

## Состояние антиоксидантной системы в митохондриях клеток кожи при росте экспериментальной меланомы B16/F10 на фоне хронической нейрогенной боли

Франциянц Е.М., Нескубина И.В., Сурикова Е.И., Трепитаки Л.К., Немашкалова Л.А., Каплиева И.В., Лесовая Н.С.

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт  
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63/8

### РЕЗЮМЕ

**Цель** – изучить состояние антиоксидантной системы в митохондриях клеток кожи при росте меланомы B16/F10 у мышей на фоне хронической нейрогенной боли.

**Материалы и методы.** Работа выполнена на самках мышей линии C57BL/6 ( $n = 28$ ). Экспериментальные группы: интактная, контрольная – воспроизведение модели хронической нейрогенной боли, группа сравнения – стандартная подкожная перевивка меланомы B16/F10, основная группа – перевивка меланомы B16/F10 через 3 нед после создания модели хронической нейрогенной боли. Животных на 14-е сут роста меланомы B16/F10 декапитировали, иссекали кожу, выделяли митохондрии. Тест-системой для иммуноферментного анализа определяли уровень восстановленного глутатиона (GSH), окисленного глутатиона (GSSG) (Bio Source, США); глутатионпероксидазы-4 (ГПО-4) (Clod-Clon Corporation, CNDR); глутатионредуктазы (ГР) (Cusabio, CNDR); глутатион-S-трансферазы (ГТ) (Ivundiagnostik, Германия); глутатионпероксидазы-1 (ГПО-1), супероксиддисмутазы-2 (СОД-2) (Ab Frontier, Южная Корея).

**Результаты.** В митохондриях клеток кожи в контрольной группе установлено повышение содержания GSH в 1,3 раза; ГПО-1 – 2,9; ГПО-4 – 1,9; ГР – 2,8; СОД-2 в 2,4 раза относительно значений у интактных животных. В группе сравнения обнаружили принципиально противоположные изменения: снижение содержания ГПО-1 в 1,9 раза; ГПО-4 – 3,7; ГР – 3,9; СОД-2 в 3,8 раза и повышение уровня GSSG в 1,36 раза по сравнению со значениями у интактных животных. При росте меланомы на фоне хронической нейрогенной боли отмечено увеличение уровня GSH в 1,5 раза; ГПО-1 – 3,6; ГТ – 1,28; ГПО-4 – 1,6 и СОД-2 в 1,8 раза по сравнению со значениями в интактной группе животных.

**Заключение.** При росте меланомы B16/F10 на фоне хронической нейрогенной боли происходит перестройка антиоксидантной системы митохондрий клеток кожи в сторону реализации «восстановительного стресса» под воздействием хронической боли, что может оказывать влияние на рост и развитие экспериментальной меланомы.

**Ключевые слова:** экспериментальная меланома B16/F10, хроническая нейрогенная боль, кожа, антиоксидантная система, митохондрии.

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

**Источники финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

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

**Для цитирования:** Франциянц Е.М., Нескубина И.В., Сурикова Е.И., Трепитаки Л.К., Немашкалова Л.А., Каплиева И.В., Лесовая Н.С. Состояние антиоксидантной системы в митохондриях клеток кожи при росте экспериментальной меланомы B16/F10 на фоне хронической нейрогенной боли. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (2): 96–103. <https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2020-2-96–103>.

## State of the antioxidant system in mitochondria of skin cells during experimental B16/F10 melanoma growth with chronic neurogenic pain

Frantsiyants E.M., Neskubina I.V., Surikova E.I., Trepitaki L.K., Nemashkalova L.A., Kaplieva I.V., Lesovaya N.S.

Rostov Research Institute of Oncology  
8, 63, 14<sup>th</sup> liniya, Rostov-on-Don, 344037, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** To study the state of the antioxidant system in mitochondria of skin cells during B16/F10 melanoma growth in mice with chronic neurogenic pain.

**Materials and methods.** The study included female C57BL/6 mice ( $n = 28$ ). Experimental groups included an intact group, a control group – chronic neurogenic pain model, a comparison group – standard subcutaneous transplantation of B16/F10 melanoma, and a main group – transplantation of B16/F10 melanoma 3 weeks after creation of a model of chronic neurogenic pain. Animals were decapitated on day 14 of the B16/F10 melanoma growth, the skin was excised and mitochondria were isolated. Standard ELISA test systems were used to determine the levels of reduced glutathione (GSH) and oxidized glutathione (GSSG) (Bio Source, USA); glutathione peroxidase-4 (GPx 4) (Clod-Clon Corporation, CNDR); glutathione reductase (GR) (Cusabio, CNDR); glutathione S-transferase (G-S-T) (Ivvundiagnostik, Germany); glutathione peroxidase-1 (GPx 1), and superoxide dismutase-2 (SOD-2) (Ab Frontier, South Korea).

**Results.** Mitochondria of skin cells in controls showed an increase in the levels of GSH by 1.3 times, GPx 1 – by 2.9 times, GPx 4 – by 1.9 times, GR – by 2.8 times, and SOD-2 – by 2.4 times, compared to intact animals. Changes in the comparison group were opposite: GPx 1 decreased by 1.9 times, GPx 4 – by 3.7 times, GR – by 3.9 times, SOD-2 – by 3.8 times, and GSSG rose by 1.36 times compared to intact animals. The growth of melanoma with chronic neurogenic pain caused an increase in the levels of GSH by 1.5 times, GPx 1 – by 3.6 times, G-S-T – by 1.28 times, GPx 4 – by 1.6 times, and SOD-2 – by 1.8 times, compared to intact animals.

**Conclusions.** The growth of B16/F10 melanoma together with chronic neurogenic pain restructures the antioxidant system of skin mitochondria towards generation of reductive stress under the influence of chronic pain, which can affect the growth and development of experimental melanoma.

**Key words:** experimental B16/F10 melanoma, chronic neurogenic pain, skin, antioxidant system, mitochondria.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

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

**Conformity with the principles of ethics.** The animal studies were conducted in compliance with humanity principles set forth in the Directive of the European Union (86/609/EEC) and the Declaration of Helsinki. The study was approved at the session of the Bioethics Committee for Working with Animals of Rostov Research Institute of Oncology (Protocol No. 4 dated 10/08/2018). All participants of the study signed an informed consent to participate in the research.

**For citation:** Frantsiyants E.M., Neskubina I.V., Surikova E.I., Trepitaki L.K., Nemashkalova L.A., Kaplieva I.V., Lesovaya N.S. State of antioxidant system in mitochondria of skin cells during experimental B16/F10 melanoma growth with chronic neurogenic pain. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (2): 96–103. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-2-96-103>.

### ВВЕДЕНИЕ

Меланома кожи характеризуется крайне высокой степенью злокачественности и необычайно большим потенциалом метастазирования, которое происходит лимфогенным, гематогенным и лимфогематогенными

путиами. Традиционно меланома кожи считается опухолью с вариабельным, часто непредсказуемым, клиническим течением, в том числе как с наличием случаев спонтанной регрессии первичного опухолевого очага, так и ранней генерализацией опухолево-

го процесса при наличии благоприятных прогностических признаков [1]. В последние годы достигнуты определенные успехи в понимании этиологии данного заболевания, которая связана с анатомической локализацией, степенью воздействия ультрафиолетового излучения, генетическими особенностями и потенциально другими факторами [1, 2].

Любой патологический процесс на момент очевидной значимости проходит начальную перестройку на сверхтонком уровне. Грань перехода от нормы к патологии требует досконального изучения на атомно-молекулярном и субклеточном уровне [3]. Способность адаптировать клеточные биоэнергетические возможности под влиянием быстро меняющихся условий окружающей среды является обязательной как при нормальной клеточной функции, так и при развитии опухолей [4]. Высокочувствительными индикаторами возникновения в организме патологических процессов являются митохондрии. Они, являясь центральной метаболической органеллой, выполняют «критические» биохимические функции в синтезе основных клеточных компонентов, включая жирные кислоты, аминокислоты и нуклеотиды. Клетки многих опухолей, содержащие полностью функциональные митохондрии, для поддержания пролиферации и выживания увеличивают скорость гликолиза, обеспечивая повышенный поток субстрата для биосинтетических путей, частично осуществляемых в митохондриях (метаболизм глюкозы и липогенез, метаболизм аминокислот и биосинтез нуклеотидов). В результате активации метаболического потока через митохондриальные пути повышается связанное с этим производство активных форм кислорода (АФК) в опухолевых клетках, что влечет за собой активацию путей антиоксидантного ответа клеток [4].

Органом-мишенью для меланомы часто служит кожа, являющаяся уникальным и самым большим органом (тканью) тела, концентрирующим в себе множество физиологических функций. Кожа является ключевым интерфейсом между эндокринной, нервной и иммунной системами, представляющим собой самостоятельный орган. Кожа – это целостная, сложно устроенная тканевая система, включающая в себя несколько слоев, которые находятся в тесной связи между собой. В коже сконцентрированы кровеносные, лимфатические и нервные пути, которые позволяют быстро реагировать на болевые, механические, химические, термические и другие раздражения, отвечая сужением или расширением просвета с последующим изменением кровотока.

На тонус (ширину просвета кровеносных сосудов, скорость кровотока) кровеносной сети кожи влияет

кора головного мозга через многочисленные сосудосуживающие и сосудорасширяющие нервные окончания, благодаря которым реализуется возможность организма чувствовать тепло, холод, давление, осязание, а также боль [5]. Боль часто является сопровождающим компонентом опухолевого процесса и присутствует у 30–50% онкологических больных после проведения противоопухолевой терапии, у 65–90% пациентов в связи с прогрессированием заболевания [6]. Происхождение боли у онкологических больных, как правило, многофакторное: прямые и косвенные эффекты роста опухоли, побочное действие противоопухолевой терапии, сопутствующие заболевания [6]. Экспериментальная онкология движется в сторону понимания биологических и физиологических процессов, происходящих в организме в случае сопутствующей хронической боли при опухолевой болезни. Показано, что хроническая нейрогенная боль является стимулятором и модификатором роста злокачественной меланомы кожи в эксперименте [7].

В связи с вышесказанным весьма актуальным представляется изучение антиокислительных процессов в митохондриях клеток кожи при патологических процессах, сопровождаемых болевым синдромом. Бесспорно, изучение патофизиологических процессов возможно через применение экспериментальных моделей. Неоспорим тот факт, что развитие экспериментальной онкологии с углубленным изучением патофизиологии злокачественного процесса на экспериментальных моделях животных способствует совершенствованию практической и теоретической составляющей такого глобального направления в медицине, как онкология.

Цель исследования – изучить антиокислительную систему в митохондриях клеток кожи экспериментальных животных на фоне хронической нейрогенной боли, опухолевого процесса и сочетанного воздействия данных патологических процессов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на самках мышей линии С57BL/6 ( $n = 28$ ) 8-недельного возраста с начальной массой 21–22 г. Животные были получены из ФГБУ МНИЦ Научный центр биомедицинских технологий «Андреевка» ФМБА (Московская область). В работе использовали клеточную линию мышинной меланомы В16/F10, метастазирующую в легкие. Опухолевый штамм получен из ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Животные содержались при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Исследования на животных проводились с соблюдением принципов гуманности, которые изложены в

Директиве Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, «Международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Животные были распределены методом случайной выборки на следующие экспериментальные группы: интактная группа ( $n = 7$ ), контрольная группа с воспроизведением модели хронической боли [8] ( $n = 7$ ), группа сравнения (В16/Ф10) – мыши со стандартной подкожной перевивкой меланомы В16/Ф10 ( $n = 7$ ) и основная группа (хроническая боль + В16/Ф10) – мыши, которым меланому В16/Ф10 перевивали через 3 нед после создания модели хронической боли ( $n = 7$ ).

Мышам основной группы (хроническая боль + В16/Ф10) осуществляли перевязку седалищного нерва с двух сторон под ксила-золетилловым наркозом. Через 3 нед после заживления операционной раны подкожно под правую лопатку вводили 0,5 мл взвеси опухолевых клеток меланомы В16/Ф10 в физиологическом растворе в разведении 1 : 10. Животным из группы сравнения (В16/Ф10) перевивали меланому В16/Ф10 подкожно в той же дозе и объеме, что и в основной группе, но без воспроизведения модели хронической боли. При стандартной перевивке опухоль появляется в 100% случаев, достаточно быстро растет и на 12–16-е сут роста метастазирует преимущественно гематогенно в легкие (60–90%), реже – в печень и селезенку. Все манипуляции с животными производили в боксе. Инструменты, посуду, руки дезинфицировали общепринятым способом.

Всех животных через 2 нед (14-е сут) эксперимента декапитировали на гильотине. После декапитации

у животных с применением хладагентов быстро иссекали кожу и выделяли митохондрии по методу М.В. Егоровой, С.А. Афанасьева [9]. В полученных митохондриальных образцах с помощью стандартных тест-систем иммуноферментного анализа определяли уровень восстановленного глутатиона (GSH), нМ/г белка (Bio Source, США); окисленного глутатиона (GSSG), нМ/г белка (Bio Source, США); глутатионпероксидазы-1 (ГПО-1), нг/мг белка (Ab Frontier, Южная Корея); глутатионпероксидазы-4 (ГПО-4), нг/мг белка (Clod-Clon Corporation, CNDR); глутатионредуктазы (ГР), нг/мг белка (Cusabio, CNDR); глутатион-S-трансферазы (Г-S-T), нг/мг белка (Ivvundiagnostik, Германия); супероксиддисмутазы-2 (СОД-2), нг/мг белка (Ab Frontier, Южная Корея); общего белка биуретовым методом, г/л (Ольвекс Диагностика, Россия).

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Сравнение количественных данных в четырех группах (независимые выборки) проводили с использованием критерия Краскела – Уоллиса с процедурой множественных сравнений. Данные таблиц представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее арифметическое значение, а  $m$  – стандартная ошибка среднего.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе эксперимента были получены данные по влиянию меланомы В16/Ф10, хронической нейрогенной боли и сочетанного воздействия данных патологических процессов на глутатионовую систему в митохондриях клеток кожи мышей-самок на 14-е сут эксперимента – логарифмическая фаза роста экспериментальной опухоли (табл. 1).

Таблица 1

Содержание антиоксидантных ферментов в митохондриях клеток кожи мышей-самок при росте меланомы В16/Ф10 на фоне хронической нейрогенной боли, $M \pm m$				
Показатель	Интактные животные	Контрольные животные (хроническая нейрогенная боль)	Группа сравнения (опухоль В16/Ф10)	Основная группа (опухоль В16/Ф10 + хроническая нейрогенная боль)
Глутатион восстановленный (GSH), нМ/г белка	151071,2 ± 717,41	196860,1 ± 1917,581 $p = 0,000000^1$	179886,5 ± 15147,22	219446,3 ± 3643,97 $p = 0,000000^1$
Глутатион окисленный (GSSG), нМ/г белка	462,32 ± 15,88	506,81 ± 19,83	637,25 ± 17,62 $p = 0,000008^1$ $p = 0,000356^2$	714,34 ± 9,16 <sup>1,2</sup> $p = 0,000000^1$ $p = 0,000001^2$
ГПО-1, нг/мг белка	0,207 ± 0,009	0,604 ± 0,007 $p = 0,000000^1$	0,107 ± 0,008 $p = 0,000005^1$ $p = 0,000000^2$	0,746 ± 0,014 $p = 0,000000^1$ $p = 0,000001^2$ $p = 0,000000^3$
ГПО-4, нг/мг белка	16,518 ± 0,216	32,263 ± 0,471 $p = 0,000000^1$	4,435 ± 0,166 <sup>1,2</sup> $p = 0,000000^1$ $p = 0,000000^2$	25,903 ± 0,282 $p = 0,000000^1$ $p = 0,000000^2$ $p = 0,000000^3$

Окончание табл. 1

Показатель	Интактные животные	Контрольные животные (хроническая нейрогенная боль)	Группа сравнения (опухоль В16/F10)	Основная группа (опухоль В16/F10 + хроническая нейрогенная боль)
ГР, нг/мг белка	13,239 ± 0,190	36,717 ± 0,228 $p = 0,00000^1$	3,403 ± 0,222 <sup>1,2</sup> $p = 0,00000^1$ $p = 0,00000^2$	16,675 ± 0,189 $p = 0,00000^2$ $p = 0,00000^3$
Г-S-T, нг/мг белка	2,164 ± 0,127	1,898 ± 0,100	1,771 ± 0,099	2,433 ± 0,145 $p = 0,010500^2$ $p = 0,002727^3$
СОД-2, пг/мг белка	461,402 ± 20,133	1128,2 ± 54,186 $p = 0,00000^1$	120,84 ± 10,904 $p = 0,00000^1$ $p = 0,00000^2$	849,68 ± 32,492 $p = 0,00000^1$ $p = 0,00085^2$ $p = 0,00000^3$

<sup>1</sup> статистически значимо относительно значений у интактных животных; <sup>2</sup> статистически значимо относительно значений у контрольных животных (хроническая нейрогенная боль); <sup>3</sup> статистически значимо относительно значений у группы сравнения (опухоль В16/F10) (здесь и в табл. 2).

В митохондриях клеток кожи у животных с хронической нейрогенной болью (контрольная группа) по сравнению с интактными животными было установлено повышенное содержание компонентов антиокислительной системы: GSH в 1,3 раза; ГПО-1 – 2,9; ГПО-4 – 1,9; ГР – 2,8; СОД-2 в 2,4 раза.

В то же время злокачественный рост у животных из группы сравнения приводит к совершенно противоположным изменениям антиокислительной системы в митохондриях: низкое содержание ГПО-1 в 1,9 раза; ГПО-4 – 3,7; ГР – 3,9; СОД-2 в 3,8 раза и повышенный уровень GSSG в 1,36 раза по сравнению с интактными значениями. Такая же направленность сохранилась и в сравнении с контрольной группой животных (хроническая нейрогенная боль), где уровень ГПО-1 был снижен в 5,6 раза; ГР – 10,8; ГПО-4 – 7,3; СОД-2 в 9,3 раза соответственно. Содержание окисленного глутатиона превосходило величины по контрольной группе в 1,26 раза. При этом уровень восстановленного глутатиона статистически значимо не отличался от интактных и контрольных величин.

Сочетанное воздействие хронической нейрогенной боли и опухолевого процесса способствовало

активной наработке GSH в 1,5 раза; ГПО-1 – 3,6; Г-S-T – 1,28; ГПО-4 – 1,6; СОД-2 в 1,8 раза по сравнению со значениями по интактной группе животных. При этом содержание окисленной формы глутатиона было в 1,54 раза выше интактных значений. По сравнению со значениями у животных, испытывающих только хроническую нейрогенную боль, при сочетанном воздействии двух патологических процессов уровень ГПО-1 был выше в 1,24 раза ( $p = 0,00001$ ), ГР – 2,2; Г-S-T – 1,37 раза (на уровне статистической тенденции), а СОД-2 и ГПО-4, напротив, были снижены в 1,33 и 1,24 раза ( $p = 0,00000$ ). Уровень GSSG и в этом случае был повышен в 1,42 раза. Сравнивая результат сочетанного влияния хронической боли и роста опухоли с аналогичными данными в группе животных только с опухолевым ростом (группа сравнения), обнаружили более высокое содержание ГПО-1 в 6,9 раза; ГР – 4,9; Г-S-T – 1,37; ГПО-4 – 5,8; СОД-2 в 7 раз соответственно.

В табл. 2 представлены коэффициенты соотношения компонентов глутатионовой системы, отражающие поддержание редокс-гомеостаза в организме животного.

Таблица 2

**Показатели глутатионного каскада в митохондриях клеток кожи мышей-самок при росте меланомы В16/F10 на фоне хронической нейрогенной боли,  $M \pm m$**

Показатель	Интактные животные	Контрольные животные (хроническая нейрогенная боль)	Группа сравнения (опухоль В16/F10)	Основная группа (опухоль В16/F10 + хроническая нейрогенная боль)
GSH/GSSG	3,2 ± 0,124	3,9 ± 0,130 $p = 0,004849^1$	2,8 ± 0,300 $p = 0,007518^2$	3,1 ± 0,053 $p = 0,000064^2$
GSH/ГПО-1	7,3 ± 0,298	3,3 ± 0,052 $p = 0,000000^1$	17,8 ± 2,567 $p = 0,001583^1$ $p = 0,000102^2$	2,94 ± 0,039 $p = 0,000000^1$ $p = 0,000084^3$
СОД-2/ГПО-1	2,2 ± 0,129	1,8 ± 0,100	1,1 ± 0,112 $p = 0,000036^1$ $p = 0,000464^2$	1,1 ± 0,052 $p = 0,000004^1$ $p = 0,0000312$

Показатель	Интактные животные	Контрольные животные (хроническая нейрогенная боль)	Группа сравнения (опухоль В16/F10)	Основная группа (опухоль В16/F10 + хроническая нейрогенная боль)
ГР/ГПО-1	6,4 ± 0,258	6,0 ± 0,115	3,2 ± 0,324 $p = 0,000006^1$ $p = 0,000003^2$	2,2 ± 0,063 $p = 0,000000^1$ $p = 0,000000^2$ $p = 0,008103^3$

Доминирующее ингибирование антиокислительных компонентов в случае опухолевой болезни и их переизбыток при хронической боли внесли разнонаправленные сдвиги в работу физиологических каскадов антиокислительных ферментов. Так, в случае контрольной группы животных (хроническая нейрогенная боль) по сравнению с интактными значениями отмечалось повышение коэффициента GSH/GSSG в 1,22 раза, снижение GSH/ГПО-1 в 2,2 раза. Опухолевый рост в группе сравнения способствовал снижению вычисляемых коэффициентов СОД-2/ГПО-1 в 2 раза, ГР/ГПО-1 в 2 раза, а GSH/ГПО-1, напротив, был существенно повышен в 2,44 раза. По сравнению с хронической нейрогенной болью, основная масса вычисляемых коэффициентов в группе с опухолевым ростом были снижены: GSH/GSSG в 1,4 раза ( $p = 0,007518$ ), СОД-2/ГПО-1 – в 1,64, ГР/ГПО-1 – в 1,87, а GSH/ГПО-1 был выше в 5,4 раза. Сочетанное воздействие двух патологических процессов подавляло работу физиологических каскадов антиокислительных ферментов. Так, GSH/ГПО-1 по сравнению с интактными величинами был снижен в 2,5 раза, СОД-2/ГПО-1 и ГР/ГПО-1 в 2 и 2,9 раза соответственно. По сравнению с контрольной группой животных (хроническая нейрогенная боль) изменения наблюдались для соотношений GSH/GSSG, СОД-2/ГПО-1 и ГР/ГПО-1, что выразилось в снижении их величин в 1,26 раза ( $p = 0,000064$ ), в 1,64 и 2,7 раза соответственно.

Относительно группы животных с опухолевым ростом (группа сравнения) было найдено снижение GSH/ГПО-1 и ГР/ГПО-1 в 6 и 1,45 раза соответственно. Основная часть изменений в каскадных реакциях была связана с ГПО-1, которая отвечает за «механическую» детоксикацию пероксидов, осуществляющуюся с помощью ферментативного механизма типа «пинг-понг» с двумя молекулами GSH, в связи с чем происходит ферментативная детоксикация нерадикальных гидропероксидов с регуляцией окислительно-восстановительного баланса непосредственно путем элиминации гидропероксидов и окисления GSH, основного низкомолекулярного тиола в клетках [10]. По всей видимости, переизбыток ГПО-1 приводит к нехватке потенциальных субстратов, что проявляется в угнетении всех каскадов с ее участием.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Анализируя полученные данные, полагаем, что митохондрии клеток кожи при хронической нейрогенной боли реагируют в сторону «восстановительного стресса», который проявляется в активной нагрузке всех исследованных ферментов, в том числе и трипептида GSH. В случае опухолевого процесса в митохондриях кожи – ткани-мишени для меланомы, отмечали классический сценарий перекисной теории канцерогенеза [11] с угнетением всех антиоксидантных ферментов и накоплением окисленного глутатиона. Существующая хроническая нейрогенная боль у животных с наложением на нее опухолевого процесса не позволяет перестроить меланоме уже развившийся «восстановительный стресс», в связи с чем все антиоксидантные ферменты находятся на достаточно высоком уровне, но при этом ферментативное каскадное взаимодействие подавлено, на что указывают величины вычисляемых коэффициентов: GSH/ГПО-1, ГР/ГПО-1. Избыточное накопление восстановительных эквивалентов приводит к «восстановительному стрессу» и характеризуется отсутствием окислителей и (или) снижением избыточных эквивалентов [12, 13].

Понятие «восстановительный стресс» – достаточно новая концепция. В течение некоторого времени было известно, что отсутствие клеточных окислителей может уменьшить реакции роста клеток. Более новые доказательства указывают на дополнительные клеточные и физиологические эффекты, вызванные отсутствием клеточных окислителей и накоплением избыточных восстановительных эквивалентов, включая изменения в образовании дисульфидной связи белка, уменьшенную митохондриальную функцию и снижение клеточного метаболизма [13]. В настоящее время появился ряд работ, свидетельствующих о том, что «восстановительный» или редуцирующий стресс сопровождается такими состояниями, как гипоксия, гипергликемия, которые ингибируют митохондриальную функцию, вызывают избыточное накопление клеточных восстановительных эквивалентов [14–16].

Полагаем, что хроническая нейрогенная боль относится к таким же состояниям, способным перестраивать работу митохондрий, в данном случае

именно митохондрий клеток кожи, в сторону «восстановительного стресса» с сохранением направленности и в случае присоединенного опухолевого процесса. Возможно, увеличение количества антиоксидантных ферментов под действием хронической нейрогенной боли на момент появления опухоли находится в таком устойчивом состоянии, которое невозможно развернуть или подавить окислительным процессом, характеризующим в свою очередь опухолевый рост.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты показали, что хроническая нейрогенная боль оказывает модулирующее воздействие на функционирование митохондрий клеток кожи, способствуя перестройке их антиоксидантной системы в сторону «восстановительного стресса», что проявляется в существенном увеличении содержания антиоксидантных ферментов. Такая ответная реакция митохондрий клеток кожи – ткани-мишени для меланомы – может приводить к иным закономерностям в развитии опухолевого процесса на фоне хронической нейрогенной боли. Бесспорно, речь идет только о коже, а не обо всем организме в целом, и мы понимаем, что функциональная реакция митохондрий разных органов может быть различна. Это и вызывает интерес и требует дальнейших исследований.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Жуковец А.Г. Современные принципы и перспективы лечения меланомы кожи. *Онкологический журнал*. 2015; 9 (4): 69–76.
2. Curtin J.A., Fridlyand J., Kageshita T., Patel H.N., Busam K.J., Kutzner H., Cho K.H., Aiba S., Bröcker E.B., LeBoit P.E., Pinkel D., Bastian B.C. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N. Engl. J. Med.* 2005; 353 (20): 2135–2147. DOI: 10.1056/NEJMoa050092.
3. Пирузян Л.А. О возможности создания новых лечебных технологий. *Нейрохимия*. 2010; 27 (2): 109–129.
4. Ahn C.S., Metallo C.M. Mitochondria as biosynthetic factories for cancer proliferation. *Cancer Metab.* 2015; 3 (1): 1–10. DOI: 10.1186/s40170-015-0128-2.
5. Древин В.Е., Савина Е.Г., Надежкина Е.Ю., Савин Г.А. Кожная экскреция азотистых веществ. Волгоград: Волгоградский ГАУ, 2014: 108.
6. Leppert W., Zajaczkowska R., Wordliczek J., Dobrogowski J., Woron J., Krzakowski M. Pathophysiology and clinical characteristics of pain in most common locations in cancer patients. *J. Physiology and Pharmacology*. 2016; 67 (6): 787–799.
7. Кит О.И., Франциянц Е.М., Котиева И.М., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Бандовкина В.А., Розенко Л.Я., Черярина Н.Д., Погорелова Ю.А. Некоторые механизмы повышения злокачественности меланомы на фоне хронической боли у самок мышей. *Российский журнал боли*. 2017; 2 (53): 14–20.
8. Котиева И.М. Особенности моноаминового обмена в болевых и противоболевых структурах мозга в динамике хронической боли. Дисс. ... канд. мед. наук. Ростов н/Д, 1999: 169.
9. Егорова М.В., Афанасьев С.А. Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: Современные методические приемы. *Сибирский медицинский журнал*. 2011; 26 (1–1): 22–28.
10. Takebe G., Yarimizu J., Saito Y., Hayashi T., Nakamura H., Yodoi J., Nagasawa S., Takahashi K. A comparative study on the hydroperoxide and thiol specificity of the glutathione peroxidase family and selenoprotein P. *The Journal of Biological Chemistry*. 2002; 277 (43): 41254–41258. DOI: 10.1074/jbc.M202773200.
11. Лю Б.Н. Старение, возрастные патологии и канцерогенез (кислородно-перекисная концепция). Алматы: КазНТУ, 2003: 706.
12. Rajasekaran N.S., Connell P., Christians E.S., Yan L.J., Taylor R.P., Orosz A., Zhang X.Q., Stevenson T.J., Peshock R.M., Leopold J.A., Barry W.H., Loscalzo J., Odelberg S.J., Benjamin I.J. Human alphaB-crystallin mutation causes oxidative stress and protein aggregation cardiomyopathy in mice. *Cell*. 2007; 130 (3): 427–439. DOI: 10.1016/j.cell.2007.06.044.
13. Lubos E., Loscalzo J., Handy D.E., Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal*. 2011; 15 (7): 1957–1997. DOI: 10.1089/ars.2010.3586.
14. Kim J.W., Gao P., Dang C.V. Effects of hypoxia on tumor metabolism. *Cancer Metastasis Rev.* 2007; 26 (2): 291–298. DOI: 10.1007/s10555-007-9060-4.
15. Nyengaard J.R., Ido Y., Kilo C., Williamson J.R. Interactions between hyperglycemia and hypoxia: implications for diabetic retinopathy. *Diabetes*. 2004; 53 (11): 2931–2938. DOI: 10.2337/diabetes.53.11.2931.
16. Tilton R.G. Diabetic vascular dysfunction: links to glucose-induced reductive stress and VEGF. *Microsc. Res. Tech.* 2002; 57 (5): 390–407. DOI: 10.1002/jemt.10092.

## Вклад авторов

Нескубина И.В. – разработка концепции и дизайна; анализ и интерпретация данных. Франциянц Е.М. – разработка концепции и дизайна; окончательное утверждение для публикации рукописи. Сурикова Е.И. – анализ и интерпретация данных. Каплиева И.В. – разработка концепции и дизайна. Трепитаки Л.К. – разработка концепции и дизайна. Немашкалова Л.А. – обоснование

рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания. Лесовая Н.С. – обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания.

### Сведения об авторах

**Франциянц Елена Михайловна**, д-р биол. наук, профессор, зам. генерального директора по научной работе, руководитель лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0003-3618-6890.

**Нескубина Ирина Валерьевна**, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0002-7395-3086.

**Сурикова Екатерина Игоревна**, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0002-4318-7587.

**Трепитаки Лидия Константиновна**, науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0002-9749-2747.

**Немашкалова Людмила Анатольевна**, науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0003-2713-8598.

**Каплиева Ирина Викторовна**, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0002-3972-2452.

**Лесовая Наталья Сергеевна**, мл. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0001-5686-8659.

(✉) **Нескубина Ирина Валерьевна**, e-mail: nes Kubina.irina@mail.ru.

Поступила в редакцию 14.03.2019  
Подписана в печать 25.12.2019