

Для цитирования: *Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Котиева И.М., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Нескубина И.В., Сурикова Е.И.* Влияние хронической нейрогенной боли на локальное содержание половых гормонов и рецепторов в коже, опухоли и перифокальной зоне у самцов с перевивной меланомой В16/F10. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(1): 73–81. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-1-73-81.

For citation: *Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Kotieva I.M., Kaplieva I.V., Trepitaki L.K., Neskubina I.V., Surikova E.I.* Influence of chronic neurogenic pain on local levels of sex hormones and receptors in skin, tumor and perifocal area in male mice with transplantable B16/F10 melanoma. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(1): 73–81. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-1-73-81.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ НЕЙРОГЕННОЙ БОЛИ НА ЛОКАЛЬНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ И РЕЦЕПТОРОВ В КОЖЕ, ОПУХОЛИ И ПЕРИФОКАЛЬНОЙ ЗОНЕ У САМЦОВ С ПЕРЕВИВНОЙ МЕЛАНОМОЙ В16/F10

**Е.М. Франциянц, В.А. Бандовкина, И.М. Котиева, И.В. Каплиева,
Л.К. Трепитаки, И.В. Нескубина, Е.И. Сурикова**

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Россия, г. Ростов-на-Дону, Россия
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14 линия, 63
E-mail: super.gormon@yandex.ru

Аннотация

Локальный синтез и метаболизм половых гормонов позволяют коже осуществлять автономную регуляцию как ноцицептивных реакций, так и пролиферативных процессов при различных патологических состояниях. **Целью исследования** явилось изучение влияния хронической нейрогенной боли на баланс половых гормонов и их рецепторов в коже, опухоли и перифокальной зоне у самцов мышей в динамике роста меланомы В16/F10. **Материал и методы.** В эксперименте использовались самцы мышей линии С57BL/6. Основную группу составили животные, у которых меланома В16/F10 перевивалась после развития хронической нейрогенной боли (n=25), группу сравнения (n=27) – животные со стандартной перевивкой опухоли, контроль – самцы с хронической нейрогенной болью (n=8), а также интактные мыши (n=8). Через 1, 2 и 3 нед после перевивки меланомы В16/F10 в 10 % гомогенатах кожи, опухоли и перифокальной зоне с помощью стандартных тест-систем ИФА, адаптированных для экспериментальных животных, определяли уровень эстрадиола (Е2), эстрогена (Е1), тестостерона (Т), прогестерона (Р4) (CUSABIO, Китай), рецепторов эстрогенов – ER α , ER β (Cloud-Clone Corp. США, Китай), прогестерона (RP4) и андрогенов (РА) (CUSABIO, Китай). **Результаты.** Хроническая нейрогенная боль вызывает дисбаланс половых стероидов с выраженной гиперэстрогенией. Нарушение равновесия осуществляется за счет роста содержания эстрадиола и эстрогеновых рецепторов, повышения концентрации прогестерона с угнетением его рецепторного аппарата, а также снижением уровня тестостерона на фоне повышения концентрации рецепторов андрогенов. Рост и развитие меланомы у животных с хронической нейрогенной болью осуществляется в орган-мишень с измененным стероидным балансом, что приводит к изменениям характеристики опухоли. Хроническая нейрогенная боль оказывает одностороннее с меланомой В16/F10 влияние на локальный гормональный статус кожи.

Ключевые слова: меланома В16/F10, хроническая нейрогенная боль, эстрогены, андрогены, прогестины, рецепторы половых гормонов.

INFLUENCE OF CHRONIC NEUROGENIC PAIN ON LOCAL LEVELS OF SEX HORMONES AND RECEPTORS IN SKIN, TUMOR AND PERIFOCAL AREA IN MALE MICE WITH TRANSPLANTABLE B16/F10 MELANOMA

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

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia
63, 14 Liniya Street, 344037, Rostov-on-Don, Russia.
E-mail: super.gormon@yandex.ru

Abstract

Local synthesis and metabolism of sex hormones allow the skin to regulate autonomously both nociceptive reactions and proliferative processes in various pathologies. **The purpose of the study** was to reveal the influence of chronic neurogenic pain on the balance of sex hormones in the skin, tumor and perifocal area in male mice in the dynamics of B16/F10 melanoma growth. **Material and methods.** The study included C57BL/6 male mice. Animals were divided into the main group – animals with B16/F10 melanoma transplanted after the development of chronic neurogenic pain (n=25), comparison group (n=27) – animals with standard tumor transplantation, controls – males with chronic neurogenic pain (n=8), and intact mice (n=8). Levels of estradiol (E2), estrone (E1), testosterone (T), progesterone (P4) (CUSABIO, China), estrogen receptors – ER α , ER β (Cloud-Clone Corp. USA, China), progesterone (RP4) and androgens (RA) (CUSABIO, China) were determined in 10 % homogenates of skin, tumor and perifocal tissues 1, 2 and 3 weeks after B16/F10 melanoma transplantation using standard ELISA test systems adapted for experimental animals. **Results.** Chronic neurogenic pain causes an imbalance of sex steroids with marked hyperestrogenism. The imbalance is achieved by increased content of estradiol and receptors of estrogen, increased concentration of progesterone with inhibition of its receptor apparatus, as well as reduced levels of testosterone with increased concentration of androgen receptors. Melanoma in animals with chronic neurogenic pain grows and develops in a target organ with an altered steroid balance, which leads to changes in the tumor characteristics. Chronic neurogenic pain and B16/F10 melanoma has a unidirectional effect on the local hormonal status of the skin.

Key words: B16/F10 melanoma, chronic neurogenic pain, estrogens, androgens, progestins, sex hormone receptors.

Стероидные гормоны играют важную роль в физиологии человека, а нарушение андрогенных, эстрогенных и прогестеронных воздействий связано с развитием различных видов как злокачественных, так и доброкачественных пролиферативных заболеваний [1]. Установлена важная роль локального синтеза половых стероидов за счет наличия ферментов CYP11A1 и CYP17A1 в периферических тканях, что дает возможность автономной регуляции пролиферативных процессов, включая доброкачественные и злокачественные опухоли [2]. Биологические эффекты половых стероидов опосредуются рецепторами. Эстрогены в основном активируют ER α и ER β , которые являются членами надсемейства ядерных рецепторов факторов транскрипции [3, 4]. Эстрадиол (E2) является преобладающим эстрогеном у репродуктивных особей женского пола, тогда как эстрон и эстриол в основном вырабатываются во время беременности и после наступления менопаузы [5]. Хотя ER α и ER β могут связываться с большинством эстрогенов одинаково, различия в ER α и ER β могут приводить к привязке дифференциальных транскрипционных

факторов, а затем к модуляции различных генов-мишеней. Активация ER α или ER β может давать как уникальные, так и перекрывающиеся эффекты [6]. Прогестерон противодействует эстрогенам и стимулирует дифференцировку, что подтверждается ассоциацией генетических вариаций генов, которые кодируют рецепторы прогестерона PRA и PRB, их содержание коррелирует с повышенным риском развития рака эндометрия [7]. Прогестерон хорошо известен своим антиэстрогенным действием, наличие его рецепторов является хорошим прогностическим маркером [8], а синтез прогестерона и его метаболизм нарушаются в ткани рака эндометрия [9].

Важность андрогенов как этиологических факторов подтверждается также наличием рецептора андрогена и присутствием ферментов, метаболизирующих андроген, в хорошо и умеренно дифференцированном раке эндометрия [10]. Изучение системного и локального гормонального фона у пациенток с опухолевыми процессами позволяет признать важную роль эндокринной системы в развитии как злокачественных, так и

доброкачественных опухолей [11, 12], но только экспериментальные исследования позволяют установить патогенетическое значение подобных нарушений. Ранее проводили исследования изменения гормонального статуса, как локального, так и системного, у самок мышей под влиянием хронической нейрогенной боли [13], однако, учитывая половые различия в реакции организма на болевые воздействия, представляет интерес проведение аналогичных исследований на самцах.

Целью исследования явилось изучение в эксперименте влияния хронической нейрогенной боли на локальный гормональный статус кожи, а также опухоли и окружающей ее перифокальной зоны у самцов мышей с перевивной меланомой B16/F10.

Материал и методы

Работа выполнена в осенне-весенний период на самцах мышей линии C57BL/6 ($n=52$), возраст 8 нед, масса 22–23 г. Животные получены в ФГБУ Научный центр биомедицинских технологий «Андреевка» ФМБА, мышинная меланома B16/F10 – из РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. Исследования проводили с разрешения биоэтической комиссии при ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ в соответствии с требованиями и условиями, изложенными в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.03 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Мыши путём случайного отбора были распределены на группы: группа сравнения – животные со стандартной подкожной перевивкой меланомы B16/F10 ($n=25$), основная группа – мыши с меланомой B16/F10, растущей на фоне хронической нейрогенной боли (ХНБ) ($n=27$), контроль – самцы с хронической нейрогенной болью ($n=8$), а также интактные животные ($n=8$). Все манипуляции с животными осуществляли в стерильных условиях в боксе. Перевязку седалищных нервов с целью получения ХНБ и перевивку опухоли проводили по ранее отработанной методике [14]. Через 2 нед животным основной и группы сравнения подкожно вводили 0,5 мл взвеси опухолевых клеток мышинной меланомы B16/F10 в физиологическом растворе в разведении 1:10 по стандартной методике [14]. Интактных, контрольных животных, а также мышей из основной группы и группы сравнения через 1, 2 и 3 нед эксперимента декапитуировали на гильотине. Опухоль, перифокальную зону и кожу выделяли на льду. Из тканей получали 10 % гомогенаты, приготовленные на 0,1 М калий-фосфатном буфере pH 7,4, содержащем 0,1 % Твин-20 и 1 % БСА, в которых с помощью стандартных тест-систем ИФА, адаптированных для экспериментальных животных, определяли уровень эстрадиола (E2), эстраона (E1), тестостерона (Т), прогестерона (P4)

(CUSABIO, Китай), рецепторов эстрогенов – ER α , ER β (Cloud-Clone Corp. США, Китай), прогестерона (RP4) и андрогенов (RA) (CUSABIO, Китай).

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета Statistica 10.0. Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M – арифметическое среднее значение, m – стандартная ошибка среднего. Оценка достоверности произведена с использованием критерия Краскела–Уоллиса, непараметрического U-критерия Манна–Уитни и t-критерия Стьюдента, уровень $p < 0,05$ принимали как значимый. При этом соблюдались общие рекомендации для медицинских исследований.

Результаты

Исследование показало (табл. 1, 2), что у самцов мышей контрольной группы под влиянием хронической нейрогенной боли по сравнению с показателями у интактных животных в коже в 1,7 раза повысился уровень E2, но в 1,8 раза снизился E1 на фоне роста содержания как ER α , так и ER β – в 9,3 и в 6,5 раза соответственно ($p \leq 0,05$). Кроме того, в коже самцов контрольной группы снизился уровень тестостерона в 2,7 раза, но при этом возросло содержание RA в 2,4 раза ($p \leq 0,05$). Концентрация P4 повысилась в 1,5 раза на фоне снижения уровня его рецепторов в 2,5 раза ($p \leq 0,05$). Далее в процессе исследования показатели у животных основной группы сравнивали с контролем, тогда как группу сравнения – с интактными животными (норма). Через 1 нед после перевивки меланомы у самцов мышей основной группы был отмечен «выход» опухоли, который вызвал повышение в коже в 1,7 раза уровня эстраона и снижение в 1,7 раза прогестерона ($p \leq 0,05$), содержание остальных гормонов в коже на данном этапе не изменилось. Статистически значимо по сравнению с контролем снизилось содержание всех рецепторов: ER α – в 1,7, ER β – в 1,3, RA – в 1,26, RP4 – в 2 раза ($p \leq 0,05$). Далее на протяжении всего эксперимента в непораженной коже у мышей основной группы произошло повышение содержания прогестерона до контрольных значений, что, соответственно, превышало норму в 1,3–1,4 раза; концентрации E2, E1 и Т не изменились. Также в коже самцов основной группы в динамике роста меланомы не изменилось содержание рецепторов эстрогенов и андрогенов, но повысился уровень рецепторов прогестерона до показателей контроля, оставаясь ниже нормы в среднем в 2 раза.

У самцов группы сравнения в непораженной коже через 1 нед после перевивки меланомы уровень E2 был снижен в 1,6 раза, а тестостерона – в 1,9 раза ($p \leq 0,05$), содержание E1 и P4 на этом этапе не отличалось от нормы. В динамике роста меланомы кожа самцов группы сравнения претерпела изменения только в отношении эстраона, содержание которого через 2 нед снизилось в 1,9 раза, по сравнению с предыдущим этапом, а затем через

3 нед повысилось в 2,4 раза, в результате превосходя показатели нормы в 1,3 раза. Кроме того, к концу эксперимента произошло снижение уровня P4 в 1,3 раза по сравнению с нормой. Содержание рецепторов стероидных гормонов в коже в динамике роста меланомы практически не изменилось, исключение составил лишь ERβ, повысившийся через 3 нед в 2,3 раза, в результате чего нарушилось соотношение ERα/ ERβ.

Особый интерес представляет влияние хронической нейрогенной боли на гормональный

баланс и рецепторный аппарат непосредственно в опухоли. У самцов основной группы в образцах меланомы по сравнению с контролем установлено повышение в первую неделю эксперимента только содержания E1 – в 2,3 раза (p≤0,05). Далее в динамике роста меланомы уровень E1 в опухолевой ткани животных основной группы снизился в среднем в 1,5 раза, однако оставаясь выше показателей контроля в 1,4–1,5 раза (p≤0,05). В образцах опухоли у самцов основной группы по сравнению с контролем со 2-й нед установлен рост в 1,3

Таблица 1/Table 1

Содержание половых гормонов в коже, опухоли и перифокальной зоне в динамике роста меланомы B16/ F10 у самцов мышей на фоне хронической нейрогенной боли
The content of sex hormones in the skin, tumor and perifocal zone in the dynamics of growth of B16/F10 melanoma in male mice with chronic neurogenic pain

Группы животных/ Groups of animals	Эстрадиол/Estradiol, нМоль/гтк	Эстрон/Estron, пМоль/гтк	T общ/ Total T, нМоль/гтк	P4, нМоль/гтк
Интактная/Intact	0,47 ± 0,02	202,8 ± 15,4	53,7 ± 1,4	1,02 ± 0,07
Контроль/Control	0,8 ± 0,1 ¹	112,7 ± 16,1 ¹	20,2 ± 2,8 ¹	1,5 ± 0,12 ¹
1 нед эксперимента, основная группа/Week 1 of the experiment, study group				
Кожа/Skin	0,84 ± 0,05	194,2 ± 15 ²	19,03 ± 1,5	0,86 ± 0,06 ²
Опухоль/Tumor	0,83 ± 0,08	258,8 ± 24 ²	21,8 ± 2,0	1,3 ± 0,11
Перифокальная зона/ Perifocal zone	0,79 ± 0,07	230,5 ± 23,1 ²	22,7 ± 2,2	1,56 ± 0,15
2 нед эксперимента, основная группа/Week 2 of the experiment, study group				
Кожа/Skin	0,78 ± 0,06	219,5 ± 18 ²	20,97 ± 2,0	1,2 ± 0,12
Опухоль/Tumor	0,82 ± 0,07	158,3 ± 15,1 ²	21,2 ± 2,1	1,59 ± 0,15
Перифокальная зона/ Perifocal zone	0,85 ± 0,08	377,2 ± 36 ²	21 ± 2,0	1,82 ± 0,18
3 нед эксперимента, основная группа/Week 3 of the experiment, study group				
Кожа/Skin	0,8 ± 0,07	178,4 ± 16 ²	22,73 ± 2,1	1,44 ± 0,14
Опухоль/Tumor	0,8 ± 0,07	169,95 ± 15,3 ²	21,7 ± 2,0	1,41 ± 0,14
Перифокальная зона/ Perifocal zone	0,77 ± 0,07	336,1 ± 33,2 ²	20,3 ± 1,9	1,44 ± 0,14
1 нед эксперимента, группа сравнения/Week 1 of the experiment, control group				
Кожа/Skin	0,29 ± 0,02 ^{1,3}	221,9 ± 17,1	28 ± 0,19 ^{1,3}	0,96 ± 0,05
2 нед эксперимента, группа сравнения/Week 2 of the experiment, control group				
Кожа/Skin	0,3 ± 0,01 ^{1,3}	114,4 ± 9,8 ^{1,3}	27,3 ± 1,3 ^{1,3}	0,94 ± 0,06
Опухоль/Tumor	0,29 ± 0,01 ^{1,3}	417,98 ± 40,2 ^{1,3}	31,9 ± 1,7 ^{1,3}	0,95 ± 0,06 ³
Перифокальная зона/ Perifocal zone	0,45 ± 0,02 ³	120,4 ± 8,3 ^{1,3}	25,8 ± 1,6 ¹	1,16 ± 0,08 ³
3 нед эксперимента группа сравнения/Week 3 of the experiment, control group				
Кожа/Skin	0,26 ± 0,01 ^{1,3}	268,9 ± 16,2 ^{1,3}	17,1 ± 0,7 ^{1,3}	0,79 ± 0,04 ^{1,3}
Опухоль/Tumor	0,29 ± 0,01 ^{1,3}	417,7 ± 23 ^{1,3}	20,5 ± 0,5 ¹	0,37 ± 0,02 ^{1,3}
Перифокальная зона/ Perifocal zone	0,34 ± 0,01 ^{1,3}	319 ± 21 ¹	21,3 ± 2,0 ¹	0,28 ± 0,01 ^{1,3}

Примечание: ¹ – статистически значимые отличия по сравнению с интактной кожей; ² – статистически значимые отличия по сравнению с контролем; ³ – статистически значимые отличия по сравнению с основной группой на аналогичных сроках исследования (p<0,05).

Notes: ¹ – statistically significant differences compared with intact skin; ² – statistically significant differences compared with control; ³ – statistically significant differences compared with the study group at similar periods of the experiment (p<0.05).

раза содержания ERα и ERβ, а также повышение концентрации RP4 в среднем в 2 раза. Уровень рецепторов андрогенов в опухолевой ткани оставался высоким, как и в контроле. У самцов группы сравнения в опухоли установлен дисбаланс в содержании эстрогенов с превалированием E1 над E2: уровень эстрадиола в меланоме на протяжении всего эксперимента был снижен в 1,6 раза, а эстрона, напротив, повышен в 2,1 раза. Содержание тестостерона в меланоме самцов группы сравнения прогрессивно снижалось по сравнению

с нормой в динамике роста опухоли: в 1,7 раза через 2 нед и в 2,6 раза через 3 нед, а уровень прогестерона упал в 2,8 раза только через 3 нед. При этом содержание рецепторов эстрогенов в опухолевых образцах превышало норму: ERα – в 7 раз и в 5,6 раза, ERβ – в 5,7 раза и в 7,3 раза – через 2 и 3 нед соответственно; RP4 в среднем в 1,7 раза, RA в среднем в 1,25 раза (p<0,05). В результате в опухолевых образцах основной группы уровни E2, P4, а также ERα, ERβ и RA были выше, чем в меланоме группы сравнения, а E1

Таблица 2/Table2

Содержание рецепторов половых гормонов в коже, опухоли и перифокальной зоне в динамике роста меланомы B16/ F10 у самцов мышей на фоне хронической нейрогенной боли
The content of sex hormones in the skin, tumor and perifocal zone in the dynamics of growth of B16/F10 melanoma in male mice with chronic neurogenic pain

Группы животных/ Groups of animals	ERα, нг/гтк	ERβ, нг/гтк	RP4, пг/гтк	RA, нг/гтк
Интактная/Intact	2,08 ± 0,2	2,23 ± 0,24	0,32 ± 0,03	0,28 ± 0,03
Контроль/Control	19,3 ± 1,7 ¹	14,6 ± 1,5 ¹	0,13 ± 0,02 ¹	0,68 ± 0,07 ¹
1 нед эксперимента, основная группа/Week 1 of the experiment, study group				
Кожа/Skin	11,2 ± 0,8 ²	10,9 ± 0,7 ²	0,065 ± 0,007 ²	0,54 ± 0,06 ²
Опухоль/Tumor	17,6 ± 1,8	16,9 ± 1,8	0,1 ± 0,008 ²	0,75 ± 0,09
Перифокальная зона/ Perifocal zone	80,7 ± 8,4 ²	99,75 ± 10,3 ²	0,095 ± 0,008 ²	0,62 ± 0,07
2 нед эксперимента, основная группа/Week 2 of the experiment, study group				
Кожа/Skin	11,5 ± 1,0 ²	10,2 ± 1,1 ²	0,145 ± 0,02	0,61 ± 0,08
Опухоль/Tumor	24,9 ± 2,5 ²	20,2 ± 1,9 ²	0,28 ± 0,04 ²	0,66 ± 0,06
Перифокальная зона/ Perifocal zone	80,7 ± 9,3 ²	118,9 ± 12,2 ²	0,26 ± 0,04 ²	0,66 ± 0,09
3 нед эксперимента, основная группа/Week 3 of the experiment, study group				
Кожа/Skin	9,35 ± 0,8 ²	9,3 ± 0,8 ²	0,16 ± 0,02	0,68 ± 0,05
Опухоль/Tumor	22,7 ± 1,6	18,78 ± 1,6 ²	0,23 ± 0,03 ²	0,71 ± 0,09
Перифокальная зона/ Perifocal zone	68,3 ± 5,8 ²	78,77 ± 8,1 ²	0,29 ± 0,03 ²	0,72 ± 0,08
1 нед эксперимента, группа сравнения/Week 1 of the experiment, control group				
Кожа/Skin	2,21 ± 0,3 ³	2,11 ± 0,2 ³	0,29 ± 0,03 ³	0,26 ± 0,02 ³
2 нед эксперимента, группа сравнения/Week 2 of the experiment, control group				
Кожа/Skin	1,7 ± 0,19 ³	1,84 ± 0,16 ³	0,4 ± 0,05 ³	0,29 ± 0,03 ³
Опухоль/Tumor	14,46 ± 1,3 ^{1,3}	12,75 ± 1,4 ^{1,3}	0,55 ± 0,06 ^{1,3}	0,35 ± 0,04 ³
Перифокальная зона/ Perifocal zone	1,97 ± 0,2 ³	3,35 ± 0,4 ^{1,3}	0,36 ± 0,05 ³	0,28 ± 0,03 ³
3 нед эксперимента, группа сравнения/Week 3 of the experiment, control group				
Кожа/Skin	1,85 ± 0,16 ³	5,12 ± 0,6 ^{1,3}	0,35 ± 0,03 ³	0,29 ± 0,03 ³
Опухоль/Tumor	11,6 ± 1,2 ^{1,3}	16,3 ± 1,5 ¹	0,57 ± 0,07 ^{1,3}	0,35 ± 0,05 ³
Перифокальная зона/ Perifocal zone	5,41 ± 0,6 ^{1,3}	10,8 ± 1,2 ^{1,3}	0,4 ± 0,06 ³	0,35 ± 0,04 ³

Примечание: ¹ – статистически значимые отличия по сравнению с интактной кожей; ² – статистически значимые отличия по сравнению с контролем; ³ – статистически значимые отличия по сравнению с основной группой на аналогичных сроках исследования (p<0,05).

Notes: ¹ – statistically significant differences compared with intact skin; ² – statistically significant differences compared with control; ³ – statistically significant differences compared with the study group at similar periods of the experiment (p<0.05).

и RP4 – ниже, чем у животных без хронической нейрогенной боли.

Перифокальная зона опухоли, примыкая непосредственно к злокачественным клеткам, может как ограничивать влияние злокачественного процесса, так и способствовать его распространению. Результаты исследования гормонального фона перифокальной зоны у самцов основной группы показали значимое повышение уровня эстрогена на всех этапах эксперимента по сравнению с показателями контроля – через 1 нед в 2 раза, затем через 2–3 нед в среднем в 3,1 раза. Остальные исследованные гормоны оставались в пределах значений контрольной группы, то есть E2 превышал норму в среднем в 1,7 раза, прогестерон в среднем в 1,5 раза, а тестостерон был ниже нормы в среднем в 2,5 раза. При этом содержание рецепторов эстрогенов в перифокальной зоне у самцов основной группы на всех этапах эксперимента резко превышало показатели не только нормы, но и контроля, а также опухолевые образцы: ER α в среднем в 4 раза, а ER β в среднем в 6,8 раза по сравнению с контролем. Содержание рецепторов андрогенов на всех этапах эксперимента в перифокальной зоне в основной группе не отличалось от показателей контроля, а изначально (через 1 нед) сниженная в 1,3 раза экспрессия RP4, далее через 2–3 нед повысилась, достигнув значений нормы.

В перифокальной зоне самцов группы сравнения в динамике роста меланомы происходили поэтапные изменения, сначала через 2 нед уровень E1 был снижен в 1,7 раза, T – в 2,1 раза на фоне нормального содержания прогестерона и эстрадиола, однако по мере роста меланомы уровень эстрогена возрос в 1,6 раза по сравнению с нормой, а эстрадиола, тестостерона и прогестерона снизился в 1,4 раза, 2,5 раза и в 3,6 раза соответственно. При этом экспрессия ER α возросла только через 3 нед в 2,6 раза, а ER β через 2 нед в 1,5 раза, а через 3 нед в 4,8 раза по сравнению с нормой, содержание RA и RP4 статистически значимо повысилось через 3 нед в 1,25 раза ($p < 0,05$). В результате перифокальная зона у самцов основной группы отличалась от показателей в группе сравнения более высоким содержанием эстрадиола, прогестерона, а также рецепторов эстрогенов и андрогенов, но сниженными рецепторами прогестерона.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют, что у самцов под действием ХНБ в коже наблюдается перестройка локального гормонального фона в сторону превалирования класса эстрогенов как в отношении содержания гормонов, так и их рецепторов. При этом снижение локального уровня рецепторов прогестерона можно связать с угнетением биологической значимости этого стероида, тогда как падение концентрации тестостерона на фоне роста содержания рецепторов андрогенов можно

объяснить с позиции расхода, как предшественника, на локальный синтез эстрадиола. Известно, что тестостерон обладает антиноцицептивным и защитным характером, тогда как эстрогены и прогестины могут оказывать как проноцицептивное, так и антиноцицептивное воздействие, зачастую в зависимости от типа рецепторов [15].

Обращает на себя внимание дисбаланс в коже самцов контрольной группы соотношения эстрогенов с превалированием E2 над E1, а также соотношения ER α и ER β с превалированием первого типа. ER α и ER β по-разному способствуют канцерогенезу и прогрессированию опухоли: ER α в качестве онкогена и ER β в качестве опухолевого супрессора. Однако некоторые изоформы ER β , такие как ER β 5, могут действовать и как онкоген [16]. Согласно гипотезе «несостоятельности эстрогенов», воздействие эндогенных или экзогенных эстрогенов в отсутствие действия андрогенов и прогестинов увеличивает пролиферацию и одновременные ошибки репликации ДНК, что приводит к соматическим мутациям и злокачественным трансформациям [1, 17, 18]. Подобные изменения могут быть одним из факторов, способствующих модификации злокачественного процесса, в частности у животных с хронической нейрогенной болью.

Перевивка меланомы B16/F10 самцам основной группы повысила уровень эстрогена, а также содержание рецепторов эстрогенов как α , так и β типов в образцах меланомы и наиболее выражено в перифокальной зоне. В результате перифокальная зона меланомы у животных основной группы оказалась наиболее активной областью, характеризующейся максимальной насыщенностью ER, что на фоне низких концентраций рецепторов прогестерона могло способствовать геномной реализации биологических эффектов эстрогенов. Существует большой профиль генов, чувствительных к эстрогенам, включая pS2, катепсин D, c-fos, c-jun, c-myc, TGF- α , рецептор ретиноевой кислоты α 1, efr, рецептор прогестерона (PR), инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF1) [19]. Многие из этих ER-регулируемых генов, включая IGF1, cyclin D1, c-myc и efr, важны для пролиферации и выживания клеток [5]. Рецептор прогестерона может противодействовать действию ER α , ингибируя рост опухоли через взаимодействие с РНК-полимеразой III и ингибирование транскрипции тРНК [20].

Обращает на себя внимание тот факт, что как ХНБ, так и перевивка меланомы вызывают нарушение стероидного равновесия, заключающееся в снижении содержания тестостерона, на фоне роста одного из эстрогенов (E2 в случае ХНБ и E1 в случае B16/F10), а также провоцируют повышение концентрации рецепторов эстрогенов и андрогенов, только при болевом воздействии более выражено, на фоне снижения уровня рецепторов прогестерона, тогда как в группе сравнения нарастает

тание содержания рецепторов было постепенным, исходило из опухоли, затрагивая перифокальную зону и кожу в динамике роста меланомы.

Таким образом, одним из патогенетических факторов хронической нейрогенной боли оказалось повышение в коже уровня эстрадиола и прогестерона на фоне роста эстрогеновых и андрогеновых рецепторов и снижения содержания рецепторов прогестерона. В коже при росте меланомы повышалось содержание эстрогена на фоне падения

эстрадиола и тестостерона и постепенно, начиная от опухоли и распространяясь к периферии, нарастал уровень всех стероидных рецепторов. В результате можно говорить о том, что хроническая нейрогенная боль способна создавать в коже ситуацию, подобную далеко зашедшему, развернутому злокачественному процессу, что, безусловно, может пагубно сказываться на течении заболевания и эффективности лечения.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Rižner T.L., Thalhammer T., Özvey-Laczka C. The Importance of Steroid Uptake and Intracrine Action in Endometrial and Ovarian Cancers. *Front Pharmacol.* 2017 Jun 19; 8: 346. doi: 10.3389/fphar.2017.00346.
2. Konings G., Brenjens L., Delvoux B., Linnanen T., Cornel K., Koskimies P., Bongers M., Kruitwagen R., Xanthoulea S., Romano A. Intracrine Regulation of Estrogen and Other Sex Steroid Levels in Endometrium and Non-gynecological Tissues; Pathology, Physiology, and Drug Discovery. *Front Pharmacol.* 2018 Sep 19; 9: 940. doi: 10.3389/fphar.2018.00940.
3. Wang L., Nanayakkara G., Yang Q., Tan H., Drummer C., Sun Y., Shao Y., Fu H., Cueto R., Shan H., Bottiglieri T., Li Y.F., Johnson C., Yang W.Y., Yang F., Xu Y., Xi H., Liu W., Yu J., Choi E.T., Cheng X., Wang H., Yang X. A comprehensive data mining study shows that most nuclear receptors act as newly proposed homeostasis-associated molecular pattern receptors. *J Hematol Oncol.* 2017 Oct 24; 10(1): 168. doi: 10.1186/s13045-017-0526-8.
4. Hewitt S.C., Korach K.S. Estrogen receptors: new directions in the new millennium. *Endocr Rev.* 2018 Oct 1; 39(5): 664–675. doi: 10.1210/er.2018-00087.
5. Hua H., Zhang H., Kong Q., Jiang Y. Mechanisms for estrogen receptor expression in human cancer. *Exp Hematol Oncol.* 2018 Sep 19; 7: 24. doi: 10.1186/s40164-018-0116-7.
6. Fox E.M., Davis R.J., Shupnik M.A. ERbeta in breast cancer - onlooker, passive player, or active protector? *Steroids.* 2008 Oct; 73(11): 1039–51. doi: 10.1016/j.steroids.2008.04.006.
7. Lee E., Hsu C., Haiman C.A., Razavi P., Horn-Ross P.L., Van Den Berg D., Bernstein L., Le Marchand L., Henderson B.E., Setiawan V.W., Ursin G. Genetic variation in the progesterone receptor gene and risk of endometrial cancer: a haplotype-based approach. *Carcinogenesis.* 2010 Aug; 31(8): 1392–9. doi: 10.1093/carcin/bgq113.
8. Tangen I.L., Werner H.M., Berg A., Halle M.K., Kusunmano K., Trovik J., Hoivik E.A., Mills G.B., Krakstad C., Salvesen H.B. Loss of progesterone receptor links to high proliferation and increases from primary to metastatic endometrial cancer lesions. *Eur J Cancer.* 2014 Nov; 50(17): 3003–10. doi: 10.1016/j.ejca.2014.09.003.
9. Sinreih M., Hevir N., Rižner T.L. Altered expression of genes involved in progesterone biosynthesis, metabolism and action in endometrial cancer. *Chem Biol Interact.* 2013 Feb 25; 202(1–3): 210–7. doi: 10.1016/j.cbi.2012.11.012.
10. Gibson D.A., Simitsidellis I., Collins F., Saunders P.T. Evidence of androgen action in endometrial and ovarian cancers. *Endocr Relat Cancer.* 2014 Aug; 21(4): T203–18. doi: 10.1530/ERC-13-0551.
11. Козлова М.Б., Франциянц Е.М., Владимировна Л.Ю., Анапалян В.Х., Бандовкина В.А., Светицкая Я.В., Кучкина Л.П., Босенко Е.С., Логвиненко А.А. Тиреоидный и глюкокортикоидный статус у больных со злокачественной и доброкачественной патологией молочных желез. *Сибирский онкологический журнал.* 2009; 4: 52–56. [Kozlova M.B., Frantziyantz E.M., Vladimirova L.Yu., Anapalyan V.Kh., Bandovkina V.A., Svetitskaya Ya.V., Kuchkina L.P., Bosenko E.S., Logvinenko A.A. Thyroid and glucocorticoid status of patients with benign and malignant pathology of the breast. *Siberian Journal of Oncology.* 2009; 4: 52–56. (in Russian)].
12. Шатова Ю.С., Франциянц Е.М., Новикова И.А., Ващенко Л.Н., Бандовкина В.А., Верескунова М.И., Хугаева А.Н., Токмаков В.В.

Локальный гормональный фон опухоли и перифокальной зоны у больных раком молочной железы: данные и перспективы их применения. *Опухоли женской репродуктивной системы.* 2016; 12(3): 30–35. [Shatova Yu. S., Frantsiyants E.M., Novikova I.A., Vashchenko L.N., Bandovkina V.A., Vereskunova M.I., Khugaeva A.N., Tokmakov V.V. The local hormonal environment of tumor and perifocal zone in patients with breast cancer: data and prospects of their application. *Tumors of female reproductive system.* 2016; 12(3): 30–35. (in Russian)].

13. Котиева И.М., Кит О.И., Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Трепиаки Л.К., Черярина Н.Д., Погорелова Ю.А., Бликян М.В. Влияние хронической боли на уровень половых гормонов, пролактина и гонадотропных гормонов в сыворотке крови и патологически измененной коже у самок мышей в динамике роста злокачественной меланомы. *Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки.* 2018; 198(2): 106–116. [Kotieva I.M., Kit O.I., Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Kaplieva I.V., Trepiaki L.K., Cheryarina N.D., Pogorelova Yu.A., Blikjan M.V. Effect of chronic pain on the level of sex hormones, prolactin and gonadotropins in serum and pathologically changed skin of female mice in dynamics of malignant melanoma growth. *University news. North-caucasian region. Natural Sciences series.* 2018; 198(2): 106–116. (in Russian)]. doi: 10.23683/0321-3005.

14. Кит О.И., Франциянц Е.М., Котиева И.М., Каплиева И.В., Трепиаки Л.К., Бандовкина В.А., Розенко Л.Я. Некоторые механизмы повышения злокачественности меланомы на фоне хронической боли у самок мышей. *Российский журнал боли.* 2017; 53(2): 14–20. [Kit O.I., Frantsiyants E.M., Kotieva I.M., Kaplieva I.V., Trepiaki 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; 53(2): 14–20. (in Russian)].

15. Cairns B.E., Gazerani P. Sex-related differences in pain. *Maturitas.* 2009 Aug 20; 63(4): 292–6. doi: 10.1016/j.maturitas.2009.06.004.

16. Peng B., Lu B., Leygue E., Murphy L.C. Putative functional characteristics of human estrogen receptor-beta isoforms. *J Mol Endocrinol.* 2003; 30: 13–29. doi: 10.1677/jme.0.0300013.

17. Henderson B.E., Feigelson H.S. Hormonal carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2000; 21: 427–433. doi: 10.1093/carcin/21.3.427.

18. Akhmedkhanov A., Zeleniuch-Jacquette A., Toniolo P. Role of exogenous and endogenous hormones in endometrial cancer: review of the evidence and research perspectives. *Ann NY Acad Sci.* 2001 Sep; 943: 296–315. doi: 10.1111/j.1749-6632.2001.tb03811.x.

19. Ikeda K., Horie-Inoue K., Inoue S. Identification of estrogen-responsive genes based on the DNA binding properties of estrogen receptors using high-throughput sequencing technology. *Acta Pharmacol Sin.* 2015 Jan; 36(1): 24–31. doi: 10.1038/aps.2014.123.

20. Finlay-Schultz J., Gillen A.E., Brechbuhl H.M., Ivie J.J., Matthews S.B., Jacobsen B.M., Bentley D.L., Kabos P., Sartorius C.A. Breast cancer suppression by progesterone receptors is mediated by their modulation of estrogen receptors and RNA polymerase III. *Cancer Res.* 2017 Sep 15; 77(18): 4934–4946. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-3541.

Поступила/Received 01.02.2019
Принята в печать/Accepted 05.04.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Франциянц Елена Михайловна, доктор биологических наук, профессор, заместитель генерального директора по науке, руководитель лаборатории «Изучение патогенеза злокачественных опухолей», ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Ростов-на-Дону, Россия). ORCID: 0000-0003-3618-6890.

Бандовкина Валерия Ахтямовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории «Изучение патогенеза злокачественных опухолей», ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Ростов-на-Дону, Россия). ORCID: 0000-0002-2302-8271.

Котиева Инга Мовлиевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Ростов-на-Дону, Россия). ORCID: 0000-0003-0252-4708.

Каплиева Ирина Викторовна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории «Изучение патогенеза злокачественных опухолей», ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Ростов-на-Дону, Россия). ORCID: 0000-0002-3972-2452.

Трепитаки Лидия Константиновна, научный сотрудник лаборатории «Изучение патогенеза злокачественных опухолей», ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Ростов-на-Дону, Россия). ORCID: 0000-0002-9749-2747.

Нескубина Ирина Валерьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории «Изучение патогенеза злокачественных опухолей», ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Ростов-на-Дону, Россия). ORCID: 0000-0002-7395-3086.

Сурикова Екатерина Игоревна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории «Изучение патогенеза злокачественных опухолей», ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Ростов-на-Дону, Россия). ORCID: 0000-0002-4318-7587.

ВКЛАД АВТОРОВ

Франциянц Елена Михайловна: разработка концепции научной работы, анализ научной работ, редактирование статьи, обсуждение результатов исследования.

Бандовкина Валерия Ахтямовна: анализ научной работы, написание текста рукописи, обсуждение результатов исследования.

Котиева Инга Мовлиевна: критический пересмотр с внесением дополнений, редактирование работы, обсуждение результатов исследования.

Каплиева Ирина Викторовна: обзор публикаций по теме статьи, выполнение исследований, обсуждение результатов исследования.

Трепитаки Лидия Константиновна: экспериментальная работа с животными, подготовка образцов, обсуждение результатов исследования.

Нескубина Ирина Валерьевна: сбор и обработка материала, выполнение исследований, обсуждение результатов исследования.

Сурикова Екатерина Игоревна: статистическая обработка данных, редактирование статьи, обсуждение результатов исследования.

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, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0003-3618-6890.

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

Inga M. Kotieva, MD, PhD, Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0003-0252-4708.

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

Lidiya K. Trepitaki, Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-9749-2747.

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

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

AUTHOR CONTRIBUTION

Elena M. Frantsiyants: study design, data analysis, editing of the manuscript, discussion of the study results.

Valeriya A. Bandovkina: analysis of the study results, writing of the manuscript, discussion of the study results.

Inga M. Kotieva: critical review and expansion, editing of the manuscript, discussion of the study results.

Irina V. Kaplieva: literature review, implementation of the studies, discussion of the study results.

Lidiya K. Trepitaki: experimental research using laboratory animals, sample preparation, discussion of the study results.

Irina V. Neskubina: data collection and processing, implementation of the studies, discussion of the study results.

Ekaterina I. Surikova: statistical data processing, editing of the manuscript, discussion of the study results.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.