

Оказывает ли влияние изменение нейротрансмиссивного статуса мозга на рост перевивной меланомы?

Кит О.И., Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Сурикова Е.И., Трепитаки Л.К., Черярина Н.Д., Котиева И.М.

Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) онкологии
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить влияние особенностей аминергического статуса головного мозга у мышей при нокауте гена урокиназы и хронической нейрогенной боли (ХНБ) на развитие меланомы B16/F10.

Материалы и методы. Работа выполнена на самках мышей ($n = 68$) C57BL/6 – с полноценным геном урокиназы (+uPA) и C57BL/6-PlautmI.IBug-This Plau6FDhu/GFDhu – с нокаутом гена урокиназы (-uPA). Животным моделировали состояние ХНБ, через 14 сут подкожно перевивали меланому B16/F10. Забой производили через 21 сут после перевивки. В головном мозге определяли содержание адреналина (А), норадреналина (НА), дофамина (ДА), гистамина (Г), серотонина (5НТ), 5-оксииндолуксусной кислоты (5ОИУК) с помощью иммуноферментных стандартных тест-систем (Cusabio, Китай).

Результаты. У самок (+uPA) ХНБ приводила к снижению содержания практически всех исследованных биогенных аминов (БА). У самок (-uPA), напротив, отмечался рост концентрации НА, ДА, 5НТ и снижение Г. Обнаружено увеличение уровня 5ОИУК при ХНБ и нокауте. У самок (+uPA) с ХНБ снижался уровень 5НТ, но сохранялось его физиологическое содержание у мышей с нокаутом. Через 3 нед роста опухоли на фоне ХНБ у мышей (+uPA) обнаружено увеличение уровня всех изученных БА, кроме 5ОИУК, по сравнению с уровнем у мышей только с ХНБ. У мышей (-uPA) в аналогичной группе было увеличение только гистамина.

Заключение. ХНБ приводила к угнетению А-, НА-, Г-, 5НТ-ергических систем мозга мышей, а при нокауте гена урокиназы наблюдались противоположные эффекты, за исключением Г-ергической системы. Сочетание ХНБ и меланомы у самок мышей (+uPA) приводило к активации всех изученных систем БА, а у самок (-uPA) – только Г-ергической системы. Стрессорное воздействие – ХНБ, генетическое нарушение (нокаут гена урокиназы), способствовали изменению функционирования систем БА мозга, разнонаправленно влияя на противоопухолевые механизмы.

Ключевые слова: меланома, хроническая нейрогенная боль, нокаут гена урокиназы uPA, мышцы, головной мозг, биогенные амины.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено биоэтическим комитетом по работе с животными Ростовского научно-исследовательского онкологического института (протокол № 4 от 10.08.2018).

Для цитирования: Кит О.И., Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Сурикова Е.И., Трепитаки Л.К., Черярина Н.Д., Котиева И.М. Оказывает ли влияние изменение нейротрансмиссивного статуса мозга на рост перевивной меланомы? *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (4): 94–101. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-4-94-101>.

Does change in neurotransmitter brain status affect the growth of transplantable melanoma?

Kit O.I., Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Kaplieva I.V., Surikova E.I., Trepitaki L.K., Cheryarina N.D., Kotieva I.M.

National Medical Research Centre for Oncology
63, 14 Liniya Str., Rostov-on-Don, 344037, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. Studying the influence of the features of aminergic brain status on the development of B16/F10 melanoma in mice with urokinase gene knockout and chronic neurogenic pain (CNP).

Material and methods. The study included female ($n = 68$) C57BL/6 mice with the normal urokinase gene (+*uPA*) and C57BL/6-Plautm.IBug-This Plau6FDhu/GFDhu mice with urokinase gene knockout (–*uPA*). The model of CNP was created in the animals, and in 14 days B16/F10 melanoma was transplanted. The mice were euthanized 21 days after the transplantation. Levels of adrenaline (A), noradrenaline (NA), dopamine (DA), histamine (H), serotonin (5HT), 5-hydroxyindoleacetic acid (5HIAA) were determined in the brain using standard ELISA test systems (Cusabio, China).

Results. CNP in (+*uPA*) females resulted in the reduction of almost all studied biogenic amines (BA). On the opposite, (–*uPA*) females showed an increase in NA, DA, 5HT and a decrease of H. 5HIAA increased in both CNP and gene knockout. 5HT in (+*uPA*) females with CNP decreased, while its physiological level in gene knockout mice was maintained. After 3 weeks of tumor growth in animals with CNP, (+*uPA*) mice demonstrated increased levels of studied BA (except for 5HIAA) compared to mice with CNP alone. Only H increase was observed in (–*uPA*) mice from the similar group.

Conclusion. CNP in mice inhibited A-, NA-, H- and 5HT-ergic systems of the brain; the opposite effects were registered in urokinase gene knockout, except for the H-ergic system. Combination of CNP and melanoma in (+*uPA*) female mice activated all studied BA systems, and in (–*uPA*) females – H-ergic system only. Different stressful effects, CNP, and genetic disorders (urokinase gene knockout) contributed to changes in the brain BA system functions, leading to the activation of pro- or antitumor mechanisms.

Key words: B16/F10 melanoma, melanoma course, chronic neurogenic pain, *uPA* urokinase gene knockout, mice, brain, biogenic amines.

Conflict of interest. Authors declare no actual or potential conflict of interest related to publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the National Medical Research Center for Oncology, Bioethical Committee for Working with Animals (Protocol No. 4 of 10.08.2018).

For citation: Kit O.I., Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Kaplieva I.V., Surikova E.I., Trepitaki L.K., Cheryarina N.D., Kotieva I.M. Does change in neurotransmitter brain status affect the growth of transplantable melanoma? *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (4): 94–101. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-4-94-101>.

ВВЕДЕНИЕ

Мозг включает в себя уникальную микросреду, которая поддерживает физиологический гомеостаз и реагирует на патологические изменения, включая рак [1]. Клетки кожи, воспринимающие как внешние, так и внутренние изменения и участвующие в регуляции гомеостаза организма, способны влиять на системные регуляторы и, в частности, нейроаминный статус мозга [2]. Наличие тесной связи между клетками

кожи и нейронами головного мозга подтверждается исследованиями при некоторых нейродегенеративных заболеваниях, в частности болезни Паркинсона [3], а также психические расстройства часто сочетаются с хроническими кожными заболеваниями и меланомой [4, 5]. Многофункциональные биогенные амины модулируют ответ центральной регуляторной системы на различные внутренние и внешние влияния, участвуют в реакции организма на стресс, играя решающую роль в поддержании гомеостаза [6].

В ряде работ показано, что стресс может оказывать тормозящее влияние на рост опухоли посредством воздействия нейромедиаторов на гипоталамус и иммунную систему [7]. Разрозненные экспериментальные данные свидетельствуют о роли биогенных аминов мозга в противоопухолевой защите [8, 9]. При остром и хроническом стрессе в мозге изменяется уровень гистамина, который регулирует секрецию гормонов гипоталамуса, передней доли гипофиза, модулирует влияние некоторых транснамиттеров [10], играет важную роль при множественных заболеваниях центральной нервной системы [11]. Сопутствующие опухолевому росту коморбидные заболевания связаны с различиями в лечении, клиническом ведении, прогнозе, выживаемости, прогрессировании рака, а также способны вызывать более высокий риск осложнений и снижения качества жизни.

Несмотря на важность учета коморбидных заболеваний, связи между меланомой и сопутствующей патологией уделяется мало внимания [12]. Если влияние хронической нейрогенной боли (ХНБ) на транснамиттерный статус мозга не вызывает сомнений [13, 14], то связь нокаута по гену урокиназы и баланса биогенных аминов мозга не столь очевидна. Имеются экспериментальные данные о существенной роли активаторов плазминогена в процессах восстановления мозга после ишемического повреждения [15]. Модели животных с повреждением нервов, вызывающих хроническую нейропатическую боль, а также животные с измененным генотипом позволяют исследовать множественные изменения, происходящие в основных регуляторных системах, а также их возможное влияние на развитие опухолевого процесса.

Цель работы – изучить влияние особенностей аминергического статуса головного мозга у мышей при нокауте гена урокиназы и хронической нейрогенной боли на развитие меланомы B16/F10.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на самках мышей ($n = 68$). Все животные содержались при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Исследования проводили в соответствии с требованиями и условиями, изложенными в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики». Мыши линии C57BL/6 ($n = 34$) – с полноценным геном урокиназы (+uPA), получены из Научного центра биомедицинских технологий «Андреевка». Животные линии C57BL/6-Plautm.IBug-This PlaubFDhu/GFDhu ($n = 34$) – с нокаутом гена уроки-

назы (–uPA) (целевая мутация с получением белка, неспособного связываться с рецептором активатора плазминогена урокиназного типа), получены из питомника лабораторных животных «Пушино».

Животные были разделены на восемь групп: интактные самки (+uPA) ($n = 7$); самки (+uPA) с ХНБ ($n = 9$); интактные самки (–uPA) ($n = 7$); самки (–uPA) с ХНБ ($n = 9$); самки (+uPA) с меланомой ($n = 9$); самки (+uPA) с ХНБ и меланомой ($n = 9$); самки (–uPA) с меланомой ($n = 9$); самки (–uPA) с ХНБ и меланомой ($n = 9$).

Моделирование ХНБ перевязкой седалищного нерва с обеих сторон, процедура подкожной перевивки меланомы B16/F10 в правую подлопаточную область, ход эксперимента и подготовка 10%-х цитозольных фракций описаны ранее [13]. В работе использовали мышиную меланому B16/F10, полученную из НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Пролиферативный пул опухоли – 71,6%. Материал для перевивки меланомы B16/F10 получали от мышей-доноров (+uPA) линии C57BL/6, второй пассажа, на 12–16-е сут развития опухолей. Забой животных с опухолью проводили через 21 сут после перевивки меланомы. Из выделенного головного мозга получали 10%-е цитозольные фракции, приготовленные на 0,1 М калий-фосфатном буфере, pH 7,4, содержащем 0,1% Твин-20 и 1% БСА, все манипуляции проводили на льду. В полученных образцах с помощью стандартных тест-систем методом иммуноферментного анализа определяли содержание биогенных аминов – адреналина (А), норадреналина (НА), дофамина (ДА), гистамина (Г), серотонина (5НТ), 5-оксииндоуксусной кислоты (5ОИУК) (Cusabio, Китай).

Статистическая обработка материала проводилась с помощью программы Statistica 10,0, определяли средние значения и стандартные ошибки ($M \pm m$). Значимость различий средних показателей оценивали с помощью *U*-критерия Манна – Уитни и *t*-критерия Стьюдента (после проверки на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро – Уилка). Значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сначала провели исследование влияния ХНБ, нокаута по урокиназе и их сочетания на содержание биогенных аминов в мозге самок мышей. Результаты исследования биогенных аминов в мозге у самок (+uPA) с ХНБ показали снижение уровня адреналина в 2,4 раза, норадреналина – в 2,3; гистамина – в 2,1 и серотонина в 1,9 раза ($p < 0,05$) на фоне повышения 5ОИУК в 3,3 раза, по сравнению с показателями у интактных самок (+uPA) (таблица). Содержание дофамина в мозге у самок (+uPA) под влиянием ХНБ

не изменилось, однако в 2,3 раза повысилось соотношение ДА/НА, в 1,3 раза ($p < 0,05$) снизилось А/5НТ и в 4,8 раза – 5НТ/5ОИУК.

Нокаут по гену урокиназы у самок мышей не оказал влияния на содержание в мозге адреналина и серотонина, в 3,2 раза повысил уровень норадреналина, в 2,9 – дофамина, в 2,0 раза – 5ОИУК, но в 2,1 раза снизил содержание гистамина (см. таблицу). В результате коэффициент соотношения 5НТ/5ОИУК снизился

в 2,5 раза, соотношение ДА/НА и А/5НТ не отличалось от показателей у интактных самок (+uPA).

Моделирование ХНБ у самок (-uPA) привело к уменьшению уровня НА и ДА в мозге в 1,5 раза по сравнению с самками (-uPA) без боли ($p < 0,05$), однако относительно самок (+uPA), как интактных, так и на фоне ХНБ, концентрация этих нейромедиаторов была выше: НА – в 1,7 и 4 раза соответственно, ДА – в 2 раза ($p < 0,05$).

Таблица

Содержание биогенных аминов в мозге самок мышей линии C57Bl/6, $M \pm m$								
Показатель	Интактные (+uPA)	(+uPA) + меланома B16/F10	(+uPA) + ХНБ	(+uPA) + ХНБ + меланома B16/F10	Интактные (-uPA)	(-uPA) + меланома B16/F10	(-uPA) + ХНБ	(-uPA) + ХНБ + меланома B16/F10
Адреналин, нг/г тк	8,5 ± 0,7	9,0 ± 0,8	3,5 ± 0,3 ¹	5,0 ± 0,6 ^{1,3,4}	8,6 ± 0,85	7,4 ± 0,69 ⁴	8,6 ± 0,82 ³	8,1 ± 0,78
Норадреналин, нг/г тк	19,4 ± 1,8	23,2 ± 2,2	8,5 ± 1,1 ¹	18,9 ± 2,0 ³	61,4 ± 5,9 ¹	40,3 ± 0,38 ^{2,4}	33,7 ± 3,1 ^{2,3}	37,0 ± 3,2
Дофамин, нг/г тк	17,5 ± 1,8	31,0 ± 3,1 ¹	17,9 ± 1,5	25,0 ± 2,2 ^{1,3}	50,0 ± 4,7 ¹	33,4 ± 0,31 ²	35,8 ± 3,4 ^{2,3}	41,2 ± 3,9
Гистамин, нг/г тк	34,9 ± 3,2	30,4 ± 2,9	16,6 ± 1,2 ¹	33,5 ± 2,9 ³	16,4 ± 1,5 ¹	34,0 ± 0,32 ²	18,9 ± 1,6	28,2 ± 2,7 ⁵
Серотонин, нг/г тк	0,43 ± 0,03	0,97 ± 0,05 ¹	0,23 ± 0,02 ¹	0,4 ± 0,03 ^{3,4}	0,35 ± 0,03	1,9 ± 0,15 ^{2,4}	1,2 ± 0,11 ^{2,3}	1,2 ± 0,10 ⁶
5-ОИУК, мкг/г тк	0,15 ± 0,03	0,23 ± 0,03 ¹	0,5 ± 0,03 ¹	0,2 ± 0,01 ^{1,3}	0,3 ± 0,03 ¹	0,4 ± 0,03 ^{2,4}	0,5 ± 0,04 ²	0,4 ± 0,03
А/5НТ	19,77 ± 1,4	9,28 ± 0,73 ¹	15,22 ± 1,2 ¹	12,5 ± 1,2 ^{1,4}	26,1 ± 0,24 ¹	3,89 ± 0,35 ^{2,4}	7,17 ± 0,69 ^{2,3}	6,75 ± 0,66 ⁶
5НТ/5ОИУК	2,9 ± 0,25	4,22 ± 0,39 ¹	0,6 ± 0,05 ¹	2,0 ± 0,18 ^{1,3,4}	1,1 ± 0,09 ¹	4,75 ± 0,47 ²	2,4 ± 0,18 ^{2,3}	3,0 ± 0,03 ⁶
ДА/НА	0,9 ± 0,08	1,34 ± 0,12 ¹	2,1 ± 0,20 ¹	1,32 ± 0,13 ^{1,3}	0,81 ± 0,07	0,83 ± 0,08	1,06 ± 0,09 ³	1,11 ± 0,1

Примечание. Статистически значимые различия по сравнению со следующими группами животных: 1 – интактными (+uPA); 2 – интактными (-uPA); 3 – (+uPA) + ХНБ; 4 – (+uPA) + меланома B16/F10; 5 – (-uPA) + ХНБ; 6 – (-uPA) + меланома B16/F10.

У самок (-uPA) ХНБ вызвала снижение уровня гистамина в 1,8 раза по сравнению с интактными животными (-uPA) и (+uPA) ($p < 0,05$), без статистически значимых отличий по сравнению с показателями у самок (+uPA) с ХНБ. При этом установлено повышение содержания серотонина в среднем в 3 раза по сравнению с интактными животными (-uPA) и (+uPA) и в 5,2 раза – по сравнению с самками (+uPA) с ХНБ ($p < 0,05$). Моделирование ХНБ у мышей (-uPA) привело к повышению концентрации в мозге 5ОИУК в 1,7 и в 1,3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с интактными животными (-uPA) и (+uPA) соответственно, при этом по сравнению с самками (+uPA) с ХНБ значимых отличий не выявлено. В результате соотношение А/5НТ в мозге снизилось более чем в 3,4 и в 2,8 раза по сравнению с интактными самками (-uPA) и (+uPA) и в 2,1 раза по сравнению с самками (+uPA) с ХНБ, а соотношение между серотонином и его метаболитом 5ОИУК не отличалось от интактных (+uPA), но оказалось в 2,2 раза выше чем у интактных (-uPA) и в 4 раза, чем у самок (+uPA) с

ХНБ. Коэффициент ДА/НА в мозге у самок (-uPA) с ХНБ не имел значимых отличий от интактных (-uPA) и (+uPA), но оказался в 2 раза ниже, чем у самок (+uPA) с ХНБ.

Нокаут по гену урокиназы и ХНБ способствовали изменению биогенного статуса мозга, причем разнонаправленно. Если у самок (+uPA) ХНБ вызывала понижение уровня А и НА, то нокаут по гену урокиназы, напротив, приводил к росту содержания НА и ДА, но не влиял на показатели А. Развитие ХНБ у самок (-uPA) сопровождалось не только снижением уровня НА в мозге, как и у самок (+uPA) на фоне ХНБ, но и ДА, однако уровни этих катехоламинов оставались значительно выше, чем у самок с нормальным геномом как без, так и в сочетании с ХНБ.

Только у самок (-uPA) соотношение А/5НТ в мозге было выше показателей у самок (+uPA). ХНБ как в самостоятельном, так и в сочетании с нокаутом вариантах снижала соотношение А/5НТ. Следует отметить, что у самок любое из оказанных воздействий – ХНБ, нокаут по гену урокиназы, самостоятельный

или в сочетании с ХНБ – приводило к повышению в мозге уровня 5ОИУК – метаболита серотонина, а также к снижению концентрации гистамина.

Ранее нами установлено, что ХНБ у мышей с нормальным геномом оказывала стимулирующее действие на развитие перевивной меланомы, которое выражалось в снижении продолжительности жизни и латентного периода, а также в более активном метастазировании в неспецифические сайты на фоне меньшего объема опухоли [13]. Развитие перевивной меланомы у мышей с нокаутом по гену *uPA* отличалось меньшими объемами опухолей и отсутствием метастазирования через 3 нед на фоне отсутствия отличий в продолжительности жизни и латентного периода. У самок мышей с нокаутом по гену урокиназы и ХНБ с перевивной меланомой фиксировалась меньшая продолжительность жизни, характерная для животных с ХНБ и опухолевым ростом, однако с большим латентным периодом [16].

Учитывая разнонаправленные изменения в нейротрансмиттерном статусе головного мозга у самок мышей под влиянием ХНБ и нокаута по гену урокиназы, а также различия в протекании у них злокачественного процесса, проведено исследование содержания биогенных аминов в мозге у самок мышей с ХНБ, нокаутом по гену урокиназы и их сочетанием через 3 нед роста перевивной меланомы B16/F10.

В качестве контроля сначала исследовали уровень биогенных аминов у самок мышей (*+uPA*) с самостоятельно развивающейся меланомой (без сопутствующей ХНБ). Через 3 нед роста меланомы B16/F10 уровень дофамина в мозге повысился в 1,8 раза ($p < 0,05$), серотонина – в 2,3 и 5 ОИУК – в 1,5 раза ($p < 0,05$), содержание норадреналина, гистамина и адреналина не имело значимых отличий от показателей у интактных (*+uPA*) самок (см. таблицу). В результате соотношение А/5НТ снизилось в 2,1 раза, а 5НТ/5ОИУК и ДА/НА повысилось в 1,5 раза ($p < 0,05$).

У самок (*+uPA*) с ХНБ через 3 нед роста меланомы в мозге повысился уровень адреналина и дофамина в 1,4 раза ($p < 0,05$), норадреналина – в 2,2; гистамина – в 2,0 и серотонина в 1,3 раза ($p < 0,05$), на фоне снижения содержания 5ОИУК в 2,5 раза, по сравнению с показателями в мозге у самок (*+uPA*) только с ХНБ (см. таблицу). В результате соотношение А/5НТ не отличалось от показателей в мозге у самок (*+uPA*) только с ХНБ, 5НТ/5ОИУК было выше в 3,3 раза, а ДА/НА напротив, в 1,6 раза ($p < 0,05$) ниже. Следует отметить, что по сравнению с показателями содержания аминов у животных со стандартной перевивкой меланомы также установлены различия – более низкий уровень адреналина, серотонина и соотно-

шения 5НТ/5ОИУК – в 1,8 раза ($p < 0,05$), в 2,4 и в 2,1 раза соответственно (см. таблицу).

Уровень катехоламинов в мозге мышей (*-uPA*) через 3 нед после перевивки опухоли снизился: адреналина – в 1,2 раза ($p < 0,05$), норадреналина и дофамина – в 1,5 раза ($p < 0,05$), а гистамина, серотонина и 5ОИУК, напротив, повысился в 2,1; 5,8 и в 1,3 раза ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению с самками (*-uPA*). При этом соотношение А/5НТ оказалось ниже в 6,7 раза, а 5НТ/5ОИУК выше в 4,3 раза. Следует отметить, что по сравнению с показателями у самок (*-uPA*) с меланомой без сопутствующей ХНБ, в мозге у мышей (*-uPA*) было выше содержание НА в 1,7 раза ($p < 0,05$), серотонина в 2,0 раза, 5 ОИУК в 1,7 раза ($p < 0,05$), но ниже соотношение А/5НТ в 2,4 раза и ДА/НА в 1,6 раза ($p < 0,05$).

Рост меланомы у самок мышей с нокаутом гена урокиназы и ХНБ характеризовался низкой продолжительностью жизни – в 1,6 раза ($p < 0,05$) меньше, чем у самок с нокаутом гена урокиназы без ХНБ, но в 1,7 раза ($p < 0,05$) большим латентным периодом. При этом в мозге самок (*-uPA*) с ХНБ через 3 нед роста меланомы выявлено только повышение в 1,5 раза ($p < 0,05$) уровня гистамина, по сравнению с показателями в мозге у самок (*-uPA*) с ХНБ без перевивки опухоли (см. таблицу). Основным отличием по сравнению с нейротрансмиттерным статусом у самок (*-uPA*) с меланомой через 3 нед роста опухоли оказался сниженный в 1,6 раза ($p < 0,05$) уровень серотонина, в результате чего в 1,7 раза ($p < 0,05$) повысилось соотношение А/5НТ и в 1,6 раза ($p < 0,05$) снизилось 5НТ/5ОИУК.

ОБСУЖДЕНИЕ

Развитие перевивной меланомы сопровождается нарушением центральных регуляторных механизмов, при этом особенности развития опухоли могут зависеть от первоначального статуса и реактивности аминергических систем головного мозга. В ходе настоящего исследования установлено, что рост меланомы при стандартной перевивке самкам мышей через 3 нед эксперимента приводил к дисбалансу дофаминергической и норадренергической систем, с превалированием первой, а также к активации серотонинергической системы, выражающейся в повышении уровня как серотонина, так и его метаболита.

Прежде всего, обращает на себя внимание тот факт, что ХНБ у самок (*+uPA*) и нокаут по гену урокиназы в самостоятельных вариантах по-разному влияют на адренергическую, норадренергическую и серотонинергическую системы, но одинаково на гистаминергическую. Из полученных результатов видно, что у самок (*+uPA*) ХНБ приводит к снижению

в мозге практически всех исследованных биогенных аминов, результатом чего является нарушение основных механизмов центральной регуляции. Нокаут по гену урокиназы напротив, активирует норадренергическую, серотонинергическую и дофаминергическую системы в мозге у самок, а также изменяет соотношение биогенных аминов.

Модель хронической нейрогенной боли является моделью хронического пролонгированного стресса, в то время как животные с нокаутом по урокиназе, хотя и имеют генетически детерминированное нарушение, фенотипически не отличаются от мышей линии C57BL/6 (+uPA) [15]. Известно, что урокиназа и ее рецептор в большом количестве обнаруживаются в развивающемся мозге [17], однако их экспрессия во взрослом состоянии ограничена определенными группами нейронов, в основном в гиппокампе и некоторых подкорковых структурах [18].

В нашем исследовании показано, что нокаут по гену урокиназы, хотя и не имел фенотипических проявлений в поведении мышей, характеризовался существенным ростом содержания в мозге уровня норадреналина, дофамина и серотонина, но снижением гистамина. Мы предполагаем, что установленное повышение абсолютных уровней дофамина, норадреналина и серотонина, а также изменение баланса биогенных аминов в мозге у самок с нокаутом по гену урокиназы является одним из механизмов, способствующих восстановлению нейрогенеза и синаптической передачи нервных окончаний в случае различных стрессорных воздействий в условиях генетического повреждения одного из звеньев системы урокиназы.

Рост большинства видов злокачественных опухолей зависит от баланса между факторами, способствующими пролиферации, ангиогенезу, миграции и выживанию клеток, и теми, которые участвуют в дифференцировке клеток, тормозят пролиферацию и приводят к апоптозу [19]. Следовательно, после перевивки клеток злокачественной меланомы животным с различным нейротрансмиттерным статусом головного мозга, генетически детерминированным или измененным в результате длительного хронического воздействия нейрогенной боли, развитие злокачественного процесса может оказаться модифицированным, по причине различных фоновых состояний центральных регуляторных систем.

Следствием снижения содержания БА в мозге у самок под влиянием ХНБ оказалась ослабление противоопухолевой защиты организма, что выразилось в уменьшении продолжительности жизни, латентного периода, увеличении активности и сайтов метастазирования у животных. В то же время рост пере-

вивной меланомы у самок мышей с нокаутом по гену урокиназы значимых отличий в продолжительности жизни и латентном периоде не имел, однако прирост объема опухоли был значительно более медленным, чем при перевивке меланомы мышам с диким типом гена урокиназы.

Мы предполагаем, что нокаут по гену урокиназы мог иметь противоопухолевое действие на локальном уровне, так как ранее нами показано участие системы факторов роста и фибринолиза в патогенезе роста меланомы у самок мышей [20]. Экспериментальные исследования свидетельствуют о том, что серотонинергическая и дофаминергическая системы взаимодействуют друг с другом, влияя на пластичность мозга и способность организма в целом к восстановлению и адаптации [21]. Норадреналин участвует в защите дофаминергических нейронов за счет усиления экспрессии тирозин-гидроксилазы [22]. Истощение норадренергической системы головного мозга часто связывают с гиперактивацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, что характеризует различные психические расстройства, связанные со стрессом, такие как тревожность и депрессия, и нейродегенеративные состояния, такие как болезнь Альцгеймера и рассеянный склероз [23]. Недавние исследования свидетельствуют о том, что данная реакция имеет половые различия и особи женского пола менее устойчивы к продолжительному стрессу [24].

В настоящем исследовании у животных с ХНБ и нокаутом по гену урокиназы установлено снижение в мозге уровня гистамина. Данный факт, с одной стороны, может объясняться многофункциональностью гистамина, принимающего участие как в ноцицептивных реакциях, так и в восстановительных процессах в мозге. Сложность интерпретации результатов изменения нейрональных аминов вообще и гистамина в частности заключается в активации различных рецепторов, приводящей к различным эффектам. С другой стороны, повышение активности аминоксидаз может оказаться причиной снижения уровня гистамина. Нами установлен рост уровня метаболита серотонина – 5ОИУК как при ХНБ, так и у нокаутных животных. Значимым отличием оказалось снижение серотонина у самок с ХНБ, но сохранение его физиологических концентраций у нокаутных животных.

При этом сочетанное воздействие ХНБ и (-uPA) приводит только к снижению степени влияния нокаута по гену урокиназы и активации метаболизма серотонинергической системы на фоне роста уровня серотонина. Возможно, что именно повышение уровня серотонина в мозге у самок с сочетанием

нокаута по гену с ХНБ повлияло на повышение латентного периода развития опухоли, хотя и не привело к повышению продолжительности жизни животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты указывают на несомненное влияние изменений нейромедиаторного баланса головного мозга под действием хронической нейрогенной боли и генетически детерминированного дефицита урокиназы на рост перевивной меланомы. Лучшее понимание механизмов, лежащих в основе нейромедиаторной функции при онкогенезе, нейрогенезе и хронических коморбидных заболеваниях, позволит прогнозировать возможное течение заболевания и разработать персонализированную противоопухолевую терапию.

ЛИТЕРАТУРА

- Valiente M., Ahluwalia M.S., Boire A., Brastianos P.K., Goldberg S.B., Lee E.Q., Le Rhun E., Preusser M., Winkler F., Soffietti R. The evolving landscape of brain metastasis. *Trends Cancer*. 2018; 4 (3): 176–196. DOI: 10.1016/j.trecan.2018.01.003.
- Jozic I., Stojadinovic O., Kirsner R.S.F., Tomic-Canic M. Skin under the (spot)-light: cross-talk with the central hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA). *Axis. J. Invest. Dermatol.* 2015; 135 (6): 1469–1471. DOI: 10.1038/jid.2015.56.
- Planken A., Kurvits L., Reimann E., Kadastik-Eerme L., Kingo K., Kõks S., Taba P. Looking beyond the brain to improve the pathogenic understanding of Parkinson's disease: implications of whole transcriptome profiling of Patients' skin. *BMC Neurol.* 2017; 17 (1): 6. DOI: 10.1186/s12883-016-0784-z.
- Dalvin L.A., Damento G.M., Yawn B.P., Abbott B.A., Hodge D.O., Pulido J.S. Parkinson disease and melanoma: confirming and reexamining an association. *Mayo Clin. Proc.* 2017; 92 (7): 1070–1079. DOI: 10.1016/j.mayocp.2017.03.014.
- Xie Q.W., Dai X., Tang X., Chan C.H.Y., Chan C.L.W. Risk of mental disorders in children and adolescents with atopic dermatitis: a systematic review and meta-analysis. *Front Psychol.* 2019; 10: 1773. DOI: 10.3389/fpsyg.2019.01773.
- Shukla R.K., Dhuriya Y.K., Chandravanshi L.P., Gupta R., Srivastava P., Pant A.B., Kumar A., Pandey C.M., Siddiqui M.H., Khanna V.K. Influence of immobilization and forced swim stress on the neurotoxicity of lambda-cyhalothrin in rats: effect on brain biogenic amines and BBB permeability. *Neurotoxicology.* 2017; 60: 187–196. DOI: 10.1016/j.neuro.2016.07.002.
- Kusuhara M., Maruyama K., Ishii H., Masuda Y., Sakurai K., Tamai E., Urakami K. A fragrant environment containing α -pinene suppresses tumor growth in mice by modulating the hypothalamus/sympathetic nerve/leptin axis and immune system. *Integr. Cancer Ther.* 2019; 18: 1534735419845139. DOI: 10.1177/1534735419845139.
- Ben-Shaanan T.L., Schiller M., Azulay-Debby H., Korin B., Boshnak N., Koren T., Krot M., Shakya J., Rahat M.A., Hakim F., Rolls A. Modulation of anti-tumor immunity by the brain's reward system. *Nat. Commun.* 2018; 9 (1): 2723. DOI: 10.1038/s41467-018-05283-5.
- Menezes A.C., Carvalheiro M., Ferreira de Oliveira J.M.P., Ascenso A., Oliveira H. Cytotoxic effect of the serotonergic drug 1-(1-Naphthyl)piperazine against melanoma cells. *Toxicol. in Vitro.* 2018; 47: 72–78. DOI: 10.1016/j.tiv.2017.11.011.
- Passani M.B., Panula P., Lin J.S. Histamine in the brain. *Front Syst. Neurosci.* 2014; 8: 64. DOI: 10.3389/fnsys.2014.00064.
- Hu W., Chen Z. The roles of histamine and its receptor ligands in central nervous system disorders: An update. *Pharmacol. Ther.* 2017; 175: 116–132. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2017.02.039.
- Bebe F.N., Hu S., Brown T.L., Tulp O.L. Role, extent, and impact of comorbidity on prognosis and survival in advanced metastatic melanoma: a review. *J. Clin. Aesthet. Dermatol.* 2019; 12 (1): 16–23.
- Кит О.И., Франциянц Е.М., Котиева И.М., Каплиева И.В., Трепитаки 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.
- Taylor B.K., Westlund K.N. The noradrenergic locus coeruleus as a chronic pain generator. *J. Neurosci. Res.* 2017; 95 (6): 1336–1346. DOI: 10.1002/jnr.23956.
- Семина Е.В., Рубина К.А., Степанова В.В., Ткачук В.А. Участие рецептора урокиназы и его эндогенных лигандов в развитии головного мозга и формировании когнитивных функций. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 2016; 102 (8): 881–903.
- Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Сурикова Е.И., Нескубина И.В., Бандовкина В.А., Трепитаки Л.К., Лесовая Н.С., Черярина Н.Д., Погорелова Ю.А. Немашкалова Л.А. Влияние нокаута по гену урокиназы на рост меланомы в эксперименте. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2019; 39 (4): 62–70. DOI: 10.15372/SSMJ20190408.
- Merino P., Diaz A., Manrique L.G., Cheng L., Yepes M. Urokinase-type plasminogen activator (uPA) promotes ezrin-mediated reorganization of the synaptic cytoskeleton in the ischemic brain. *J. Biol. Chem.* 2018; 293 (24): 9234–9247. DOI: 10.1074/jbc.RA118.002534.
- Merino P., Diaz A., Jeanneret V., Wu F., Torre E., Cheng L., Yepes M. Urokinase-type plasminogen activator (uPA) binding to the uPA receptor (uPAR) promotes axonal regeneration in the central nervous system. *J. Biol. Chem.* 2017; 292 (7): 2741–2753. DOI: 10.1074/jbc.M116.761650.
- Cao L., Liu X., Lin E.J., Wang C., Choi E.Y., Riban V., Lin B., During M.J. Environmental and genetic activation of a brain-adipocyte BDNF/leptin axis causes cancer remission and inhibition. *Cell.* 2010; 142 (1): 52–64. DOI: 10.1016/j.cell.2010.05.029.
- Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Погорелова Ю.А., Ткаля Л.Д., Черярина Н.Д. Активность компонентов системы активации плазминогена и некоторых факторов неогенеза в динамике развития перевиваемой меланомы B16/F10. *Современные проблемы науки и образования.* 2015; 5: 617.
- Cordeiro L.M.S., Rabelo P.C.R., Moraes M.M., Teixeira-Coelho F., Coimbra C.C., Wanner S.P., Soares D.D. Physical exer-

- cise-induced fatigue: the role of serotonergic and dopaminergic systems. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2017; 50 (12): e6432. DOI: 10.1590/1414-431X20176432.
22. Zhu M.Y., Raza M.U., Zhan Y., Fan Y. Norepinephrine up-regulates the expression of tyrosine hydroxylase and protects dopaminergic neurons against 6-hydrodopamine toxicity. *Neurochem. Int.* 2019; 31: 104549. DOI: 10.1016/j.neuint.2019.104549.
23. Urquhart M.A., Ross J.A., Reyes B.A.S., Nitikman M., Thomas S.A., Mackie K., van Bockstaele E.J. Noradrenergic depletion causes sex specific alterations in the endocannabinoid system in the Murine prefrontal cortex. *Neurobiol. Stress.* 2019; 10: 100164. DOI: 10.1016/j.ynstr.2019.100164.
24. Becker J.B., Chartoff E. Sex differences in neural mechanisms mediating reward and addiction. *Neuropsychopharmacology.* 2019; 4 (1): 166–183. DOI: 10.1038/s41386-018-0125-6.

Вклад авторов

Франциянц Е.М., Каплиева И.В. – разработка концепции и дизайна эксперимента. Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Бандовкина В.А. – анализ и интерпретация результатов. Бандовкина В.А., Сурикова Е.И. – подготовка и редактирование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Трепитаки Л.К. – проведение эксперимента. Черярина Н.Д. – выполнение ИФА-анализа. Кит О.И., Франциянц Е.М., Котиева И.М. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

Сведения об авторах

Кит Олег Иванович, д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАМН, генеральный директор НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0003-3061-6108.

Франциянц Елена Михайловна, д-р биол. наук, профессор, зам. ген. директора по науке, руководитель лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0003-3618-6890.

Бандовкина Валерия Ахтямовна, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0002-2302-8271.

Каплиева Ирина Викторовна, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0002-3972-2452.

Сурикова Екатерина Игоревна, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0002-4318-7587.

Трепитаки Лидия Константиновна, науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0002-9749-2747

Черярина Наталья Дмитриевна, врач-лаборант, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0002-3711-8155.

Котиева Инга Мовлиевна, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0003-0252-4708.

(✉) **Бандовкина Валерия Ахтямовна**, e-mail: super.gormon@yandex.ru.

Поступила в редакцию 08.11.2019

Подписана в печать 25.12.2019