

Для цитирования: *Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Черярина Н.Д., Нескубина И.В.* Влияние хронической нейрогенной боли на возникновение и рост саркомы М1 в легком крыс путем изменения локального содержания факторов роста. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(5): 68–75. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-5-68-75.

For citation: *Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Kaplieva I.V., Trepitaki L.K., Cheryarina N.D., Nes kubina I.V.* Influence of chronic neurogenic pain on the development and growth of M1 sarcoma by changing local levels of growth factors. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(5): 68–75. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-5-68-75.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ НЕЙРОГЕННОЙ БОЛИ НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ И РОСТ САРКОМЫ М1 В ЛЕГКОМ КРЫС ПУТЕМ ИЗМЕНЕНИЯ ЛОКАЛЬНОГО СОДЕРЖАНИЯ ФАКТОРОВ РОСТА

**Е.М. Франциянц, В.А. Бандовкина, И.В. Каплиева, Л.К. Трепитаки,
Н.Д. Черярина, И.В. Нескубина**

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14 линия, 63. E-mail: valerryana@yandex.ru

Аннотация

Введение. Влияние хронической нейрогенной боли (ХНБ) на локальное содержание факторов роста в легком и возможность развития в нем злокачественного процесса практически не исследованы. **Целью исследования** явилось изучение уровней VEGF, TGF- β , IGF-I, IGF-II, FGF-21 и рецепторов VEGFR2, TGF- β R2 в легких белых беспородных крыс с внутривенным введением саркомы М1 на фоне хронической нейрогенной боли. **Материал и методы.** Эксперимент проводили на 28 белых беспородных крысах-самцах массой 200–250 г. Животные были разделены на 4 группы: 1 – ложно оперированные животные (контрольная группа) (n=7); 2 – животные с воспроизведенной хронической нейрогенной болью (n=7); 3 – ложно оперированные животные с внутривенным введением саркомы М1 (n=7); 4 – крысы с внутривенным введением саркомы М1 на фоне хронической нейрогенной боли (n=7). Животных умерщвляли декапитацией, на льду извлекали легкие, получали 10 % цитозольные фракции на 0,1М калий-фосфатном буфере pH 7,4, содержащем 0,1 % Твин-20 и 1 % БСА. Методами иммуноферментного анализа (ИФА) определяли концентрацию VEGFR2, TGF- β , его рецептора TGF- β R2, IGF-I, IGF-II (CUSABIO BIOTECH Co., Ltd., Китай) и FGF21 (BioVender, Чехия). Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Statistica 10.0. **Результаты.** Только в группе крыс с ХНБ в легких после внутривенной перевивки саркомы М1 определялись многоочаговые опухолевые очаги саркомы. В легких ложно оперированных крыс после перевивки М1 опухолевые очаги не были обнаружены. В ткани легкого при росте М1 под действием ХНБ установлено снижение уровня VEGF-A, но повышение остальных TGF β , IGF-I, IGF-II и FGF-21. ХНБ прямо или опосредованно повлияла на содержание в легком ряда факторов роста, а также изменила клеточный гомеостаз, сделав возможным возникновение опухоли после перевивки в легкое саркомы М1.

Ключевые слова: хроническая нейрогенная боль, легкие, саркома М1, злокачественный процесс, факторы роста, рецепторы факторов роста, крысы-самцы.

CHRONIC NEUROGENIC PAIN PROMOTES DEVELOPMENT AND GROWTH OF M1 SARCOMA CHANGING LOCAL LEVELS OF GROWTH FACTORS

E.M. Frantsiyants, V.A. Bandovkina, I.V. Kaplieva, L.K. Trepitaki,
N.D. Cheryarina, I.V. Neskubina

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

Abstract

Introduction. The influence of chronic neurogenic pain on local levels of growth factors in the lung and the risk of lung cancer development has been little studied. **The purpose of the study** was to analyze the levels of VEGF, TGF- β , IGF-I, IGF-II, FGF-21 and receptors of VEGFR2, TGF- β R2 in the lungs of white outbred rats with chronic neurogenic pain after intravenous injection of M1 sarcoma. **Material and Methods.** A total of 28 white outbred male rats weighing 200–250 g were divided into 4 groups: 1 – sham-operated animals (control group) (n=7); 2 – animals with chronic neurogenic pain (n=7); 3 – sham-operated animals with intravenous injection of M1 sarcoma (n=7); 4 – rats with intravenous injection of M1 sarcoma in presence of chronic neurogenic pain (n=7). Animals were decapitated, the lungs were harvested on ice; 10 % cytosolic fractions were prepared in 0.1 M potassium phosphate buffer pH 7.4 containing 0.1 % Tween-20 and 1 % BSA. Levels of VEGFR2, TGF- β and receptors of TGF- β R2, IGF-I, IGF-II (CUSABIO BIOTECH Co., Ltd., China) and FGF21 (BioVender, Czech Republic) were determined by ELISA. The data were statistically processed using Statistica 10.0 software. **Results.** Multifocal tumors of sarcoma in the lungs were determined only in the group of rats with chronic neurogenic pain after intravenous transplantation of M1 sarcoma. In the lungs of sham-operated animals, tumor foci were not detected after M1 sarcoma transplantation. Lung tissues with M1 growth and presence of chronic neurogenic pain demonstrated decreased VEGF-A levels with increased concentrations of TGF β , IGF-I, IGF-II and FGF-21. Chronic neurogenic pain directly or indirectly influenced levels of some growth factors in the lung, and altered cell homeostasis making possible transplantation of M1 sarcoma into the lung.

Key words: chronic neurogenic pain, lungs, M1 sarcoma, malignant process, growth factors, receptors of growth factors, male rats.

Ряд научных работ освещает роль факторов роста в патологических процессах в легких, однако влияние хронической нейрогенной боли (ХНБ) на локальное содержание факторов роста в легком и возможность развития в нем злокачественного процесса практически не исследованы. Эндотелиальный фактор роста (VEGF) играет важную роль в возникновении злокачественного поражения легких путем увеличения проницаемости сосудов, специфически связываясь с рецептором сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGFR) и активируя митогензависимые протеинкиназы [1]. Активация различных внутриклеточных сигнальных путей может способствовать неоваскуляризации, миграции опухолевых клеток и увеличению проницаемости кровеносных сосудов. VEGF в основном продуцируется клетками в условиях гипоксии или других стрессовых состояний, особенно в тех клетках, которые экспрессируются во время роста и ремоделирования, включая опухоли. VEGF увеличивает проницаемость сосудов, индуцируя дифференцировку эндотелиальных клеток, способствуя потере целостности соединений эндотелиальных клеток и вызывая образование щелей между клетками. Этот фактор

может стимулировать опухолевые сосудистые эндотелиальные клетки, индуцировать ангиогенез, улучшать проницаемость сосудов и является важным медиатором образования злокачественной опухоли в легких [2].

Было показано, что трансформирующий фактор роста (TGF- β) выполняет двойную функцию в биологии рака: ранний опухолевый супрессор и поздний опухолевый промотор [3]. На начальном этапе опухолевого процесса функция TGF- β заключается в торможении деления эпителиальных клеток и проапоптотической активности, хотя TGF- β также может способствовать и процессу пролиферации в клетках стромы. На более поздней стадии опухолевого процесса TGF- β , как полагают, стимулирует фиброз тканей, усиливает клеточную миграцию и метастазирование и нарушает иммунные и воспалительные реакции в микроокружении опухоли [4]. Цитостатические эффекты TGF- β опосредуются путем индукции белков ингибиторов циклинзависимой киназы, таких как p15^{Ink4b}, p21, p27, и подавлением некоторых факторов пролиферации, включая транскрипционный активатор – онкоген c-Myc [5, 6]. В силу своей разнообразной роли в управлении основными клеточными сигнальными

путями передача сигналов TGF- β играет ключевую роль в развитии легких и в патогенезе легочных заболеваний [7].

Инсулиноподобные факторы роста (IGF) были впервые идентифицированы как гормоны, которые опосредуют биологические эффекты гормона роста. Накапливающиеся данные указывают на роль сигнального пути IGF не только в физиологии внутренних органов, но и при ряде заболеваний, таких как врожденные нарушения, рак, воспаление и фиброз [8]. Передача сигналов IGF модулирует развитие и дифференцировку многих типов клеток легких, включая базальные клетки дыхательных путей, клубковые клетки, альвеолярные эпителиальные клетки и фибробласты. Дефицит передачи сигналов IGF приводит к альвеолярной гиперплазии у людей и нарушению архитектуры легких на животных моделях. Компоненты сигнальных путей IGF потенцируются как биомаркеры, так как они дисрегулируются локально или системно при заболеваниях легких, однако данные могут быть противоречивыми или даже парадоксальными в различных исследованиях. Инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1) и IGF-2 являются единственными членами IGF, идентифицированными до настоящего времени [8].

Фактор роста фибробластов 21 (FGF-21), специфический член суперсемейства FGF, обладает множественными метаболическими эффектами, а также способен оказывать защитный эффект при многих сердечных заболеваниях или патологиях, связанных с метаболизмом, таких как ишемическая атеросклеротическая болезнь сердца, ожирение и диабет [9]. Известна положительная роль FGF-21 и при патологии легких. Так, в эксперименте на животных было показано, что FGF-21 ослабляет индуцированный легочной фиброз [10]. Авторы отмечали, что FGF-21 подавлял интенсивную инфильтрацию воспалительных клеток и разрушение структуры тканей в легких, уменьшал отложение коллагена через снижение экспрессии 4-гидроксипролина в легких, а также ингибировал повышенную экспрессию TGF- β . Еще одно положительное свойство FGF-21 заключалось в проявлении способности FGF-21 ослаблять накопление внеклеточного матрикса (ECM) и индукции эпителиально-мезенхиального перехода (EMT) при легочном фиброзе. Выявленные авторами положительные свойства FGF-21 имеют определенный потенциал в качестве терапевтического средства для лечения легочного фиброза [10].

Ранее нами было показано, что нарушение баланса в системе факторов роста в коже мышей линии C57BL/6 между собой и рецепторами под действием ХНБ обусловлено мобилизацией защитных механизмов, направленных на её ограничение, и формирует своеобразное метаболическое «поле», на котором «семена» – злокачественные клетки – проявляют себя агрессивно [11].

Целью исследования явилось изучение уровней VEGF, TGF- β , IGF-I, IGF-II, FGF-21 и рецепторов VEGFR2, TGF- β R2 в легких белых беспородных крыс с внутривенным введением саркомы M1 на фоне хронической нейрогенной боли.

Материал и методы

Эксперимент проводили на 28 белых беспородных крысах-самцах массой 200–250 г. Работа с животными проводилась в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (Директива 86/609/ЕЕС), а также в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава России от 19 июня 2003 г. № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики». Протокол данного исследования был одобрен Комиссией по биоэтике ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России от 4.04.2016 (протокол этического комитета № 4). Животных содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к еде, питью и фиксированном световом режиме. В работе использовали штамм саркомы M1, полученный из ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Животные были разделены на 4 группы: 1 – контрольные крысы (n=7) (ложно оперированные животные); 2 – крысы с хронической нейрогенной болью (n=7); 3 – ложно оперированные животные с внутривенным введением саркомы M1 (n=7); 4 – крысы с внутривенным введением саркомы M1 на фоне хронической нейрогенной боли (n=7).

Все манипуляции с животными производили в боксе. Инструменты, посуду, руки дезинфицировали общепринятым способом. Хирургические манипуляции на животных производились с использованием ксила-зоветилового наркоза: ксилазин (препарат Ксила) в дозе 0,05 мл/кг массы тела, через 10 мин. – Зоветил50 в дозе 10 мг/100 г массы тела.

Для воспроизведения ХНБ животным из 2-й и 4-й групп после наступления медикаментозного сна разрезали кожу в месте проекции седалищных нервов, накладывали на них лигатуру с двух сторон, ушивали раны. Животным 1-й и 3-й групп после наступления медикаментозного сна разрезали кожу с двух сторон в зоне проекции седалищных нервов, однако лигатуру на них не накладывали, раны ушивали (ложно оперированные животные). Через 45 дней после заживления операционных ран животным 3-й и 4-й групп в подключичную вену вводили 0,3 мл взвеси опухолевых клеток саркомы M1 в физиологическом растворе в разведении (1×10^6 /л). На данную модель получен патент № 2676641 [12]. Животных из основной группы умерщвляли декапитацией в предтерминальном состоянии.

Крысы из группы сравнения были выведены из эксперимента на 125-е сут от момента перевивки им опухолевого материала. На льду извлекали легкие, из которых готовили 10 % цитозольные фракции на 0,1М калий-фосфатном буфере pH 7,4, содержащем 0,1 % Твин-20 и 1 % БСА. Методами ИФА определяли концентрацию VEGF-A (пг/г ткани), VEGF-R1 (пг/г ткани), TGF- β (пг/г ткани), TGF- β R2 (пг/г ткани), IGF-I (пг/г ткани), IGF-II (пг/г ткани) (CUSABIO BIOTECH Co., Ltd., Китай) и FGF-21 (пг/г ткани) (BioVender, Чехия).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Statistica 10.0. Полученные данные подвергали анализу на соответствие распределения признаков нормальному закону распределения с использованием критерия Шапиро–Уилка (для малых выборок). Значимость различий между группами оценивали с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни. Данные таблиц представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала [Q1; Q3]. Различия считались достоверными при $p < 0,05$. При статистической обработке полученных результатов соблюдались общие рекомендации для медицинских исследований.

Результаты

Средняя продолжительность жизни крыс 4-й группы (M1 + ХНБ) составила $82,4 \pm 12,4$ дня. На диссекции визуализировались многофокусные опухолевые очаги в легких размером от 1 до 8 мм,

большая часть которых располагалась в нижней доле правого легкого и гистологически представляла собой полиморфноклеточную саркому с большим количеством фигур митоза и участками лейкоцитарной инфильтрации. При вскрытии – легкие слегка отечны, опухолей нет.

Результаты по изучению содержания факторов роста в ткани легкого крыс представлены в табл. 1. Установлено, что ХНБ (группа 2) вызывала снижение содержания VEGF-A и его рецептора VEGF-R1 в легких крыс в 1,3 раза ($p < 0,05$) и 1,5 раза ($p < 0,05$) соответственно. При этом были повышены все другие изученные факторы роста. Так, содержание TGF- β 1 и TGF- β R2 было выше контрольных показателей в 1,6 раза ($p < 0,05$) и 1,8 раза ($p < 0,05$) соответственно, IGF-I и IGF-II – в 1,6 раза ($p < 0,05$) и 3,4 раза соответственно, FGF-21 – в 2,4 раза.

В ткани легкого крыс 3-й группы (ложно оперированные), которым внутривенно были введены клетки саркомы M1 на протяжении всего эксперимента опухоль не развивалась. В результате при изучении содержания всех маркеров оказалось, что в ткани легких уровни VEGF-A, VEGF-R1, TGF- β R2, IGF-I и IGF-II не имели статистически значимых отличий от значений у контрольных животных (группа 1). Уровень TGF- β 1 в ткани легкого этих крыс превосходил контрольные показатели в 1,3 раза ($p < 0,05$), а уровень FGF-21 был повышен в 2,9 раза.

В ткани легкого крыс с развившейся опухолью на фоне ХНБ (4-я группа) отмечались более

Таблица 1/Table 1

Уровень факторов роста в легких крыс при росте саркомы M1 в легких и на фоне хронической нейрогенной боли

Levels of growth factors in the lungs of rats with M1 sarcoma in the lungs in presence of chronic neurogenic pain

Факторы роста/ Growth factors	Контрольные крысы (группа 1)/ Control (group 1)	Крысы с ХНБ (группа 2)/ Rats with CNP (group 2)	Крысы с в/введением саркомы M1 (группа 3)/ Rats with intravenous injection of M1 sarcoma (group 3)	Крысы с в/введением саркомы M1+ ХНБ (группа 4)/ Rats with intravenous injection of M1 sarcoma + CNP (group 4)
VEGF-A, пг/г ткани/ ng/g of tissue	1346 [1279; 1427]	1006 ¹ [888,6; 1012]	1450,46 ² [1347; 1584]	819 ¹ [756; 1201]
VEGF-R1, пг/г ткани/ ng/g of tissue	5,1 [2,9; 5,7]	3,35 ¹ [3,2; 3,8]	4,1 [3,8; 5,1]	2,9 ¹ [2,9; 3,1]
TGF- β 1, пг/г ткани/ ng/g of tissue	3235,9 [2881,3; 3544,7]	5310,3 ¹ [3872,8; 5361,3]	4291,7 ¹ [3890; 4687,1]	6000,5 ¹ [2641,9; 8294,8]
TGF- β R2, пг/г ткани/ ng/g of tissue	217,75 [190; 241,7]	385,15 ¹ [335,75; 407,75]	205 ² [202,9; 206,5]	239,75 ² [233,3; 254,45]
IGF-I, пг/г ткани/ ng/g of tissue	148,85 [128,4; 160,9]	240,56 ¹ [217,2; 275,6]	139,0 ² [105,8; 148]	216,0 ¹ [200; 272,2]
IGF-II, пг/г ткани/ ng/g of tissue	2,3 [1,9; 3,5]	7,9 ¹ [6,8; 8,6]	2,8 ² [2,1; 3,8]	14,65 ^{1,2} [14,3; 15,1]
FGF-21, пг/г ткани/ ng/g of tissue	42,9 [40,2; 44,1]	103,2 ¹ [82,5; 120,3]	126,7 ¹ [125,4; 140]	76,1 ¹ [55,1; 90,5]

Примечание: ¹ – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой; ² – различия статистически значимы по сравнению с группой 2.

Notes: ¹ – statistically significant compared to the control group; ² – statistically significant compared to group 2.

существенные изменения изучаемых маркеров. Так, уровни VEGF-A и его рецептора VEGF-R1 оказались ниже контрольных значений в 1,6 раза ($p < 0,05$) и в 1,8 раза ($p < 0,05$) соответственно. Содержание TGF- β 1 в ткани легкого крыс этой группы было выше контрольных показателей в 1,9 раза ($p < 0,005$), а рецептор TGF- β R2 не имел значимых отличий. Значимо выше контрольных показателей были значения гормонзависимых факторов роста в ткани легкого этой группы животных: IGF-I – в 1,5 раза ($p < 0,05$), IGF-II – в 6,4 раза, FGF-21 – в 1,8 раза ($p < 0,05$).

Обсуждение

В настоящее время о роли хронической нейрогенной боли в патогенезе злокачественного процесса в легких известно немного, однако существуют сведения об участии ноцицепторов дыхательной системы в управлении воспалением при различных вирусных заболеваниях, а также хронической обструктивной болезни легких [13, 14]. Ноцицепторные нейроны и иммунные клетки периферического барьера (кожа, легкие) играют ключевую роль в защите организма от опасностей окружающей среды [15]. Иннервирующие легкие ноцицепторные сенсорные нейроны обнаруживают вредные воздействия и, следовательно, защищают организмы, вызывая кашель, боль и бронхоконстрикцию, тем самым защищая организм [16]. Литературные данные, связанные с изучением патогенетических факторов при легочных заболеваниях, весьма разрозненны. Однако имеются сведения, подтверждающие идею о том, что при различных патологиях легких, включая и злокачественные опухоли легких, изменения происходят как в сенсорной, так и в вегетативной иннервации [14]. Ряд исследователей предполагает, что одним из ключевых факторов патогенеза легочных заболеваний является нарушение взаимодействия ноцицепторов с иммунной системой, в результате угнетения которой ухудшается прогноз течения легочных заболеваний [17, 18].

В нашем исследовании была осуществлена трансплантация саркомы M1 в легкое путем внутривенного введения животным с существующей хронической нейрогенной болью, что привело к последующему возникновению опухолевого очага и его росту (группа 4), которую невозможно было осуществить ложно оперированным животным (группа 3). Полагаем, что факт приживления саркомы M1 в легком стал возможным благодаря изменившейся под влиянием ХНБ местной функциональной активности системы факторов роста. А это, в свою очередь, может свидетельствовать о снижении противоопухолевой защиты у животных под влиянием ХНБ, позволяющем осуществить приживление клеток саркомы M1 в нетипичном для них сайте. Ранее нами были выявлены особенности функционирования этой системы в коже

мышей линии C57BL/6 на фоне ХНБ, способствующие увеличению злокачественного потенциала меланомы B16/F10 [11].

Результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что ХНБ оказала существенное влияние на содержание факторов роста в легком, при этом наблюдалось снижение уровня VEGF-A и его рецептора 1-го типа, но повышение остальных показателей – TGF- β 1 с рецептором, IGF-I, IGF-II, и FGF-21. Практически аналогичные изменения выявлены у животных группы 4, у которых на фоне ХНБ был инициирован рост саркомы M1 в легком.

Исследования *in vitro* подтвердили, что VEGF-A широко распространен в легочной ткани, особенно в альвеолярном эпителии, и играет важную роль в развитии и созревании легких [19]. Достаточно неожиданным оказалось снижение уровня VEGF-A при росте M1 в легком под действием ХНБ, так как известно, что рост опухоли требует генеза новых кровеносных сосудов [20, 21]. Опубликованные результаты по исследованию функции VEGF при физиологических и патологических процессах в легочной ткани достаточно противоречивы. Имеются как доказательства того, что VEGF-A может способствовать фиброгенезу [22], так и клинические данные, показывающие репаративную роль VEGF-A в легких, предполагающую протекторную функцию VEGF-A против развития чрезмерного легочного фиброза в результате повреждения легких [23]. Предполагается, что такие противоречивые результаты могут быть связаны с различными изоформами VEGF-A, и большую роль в этом могут играть хронические стрессорные воздействия [19]. Альтернативный сплайсинг экзона 8 VEGF-A приводит к образованию различных изоформ с изменением соотношения антиноцицептивной изоформы VEGF-A xxx b (выбор сайта дистального сплайсинга экзона 8b) или ноцицептивной VEGF-A xxx a (выбор проксимального сайта сплайсинга), которые могут иметь противоположные функции [24]. При этом изменения в профилях экспрессии и передачи сигналов VEGF-A сопряжены с рядом ангиогенных патологий, таких как диабет, артрит и рак, которые связаны с развитием хронической боли [24].

В доступной отечественной литературе информации о содержании факторов роста в ткани легких при различной патологии практически нет. Однако исследование факторов роста в сыворотке крови больных с хроническими обструктивными заболеваниями легких, проведенное Л.И. Афтанасом и соавт. (2018), показало снижение уровня VEGF-A, на фоне повышения TGF и FGF у больных, по сравнению со здоровыми лицами [25]. Эти исследования согласуются с результатами, полученными в нашей работе.

Можно сказать, что одностороннее снижение уровня VEGF-A и его рецептора 1 типа при

ХНБ и росте саркомы М1 при внутривенной перевивке свидетельствует о недостаточности знаний о роли данного фактора роста, возможности его протекторного действия (по крайней мере в ткани легкого) при опухолевом росте, что может быть связано как с его ролью в синаптической передаче, так и с иммунной системой, а также с процессами клеточного старения [26–28]. В дыхательных путях ноцицепторы активно взаимодействуют с иммунными клетками, что приводит к изменению количества Т-клеток в легких, а это, в свою очередь, приводит к подавлению, в частности, защитной функции иммунитета, направленного против летальной пневмонии [16].

Существенным отличием группы животных с ХНБ (группа 2) от внутривенного введения саркомы М1 (группа 3) оказалось отсутствие повышения уровня инсулиноподобных факторов роста в легком у последних. Известно, что передача сигналов IGF модулирует развитие и дифференцировку многих типов клеток легких, включая базальные клетки дыхательных путей, альвеолярные эпителиальные клетки и фибробласты [8]. Кроме того, IGF участвуют в канцерогенезе, подавляя апоптоз и стимулируя пролиферацию клеток, а эпидемиологические исследования показали положительную связь между циркулирующим IGF-1 и различными видами злокачественных новообразований, такими как рак молочной железы, рак легкого, колоректальный рак и рак простаты [29]. Предполагают, что биологические эффекты, стимулирующие злокачественный процесс в легком, регулируются IGF, который локально синтезируется мезенхимальными клетками легкого и воздействует аутокринным или паракринным способом [29]. У животных с саркомой М1 на фоне ХНБ отмечался рост содержания в легком уровня IGF-I и IGF-II, который сопровождался ростом опухоли. В отличие от этого, только внутривенное введение опухолевых клеток не способствовало росту в легком саркомы М1.

В патологических процессах легких наряду с аномальной передачей сигналов IGF участвует и TGF- β [8], рост содержания которого в легких крыс был установлен в данном исследовании при ХНБ,

у животных с внутривенным введением саркомы М1, а также при развитии злокачественного процесса на фоне ХНБ. TGF- β является ключевым игроком в процессе фиброза и онкогенеза, так как регулирует множество биологических процессов, включая эмбриогенез, клеточную дифференцировку, органогенез и иммунные реакции [30].

Снижение уровня VEGF-A и повышение содержания TGF- β 1 и его рецептора на фоне ХНБ могло способствовать формированию в легком условий гипоксии на фоне снижения иммунитета, что обеспечивало микроокружение, благоприятное для возникновения и прогрессирования злокачественного процесса, в результате чего нетипичная внутривенная перевивка саркомы М1 оказалась успешной. Известно, что гипоксия индуцирует эпителиально-мезенхимальный переход и метастазирование посредством сложного механизма, опосредуя различные пути, такие как TGF- β , PI3k/Akt, Wnt и Jagged/Notch. Одновременно гипоксическая среда имеет огромное значение в ангиогенезе, стимулируя рост сосудов через HIF-1 α /VEGF ось [31].

Заключение

Таким образом, ХНБ, вызванная двусторонней перевязкой седалищного нерва, прямо или опосредованно повлияла на содержание в легком ряда факторов роста, в результате чего клеточный гомеостаз изменился настолько, что стала возможна перевивка «не типичной» в нормальных физиологических условиях саркомы М1. Очевидно, что одними из основных факторов, повлиявших на «приживание» злокачественных клеток, оказались VEGF-A, TGF- β 1 и инсулиноподобные факторы – IGF-I и IGF-II. Снижение содержания первого и повышение остальных привели к тому, что молекулярные процессы повреждения альвеолярных эпителиальных клеток не уравнивались регенеративными процессами. Кроме того, следует признать участие VEGF в патофизиологии боли и необходимость его исследования в качестве терапевтической мишени.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Chen Y., Mathy N.W., Lu H. The role of VEGF in the diagnosis and treatment of malignant pleural effusion in patients with non-small cell lung cancer (Review). *Mol Med Rep.* 2018; 17(6): 8019–30. doi: 10.3892/mmr.2018.8922.
2. Liu Y., Tian P. Progress of Bevacizumab in Malignant Pleural Effusion Caused by Non-small Cell Lung Cancer. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi.* 2019 Feb 20; 22(2): 118–124. doi: 10.3779/j.issn.1009-3419.2019.02.07.
3. Miyazono K., Katsumi Y., Koinuma D., Ehata S., Morikawa M. Intracellular and extracellular TGF- β signaling in cancer: some recent topics. *Front Med.* 2018 Aug; 12(4): 387–411. doi: 10.1007/s11684-018-0646-8.
4. Tominaga K., Suzuki H.I. TGF- β Signaling in Cellular Senescence and Aging-Related Pathology. *Int J Mol Sci.* 2019 Oct 10; 20(20): 5002. doi: 10.3390/ijms20205002.
5. Papageorgis P. Complex Interplay Between Aging and Cancer: Role of TGF- β Signaling. *Crit Rev Oncog.* 2017; 22(3–4): 313–321. doi: 10.1615/CritRevOncog.2017025134.
6. Zhang Y., Alexander P.B., Wang X.F. TGF- β Family Signaling in the Control of Cell Proliferation and Survival. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017 Apr 3; 9(4): a022145. doi: 10.1101/cshperspect.a022145.
7. Morty R.E., Königshoff M., Eickelberg O. Transforming growth factor-beta signaling across ages: from distorted lung development to chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc.* 2009; 6(7): 607–13. doi: 10.1513/pats.200908-087RM.
8. Wang Z., Li W., Guo Q., Wang Y., Ma L., Zhang X. Insulin-Like Growth Factor-1 Signaling in Lung Development and Inflammatory Lung Diseases. *Biomed Res Int.* 2018 Jun 19; 2018: 6057589. doi: 10.1155/2018/6057589.
9. Shi Y., Wang S., Peng H., Lv Y., Li W., Cheng S., Liu J. Fibroblast Growth Factor 21 Attenuates Vascular Calcification by Alleviating Endoplasmic Reticulum Stress Mediated Apoptosis in Rats. *Int J Biol Sci.* 2019 Jan 6; 15(1): 138–147. doi: 10.7150/ijbs.28873.
10. Zhang S., Yu D., Wang M., Huang T., Wu H., Zhang Y., Zhang T., Wang W., Yin J., Ren G., Li D. FGF21 attenuates pulmonary fibrogenesis through ameliorating oxidative stress in vivo and in vitro. *Biomed Pharmacother.* 2018 Jul; 103: 1516–1525. doi: 10.1016/j.biopha.2018.03.100.

11. Кум О.И., Франциянц Е.М., Котиева И.М., Каплиева И.В., Трепятаки 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., Treptaki L.K., Bandoikina 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. Кум О.И., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Трепятаки Л.К., Котиева И.М., Шалашина Е.В., Ишонина О.Г. Способ стимуляции хронической болью злокачественного роста в легких крыс. Патент РФ № 2676641. Заявл. 05.04.2018; Опубли. 9.01.2019. [Kit O.I., Frantsiyants E.M., Kaplieva I.V., Treptaki L.K., Kotieva I.M., Shalashnaya E.V., Ishonina O.G. Method of stimulating chronic pain of malignant growth in lung rats. The patent of the Russian Federation № Appl. 2676641. Publ. 9.01.2019. (in Russian)].
13. Talbot S., Abdulnour R.E., Burkett P.R., Lee S., Cronin S.J., Pascual M.A., Laedermann C., Foster S.L., Tran J.V., Lai N., Chiu I.M., Ghasemlou N., DiBiase M., Roberson D., Von Hehn C., Agac B., Haworth O., Seki H., Penninger J.M., Kuchroo V.K., Bean B.P., Levy B.D., Woolf C.J. Silencing Nociceptor Neurons Reduces Allergic Airway Inflammation. *Neuron*. 2015 Jul 15; 87(2): 341–54. doi: 10.1016/j.neuron.2015.06.007.
14. Zaccane E.J., Udem B.J. Airway Vagal Neuroplasticity Associated with Respiratory Viral Infections. *Lung*. 2016; 194(1): 25–9. doi: 10.1007/s00408-015-9832-5.
15. Veiga-Fernandes H., Mucida D. Neuro-Immune Interactions at Barrier Surfaces. *Cell*. 2016 May 5; 165(4): 801–11. doi: 10.1016/j.cell.2016.04.041.
16. Baral P., Umans B.D., Li L., Wallrapp A., Bist M., Kirschbaum T., Wei Y., Zhou Y., Kuchroo V.K., Burkett P.R., Yipp B.G., Liberles S.D., Chiu I.M. Nociceptor sensory neurons suppress neutrophil and $\gamma\delta$ T cell responses in bacterial lung infections and lethal pneumonia. *Nat Med*. 2018; 24(4): 417–26. doi: 10.1038/nm.4501.
17. Riolo-Blanco L., Ordovas-Montanes J., Perro M., Naval E., Thiriot A., Alvarez D., Paust S., Wood J.N., von Andrian U.H. Nociceptive sensory neurons drive interleukin-23-mediated psoriasis-like skin inflammation. *Nature*. 2014 Jun 5; 510(7503): 157–61. doi: 10.1038/nature13199.
18. Kashem S.W., Riedl M.S., Yao C., Honda C.N., Vulchanova L., Kaplan D.H. Nociceptive Sensory Fibers Drive Interleukin-23 Production from CD301b+ Dermal Dendritic Cells and Drive Protective Cutaneous Immunity. *Immunity*. 2015 Sep 15; 43(3): 515–26. doi: 10.1016/j.immuni.2015.08.016.
19. Barratt S.L., Blythe T., Jarrett C., Ourradi K., Shelley-Fraser G., Day M.J., Qiu Y., Harper S., Maher T.M., Oltean S., Hames T.J., Scotton C.J., Welsh G.I., Bates D.O., Millar A.B. Differential Expression of VEGF-Axxx Isoforms Is Critical for Development of Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017 Aug 15; 196(4): 479–493. doi: 10.1164/rccm.201603-0568OC.
20. Schliekelman M.J., Taguchi A., Zhu J., Dai X., Rodriguez J., Celiktas M., Zhang Q., Chin A., Wong C.H., Wang H., McFerrin L., Selamat S.A., Yang C., Kroh E.M., Garg K.S., Behrens C., Gazdar A.F., Laird-Offringa I.A., Tewari M., Wistuba I.I., Thiery J.P., Hanash S.M. Molecular portraits of epithelial, mesenchymal, and hybrid states in lung adenocarcinoma and their relevance to survival. *Cancer Res*. 2015; 75(9): 1789–800. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-2535.
21. Zhu H., Zhang S. Hypoxia inducible factor-1 α /vascular endothelial growth factor signaling activation correlates with response to radiotherapy and its inhibition reduces hypoxia-induced angiogenesis in lung cancer. *J Cell Biochem*. 2018 Sep; 119(9): 7707–7718. doi: 10.1002/jcb.27120.
22. Richeldi L., du Bois R.M., Raghu G., Azuma A., Brown K.K., Costabel U., Cottin V., Flaherty K.R., Hansell D.M., Inoue Y., Kim D.S., Kolb M., Nicholson A.G., Noble P.W., Selman M., Taniguchi H., Brun M., Le Maulff F., Girard M., Stowasser S., Schlenker-herceg R., Disse B., Colard H.R.; INPULSIS Trial Investigators. Efficacy and safety of nintedanib in idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med*. 2014; 370(22): 2071–82. doi: 10.1056/NEJMoa1402584.
23. Kearns M.T., Dalal S., Horstmann S.A., Richens T.R., Tanaka T., Doe J.M., Boe D.M., Voelkel N.F., Taraseviciene-Stewart L., Janssen W.J., Lee C.G., Elias J.A., Bratton D., Tudor R.M., Henson P.M., Vandivier R.W. Vascular endothelial growth factor enhances macrophage clearance of apoptotic cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2012 Apr 1; 302(7): L711–8. doi: 10.1152/ajplung.00116.2011.
24. Hulse R.P. Role of VEGF-A in chronic pain. *Oncotarget*. 2017 Feb 14; 8(7): 10775–776. doi: 10.18632/oncotarget.14615.
25. Афтанас Л.И., Шпагина Л.А., Котова О.С., Шпагин И.С., Кузнецова Г.В., Паначева Л.А., Камнева Н.В., Ерихова С.М. Клеточно-молекулярные особенности воспаления и выживаемости больных профессиональной хронической обструктивной болезнью легких в условиях воздействия неорганической пыли. Сибирский научный медицинский журнал. 2018; 38(6): 35–43. [Aftanas L.I., Shpagina L.A., Kotova O.S., Shpagin I.S., Kuznetsova G.V., Panacheva L.A., Kamneva N.V., Erikhova S.M. Inflammation cell-molecular features and survival in patients with occupational chronic obstructive pulmonary disease from silica dust exposure. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2018; 38(6): 35–43. (in Russian)]. doi: 10.15372/SSMJ20180606.
26. Nowacka-Chmielewska M.M., Paul-Samojedny M., Bielecka-Wajdman A.M., Barski J.J., Obuchowicz E. Alterations in VEGF expression induced by antidepressant drugs in female rats under chronic social stress. *Exp Ther Med*. 2017 Feb; 13(2): 723–730. doi: 10.3892/etm.2017.4022.
27. Parikh P., Wicher S., Khandalavala K., Pabelick C.M., Britt R.D.J., Prakash Y.S. Cellular senescence in the lung across the age spectrum. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2019 May 1; 316(5): L826L842. doi: 10.1152/ajplung.00424.2018.
28. Ackermann M., Stark H., Neubert L, Schubert S., Borchert P., Linz F., Wagner W.L., Stiller W., Wielpütz M., Hoefler A., Haverich A., Mentzer S.J., Shah H.R., Welte T., Kuehnelt M., Jonigk D. Morphomolecular motifs of pulmonary neoangiogenesis in interstitial lung diseases. *Eur Respir J*. 2020 Mar 12; 55(3): 1900933. doi: 10.1183/13993003.00933-2019.
29. Shanmugalingam T., Bosco C., Ridley A.J., Van Hemelrijck M. Is there a role for IGF-1 in the development of second primary cancers? *Cancer Med*. 2016 Nov; 5(11): 3353–3367. doi: 10.1002/cam4.871.
30. Morikawa M., Derynck R., Miyazono K. TGF- β and the TGF- β Family: Context-Dependent Roles in Cell and Tissue Physiology. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2016 May 2; 8(5): a021873. doi: 10.1101/cshperspect.a021873.
31. Tirpe A.A., Gulei D., Ciorte S.M., Crivii C., Berindan-Neagoe I. Hypoxia: Overview on Hypoxia-Mediated Mechanisms with a Focus on the Role of HIF Genes. *Int J Mol Sci*. 2019 Dec 5; 20(24): 6140. doi: 10.3390/ijms20246140.

Поступила/Received 13.05.2020
Принята в печать/Accepted 28.09.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

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.

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

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

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

Черярина Наталья Дмитриевна, врач-лаборант лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 2189-3404. ORCID: 0000-0002-3711-8155.

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.

ВКЛАД АВТОРОВ

Франциянц Елена Михайловна: разработка концепции и дизайна научной работы, составление черновика рукописи, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Бандовкина Валерия Ахтямовна: анализ и критический пересмотр данных с внесением дополнений.

Каплиева Ирина Викторовна: анализ и критический пересмотр данных с внесением дополнений.

Трепитаки Лидия Константиновна: статистический анализ.

Черярина Наталья Дмитриевна: статистический анализ.

Нескубина Ирина Валерьевна: оформление и техническое редактирование статьи.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

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

Valerija A. Bandovkina, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). E-mail: valerryana@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-2302-8271.

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

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

Natalia D. Cheryarina, Laboratory Assistant, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-3711-8155.

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

AUTHOR CONTRIBUTION

Elena M. Frantsiyants: concept and design of the study, drafting of the manuscript, final approval for publication.

Valerija A. Bandovkina: critical revision for the important intellectual content.

Irina V. Kaplieva: critical revision for the important intellectual content.

Lidija K. Trepitaki: statistical analysis.

Natalia D. Cheryarina: statistical analysis.

Irina V. Neskubina: technical editing of the manuscript.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.