

На правах рукописи

КОТИЕВА Инга Мовлиевна

**ХРОНИЧЕСКАЯ НЕЙРОГЕННАЯ БОЛЬ КАК МОДИФИКАТОР
ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПРОЦЕССА
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

14.01.12 – онкология

14.03.03 – патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Ростов-на-Дону - 2019

РАБОТА ВЫПОЛНЕНА В ФЕДЕРАЛЬНОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ БЮДЖЕТНОМ
УЧРЕЖДЕНИИ «РОСТОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ
ИНСТИТУТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(генеральный директор – д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН **О.И. Кит**)

Научные консультанты:	доктор медицинских наук, профессор, чл.-корр. РАН Кит Олег Иванович доктор биологических наук, профессор Франциянц Елена Михайловна
Официальные оппоненты:	Новиков Георгий Андреевич – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова», факультет дополнительного профессионального образования, заведующий кафедрой паллиативной медицины Рукша Татьяна Геннадьевна – доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, проректор по научной работе, заведующая кафедрой патологической физиологии имени профессора В.В. Иванова Афанасьева Зинаида Александровна – доктор медицинских наук, Казанская государственная медицинская академия – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры онкологии, радиологии и паллиативной медицины
Ведущая организация:	федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится "___" _____ 2019 г. в ___ часов на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д.208.083.02 на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации (344037, г. Ростов-на-Дону, 14 линия, 63).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте www.mioi.ru федерального государственного бюджетного учреждения «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан "___" _____ 2019 г.

Ученый секретарь совета по защите
докторских и кандидатских диссертаций
доктор биологических наук, доцент

Дженкова Е.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Нейропатическая боль определяется как «боль, вызванная повреждением или заболеванием соматосенсорной нервной системы» (Merskey H.R. et al., 2014). Хроническая боль часто возникает у больных с онкологической патологией, особенно, при прогрессировании заболевания. Тип боли и ее интенсивность зависят от местоположения опухоли и стадии болезни. Нередко хроническая боль сопровождает лечебные противоопухолевые воздействия: хирургические, радиационные, химиотерапевтические. Боль присутствует у 30-50% больных при проведении противоопухолевой терапии, 33% пациентов страдают от боли после окончания противоракового лечения (Van den Beuken-van Everdingen M.H. et al., 2007; Leppert W. et al., 2016).

Патофизиологические механизмы боли у онкологических больных, как правило, сочетанные и включают как ноцицептивный (соматический и/или висцеральный), так и нейропатический (неврологический) компоненты (Leppert W. et al., 2016). Нейропатическая боль характеризуется спонтанностью возникновения, гипералгезией и аллодинией (Кукушкин М.Л., 2007). Как только периферический нерв поврежден, волокна становятся гиперчувствительными, вызывая спонтанную боль, которая усиливается в спинном мозге. Даже незначительный раздражитель, такой как прикосновение, может вызвать боль – аллодинию (Yoon So Young, Jeeyoung Oh, 2018).

Боль может сохраняться в течение нескольких месяцев или лет. В такой обстановке боль больше не отражает продолжающуюся травму, а скорее нарушенную нервную систему. Нейропатическая боль является частью более широкого спектра нейропатии, вызванной самим заболеванием, а также периферической невропатией, вызванной химиотерапией (Lema M.J., et al, 2010).

Доклинические исследования с использованием моделей нейропатической боли у грызунов показали вовлечение спинальной микроглии в качестве ключевого медиатора повреждения периферических нервов (Beggs S. et al., 2012). В тоже время данные литературы свидетельствуют о том, что роль

микроглии при нейропатической боли зависит от пола (Sorge R.E. et al., 2015). Этот половой диморфизм обнаружен недавно, поскольку доклинические исследования боли обычно исключали особей женского пола, объясняя это тем, что эструс вызывал повышенную изменчивость, которая, как оказалось, не имеет места (Prendergast B.J. et al., 2014; Klein S.L. et al., 2015). Подавляющее большинство доклинических исследований боли проводилось с использованием только грызунов мужского пола. Такая сексуальная предвзятость представляет собой серьезные проблемы для трансляционной значимости доклинических исследований боли (Bouhassira D. et al., 2005; Beery A.K., Zucker I., 2011). Кроме того, самки животных, как оказалось, более чувствительны к экспериментально вызванной боли (Mogil J.S., 2012; Bartley E.J., Fillingim R.B., 2013).

Было показано, что болевые воздействия разного характера вызывают изменения основных видов обмена веществ, мобилизацию адаптивных метаболических механизмов, повреждение тканей и, что особенно важно, дисфункцию сосудистой системы (Решетняк Д.В. и соавт., 2004; Кукушкин М.Л., 2007). В настоящее время принято мнение, что хроническая боль не является симптомом какого-либо заболевания, а представляет собой самостоятельную болезнь, требующую специального этио-патогенетического лечения (Яхно Н.Н., Кукушкин М.Л., 2012). Установлено, что длительная хроническая боль перестраивает течение биохимических процессов в организме, одни ферменты усиливают свою активность, другие ослабляют ее, страдает иммунитет. Актуальность изучения влияния хронической боли на организм заключается в том, что она сама является эндогенным патогенным фактором, запускающим механизмы нарушения гомеостаза. Боль вызывает усиление синтеза и высвобождение цитокинов, хемокинов, факторов роста и многих протеаз во внеклеточное пространство из глиальных клеток. Медиаторы мощно модулируют возбуждающую и тормозную синаптическую передачу на пресинаптических, постсинаптических и экстрасинаптических сайтах (Ru-Rong Ji et al., 2014).

В совокупности нейропатическая боль - это изнурительное и хроническое заболевание, которое требует дальнейшего изучения, чтобы понять его молекулярные и клеточные механизмы и разработать новые эффективные методы лечения.

Учитывая, что в настоящее время методы лечения хронической нейропатической боли являются неудовлетворительными, исследование механизмов, с помощью которых повреждение нерва вызывает боль, остается в центре внимания исследований (Крыжановский Г.Н., 2003; Рачин А.П. и соавт., 2017; Machelska H., Chelik M.O., 2016). Нейропатическая боль, возникающая даже при кратковременном повреждении тканей или нервов, инициирует большое количество приспособительных реакций, которые сохраняются на клеточном и молекулярном уровнях, и, в свою очередь, могут пролонгировать патологический процесс с развитием симптомокомплекса хронической боли. Было показано, что ранние изменения экспрессии нейротрофического фактора и иннервации поджелудочной железы важны не только для последующего развития боли, связанной с панкреатической протоковой аденокарциномой, но и для продвижения прогрессирования заболевания от до злокачественных стадий к раку с помощью сенсорной афферентной сенсибилизации и нейрогенного воспаления (Stopczynski R. E. et al, 2014). Учитывая, что заметные взаимодействия неоплазии и опухолевых нервов были описаны в ряде злокачественных новообразований, ранние вмешательства, направленные на периферическую нервную систему, представляют собой новую стратегию лечения опухолей для различных видов рака (Wang L. et al, 2018).

Степень разработанности темы

Совсем недавно было установлено, что клетки кожи содержат весь биохимический аппарат, необходимый для производства андрогенов и эстрогенов либо из предшественников системного происхождения, либо, альтернативно, путем превращения холестерина в прегненолон и последующего его превращения в биологически активные стероиды. Кожная стероидогенная система также может иметь системные эффекты, которые

подчеркиваются значительным вкладом кожи в циркулирующие андрогены и/или эстрогены. Кроме того, местная активность CYP11A1 может приводить к появлению новых стероидов, которые являются биологически активными. Кожа может быть определена как независимый стероидогенный орган, активность которого может влиять на его функции и развитие местных или системных воспалительных или аутоиммунных заболеваний (Slominski A.T. et al., 2013).

Роль эстрогенов в ноцицептивных процессах окончательно неясна (Henry N.L. et al., 2014). Многие исследования показывают увеличение в плазме крови или локальных очагах уровней эстрогенов параллельно увеличению ноцицептивной чувствительности (Bradshaw N.V., Berkley K.J., 2000; Allen L., Mc Carson K.E., 2005; Liu B. et al., 2005; Evvard N.S., 2006). Высокий уровень эстрогенов может быть фактором риска вызванной капсаицином ноцицептивной болью (Yamagata K. et al., 2016). Связь между эндогенными уровнями прогестерона и стойкой или хронической болью также плохо изучена. Результаты свидетельствуют о том, что прогестерон способен модулировать ранние нейрогенные события, инициированные травмой, и его применение может представлять собой полезную стратегию предотвращения развития центральной хронической боли (Coronel M.F. et al., 2014).

Имеются исследования, доказывающие про- (Liu S. et al., 2012) и анти-ноцицептивные эффекты VEGF-A (Verheyen A. et al., 2013). Известно также, что белки класса VEGF-A взаимодействуют в тканях с нейропептидами, такими как соматостатин и ангиотензин (Mei S. et al., 2012) и опиоидами (Yamamizu K. et al., 2013), часто через общие сигнальные пути (Pan H.L. et al., 2008). Интересно, что все эти нейропептиды также участвуют в ноцицепции (Pan H.L. et al., 2008; Rice A.S., 2014). Предполагается, что VEGF-A-ноцицептивная сигнализация может также включать сложные взаимодействия с другими про-ноцицептивными молекулами, в дополнении к их прямому воздействию (Hulse R.P. et al., 2014).

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния хронической нейрогенной боли на течение злокачественного процесса и выяснение некоторых метаболических аспектов патогенеза.

Задачи исследования:

1. Разработать экспериментальные модели развития меланомы B16/F10 у мышей линии C57BL/6 и роста саркомы M-1 в легком белых беспородных крыс на фоне хронической нейрогенной боли, вызванной двусторонней перевязкой седалищных нервов, изучить особенности течения злокачественного процесса у животных обоего пола.

2. Изучить влияние хронической нейрогенной боли, вызванной двусторонней перевязкой седалищных нервов, на состояние системы ростовых факторов, фибринолитической и калликреин-кининовой систем, уровень биогенных аминов (БА), стероидных гормонов, пролактина и систему оксида азота в коже мышей C57BL/6 обоего пола.

3. Изучить влияние хронической нейрогенной боли на регуляторные системы организма экспериментальных животных: нарушение медиаторных систем мозга и уровень тиреоидных гормонов щитовидной железы.

4. На разработанной экспериментальной модели изучить изменения факторов ангиогенеза, лимфангиогенеза и факторов их запуска в коже, опухоли и ее перифокальной зоне на этапах экспериментального злокачественного процесса у мышей линии C57BL/6 обоего пола.

5. Изучить роль половых гормонов и пролактина в интактной и патологически измененной коже, а также в сыворотке крови мышей линии C57BL/6 обоего пола на этапах развития экспериментальной меланомы, воспроизведенной на фоне хронической нейрогенной боли.

6. На разработанной экспериментальной модели изучить влияние нейрогенной хронической боли на показатели калликреин-кининовой системы и состояние компонентов системы активации плазминогена в коже, опухоли и перифокальной зоне опухоли мышей линии C57BL/6 обоего пола в динамике развития меланомы B16/F10.

7. На разработанной экспериментальной модели изучить содержание и соотношение компонентов аминергических регуляторных систем в головном мозге, не затронутой злокачественным процессом кожи, неопластической ткани и перифокальной зоне опухоли на этапах развития злокачественного процесса.

8. Изучить содержание гормонов в ткани щитовидной железы в динамике роста перевивной меланомы B16/F10, воспроизведенной на фоне хронической нейрогенной боли у мышей линии C57BL/6 обоего пола.

9. Изучить влияние хронической нейрогенной боли на динамику компонентов NO-системы в процессе роста меланомы B16/F10, воспроизведенной на фоне хронической нейрогенной боли у мышей линии C57BL/6 обоего пола.

Научная новизна

1. Впервые на мышах линии C57BL/6 разработана экспериментальная модель развития меланомы B16/F10 у мышей линии C57BL/6 на фоне хронической нейрогенной боли, вызванной двусторонней перевязкой седалищных нервов, характеризующаяся сокращенным латентным периодом появления опухоли, усиленным метастазированием и сокращением продолжительности жизни животных (Патент РФ № 2650587).

2. Впервые разработана экспериментальная модель и показано, что индукция в организме нейрогенной хронической боли у крыс приводила к повышению биологической агрессивности опухоли, что обуславливало рост саркомы M1 в нетрадиционном для ее органе - легких (Патент РФ №2676641).

3. Впервые показано изменение под влиянием нейрогенной хронической боли, вызванной двусторонней перевязкой седалищных нервов, системы ростовых факторов, фибринолитической и калликреин-кининовой систем, уровня биогенных аминов, гормонов и активности системы оксида азота в коже мышей линии C57BL/6 обоего пола.

4. Впервые показано влияние хронической нейрогенной боли на регуляторные системы организма экспериментальных животных: нарушение

медиаторных систем мозга и функционирования щитовидной железы, имеющие определенные половые различия.

5. Впервые установлено, что нарушение баланса факторов роста между собой и рецепторами, биологически активных веществ и гормонов в коже под действием хронической нейрогенной боли, обусловлено мобилизацией защитных механизмов, направленных на её ограничение, и формирует своеобразное метаболическое «поле», на котором «семена» - злокачественные клетки проявляют себя агрессивно. Хронический болевой синдром за счет изменения метаболического фона кожи, является провоцирующим и ускоряющим фактором для развития меланомы, а также распространения процесса, даже без существенного увеличения объема опухоли.

6. Впервые установлено, что после перевивки меланомы мышам с нейрогенной хронической болью на фоне тотального резкого увеличения уровня VEGF, между факторами ангиогенеза и системой EGF-EGFR устанавливались сильные положительные корреляционные связи, главным образом, в коже и ПЗ опухоли. У мышей из группы сравнения меньшая степень увеличения уровней ангиогенных факторов роста сочеталась с их сильными положительными корреляционными связями с системой IGF.

7. Впервые показано, что хроническая нейрогенная боль изменяет системный и локальный гормоногенез, вероятно, за счет влияния на как функцию гипофиза, так и на локальный синтез гормонов. Направленность изменений гормонального баланса имела зависимость от пола животного. Несмотря на то, что абсолютные показатели эстрадиола в крови выросли у животных обоего пола, баланс стероидных гормонов нарушался специфическим образом: у самок в крови выявлялся недостаток эстрогенов за счет роста тестостерона и прогестерона, а у самцов установлен избыток эстрогенов за счет снижения тестостерона и прогестерона.

8. Впервые показано, что и у самок, и у самцов под влиянием хронической нейрогенной боли меланома приобрела большее количество

рецепторов эстрогенов и андрогенов, но меньшее – рецепторов прогестерона, по сравнению с показателями у животных группы сравнения. Повышение уровня ER β в опухоли животных основной группы коррелировало с ростом уровня эстрадиола, тогда как концентрация рецепторов прогестерона имела отрицательную зависимость от уровня самого гормона в образцах меланомы. Существенное влияние хроническая нейрогенная боль оказала на перифокальную зону опухоли самцов, вызвав в ней максимальный прирост содержания как ER α , так и ER β , на фоне резкого снижения уровня RP4.

9. Впервые показано, что у животных обоего пола хроническая нейрогенная боль приводит к снижению в коже уровня серотонина и увеличению норадреналина и дофамина. В зависимости от пола меняется уровень гистамина – у самок ХНБ вызывает снижение, а у самцов – повышение диамина. Перевивка на этом фоне злокачественной опухоли у животных обоего пола активирует в коже синтез гистамина, но снижает уровень норадреналина. Для опухоли было характерно крайне низкое содержание гистамина. Серотонинергическая система в коже находится в зависимости от пола животных: у самцов уровень серотонина падает как в коже, так и в опухоли, тогда как у самок растет.

10. Впервые представлены данные, доказывающие преимущественное участие uPAR кожи в развитии перевивной меланомы B16/F10 на фоне нейрогенной хронической боли у мышей-самок и PAI-1 у самцов; уровень опухоль-ассоциированных uPAR и PAI-1 у мышей самок был выше, чем у самцов в течение всего наблюдения. Во время роста меланомы B16/F10, сопряженной с болью, в коже и опухоли мышей-самок регистрировалось повышенное содержание PAR, рецептора uPAR, сниженное содержание uPA и tPA, относительно данных мышей-самцов и полученных на стандартной модели меланомы. Активация PAI-1 в опухоли мышей-самцов при росте меланомы на болевом фоне осуществлялась быстрее, чем у самок.

11. Впервые доказано, что при перевивке мышам экспериментальной меланомы B16/F10 на фоне хронической нейрогенной боли метаболизм ККС

изменяется радикально: уровень KLK-1 кожи и опухоли, после перевивки меланомы на болевом фоне, у мышей-самцов был на 1-2 порядка выше, чем у самок во все сроки исследования. У мышей-самок, наоборот, наблюдалось истощение содержания KLK-1 в коже с постепенным увеличением опухоль-ассоциированного фермента. Получены статистически значимые различия исследованных показателей ККС в коже и опухоли мышей групп основной и сравнения обоего пола.

12. Впервые показано, что в состоянии хронической нейрогенной боли в коже самцов и самок мышей значительно увеличиваются концентрации эндотелиальной формы NOS-3 и индуцибельной формы NOS-2, более выраженные у самцов, чем у самок. В ткани меланомы B16/F10, растущей на фоне хронической нейрогенной боли, у самок выявлена более высокая концентрация NO-синтаз, чем в непораженной коже животных, а у самцов значимых различий между концентрацией NOS-3 и NOS-2 в ткани опухоли и непораженной коже не обнаружено; у самцов отмечается значительное накопление цитруллина как в ткани опухоли, так и в непораженной коже к 3 неделе роста; у самок аналогичных изменений не выявлено.

13. Впервые показано, что реакция нейромедиаторных систем мозга на возникновение нейрогенной хронической боли имела половые различия. У самок изменения нейромедиаторного статуса мозга были максимальными – снижение уровня гистамина, адреналина, норадреналина и серотонина с увеличением 5ОИУК, у самцов – минимальные: только снижение содержания адреналина. Половые различия при сочетании нейрогенной хронической боли и перевивки меланомы B16/F10 заключались в том, что у самок в мозге повышался уровень серотонина и ДА, а у самцов, напротив, снижался первый и оставался без изменения второй нейромедиатор.

14. Впервые показано, что в ткани щитовидной железы у мышей обоего пола с хронической нейрогенной болью наблюдалось увеличение уровня свободных форм тиреоидных гормонов на фоне низкого содержания ТТГ. Рост меланомы принципиально не повлиял на содержание свободных и

общих форм тиреоидных гормонов, а также ТТГ в щитовидной железе, по сравнению с показателями при хронической нейрогенной боли.

Теоретическая значимость работы

Полученные результаты убедительно показывают, что хроническая нейрогенная боль изменяет течение злокачественного процесса, приводя к усилению биологической агрессивности опухоли. Это не зависит от вида животного и штамма опухоли. Обобщение и анализ материалов экспериментального исследования позволяет расширить существующие представления о патогенезе меланомы, отягощенной сопутствующей хронической нейрогенной болью. Установлено, что хроническая нейрогенная боль принимает участие в канцерогенезе, вызывая метаболические нарушения органе мишени, каким является в данном случае кожа. Важную роль в патогенезе модифицированного злокачественного роста играют нарушения в основных регуляторных системах: особенности медиаторных процессов коры головного мозга и обеспеченность щитовидной железы тиреоидными гормонами. Выраженность метаболических нарушений в организме мышей линии C57BL/6, вызванные как хронической нейрогенной болью, так и сочетанием ее с развитием экспериментальной меланомы B16/F10 зависят от пола экспериментальных животных.

Полученные результаты могут быть внедрены в обучающий курс студентов по онкологии и патологической физиологии.

Практическая значимость работы

Созданы экспериментальные модели злокачественного процесса развивающегося на фоне хронической нейрогенной боли. Разработанная модель, сочетающая двустороннюю перевязку седалищных нервов у мышей линии C57BL/6 и перевивку экспериментальной меланомы B16/F10, может быть применена для изучения патогенеза меланомы, отличающейся от стандартной модели быстрым ростом, ранним обширным метастазированием и непродолжительной жизнью животных, т.е. отражает агрессивное течение меланомы у ряда больных, а, следовательно, и для разработки способов ее

профилактики и лечения. Экспериментальная модель защищена патентом РФ №2650587 (Бюлл. 11 от 16.04.2018).

Разработанная модель, сочетающая двустороннюю перевязку седалищных нервов у крыс и внутривенное введение клеток саркомы М1, может быть применена для изучения патогенеза опухолей с приобретенными биологически агрессивными свойствами, т.к. именно при таком сочетании опухоль М1 получала возможность расти и развиваться в несвойственном для нее органе (Патент РФ №2676641 Бюлл. №1 от 9.01.2019).

Методология и методы диссертационного исследования

Диссертация логически структурирована, представленные результаты основаны на изучении большого экспериментального материала. Работа выполнена с использованием патофизиологических, биохимических и статистических методов исследования.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Нейрогенная хроническая боль стимулирует злокачественный процесс в организме экспериментальных животных, изменяя биологическую агрессивность опухоли, приводя к уменьшению латентного периода выхода опухоли, раннему метастазированию и уменьшению продолжительности жизни.

2. Метаболические изменения, происходящие в органе-мишени под влиянием хронической нейрогенной боли, играют важную роль в патогенезе злокачественного роста. Общими патогномичными признаками хронической нейрогенной боли и патогенеза меланомы является стимуляция неоангиогенеза, каскада протеолитических ферментов, изменение локального гормоногенеза.

Степень достоверности и апробация результатов

Определяется достаточным количеством экспериментальных животных, вошедших в исследование, формированием групп сравнения, адекватными методами исследования и корректными методами статистической обработки. Сформулированные в диссертации выводы, положения и практические рекомендации аргументированы и логически вытекают из системного анализа

результатов выполненных исследований. Апробация диссертации состоялась 5 марта 2019 г. на заседании Ученого Совета при ФБГУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России.

Материалы проведенного исследования были представлены на: XXII Российском онкологическом конгрессе (Москва, 2018), X Съезде онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии (Минск, 2018), 54st ASCO Annual Meeting Chicago, 2018 (J Clin Oncol 36, 2018; suppl: abstr e21621, а также J Clin Oncol 36, 2018; suppl: abstr e21632).

Основные результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, изложены в 30 публикациях, из них 11 – в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации основных результатов диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук, 15 – в тезисах, представленных в российских и международных изданиях, получены патент на изобретение РФ №2650587 «Способ модификации хронической болью злокачественного роста меланомы B16 у мышей» (Бюлл. 11 от 16.04.2018) и патент на изобретение РФ №2676641 «Способ стимуляции хронической болью злокачественного роста в легких крыс» (Бюлл. №1 от 9.01.2019).

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 403 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, характеристики материалов и методов исследования, 8 глав результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, включающего 73 отечественных и 572 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 84 таблицами.

Соответствие диссертации научной специальности

Основные научные положения и выводы, описанные в диссертации, соответствуют паспорту специальности 14.01.12 онкология, пункту 2 области исследования: исследования по изучению этиологии и патогенеза

злокачественных опухолей, основанные на достижениях ряда естественных наук (морфологии, молекулярной онкологии, биохимии и других) и паспорту специальности 14.03.03 патологическая физиология, пункту 2 области исследования: изучение общих патогенетических механизмов развития заболеваний, типовых патологических процессов и реакций организма на воздействие патогенного фактора, в том числе механизмов формирования патологических систем и нарушений информационного процесса, обуславливающих развитие заболеваний.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Характеристика материала и методов исследования

Характеристика экспериментальных групп животных (рисунок 1):



Рисунок 1 – Дизайн исследования

Характеристика животных при моделировании хронической нейрогенной боли и меланомы B16/F10

Экспериментальные исследования проводили на мышах обоего пола линии C57BL/6 (n=133), 8 недельного возраста с начальной массой 21 - 22 г. Животные были получены из ФГБУН Научный центр биомедицинских технологий «Андреевка» ФМБА (Московская область). В работе использовали

клеточную линию мышиной, метастазирующей в легкие меланомы B16/F10, полученную из РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН (г. Москва). Животные содержались при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Все исследования проводились в соответствии с требованиями и условиями, изложенными в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.03 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Работа с животными осуществлялась в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (Директива 86/609/ЕЕС) и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.03 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Все животные содержались в одинаковых условиях в стандартных пластиковых клетках по 5 особей при естественном освещении, температуре воздуха 22-26°C и свободным доступом к пище и воде. Мыши ежедневно получали стандартный кормовой рацион и питьевой воду. За животными вели постоянное наблюдение с регулярным осмотром и взвешиванием взвешивали.

Создание экспериментальной модели роста меланомы на фоне хронической нейрогенной боли

Все манипуляции с животными производили в боксе. Инструменты, посуду, руки дезинфицировали общепринятым способом. Каждому животному вводили ксила-золетилловый наркоз: за 10 минут до основного наркоза с целью премедикации животному внутримышечно вводили ксилазин (препарат Ксила) в дозе 0,05 мл/кг массы тела (по инструкции), затем - Золетил-50 в дозе 10 мг/100 г массы тела.

После наступления медикаментозного сна ассистент фиксировал мышь в положении на животе, удалял шерсть сзади в районе проекции седалищных нервов и смазывал кожу 70 % спиртом. Экспериментатор в стерильных условиях выделял седалищный нерв, накладывал на него лигатуру, ушивал рану послойно и обрабатывал шов 5% спиртовым раствором йода. Через 2

недели после заживления операционной раны подкожно вводили 0,5 мл взвеси опухолевых клеток мышинной меланомы B16 в физиологическом растворе в разведении 1:10. Для этого, соблюдая все условия асептики, описанные выше, ассистент фиксировал мышь спиной кверху, предварительно сбрав шерсть и обработав кожу 5 % спиртовым раствором йода чуть ниже правой лопатки. Экспериментатор рукой в стерильной перчатке захватывал кожную складку, в центре которой прокалывал кожу и вводил опухолевую взвесь. Затем извлекал иглу, место введения плотно прижимал ватным тампоном, смоченным в 70 % спирте с небольшим добавлением йода, на 1 минуту, чтобы исключить вытекание вводимой взвеси.

Животным из группы сравнения перевивали меланому B16/F10 подкожно в той же дозе и объёме, что и в основной группе, но без воспроизведения модели хронической боли. Меланому B16/F10 приобретали в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН (Москва). Штамм поддерживается на мышах линии C57BL/6. При стандартной перевивке опухоль появляется в 100% случаев, достаточно быстро растёт и на 12-16 сутки роста метастазирует преимущественно гематогенно в легкие (60-90%), реже – в печень и селезенку (Dingemane K.P. et al., 1985). Клеточная популяция меланомы B16/F10 гетерогенна, включает как фрагменты с незначительным содержанием меланина, так и выраженные пигментированные участки. Пролиферативный пул опухоли составляет 71,6% (Фадеева Е.В., 2010). Модальный класс опухоли насчитывает 40 хромосом. Материал для перевивки меланомы B16/F10 получали от мышей-доноров на 12-16 сутки развития опухолей.

Животные были распределены на группы: две контрольные - интактные мыши (14 шт) и мыши с воспроизведением модели хронической боли (14 шт), группу сравнения - мыши со стандартной подкожной перевивкой меланомы B16/F10 (45 шт) и основную группу - мыши, которым меланому B16/F10 перевивали через 2 недели после создания модели хронической боли (60 шт).

Исследования проводили еженедельно вплоть до гибели животных. Через установленный срок мышей умерщвляли на гильотине. В сухие пробирки без

консерванта собирали туловищную кровь, центрифугировали в при 3 тыс об в мин в течение 10 мин, отбирали сыворотку крови. Для исследования забирали на льду органы, необходимые для исследования: первичную опухоль, ее перифокальную зону, кожу, не пораженную злокачественным процессом, мозг, щитовидную железу, надпочечники, гипофиз, взвешивали. Из тканей получали 1% цитозольные фракции, приготовленные на 0,1М калий-фосфатном буфере рН 7.4, содержащем 0,1% Твин-20 и 1% БСА.

Весовые коэффициенты (ВК) внутренних органов рассчитывали по общепринятой формуле:

$$\text{ВК} = \frac{\text{Вес органа (г)}}{\text{Вес животного (г)}}$$

Биохимические методы исследования:

Радиоиммунным методом в сыворотке крови определяли уровень половых гормонов – тестостерон, эстрогены, тропных гормонов – фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ), тиреотропный гормон (ТТГ), гормоны тиреоидной группы: свободные и общие формы трийодтиронина (Т3св и Т3общ) и тироксина (Т4св и Т4общ), (стандартные тест-наборы фирмы Иммунотех, Чехия; анализатор «Ариан», Россия). Методом ИФА в гомогенатах тканей определяли: свободную форму тестостерона (Тсв) (ХЕМА, Россия), эстрон (DBC, Канада), TGFβ1, VEGFA, VEGFR1, VEGFC, VEGFD, sVEGFR2, (Bender Med Systems, США), IGF1 («IDS Ltd»), IGF2 («MEDIAGNOST»), EGF («BioSource Europe S.A.»), EGFR («R&D systems»), рилизинг-гормоны (Peninsula Laboratories, LLC, США), биогенные амины (Cusabio, Китай), показатели системы активации плазминогена (uPA-АГ, tPA-АГ, PAI1-АГ) и их активность (uPA-акт; tPA-акт; PAI-акт) (TC, USA), KLK-1, KLK-14, Прекалликреин, Кининоген (Elisa Kit), NOS-2, NOS-3 (Cloud-Clone Corp., США), L-аргинин, L-цитруллин, асимметричный диметиларгинин АДМА (Immundiagnostik, Германия), общий нитрит (R&D systems, США) и нитротирозин (NycultBiotech, Нидерланды).

Характеристика животных при воспроизведении хронической нейрогенной боли и злокачественного роста в легком

Исследования проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 180-220 грамм разводки вивария Ростовского научно-исследовательского онкологического института. Работа осуществлялась в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (Директива 86/609/ЕЕС) и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.03 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Всех крыс содержали в стандартных пластиковых клетках при естественном режиме освещения, температуре окружающего воздуха 22-26°C и свободным доступом к воде и пище по 5 особей. Ежедневно крысы получали стандартный кормовой рацион и водопроводную воду. За животными вели постоянное наблюдение, регулярно взвешивали.

Моделировали злокачественный процесс, используя перевиваемый опухолевый штамм крысиную саркому М-1.

Криоконсервированный штамм опухоли размораживали и поддерживали методом подкожных трансплантаций на белых беспородных крысах. Материал для перевивки саркомы М-1 получали от крыс-доноров на 16-17 сутки развития опухолей. В эксперименте было задействовано 20 белых беспородных крыс-самцов: 1 группа (n=10) – крысы, которым внутривенное введение саркомы М-1 производили на фоне нейрогенной хронической боли; 2 группа (n=10) - крысы, которым внутривенное введение саркомы М-1 производили без предварительной перевязки седалищных нервов.

Все манипуляции с животными производили в боксе. Инструменты, посуду, руки дезинфицировали общепринятым способом. Каждому животному вводили ксила-золетилловый наркоз: за 10 минут до основного наркоза с целью премедикации животному внутримышечно вводили ксилазин (препарат Ксила) в дозе 0,05 мл/кг массы тела (по инструкции), затем - Золетил-50 в дозе 10 мг/100 г массы тела.

После наступления медикаментозного сна ассистент фиксировал крысу в положении на животе, удаляет шерсть сзади в районе проекции седалищных нервов и смазывал кожу 70 % спиртом. Экспериментатор в стерильных условиях выделял седалищный нерв, накладывал на него лигатуру, ушивал рану послойно и обрабатывал шов 5% спиртовым раствором йода. Через 45 дней после заживления операционной раны в подключичную вену вводили 0,5 мл взвеси опухолевых клеток саркомы М1 в физиологическом растворе в разведении ($1 \cdot 10^6$ /л). Для этого, соблюдая все условия асептики, описанные выше, ассистент фиксировал крысу в положении на спине, предварительно сбрив шерсть и обработав кожу 5 % спиртовым раствором йода в районе правой ключицы. Экспериментатор иглу шприца с опухолевой взвесью вводил в подключичную вену и натягивал поршень шприца на себя. После того, как в шприце появлялась кровь - всё его содержимое вводили в вену, задерживаясь в ней на несколько секунд. Затем извлекали иглу, место введения плотно прижимали ватным тампоном, смоченным в 70 % спирте с небольшим добавлением йода, на 1 минуту, чтобы исключить вытекание вводимой взвеси. Контролем служили животные с перевивкой саркомы М1 в той же дозе и объёме, что и в основной группе, но без воспроизведения модели хронической боли.

Морфологические методы исследования

Для контроля морфологического строения опухоли и ее метастазов, выделенные после декапитации животных ткани, фиксировали в 10% забуференном формалине. После парафиновой проводки блоки резали на микротоме толщиной 2-4 мкм, окрашивали гематоксилин-эозином и исследовали в проходящем свете при увеличении 100, 400 и 1000 (масляная иммерсия).

Статистические методы исследования

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи параметрического критерия Стьюдента на персональном компьютере посредством программы STATISTICA 10.0 и непараметрического критерия

Вилкоксона-Манна-Уитни. Все полученные результаты были проверены на соответствие закону о нормальном распределении. Часть показателей соответствовало закону, часть – не соответствовала. Для тех показателей, которые соответствовали нормальному распределению, мы использовали параметрическую статистику, для тех показателей, распределение которых не соответствовало нормальному распределению, мы использовали непараметрическую статистику. Статистически значимыми считали различия между двумя выборками при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выбранный нами методологический подход – воспроизведение злокачественного процесса на фоне ХНБ показал, что двусторонняя перевязка седалищных нервов, предвещающая перевивку: внутривенную саркомы М-1 у крыс и подкожную меланому В16/Ф10 у мышей, способствовала, в первом случае, образованию метастазов в лёгких у самцов крыс, во втором – стимуляции злокачественного процесса, сокращению латентного периода появления первичной опухоли, раннему метастазированию и уменьшению продолжительности жизни у мышей с меланомой обоего пола.

Для изучения влияния ХНБ на канцерогенез в качестве объекта исследования была выбрана модель роста меланомы В16/Ф10 у самцов и самок мышей.

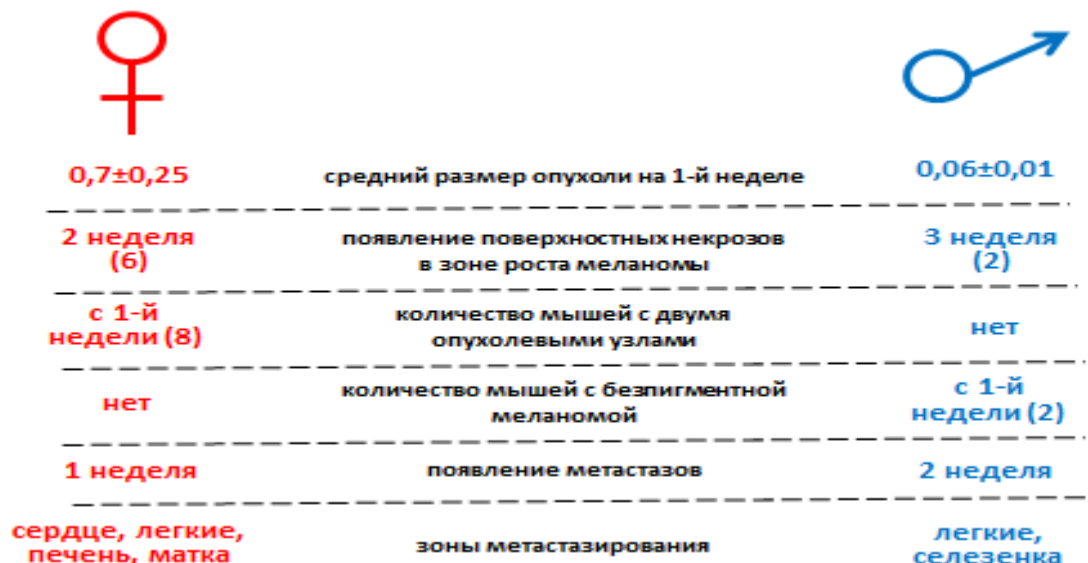


Рисунок 2 - Половые отличия меланомы, растущей на фоне хронической нейрогенной боли

Установлено, что влияние ХНБ на развитие меланомы у мышей имело как общие независимые от пола признаки, о которых упоминалось выше, так и половые особенности (рисунок 2).

Так как мишенью для развития меланомы является кожа – самый сложный и наиболее объемный орган, играющий в жизнедеятельности организма важнейшую роль, особый интерес представляло изучение некоторых метаболических процессов в ней при ХНБ. В коже мышей линии C57BL/6 обоего пола показано нарушение под влиянием нейрогенной хронической боли, вызванной двусторонней перевязкой седалищных нервов, работы ряда систем.

- системы ростовых факторов - ХНБ провоцировала рост VEGF-A и VEGF-C (активацию гемангио- и лимфангиогенеза) и изменение экспрессии других факторов: увеличение уровня инсулиноподобных (IGFs) и эпидермального (EGF) факторов роста и уменьшение содержания фактора роста фибробластов 21 (рисунок 3). Половые различия заключались в том, что в коже самок VEGF-A и VEGF-C имели сильную положительную корреляционную связь с IGF-1, IGF-2 и EGF; в коже самцов сильная корреляционная связь была с IGF-1.

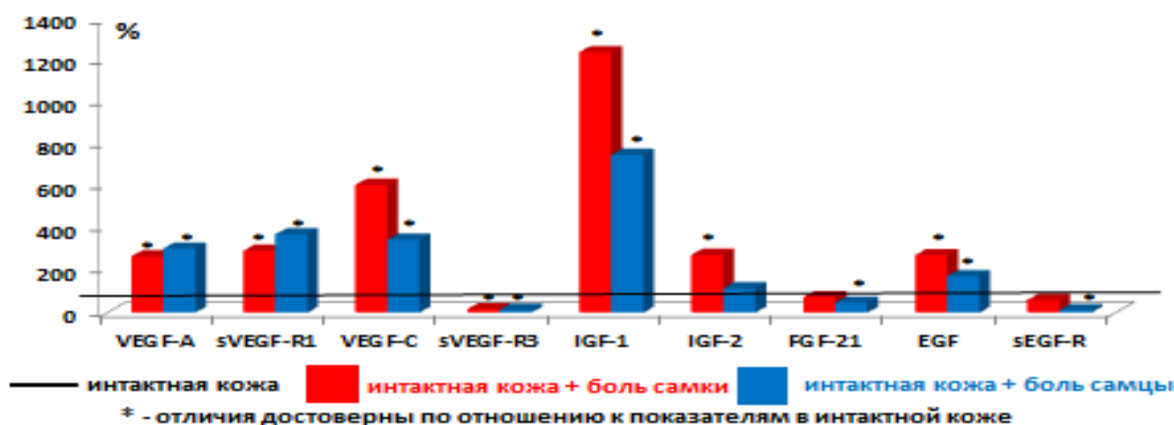


Рисунок 3 – Показатели системы ростовых факторов и их рецепторов в коже интактных мышей без и на фоне хронической боли

- фибринолитической и калликреин-кининовой систем – под влиянием ХНБ в коже регистрировалось у **самок**: уменьшение содержания и активности

урокиназного активатора плазминогена (uPA), активности тканевого активатора плазминогена (tPA-акт) и активности ингибитора активаторов плазминогена (PAI-1) на фоне роста их антигенных форм (tPA-АГ и PAI-1-АГ); увеличение уровня рецептора урокиназы (uPA-R) и плазмина (РАР); у **самцов**: снижение уровня обеих форм uPA, tPA-акт, содержания ПГ и uPA-R; концентрации PAI-1-АГ с ростом его активности (PAI-1-акт) и содержания РАР (рисунок 4).

- При ХНБ у **самок** в коже: увеличивались уровни прекалликреина (ПК) и KLK-14; уменьшалось содержание кининогена и KLK-1; у **самцов** в коже: снижался уровень кининогена, увеличивались количество прекалликреина и KLK-1, концентрация KLK-14 в коже самцов не изменялась. Следует заметить, что при сходном снижении уровня кининогена и увеличении ПК у самок и самцов, образование калликреинов в коже происходило по-разному (рисунок 4).

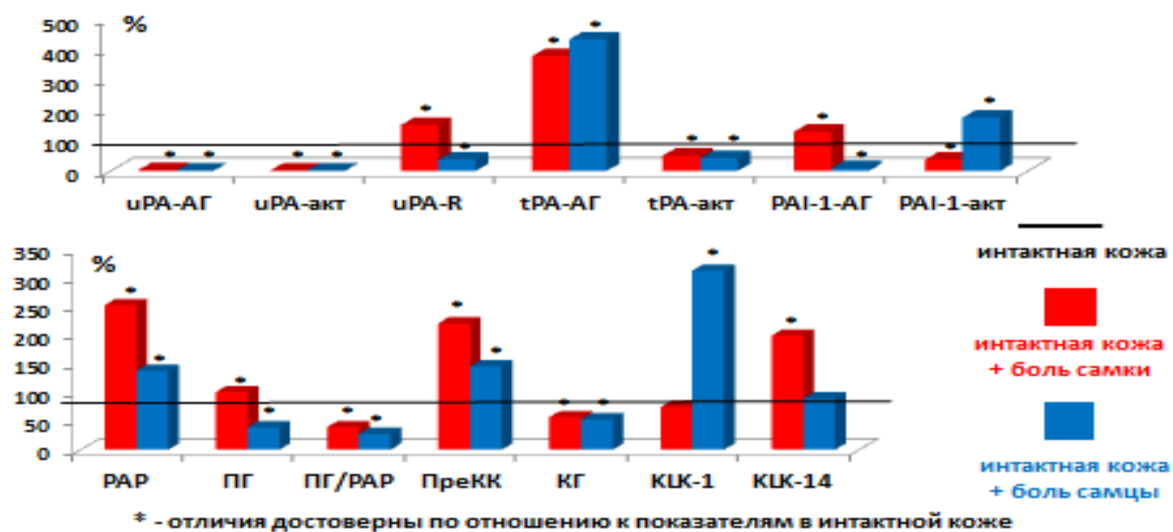


Рисунок 4 – Показатели фибринолитической и калликреин-кининовой систем в коже интактных мышей без и на фоне хронической боли

- уровня биогенных аминов - ХНБ вызывала в коже у **самок**: увеличение концентраций норадреналина и дофамина на фоне уменьшения уровней гистамина и серотонина, количество адреналина и 5ОИУК не изменялось; коэффициенты дофамин/норадреналин (ДА/НА) и серотонин/5ОИУК (5НТ/5ОИУК) были снижены, а норадреналин/адреналин (НА/А) и

адреналин/серотонин (А/5НТ) – повышены; у **самцов**: увеличение содержания гистамина, адреналина, норадреналина, дофамина и редукцию серотонина на фоне нормального уровня 5ОИУК; коэффициенты ДА/НА и 5НТ/5ОИУК были снижены, А/5НТ – повышен, а НА/А не изменялся (рисунок 5).

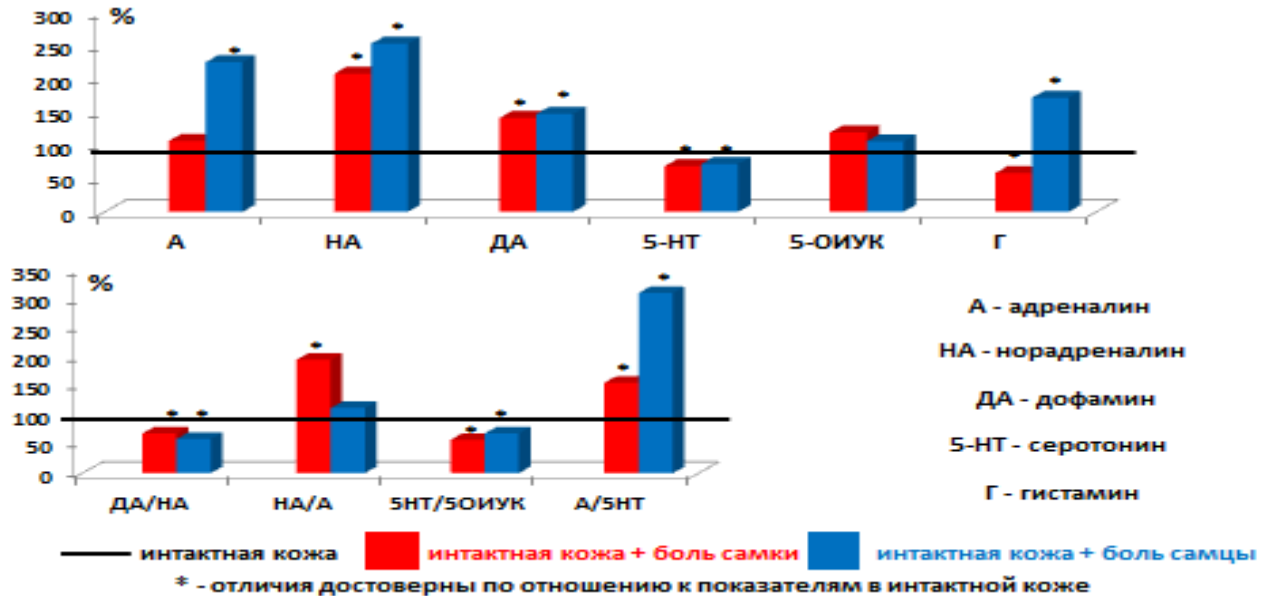


Рисунок 5 – Показатели уровней биогенных аминов в коже интактных мышей без и на фоне хронической боли

- гормонов – общими независящими от пола особенностями влияния ХНБ на динамику гормонов в коже являлись: увеличение концентрации эстрадиола и прогестерона и снижение содержания всех форм тестостерона. Половые особенности у **самок**: рост концентрации эстрона и редукция пролактина; у **самцов**: уменьшение содержания эстрона и увеличение уровня пролактина (рисунок 6).



Рисунок 6 – Показатели уровней половых гормонов в коже интактных мышей без и на фоне хронической боли

- активности системы оксида азота - у всех животных, вне зависимости от пола под влиянием ХНБ регистрировался количественный рост ферментов NOS-3 и NOS-2, у самцов – более выраженный. Половыми особенностями у **самок** являлись: увеличение нитротирозина и уменьшение эндогенного ингибитора NO-синтазы асимметричного диметиларгинина (АДМА), субстрата ферментов – аргинина на фоне интактной концентрации продукта реакции цитруллина, а также общего нитрита; у **самцов**: увеличение концентрации АДМА и уменьшение содержания общего нитрита на фоне интактных концентраций цитруллина и нитротирозина (рисунок 7).

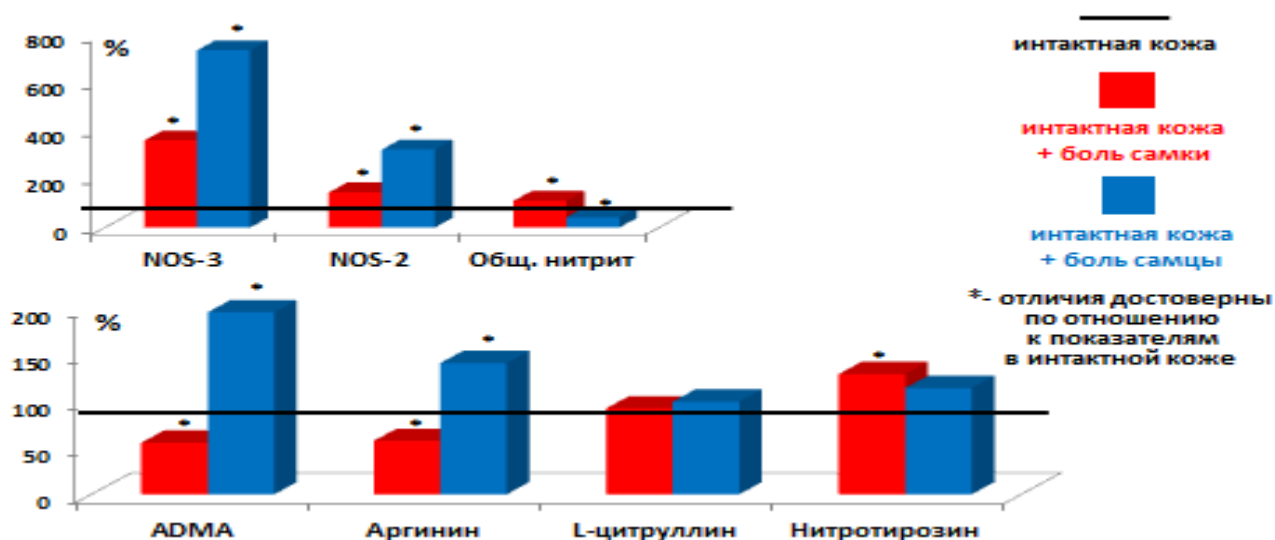


Рисунок 7 – Показатели активности системы оксида азота в коже интактных мышей без и на фоне хронической боли

При этом обнаружено влияние хронической нейрогенной боли на регуляторные системы организма экспериментальных животных: нарушение медиаторных систем мозга, имеющие определенные половые различия, и функционирования щитовидной железы (рисунок 8).

Наиболее значимыми половыми отличиями нейромедиаторных систем в мозге были следующие: снижение у самок гистамина, норадреналина, серотонина и увеличение 5-ОИУК при неизменном содержании этих показателей у самцов; а также увеличение коэффициента НА/А у самцов при отсутствии его изменения у самок.

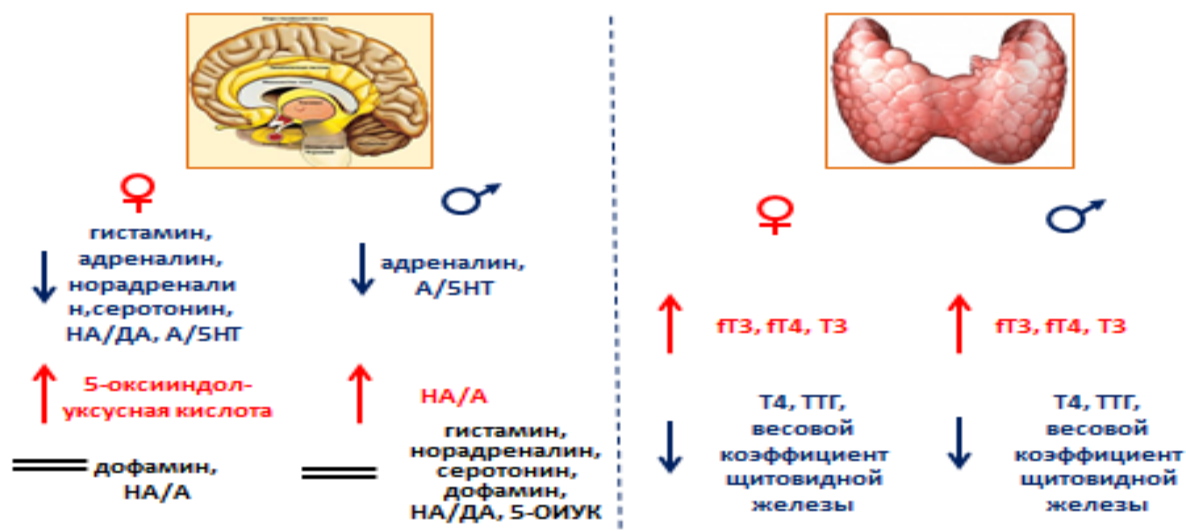


Рисунок 8 – Влияние хронической нейрогенной боли на регуляторные системы организма экспериментальных животных

Таким образом, очевидно, что ХНБ вызвала нарушения, способные повлиять на дальнейшее течение возникшего злокачественного процесса, не только в коже, но и в регуляторных системах организма.

Через 15 дней после двустороннего лигирования седалищных нервов животным подкожно вводили взвесь опухолевых клеток мышины меланомы B16/F10.

Меланома, автономно продуцирующая факторы роста для своего роста и развития, помещённая в благоприятную для себя среду с уже накопленными ростовыми факторами, становится более агрессивной и развивается более стремительно. Практически сразу после перевивки канцерогенез сопровождается усилением выработки факторов роста и рецепторов уже в ткани опухоли, ее перифокальной зоне и коже, не затронутой злокачественным процессом, что свидетельствует об активном участии не только самой опухоли в развитии процесса неоангио- и неолимфангиогенеза. обращает внимание нарушение многофакторной ступенчатой активации неоангиогенеза не только в ткани меланомы в процессе её роста, но и в регионе ее окружающем, что свидетельствует о системном характере злокачественного процесса. Найдено изменение корреляционных связей факторов ангиогенеза с изученными факторами роста под действием ХНБ (рисунок 9).

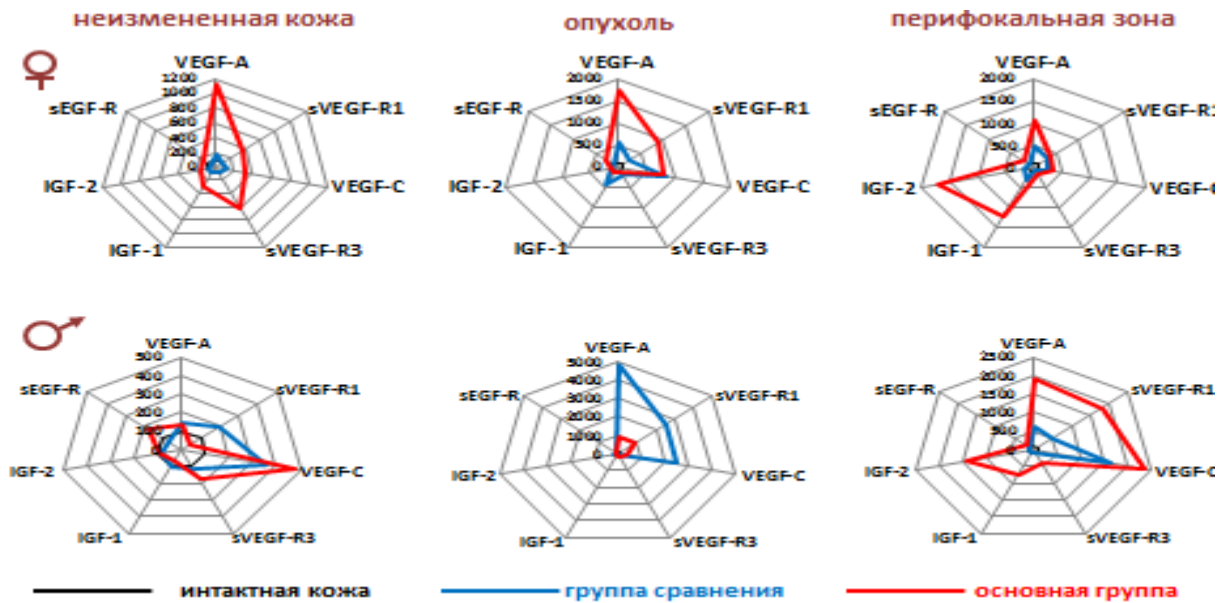


Рисунок 9 – Показатели системы ростовых факторов и их рецепторов у мышей с меланомой B_{16}/F_{10} и меланомой, сочетанной с хронической болью (%)

Перевивка меланомы вызывала такие изменения метаболизма, которые, видимо, затрагивали и все протеолитические каскады. Их определенное динамическое равновесие после нарушений, вызванных ХНБ, усугублялось онкогенной ситуацией. В проведенном эксперименте было установлено повышенное содержание uPAR в коже самок с ХНБ, которое сохранялось в 1 неделю после перевивки меланомы, постепенно снижаясь до нормы к концу 3 недели развития опухоли. В коже самцов, наоборот, количество uPAR снижалось более чем вдвое на фоне ХНБ и оставалось таким в течение всего наблюдения (рисунок 10).

Созревшая меланома и у самок, и у самцов с 1 недели начинала выделять KLK-1 в окружающую ткань, что подтверждается наличием его высоких концентраций не только в опухоли, но и в перифокальной зоне, однако у самцов этот процесс был активнее и продолжительнее. В перифокальной зоне меланомы у всех мышей с ХНБ уровни KLK-1 и KLK-14 были повышены на 1-2 порядка, что указывает на их опухолевое происхождение и «уклонение» в близлежащую ткань, но, предполагаем, что это «уклонение» у самок шло быстрее или, что более вероятно, у самцов была интенсивнее их выработка опухолью (рисунок 10).

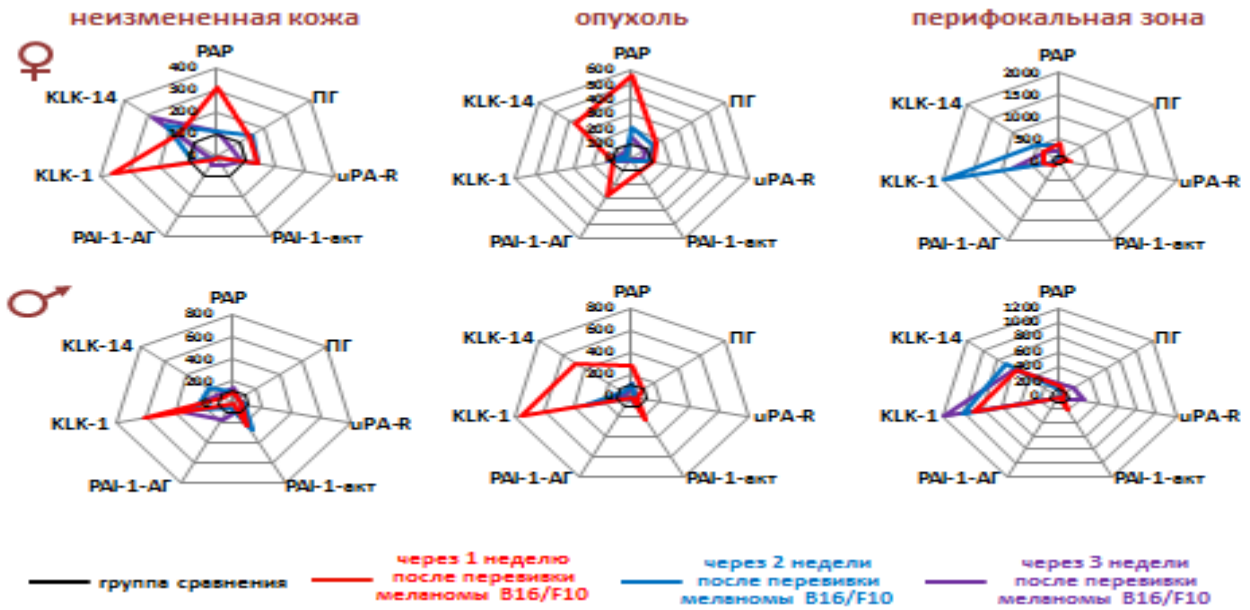


Рисунок 10 – Показатели фибринолитической и калликреин-кининовой систем у мышей с меланомой B₁₆/F₁₀ и меланомой, сочетанной с хронической болью (%)

Функционирование NO-системы также претерпевало значительные изменения. У самцов мышей с меланомой, растущей на фоне ХНБ, в непораженной коже в течение 3 недель мы наблюдали значительно более высокий уровень обоих ферментов NOS по сравнению с уровнем при росте меланомы после стандартной перевивки, а у самок – снижение концентрации NO-синтаз к 3 неделе роста опухоли (рисунок 11).

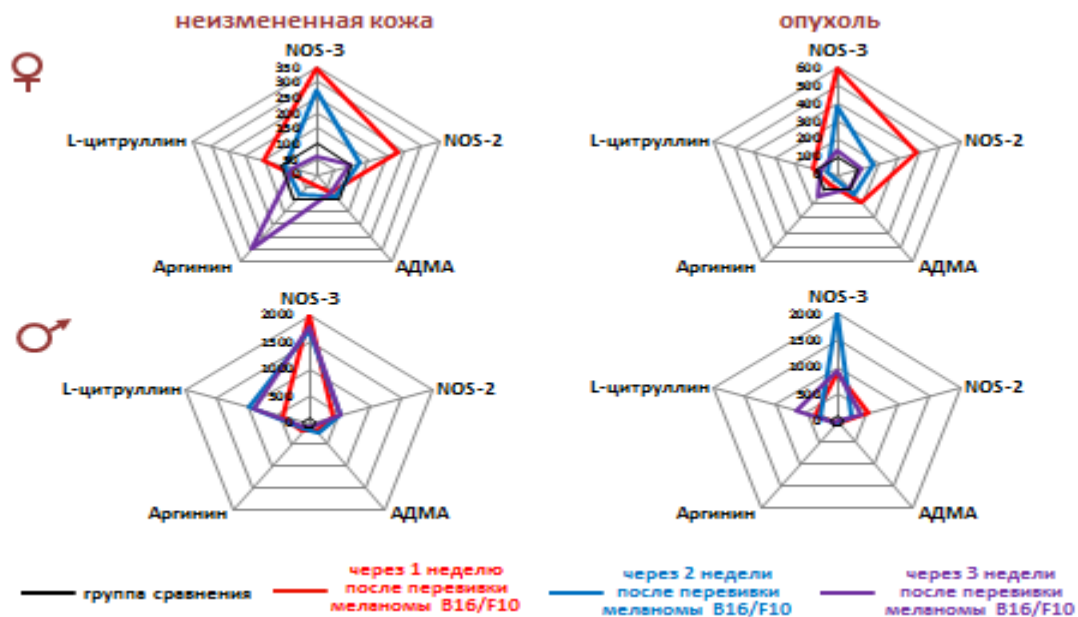


Рисунок 11 – Показатели активности системы оксида азота у мышей с меланомой B₁₆/F₁₀ и меланомой, сочетанной с хронической болью (%)

В ткани опухоли, выросшей на фоне ХНБ, у всех мышей регистрировалась противоположная картина: концентрация ферментов была значительно более высокой, чем у животных с обычным ростом меланомы. Причём, у животных на фоне ХНБ активация NO-системы в виде повышенной концентрации NO-синтаз как в коже, так и в ткани опухоли наблюдалась уже с 1 недели роста опухоли. Эти результаты свидетельствуют о том, что на фоне ХНБ как в коже, так и в растущей опухоли уже с 1 недели после перевивки создаются условия NO-зависимой стимуляции пролиферации опухолевых клеток и активации ангиогенеза.

По ряду параметров эндокринный фон кожи у мышей с ХНБ оказался схожим с фоном кожи у мышей с растущей меланомой без боли: высокой насыщенностью эстрогенов в коже, опухоли и перифокальной зоне, а также низким уровнем всех форм тестостерона (рисунок 12).

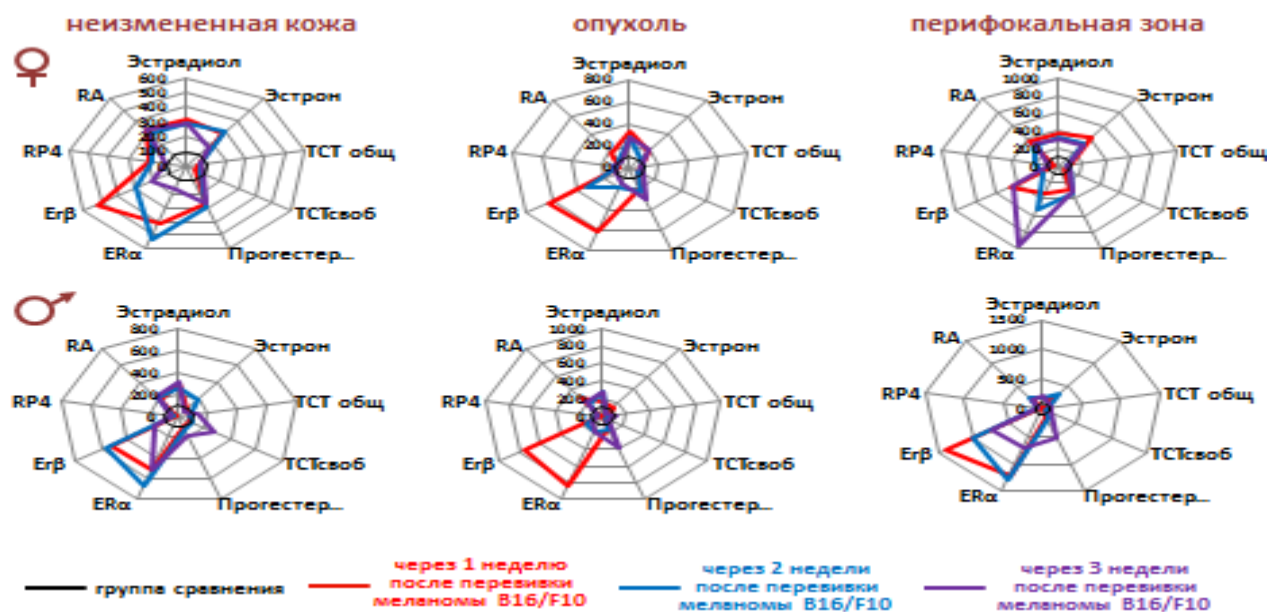


Рисунок 12 – Показатели уровней половых гормонов у мышей с меланомой B₁₆/F₁₀ и меланомой, сочетанной с хронической болью (%)

Локальное увеличение концентрации эстрогенов и их рецепторов в коже у животных с ХНБ, очевидно, способствовало увеличению пролиферативной активности злокачественных клеток и приводило к более раннему выходу опухоли. У животных с моделью ХНБ меланома перевивалась организму с гормонально-рецепторным балансом, измененным таким образом, что

облегчало и ускоряло процесс выхода опухоли, а также изменяло ее биологическую агрессивность. В результате и у самок, и у самцов под влиянием ХНБ меланома приобретала большее количество рецепторов эстрогенов и андрогенов, но меньше рецепторов прогестерона, по сравнению с показателями у животных без боли. Повышение уровня эстрогеновых рецепторов (ER) β в опухоли животных с болью коррелировало с ростом уровня эстрадиола, тогда как концентрация рецепторов прогестерона имела отрицательную зависимость от уровня самого гормона в образцах меланомы.

У всех мышей под влиянием ХНБ в коже формировалось доминирование А-ергической системы над 5НТ-ергической, а также активация НА-ергической системы. Можно провести некоторую параллель в реакции биогенного баланса кожи на ХНБ и развитие меланомы. Это касается повышения норадреналина, дофамина и снижения серотонина (рисунок 13).

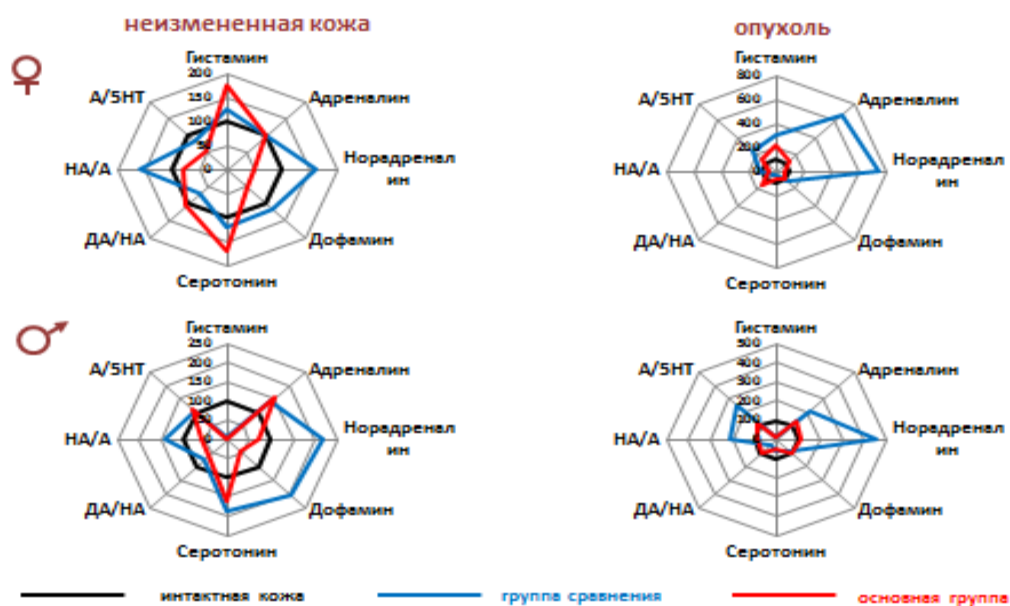


Рисунок 13 – Показатели уровней биогенных аминов у мышей с меланомой B₁₆/F₁₀ и меланомой, сочетанной с хронической болью (%)

Очевидно, что изменения нейроэндокринного фона кожи являлись неспецифической реакцией организма, как на болевые воздействия, так и на введение злокачественных клеток, однако в первом случае, длительность воздействия привела к истощению защитных возможностей органа. Такое нарушение баланса между стрессреализующими и стресслимитирующими

системами могло сказаться на локальной противоопухолевой защите и способствовать быстрому росту меланомы. Изменение нейроэндокринного фона под влиянием ХНБ, очевидно, оказало влияние на защитную функцию кожи, снизив её барьерную функцию. Кроме реакции кожи на ХНБ в виде локального разнонаправленного, в зависимости от пола, изменения уровня гистамина следует отметить повышение содержания норадреналина, дофамина и адреналина – только у самцов, а также снижение серотонина.

Однако серьезные изменения метаболизма затрагивали не только кожу и развивающуюся в ней на фоне ХНБ опухоль, но и регуляторные системы организма, в частности, органы центральной и периферической регуляции обмена веществ – кору головного мозга (биогенные амины) и щитовидную железу соответственно. У самок-мышей с развитием меланомы на фоне ХНБ, меньшее увеличение концентрации серотонина в коре головного мозга, вследствие изначально низкого его уровня, сочетается с более агрессивным течением меланомы. У самцов без боли подобные процессы противоопухолевой защиты не выявляются в динамике роста перевивной меланомы, а ХНБ практически не оказывает влияния на содержание нейромедиаторов мозга, в результате чего средняя продолжительность их жизни оказалась ниже, чем у самок (рисунок 14).

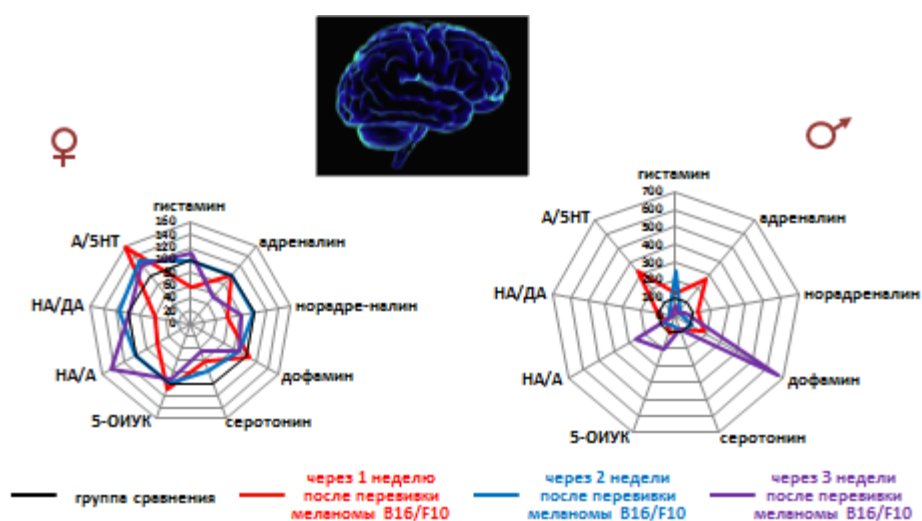


Рисунок 14 – Состояние нейротрансмиттеров в мозге экспериментальных животных

Хронический болевой синдром оказал существенное, но не однозначное влияние на функциональную активность щитовидной железы. С одной стороны у животных обоего пола установлен высокий уровень свободных форм тиреоидных гормонов и общей формы Т3 в щитовидной железе, на фоне низкого содержания ТТГ. С другой стороны, обнаружено существенное снижение содержания основного продукта щитовидной железы – Т4, на фоне уменьшения весового коэффициента органа, при отсутствии изменения синтетической активности ткани, что может указывать на истощение и/или угнетение тиреоидной функции. Следует отметить, что очевидно высокий уровень свободных форм Т4 и Т3 в фолликулярной ткани щитовидной железы по принципу обратной связи регулировал содержание ТТГ, снижая его концентрацию. В результате этого синтез Т4 железой блокировался. Кроме того, возможно, высокие концентрации свободных форм Т4 и Т3 непосредственно в щитовидной железе, а не в органах мишенях, способны стимулировать аутоиммунные процессы аналогичные тиреоидиту Хашимото (рисунок 15).

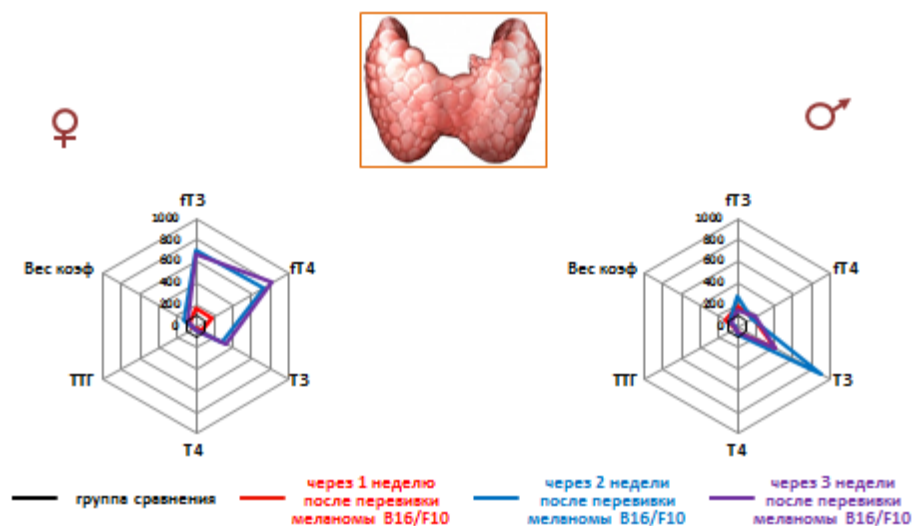


Рисунок 15 – Состояние тиреоидной функции щитовидной железы экспериментальных животных

Таким образом, изменение баланса половых гормонов, биогенных аминов, компонентов тканевой калликреин-кининовой и фибринолитических систем, системы активации плазминогена, свободно-радикальных процессов, а

также системы ростовых факторов под действием ХНБ в коже мышей, обусловленное «включением» защитных механизмов, направленных на ограничение боли и активизацию репаративных процессов, при длительной персистенции способствовало формированию своеобразного метаболического «поля», попав в которое злокачественные клетки меланомы модифицировались, что изменило биологию опухоли, способствовало развитию более агрессивного канцерогенеза с ранним метастазированием неоплазмы, в том числе, на нетипичные сайты и уменьшению продолжительности жизни животных, максимально – у самок (рисунок 16).

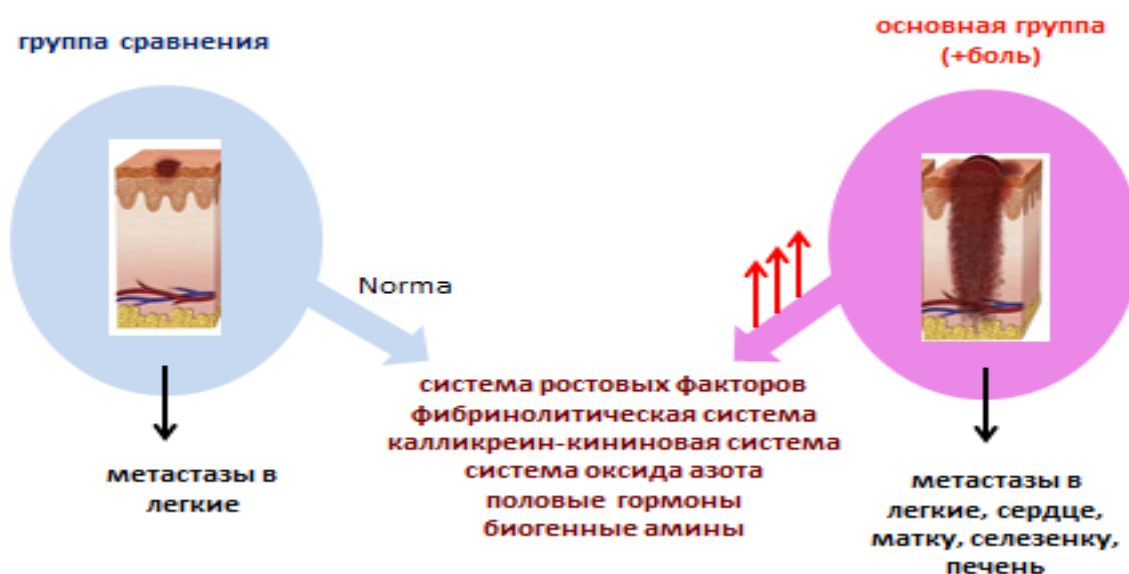


Рисунок 16 – Состояние метаболического поля при росте меланомы в основной группе и группе сравнения

ВЫВОДЫ

1. Разработаны экспериментальные модели, позволяющие изучить влияние хронической нейрогенной боли, вызванной двусторонней перевязкой седалищных нервов, на развития меланомы B16/F10 у мышей линии C57BL/6 и развитие саркомы M1 в легких белых беспородных крыс.

2. Выявлены половые различия развития меланомы B16/F10 у мышей линии C57BL/6 на фоне хронической нейрогенной боли, заключающиеся в ряде особенностей: однофокусный рост первичных опухолевых узлов у самцов и двухфокусный рост - у самок; беспигментный вариант меланомы у самцов и

насыщенно тёмная окраска опухолей у самок; более позднее, чем у самок появление метастатических отсеков у самцов; метастазирование преимущественно в лёгкие и в селезёнку у самцов, у самок - ещё в печень, а также в атипичные места – сердце, матку.

3. Хроническая нейрогенная боль вызывает в организме животных стойкие нарушения метаболизма: в коже мышей линии C57BL/6 обоего пола – изменения системы ростовых факторов, фибринолитической и калликреин-кининовой систем, уровня биогенных аминов, гормонов и активности системы оксида азота; в мозге - нарушение медиаторных систем; в щитовидной железе – нарушение тиреоидного обмена.

4. Развитие меланомы на фоне хронической нейрогенной боли приводит к изменению функционирования системы ростовых факторов: в коже и перифокальной зоне опухоли между факторами ангиогенеза семейства VEGF и системой EGF-EGFR устанавливаются сильные положительные корреляционные связи, против корреляционной связи VEGF – IGF при обычном росте меланомы.

5. Под влиянием нейрогенной хронической боли изменился рецепторный статус экспериментальной меланомы и ее перифокальной зоны у животных обоего пола: увеличилось количество рецепторов эстрогенов - $Er\alpha$, $Er\beta$ и андрогенов и снизилось количество рецепторов прогестерона RP4. Повышение уровня $Er\beta$ в опухоли коррелировало с высоким уровнем эстрадиола, а содержание рецепторов прогестерона находилось в реципрокных отношениях с уровнем соответствующего гормона.

6. В крови мышей обоего пола под влиянием хронической нейрогенной боли абсолютные показатели эстрадиола возрастали в динамике роста экспериментальной меланомы B16/F10, однако баланс стероидных гормонов нарушался специфическим образом: у самок в крови выявлялся недостаток эстрогенов за счет роста тестостерона и прогестерона, а у самцов - избыток эстрогенов за счет снижения тестостерона и прогестерона.

7. Сочетанный с хронической нейрогенной болью рост меланомы B16/F10 увеличивает в коже у животных обоего пола содержание гистамина, но снижает активность дофаминергической и норадренергической систем. Серотонинергическая система в коже находится в зависимости от пола животных: у самцов уровень серотонина падает как в коже, так и в опухоли, тогда как у самок растет.

8. В коже самок и самцов здоровых мышей линии C57BL/6 нейрогенная хроническая боль подавляет образование uPA-акт, uPA-АГ и PAI-1 у всех животных, uPAR – у самцов; выработка tPA-АГ стимулируется болью в коже всех животных. После перевивки меланомы на фоне боли в коже, опухоли и перифокальной зоне uPAR подавлен только у самцов, у самок – повышен; PAI-1 увеличен у всех мышей с наибольшей активацией у самцов.

9. В коже самок и самцов здоровых мышей линии C57BL/6 хроническая нейрогенная боль вызывает снижение в коже уровня кининогена, но повышение прекалликреина; у самцов – повышение уровня KLK-1 и прекалликреина. При росте меланомы на болевом фоне увеличивается количество опухоль-ассоциированных кининогена, KLK-14 у мышей-самок. Наибольшая активность ККС концентрировалась в перифокальной зоне опухоли у всех мышей с нарастанием во все сроки ее роста, т.к. был увеличен уровень всех компонентов с максимумом через 3 недели KLK-1 и KLK-14 у самцов.

10. У животных при росте меланомы B16/F10 на фоне хронической нейрогенной боли по сравнению с ростом меланомы после стандартной перевивки в целом наблюдалась активация NO-системы как в коже, так и в ткани опухоли уже с 1 недели роста опухоли. Это проявлялось в значительно более высокой концентрации изоформ NO-синтаз, более низком уровне асимметричного аргинина (АДМА) и L-аргинина, более высоком уровне цитруллина. При этом с 1 недели в ткани опухоли самок и на 1 и 2 неделях в непораженной опухолью коже самцов наблюдались признаки активации NOS-независимого метаболизма аргинина.

11. Хроническая нейрогенная боль у самок вызвала угнетение практически всех изученных нейромедиаторных систем, тогда как у самцов затронула только адренергическую. В результате перевивки меланомы B16/F10 животным основной группы реакция нейромедиаторных систем мозга имела сходство направленности изменений с группой сравнения, однако у самок изначальное угнетение основных стресслимитирующих систем снизило эффективность противоопухолевой защиты, что и привело к увеличению агрессивности злокачественного процесса.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Экспериментальные модели воспроизведения меланомы у мышей и саркомы у крыс на фоне хронической нейрогенной боли, представленные в работе, могут быть теоретическим базисом для последующего изучения механизмов развития неопластического процесса, выявления этиологических факторов дальнейшего распространения и стремительных осложнений с ранним метастазированием.
2. Модифицированная модель воспроизведения хронической нейрогенной боли в эксперименте, использованная и предложенная в работе, рекомендуется для изучения новых патогенетических механизмов развития хронического болевого синдрома нейропатического генеза.
3. Изучение взаимного влияния исследуемых в работе сопутствующих патологических состояний и потенцирования неопластического процесса хронической нейрогенной болью целесообразно использовать для последующей профилактики и назначения этиотропной и патогенетической терапии.
4. Выявленные в процессе исследования половые различия у животных в течение неопластического процесса на фоне хронической нейрогенной боли необходимо учитывать при дальнейшем прогнозировании злокачественного процесса, сочетанного с болью, а также разработке новых принципов обезболивающей терапии и противодействия патогенетическим механизмам,

усугубляющим одно патологическое состояние другим с развитием порочного круга.

5. В целях прогнозирования развития неопластического процесса на фоне хронической нейрогенной боли и назначения коррегирующей терапии необходимо учитывать половые особенности нарушения системного и локального гормоногенеза с изменением баланса стероидных гормонов, проявляющиеся недостатком эстрогенов, ростом тестостерона и прогестерона у самок, и избытком эстрогенов со снижением тестостерона и прогестерона у самцов, увеличением количества рецепторов эстрогенов и андрогенов в меланоме и в паратуморальной зоне.

6. Для последующей профилактики и лечения неопластического процесса при хронической нейрогенной боли необходимо принимать во внимание половые особенности изменения при меланоме на фоне боли в системе ростовых факторов, нарушения в фибринолитической и калликреин-кининовой системах, в системе оксида азота, моноаминов, изменения уровня гормонов щитовидной железы.

7. Полученные результаты могут быть внедрены в обучающие курсы студентов лечебно-профилактического, педиатрического, медико-профилактического, стоматологического, фармацевтического и военного факультетов в медицинских университетах на кафедрах патологической физиологии, онкологии, неврологии и анестезиологии и реаниматологии, а также при обучении в клинической ординатуре и на курсах повышения квалификации врачей онкологов, невропатологов и анестезиологов-реаниматологов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Некоторые механизмы повышения злокачественности меланомы на фоне хронической боли у самок мышей/ О.И. Кит, Е.М. Франциянц, И.М. Котиева, И.В. Каплиева, Л.К. Трепитаки, В.А. Бандовкина, Л.Я. Розенко, Н.Д. Черярина, Ю.А. Погорелова // Российский журнал боли. – 2017. – Т.53, №2. – С. 14-20.**

2. **Нейромедиаторные системы головного мозга самок мышей в динамике роста злокачественной меланомы, воспроизведенной на фоне хронической боли/ О.И. Кит, И.М. Котиева, Е.М. Франциянц, И.В. Каплиева, Л.К. Трепитаки, В.А. Бандовкина, Н.Д. Черярина, Ю.А. Погорелова, М.В. Бликян // Патогенез. - 2017. – Т.15, №4. – С. 49-55.**

3. **Регуляция ангиогенеза факторами роста в интактной и патологически измененной коже самок мышей при злокачественной меланоме, развивающейся на фоне хронической боли/ О.И. Кит, И.М. Котиева, Е.М. Франциянц, И.В. Каплиева, Л.К. Трепитаки, В.А. Бандовкина, Л.Я. Розенко, Н.Д. Черярина, Ю.А. Погорелова // Российский журнал боли. - 2017. - № 3-4. – С. 17-24.**

4. **Влияние хронической боли на динамику некоторых ростовых факторов в интактной и патологически измененной коже самок мышей с меланомой B₁₆/F₁₀/ О.И. Кит, Е.М. Франциянц, И.М. Котиева, И.В. Каплиева, Л.К. Трепитаки, В.А. Бандовкина, Л.Я. Розенко, Н.Д. Черярина, Ю.А. Погорелова // Российский журнал боли. - 2017. - № 3-4. – С. 37-44.**

5. **Влияние экспериментальной хронической боли на уровень биогенных аминов в коже у мышей в динамике роста меланомы B₁₆/F₁₀/ И.М. Котиева, О.И. Кит, Е.М. Франциянц, В.А. Бандовкина, И.В. Каплиева, Л.К. Трепитаки, Н.Д. Черярина, Ю.А. Погорелова // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. – 2018. – Т.198, №1. – С. 130-139.**

6. **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/ И.М. Котиева, О.И. Кит, Е.М. Франциянц, В.А. Бандовкина, И.В. Каплиева, Л.К. Трепитаки, Н.Д. Черярина, Ю.А. Погорелова, М.В. Бликян // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. – 2018. – Т.198, №2. – С. 121-132.**

7. Влияние нейрогенной хронической боли на показатели калликреин-кининовой системы в коже самок мышей в динамике развития меланомы B16/F10/ О.И. Кит, И.М. Котиева, Е.М. Франциянц, И.В. Каплиева, Л.С. Козлова, В.А. Бандовкина, Ю.А. Погорелова, Н.Д. Черярина, М.В. Ближян // Медицинский вестник Юга России. – 2018. – Т. 9, №2. – С. 51-60.

8. Динамика тканевой системы регуляторов плазминогена при меланоме кожи на фоне хронической боли у самок мышей/ О.И. Кит, Е.М. Франциянц, И.М. Котиева, И.В. Каплиева, Л.К. Трепитаки, В.А. Бандовкина, Л.С. Козлова, Ю.А. Погорелова, Л.Я. Розенко, Н.Д. Черярина // Трансляционная медицина. – 2018. – Т.5, №2. – С. 38-46.

9. Влияние хронической боли на некоторые метаболические процессы в коже самок мышей/ О. И. Кит, И. М. Котиева, Е. М. Франциянц, И. В. Каплиева, В. А. Бандовкина, Л.С. Козлова, Л.К. Трепитаки, Ю.А.Погорелова, Н.Д. Черярина // Российский журнал боли. - 2018. - №4. – С. 46-54.

10. Содержание гормонов в ткани щитовидной железы в динамике роста перевивной меланомы B16/F10, воспроизведенной на фоне хронической нейрогенной боли у самок мышей/ И. М. Котиева, О. И. Кит, Е. М. Франциянц, В. А. Бандовкина, И. В. Каплиева, Ю.А.Погорелова, Н.Д. Черярина, Л.К. Трепитаки, М.В. Ближян // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. -2018. – Т.198, №4-2. – С. 76-83.

11. Влияние хронической нейропатической боли на течение злокачественного процесса меланомы B16/F10 у самцов мышей/ О.И. Кит, И.М. Котиева, Е.М. Франциянц, И.В. Каплиева, Л.К. Трепитаки, В.А. Бандовкина, И.В. Нескубина, Е.И. Сурикова, Н.Д. Черярина, Ю.А. Погорелова, Л.А. Немашкалова // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. – 2019. – Т.199, №1. – С. 106-111.

12. Тканевая система регуляции плазминогена в динамике меланомы кожи у мышей-самцов, воспроизведенной на фоне хронической боли/ Е.М. Франциянц, О.И. Кит, И.М. Котиева, И.В. Каплиева, Л.С. Козлова, В.А. Бандовкина, Л.К. Трепитаки, Ю.А. Погорелова, Л.Я. Розенко // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. - 2019. – Т.199, №1. – С. 112-121.

13. Влияние хронической нейрогенной боли на рецепторный статус кожи и растущей в ней опухоли у самок мышей с перевивной меланомой B16/F10/ Е.М. Франциянц, В.А. Бандовкина, И.В. Каплиева, Ю.А. Погорелова, Л.К. Трепитаки, И.М. Котиева // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019. – Т.14, №1-2. – С. 250-255.

14. Пат. № 2650587 Российская Федерация. Способ модификации хронической болью злокачественного роста меланомы B16 у мышей [текст] / Кит О.И., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Котиева И.М.; заявитель и патентообладатель Ростовский научно-исследовательский онкологический институт (RU). Заявл. 26.04.2017; опубл. 16.04.2018, Бюл. №11.

15. Пат. № 2676641 Российская Федерация. Способ стимуляции хронической болью злокачественного роста в легких крыс [текст] / Кит О.И., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Котиева И.М., Шалашная Е.В., Ишонина О.Г.; заявитель и патентообладатель Ростовский научно-исследовательский онкологический институт (RU). Заявл. 05.04.2018 г.; опубл. 9.01.2019, бюлл. №1.

16. Some mechanisms of increasing malignancy of B16/F10 melanoma in female mice with chronic pain/ I.M. Kotieva, O.I. Kit, E.M. Frantsiyants, I.V. Kaplieva, L.K. Trepitaki, V.A. Bandovkina, N.D. Cheryarina, Y.A. Pogorelova, L.Y. Vladimirova // Annals of Oncology. – 2017. – V.28, № 5. - P. 602.

17. Уровень ростовых факторов семейства VEGF в интактной и патологически измененной коже самок мышей при злокачественной меланоме, развивающейся на фоне хронической боли/ И.М. Котиева, Е.М. Франциянц,

И.В. Каплиева, Л.К. Трепитаки, В.А. Бандовкина, Н.Д. Черярина, Ю.А. Погорелова, Л.Я. Розенко, И.В. Нескубина // XXI Российский онкологический конгресс, 14-16 ноября 2017 г., Москва. Ж. Злокачественные опухоли. – 2017. – Т.7, №3 (спецвыпуск 1). – С. 122.

18. Регуляция ангиогенеза факторами роста в интактной и патологически измененной коже самок мышей при злокачественной меланоме, развивающейся на фоне хронической боли/ **И.М. Котиева**, Е.М. Франциянц, И.В. Каплиева, Л.К. Трепитаки, В.А. Бандовкина, Н.Д. Черярина, Ю.А. Погорелова, Л.Я. Розенко, И.В. Нескубина // XXI Российский онкологический конгресс, 14-16 ноября 2017 г., Москва. Ж. Злокачественные опухоли. – 2017. – Т.7, №3 (спецвыпуск 1). – С. 122.

19. Повышение степени злокачественности меланомы на фоне хронической боли у самок мышей/ **И.М. Котиева**, Е.М. Франциянц, И.В. Каплиева, Л.К. Трепитаки, В.А. Бандовкина, Н.Д. Черярина, Ю.А. Погорелова, Л.Я. Розенко, И.В. Нескубина // XXI Российский онкологический конгресс, 14-16 ноября 2017 г., Москва. Ж. Злокачественные опухоли. – 2017. – Т.7, №3 (спецвыпуск 1). – С. 123.

20. Chronic pain and accumulation of growth factors in perifocal tissues of melanoma and impact on malignancy and early metastasis/ **I. M. Kotieva**, Oleg I. Kit, Elena M. Frantsiyants, Irina V. Kaplieva, Lidia K. Trepitaki, Valeria A. Bandovkina, Ludmila Ya. Rozenko, Natalia D. Cheryarina, Yulia A. Pogorelova // 2018 ASCO Annual Meeting J. Clin. Oncol. 36, 2018 (suppl; abstr e21621).

21. EGFR to regulate angiogenesis in intact and tumor skin tissues in B16/F10 melanoma with chronic pain/ **I. M. Kotieva**, Oleg I. Kit, Elena M. Frantsiyants, Irina V. Kaplieva, Lidia K. Trepitaki, Valeria A. Bandovkina, Ludmila Ya. Rozenko, Natalia D. Cheryarina, Yulia A. Pogorelova // 2018 ASCO Annual Meeting J. Clin. Oncol. 36, 2018 (suppl; abstr e21632).

22. Состояние калликреин-кининовой системы в коже самок мышей при развитии меланомы B16/F10 на фоне хронической нейрогенной боли/ Е.М. Франциянц, **И.М. Котиева**, И.В. Каплиева, Л.С. Козлова, В.А. Бандовкина,

Л.К.Трепитаки, Ю.А. Погорелова, О.И. Кит // X съезд онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии памяти академика Н.Н. Трапезникова, 23-25 апреля, 2018, Россия, Сочи. Евразийский онкологический журнал. – 2018. – Т.6, №1. – С. 122.

23. Динамика регуляторов плазминогена в коже самок мышей при меланоме, развивающейся на фоне хронической нейрогенной боли/ В. А. Бандовкина, Е. М. Франциянц, **И. М. Котиева**, И. В. Каплиева, Л. С. Козлова, Л. К. Трепитаки, Ю. А. Погорелова, О. И. Кит. // XXII Российский онкологический конгресс, 13-15 ноября 2018 г., Москва. Ж. Злокачественные опухоли. – 2018. – Т.8, №3 (спецвыпуск 1). – С. 197-198.

24. Влияние хронической боли на уровень половых гормонов, пролактина и гонадотропных гормонов в интактной и патологически измененной коже самок мышей в динамике роста злокачественной меланомы/ И. В. Каплиева, Е. М. Франциянц, В. А. Бандовкина, **И. М. Котиева**, Л. К. Трепитаки, Ю. А. Погорелова, Н. Д. Черярина, О. И. Кит. // XXII Российский онкологический конгресс, 13-15 ноября 2018 г., Москва. Ж. Злокачественные опухоли. – 2018. – Т.8, №3 (спецвыпуск 1). – С. 123.

25. Влияние хронического болевого синдрома на уровень половых гормонов в сыворотке крови у самок мышей в динамике роста меланомы B16/F10/ И. В. Каплиева, Е. М. Франциянц, В. А. Бандовкина, **И. М. Котиева**, Л. К. Трепитаки, Ю. А. Погорелова, Н.Д. Черярина, О. И. Кит // XXII Российский онкологический конгресс, 13-15 ноября 2018 г., Москва. Ж. Злокачественные опухоли. – 2018. - Т.8, №3 (спецвыпуск 1). – С. 124-125.

26. Влияние хронической нейрогенной боли на динамику уровня эндотелина-1 и компонентов NO-системы в процессе роста меланомы B16/F10/ Л. К. Трепитаки, **И. М. Котиева**, Е. М. Франциянц, Е. И. Сурикова, И. В. Каплиева, В. А. Бандовкина, Ю. А. Погорелова, О. И. Кит // XXII Российский онкологический конгресс, 13-15 ноября 2018 г., Москва. Ж. Злокачественные опухоли. – 2018. - Т.8, №3 (спецвыпуск 1). – С. 124.

27. Влияние хронического болевого синдрома на рецепторный статус кожи у самок мышей в динамике роста меланомы B16/F10/ Л. К. Трепитаки, Е.

М. Франциянц, В. А. Бандовкина, И. В. Каплиева, **И. М. Котиева**, Ю. А. Погорелова, Н.Д. Черярина, О. И. Кит // XXII Российский онкологический конгресс, 13-15 ноября 2018 г., Москва. Ж. Злокачественные опухоли. – 2018. - Т.8, №3 (спецвыпуск 1). – С. 125.

28. Нейрогенная хроническая боль усиливает злокачественность меланомы и способствует раннему метастазированию через накопление факторов роста в перифокальной зоне опухоли/ Е. М. Франциянц, О. И. Кит, **И. М. Котиева**, Ю. А. Погорелова, И. В. Каплиева, В. А. Бандовкина, Л. С. Козлова, Л. К. Трепитаки, Л. Я. Розенко // XXII Российский онкологический конгресс, 13-15 ноября 2018 г., Москва. Ж. Злокачественные опухоли. – 2018. - Т.8, №3 (спецвыпуск 1). – С. 122-123.

29. Хроническая нейрогенная боль влияет на показатели кининовой системы в коже и опухоли самок мышей при развитии меланомы B16 / F10/ В. А. Бандовкина, О. И. Кит, Е. М. Франциянц, **И. М. Котиева**, И. В. Каплиева, Ю. А. Погорелова, Л. С. Козлова, Л. К. Трепитаки, Л. Я. Розенко, И. С. Таварян // XXII Российский онкологический конгресс, 13-15 ноября 2018 г., Москва. Ж. Злокачественные опухоли. – 2018. - Т.8, №3 (спецвыпуск 1). – С. 198-199.

30. Ангиогенез в интактной и патологически измененной коже при меланоме B16 / F10 на фоне хронической боли регулируется EGFR/ Ю. А. Погорелова, Е. М. Франциянц, **И. М. Котиева**, И. В. Каплиева, Л. К. Трепитаки, В. А. Бандовкина, Л. С. Козлова, И. С. Таварян, Л. Я. Розенко, О. И. Кит // XXII Российский онкологический конгресс, 13-15 ноября 2018 г., Москва. Ж. Злокачественные опухоли. – 2018. - Т.8, №3 (спецвыпуск 1). – С. 198.

ПЕРЕЧЕНЬ ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

5-НТ	– серотонин
А	– адреналин
АДМА	– асимметричный диметиларгинин
БА	– биогенные амины
Г	– гистамин
ДА	– дофамин

КГ	— кининоген
ККС	— калликреин-кининовая система
НА	— норадреналин
ПГ	— плазминоген
ПреКК	— прекалликреин
ТЗ	— трийодтиронин (общий)
ТЗ_{св}	— трийодтиронин (свободный)
Т4	— тироксин (общий)
Т4_{св}	— тироксин (свободный)
ТТГ	— тиреотропный гормон
ХНБ	- хроническая нейрогенная боль
5ОИУК	— 5оксииндолуксусная кислота
EGF	— эпидермальный фактор роста
ER	— эстрогеновый рецептор
FGF	— фактор роста фибробластов
IGF	— инсулиноподобный фактор
KLK	— калликреин
PAI-1	— ингибитор активаторов плазминогена 1 типа
PAP	— плазмин
RA	- рецептор андрогенов
RP4	— рецептор прогестерона
TGFβ₁	— трансформирующий фактор роста
tPA-АГ	— концентрация тканевого активатора плазминогена
tPA-акт	— активность тканевого активатора плазминогена
uPA-АГ	— концентрация активатора плазминогена урокиназного типа
uPA-акт	— активность урокиназного активатора плазминогена
VEGF	— фактор роста эндотелия сосудов