *J Clin Invest*. 2005 Jul; 115(7): 1816–27. doi: 10.1172/JCI24015.
32. Lankhorst S., Kappers M.H., van Esch J.H., Danser A.H., van den Meiracker A.H. Hypertension during vascular endothelial growth factor inhibition: focus on nitric oxide, endothelin-1, and oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*. 2014 Jan 1; 20(1): 135–45. doi: 10.1089/ars.2013.5244.
33. Dillon B.J., Prieto V.G., Curley S.A., Ensor C.M., Holsberg F.W., Bomalaski J.S., Clark M.A. Incidence and distribution of argininosuccinate synthetase deficiency in human cancers: a method for identifying cancers sensitive to arginine deprivation. *Cancer*. 2004; 100(4): 826–33. doi: 10.1002/cncr.20057.
34. Wu L., Li L., Meng S., Qi R., Mao Z., Lin M. Expression of argininosuccinate synthetase in patients with hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013 Feb; 28(2): 365–8. doi: 10.1111/jgh.12043.
35. Rabinovich S., Adler L., Yizhak K., Sarver A., Silberman A., Agron S., Stettner N., Sun Q., Brandis A., Helbling D., Korman S., Itzkovitz S., Dismock D., Ulitsky I., Nagamani S.C., Ruppin E., Erez A. Diversion of aspartate in ASS1-deficient tumours fosters de novo pyrimidine synthesis. *Nature*. 2015 Nov 19; 527(7578): 379–383. doi: 10.1038/nature15529.

Поступила/Received 13.02.2019
Принята в печать/Accepted 21.06.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Кит Олег Иванович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, генеральный директор, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). E-mail: super.gormon@yandex.ru. SPIN-код: 1728-0329. ORCID: 0000-0003-3061-6108.

Котиева Инга Мовлиевна, доктор медицинских наук, научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 3478-5811. ORCID: 0000-0003-0252-4708.

Франциянц Елена Михайловна, доктор биологических наук, профессор, заместитель генерального директора по науке, руководитель лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 9427-9928. ORCID: 0000-0003-3618-6890.

Сурикова Екатерина Игоревна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 2401-4115. AuthorID (РИНЦ): 301537. ORCID: 0000-0002-4318-7587.

Каплиева Ирина Викторовна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 5047-1541. ORCID: 0000-0002-3972-2452.

Бандовкина Валерия Ахтямовна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 8806-2641. ORCID: 0000-0002-2302-8271.

Трепитаки Лидия Константиновна, научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 2052-1248. ORCID: 0000-0002-9749-2747.

Нескубина Ирина Валерьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 3581-8531. ORCID: 0000-0002-7395-3086.

Погорелова Юлия Александровна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 2168-8737. ORCID: 0000-0002-2674-9832.

ВКЛАД АВТОРОВ

Кит Олег Иванович: критическая редакция с внесением важного интеллектуального содержания.

Котиева Инга Мовлиевна: разработка концепции эксперимента, анализ и интерпретация результатов.

Франциянц Елена Михайловна: анализ и интерпретация результатов, критическая редакция с внесением важного интеллектуального содержания.

Сурикова Екатерина Игоревна: написание текста, обзор литературы.

Каплиева Ирина Викторовна: разработка концепции эксперимента, анализ и интерпретация результатов.

Бандовкина Валерия Ахтямовна: редактирование рукописи.

Трепитаки Лидия Константиновна: сбор и статистическая обработка данных.

Нескубина Ирина Валерьевна: сбор и статистическая обработка данных, обзор литературы.

Погорелова Юлия Александровна: сбор и обработка данных, обзор литературы, подготовка иллюстраций.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Oleg I. Kit, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, General Director of National Medical Research Centre for Oncology (Rostov-on-Don, Russia). E-mail: super.gormon@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-3061-6108.

Inga M. Kotieva, MD, DSc, Senior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, National Medical Research Centre for Oncology (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0003-0252-4708.

Elena M. Frantsiyants, Professor, Deputy General Director for Science, Head of Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, National Medical Research Centre for Oncology (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0003-3618-6890.

Ekaterina I. Surikova, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, National Medical Research Centre for Oncology (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-4318-7587.

Irina V. Kaplieva, MD, DSc, Senior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, National Medical Research Centre for Oncology (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-3972-2452.

Valerija A. Bandovkina, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, National Medical Research Centre for Oncology (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-2302-8271.

Lidija K. Trepitaki, Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, National Medical Research Centre for Oncology (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-9749-2747.

Irina V. Neskubina, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, National Medical Research Centre for Oncology (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-7395-3086.

Julija A. Pogorelova, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, National Medical Research Centre for Oncology (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-2674-9832.

AUTOR CONTRIBUTION

Oleg I. Kit: critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Inga M. Kotieva: study conception, data analysis.

Elena M. Frantsiyants: data analysis, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Ekaterina I. Surikova: writing the manuscript, literature review.

Irina V. Kaplieva: study conception, data analysis.

Valerija A. Bandovkina: writing the manuscript.

Lidija K. Trepitaki: data collection, statistical analysis.

Irina V. Neskubina: data collection, statistical analysis, literature review.

Julija A. Pogorelova: data collection, literature review, creation of illustrations.

Funding

This study required no additional funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.