

Кит О.И., Котиева И.М., Франциянц Е.М., Сурикова Е.И., Каплиева И.В., Бандовкина В.А., Трепитаки Л.К., Погорелова Ю.А.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ НЕЙРОГЕННОЙ БОЛИ НА ДИНАМИКУ УРОВНЯ ЭНДОТЕЛИНА-1 И КОМПОНЕНТОВ NO-СИСТЕМЫ В ПРОЦЕССЕ РОСТА МЕЛАНОМЫ B16/F10

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения РФ, 344037, Ростов-на-Дону

Хроническая нейрогенная боль является патогенным фактором, запускающим механизмы нарушения гомеостаза. В связи с обнаружением влияния хронической нейрогенной боли на биологические особенности меланомы B16/F10 целью работы было изучение уровня эндотелина-1 и компонентов NO-системы у мышей в процессе роста перевивной меланомы B16/F10 на фоне хронической боли.

Методы. Работа выполнена на 64 мышах-самках. Животным основной группы меланому B16/F10 перевивали под кожу спины через 2 нед после перевязки седалищных нервов. Содержание эндотелина-1, NOS-2, NOS-3, L-аргинина, цитрулина, общего нитрита, нитротирозина и АДМА определяли методом ИФА в непоражённой опухоли коже и в ткани опухоли.

Результаты. Обнаружены различия в динамике изученных показателей при обычном росте меланомы и росте опухоли на фоне хронической боли. При росте опухоли на фоне боли выявлено увеличение уровня эндотелина-1 как в коже, так и в опухоли в процессе роста, стабильно повышенный уровень NO-синтаз в опухоли, стабильно повышенный уровень АДМА и его снижение к 3-й нед роста.

Заключение. Состояние хронической боли может способствовать развитию в коже состояния иммунологической толерантности к опухолевым антигенам. Формируются условия, не только облегчающие выживание опухолевых клеток, но и благоприятствующие дальнейшему развитию меланомы. Динамика активности систем эндотелина-1 и NO может способствовать стимуляции процессов эпителиально-мезенхимального перехода, усиления инвазивности опухоли, гемангио- и лимфангиогенеза. Изменение уровня ингибитора АДМА в условиях роста опухоли на фоне хронической боли может свидетельствовать о более тонком контроле уровня NO, обеспечивающего повышенную инвазивность меланомы.

Ключевые слова: меланома B16/F10; хроническая боль; кожа; опухоль; мыши; эндотелин-1; NO-система.

Для цитирования: Кит О.И., Котиева И.М., Франциянц Е.М., Сурикова Е.И., Каплиева И.В., Бандовкина В.А., Трепитаки Л.К., Погорелова Ю.А. Влияние хронической нейрогенной боли на динамику уровня эндотелина-1 и компонентов no-системы в процессе роста меланомы B16/F10. *Российский онкологический журнал*. 2018; 23 (3–6): 180–188. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1028-9984-2018-23-3-6-180-188>.

Для корреспонденции: Сурикова Екатерина Игоревна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ, 14-я линия, 63, Ростов-на-Дону. E-mail: super.gormon@ya.ru

Kit O.I., Kotieva I.M., Frantsiyants E.M., Surikova E.I., Kaplieva I.V., Bandovkina V.A., Trepitaki L.K., Pogorelova Ju.A.

INFLUENCE OF CHRONIC NEUROGENIC PAIN ON DYNAMICS OF ENDOTHELIN-1 LEVEL AND COMPONENTS OF NO-SYSTEM DURING MELANOMA B16/F10 GROWTH

Rostov Research Institute of Oncology, 344037, Rostov-on-Don, Russia

Abstract. Chronic neurogenic pain is a pathogenic factor triggering mechanisms of homeostasis dysfunction. As chronic neurogenic pain has been found to affect the biological features of B16/F10 melanoma, the purpose of the study was to determine the levels of endothelin-1 and components of the NO-system in mice during the growth of transplantable B16/F10 melanoma with chronic pain.

Methods. The study included 64 female mice. B16/F10 melanoma was transplanted under the skin of the back to animals of the main group 2 weeks after the sciatic nerve ligation. Levels of endothelin-1, NOS-2, NOS-3, L-arginine, citrulline, total nitrite, nitrotyrosine and ADMA were determined by ELISA in the intact skin and in tumor tissues.

Results. The dynamics of the studied parameters in tumor growth with and without chronic pain was different. Increased levels of endothelin-1 in the skin and in tumor tissues, stably elevated levels of NO-synthases in the tumor and stably elevated ADMA levels with their decrease by week 3 of the growth were observed in the tumor growth with pain.

Conclusions. Chronic pain can contribute to the development of the immune tolerance to tumor antigens in the skin. Conditions are formed that both facilitate the survival of tumor cells and contribute to the further development of melanoma. The dynamics of activity of endothelin-1 and NO systems can promote stimulation of the epithelial-mesenchymal transition, enhance tumor invasion and hemangio- and lymphangiogenesis. Changes in the ADMA inhibitor levels in the tumor growth with chronic pain may indicate a more subtle control of the NO level providing increased melanoma invasiveness.

Key words: B16/F10 melanoma; chronic neurogenic pain; skin; tumor; mice; endothelin-1; NO-system.

For citation: Kit O.I., Kotieva I.M., Frantsiyants E.M., Surikova E.I., Kaplieva I.V., Bandovkina V.A., Trepitaki L.K., Pogorelova Ju.A. Influence of chronic neurogenic pain on dynamics of endothelin-1 level and components of no-system during melanoma b16/f10 growth. *Rossiiskii onkologicheskii zhurnal*. (Russian Journal of Oncology). 2018; 23 (3–6): 180–188. (In Russ). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1028-9984-2018-23-3-6-180-188>.

For correspondence: Ekaterina I. Surikova, MD, PhD, Senior Researcher at Laboratory of Malignant tumor

pathogenesis study, Rostov Research Institute of Oncology, 344037, Rostov-on-Don, Russian Federation. E-mail: super.gormon@ya.ru

Information about authors:

Kit O.I. <https://orcid.org/0000-0003-3061-6108>
 Kotieva I.M. <https://orcid.org/0000-0003-0252-4708>
 Frantsiyants E.M. <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>
 Surikova E.I. <https://orcid.org/0000-0002-4318-7587>
 Kaplieva I.V. <http://orcid.org/0000-0002-3972-2452>
 Bandovkina V.A. <https://orcid.org/0000-0002-2302-8271>
 Trepitaki L.K. <http://orcid.org/0000-0002-9749-2747>
 Pogorelova Ju.A. <https://orcid.org/0000-0002-2674-9832>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received 20 April 2018
 Accepted 25 June 2018

Несмотря на успехи в различных областях современной медицины проблема хронизации нейропатической боли сохраняет свою актуальность. По данным, приведённым Даниловым А.Б. и соавт. (2007), до 6–8% европейской популяции страдают нейропатическим болевым синдромом [1]. В России распространённость любой боли среди обратившихся к неврологу пациентов составила 39%, среди них у 18% была выявлена нейропатическая боль или её компонент [2]. Особую проблему представляет собой боль, вызванная онкологическим процессом. По данным ВОЗ, частота распространённости боли у пациентов с онкологическим заболеванием составляет 35, 296% [3].

Боль, вызванная злокачественным опухолевым процессом, имеет свою специфику, связанную с выделением специфических алгогенов, возбуждающих или повышающих чувствительность периферических рецепторов и нервных волокон к сенсорным раздражителям. Однако зачастую в онкологической боли присутствует и нейропатический компонент в результате сдавления нерва опухолью, в процессе проведения химиотерапии, а также в результате постоянного возбуждения и дестабилизации сенсорной симпатической иннервации секреторируемыми опухолевыми клетками протеолитическими ферментами [4].

Боль является важнейшей адаптационной реакцией организма, выполняющей функцию сигнала тревоги и мобилизующей различные функциональные системы для защиты от влияния повреждающего фактора, т. е. боль – интегративная функция организма. Однако при хронизации боли она теряет своё физиологическое адаптационное значение и приводит к развитию патологических изменений во всех системах организма. Многолетние наблюдения показали, что необлегчённая хроническая боль любой локализации способствует развитию различных физиологических нарушений, начиная от ухудшения функционирования основных систем органов и заканчивая нарушением нормального течения метаболических процессов, снижением иммунитета, дисфункцией сосудистой системы [5].

Ранее нами было показано, что экспериментальная хроническая боль оказывает ярко выраженное стимулирующее действие на рост и развитие перевивной меланомы V16/F10, способствуя более раннему появлению опухоли, ускорению метастазирования и сокращению продолжительности жизни животных [6]. Мы предположили, что одним из ме-

ханизмов такой стимуляции может являться активация неоангиогенеза в коже на фоне хронической боли, что проявлялось увеличением уровня факторов семейства VEGF.

В настоящее время известно, что важную роль в процессе ангиогенеза наряду с экспрессией проангиогенных факторов роста играет NO-система и эндотелины, в частности эндотелин-1 [7, 8]. Кроме того было показано участие эндотелина-1 и NO в процессах развития боли [9, 10].

В связи с обнаружением влияния хронической боли на биологические особенности меланомы V16/F10 и на уровень ангиогенных факторов роста мы решили изучить уровень вазоактивного пептида эндотелина-1 и компонентов вазоактивной NO-системы у мышей в процессе роста перевивной меланомы V16/F10 на фоне хронической боли.

Материал и методы

Работа была выполнена на самках мышей линии C57BL/6 ($n=64$), которые были получены из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий «Андреевка» ФМБА» (Московская обл.). В эксперименте использовали животных 8-нед возраста с начальной массой 21–22 г. Опухолевый штамм, использованный в работе, – линия мышшиной меланомы V16/F10, метастазирующая в лёгкие, – был получен из РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН (г. Москва).

Животных содержали при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Работу с животными проводили в соответствии с требованиями, изложенными в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Животные были распределены на следующие группы:

- ✓ группа интактных мышей ($n=7$),
- ✓ контрольная группа – мыши с воспроизведением модели хронической боли (ХрБ) ($n=7$),
- ✓ группа сравнения – мыши со стандартной подкожной перевивкой меланомы V16/F10 ($n=22$),
- ✓ основная группа – мыши, которым меланому V16/F10 перевивали через 2 нед после создания модели ХрБ ($n=28$).

Моделирование развития ХрБ состояло в перевязке седалищного нерва с обеих сторон под ксила-золепидиловым наркозом. Стандартная перевивка меланомы V16/F10 состояла во введении подкожно

под правую лопатку 0,5 мл взвеси опухолевых клеток меланомы B16/F10 в физиологическом растворе в разведении 1:10. Для основной группы животных контрольными были мыши с ХрБ, для группы сравнения (рост меланомы) – интактные мыши. Животных контрольной группы, группы сравнения и основной группы через 1, 2 и 3 нед эксперимента декапитировали. Все процедуры проводили в соответствии с международными правилами работы с животными (European Communities Council Directive, 86/609/ЕЕС). Из кожи и опухоли на льду готовили 10% гомогенаты на 100 мМ калий-фосфатном буфере рН 7,4, содержащем 0,1% Твин-20 и 1% БСА. Методами ИФА определяли концентрацию эндотелина 1-38, эндотелина 1-21 (Biomedica, Германия), NOS-2, NOS-3 (Cloud-Clone Corp., США), L-аргинина, L-цитруллин, асимметричного диметиларгинина АДМА (Immundiagnostik, Германия), общего нитрита (R&D systems, США) и нитротирозина (NucultBiotech, Нидерланды). Полученные результаты пересчитывали на грамм ткани.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ Microsoft Excel 2010 и Statistica 10.0, в каждой группе определяли среднее значение ± стандартное отклонение. Значимость различий между группами оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$ – $p < 0,001$, при $0,1 > p > 0,05$ считали, что различия обнаружены на уровне статистической тенденции. При этом соблюдались общие рекомендации для медицинских исследований.

Результаты

Результаты исследования динамики концентрации эндотелина 1-38 и 1-21 и компонентов NO-системы в коже самок мышей представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Динамика концентрации эндотелина-1 в коже самок мышей

	Эндотелин 1-38, нМ/г тк	Эндотелин 1-21, фМ/г тк
Кожа интактная, $n=7$	0,055 ± 0,0053	12,63 ± 0,12
Кожа на фоне боли, $n=7$ (контроль)	0,043 ± 0,0041 $0,1 > p_1 > 0,05$	4,9 ± 0,43 $p_1 < 0,001$
1-я нед роста B16/F10		
Группа сравнения, $n=22$	0,052 ± 0,0046	12,56 ± 1,15
Основная группа, $n=28$	0,064 ± 0,0061 $p_k < 0,01$	8,34 ± 0,82 $p_k < 0,001$
2-я нед роста B16/F10		
Группа сравнения, $n=22$	0,053 ± 0,005	8,76 ± 0,85 $p_1 < 0,001$
Основная группа, $n=28$	0,063 ± 0,006 $p_k < 0,01$	13,76 ± 1,26 $p_k < 0,001$
3-я нед роста B16/F10		
Группа сравнения, $n=22$	0,092 ± 0,0087 $p_1 < 0,01; p_3 < 0,01$	11,63 ± 1,11 $p_3 < 0,01$
Основная группа, $n=28$	0,063 ± 0,006 $p_k < 0,01$	13,76 ± 1,26 $p_k < 0,001$

Примечание: статистически значимые различия: p_k – относительно уровня в контроле – кожа животных с хронической болью, p_1 – относительно интактных животных, p_2 – относительно уровня на 1-й нед роста, p_3 – относительно уровня на 2-й нед роста меланомы.

Было обнаружено, что по сравнению с группой интактных у животных с хронической болью концентрация эндотелина 1-38 и эндотелина 1-21 в коже была снижена на 21,8% ($0,1 > p > 0,05$) и в 2,6 раза ($p < 0,001$) соответственно (табл. 1). При этом концентрация ферментов NOS-2 и NOS-3 была увели-

Таблица 2

Динамика концентрации компонентов NO-системы в коже самок мышей

	NOS-3, нг/г ткани	NOS-2, нг/г ткани	Общий нитрит, мкМ/л	Аргинин, мкМ/г ткани	АДМА, мкМ/г ткани	L-цитруллин, мкМ/г ткани	Нитротирозин, нМ/г ткани
Кожа интактная, $n=7$	0,75 ± 0,07	1,1 ± 0,10	10,48 ± 0,9	44,6 ± 4,2	0,27 ± 0,02	8,2 ± 0,78	0,81 ± 0,07
Кожа на фоне боли (контроль), $n=7$	2,7 ± 0,02 $p_1 < 0,001$	1,6 ± 0,14 $p_1 < 0,05$	11,6 ± 1,1	25,7 ± 2,5 $p_1 < 0,01$	0,15 ± 0,01 $p_1 < 0,001$	7,6 ± 0,74	1,05 ± 0,09 $0,1 > p_1 > 0,05$
1-я нед роста B16/F10							
Группа сравнения, $n=22$	0,84 ± 0,08	0,94 ± 0,08	11,34 ± 1,1	41,77 ± 4,1	0,32 ± 0,03	7,34 ± 0,71	0,78 ± 0,07
Основная группа, $n=28$	2,9 ± 0,26 $p_1 < 0,001$	2,18 ± 0,19 $p_1 < 0,001$ $p_k < 0,05$	9,94 ± 0,89	14,57 ± 1,34 $p_1 < 0,001$ $p_k < 0,001$	0,22 ± 0,02 $p_k < 0,01$	10,9 ± 1,0 $p_k < 0,05$	0,68 ± 0,05 $p_k < 0,01$
2-я нед роста B16/F10							
Группа сравнения, $n=22$	0,5 ± 0,048 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$	0,84 ± 0,08 $0,1 > p_1 > 0,05$	15,78 ± 1,45 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$	62,26 ± 6,12 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$	0,28 ± 0,02	11,05 ± 0,9 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$	1,03 ± 0,09
Основная группа, $n=28$	1,36 ± 0,12 $p_k < 0,001$	1,04 ± 0,97	9,71 ± 0,95	51,47 ± 4,9 $p_k < 0,001$	0,25 ± 0,02 $p_k < 0,001$	10,15 ± 1,1 $0,1 > p_k > 0,05$	0,77 ± 0,074 $p_k < 0,05$
3-я нед роста B16/F10							
Группа сравнения, $n=22$	1,38 ± 0,13 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	1,22 ± 0,11	14,18 ± 1,3 $p_1 < 0,05$	12,5 ± 1,1 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	0,3 ± 0,03	10,5 ± 1,0	0,89 ± 0,09
Основная группа, $n=28$	0,77 ± 0,074 $p_k < 0,001$	1,18 ± 0,10	10,12 ± 0,9 $p_k < 0,05$	36,8 ± 3,54 $p_k < 0,05$	0,21 ± 0,02 $p_k < 0,05$	7,29 ± 0,71	0,86 ± 0,075

Примечание: статистически значимые различия: p_k – относительно уровня в контроле – кожа животных с хронической болью, p_1 – относительно интактных животных, p_2 – относительно уровня на 1-й нед роста, p_3 – относительно уровня на 2-й нед роста меланомы.

чена соответственно на 45,4% и в 3,6 раза ($p<0,05$, $p<0,001$), концентрация нитротирозина – на 29,6% ($0,1>p>0,05$) (табл. 2). Концентрация эндогенного ингибитора синтазы оксида азота АДМА была снижена на 44,4% ($p<0,001$), а субстрата ферментов аргинина – на 42,2% ($p<0,01$), при этом концентрации продуктов реакции общего нитрита и цитруллина не изменялись.

У мышей из группы сравнения – рост меланомы B16 после стандартной подкожной перевивки – на 1-й нед после перевивки опухоли не было выявлено статистически значимых изменений концентрации эндотелина и показателей активности NO-системы в коже по сравнению с уровнем у интактных животных.

На 2-й нед после перевивки – срок «выхода» опухоли – при отсутствии изменений концентрации эндотелина 1-38 в коже статистически значимо снижалась концентрация эндотелина 1-21 на 30,6% по сравнению с уровнем у интактных животных. Одновременно отмечалось снижение уровня ферментов NOS-3 на 33,3% ($p<0,01$) и NOS-2 на 23,6% ($0,1>p>0,05$), увеличение концентрации аргинина на 39,6% ($p<0,05$), общего нитрита – на 50,6% ($p<0,01$) и цитруллина – на 34,8% ($p<0,05$).

На 3-й нед после перевивки меланомы было выявлено значимое увеличение концентрации эндотелина 1-38 на 67,3% по сравнению с уровнем у интактных животных, при этом уровень активного эндотелина 1-21 возрастал по сравнению с показателем на 2-й нед – до уровня у интактных животных. Концентрация NOS-3 в коже на данном сроке наблюдения была увеличена на 84% ($p<0,001$) по сравнению с уровнем у интактных животных, а концентрация NOS-2 не отличалась от него. При этом была значительно снижена концентрация аргинина – в 3,6 раза ($p<0,001$) и повышена концентрация общего нитрита – на 35,3% ($p<0,05$) по сравнению с показателями в группе интактных животных. Значимых изменений концентрации цитруллина не наблюдалось.

В непораженной опухолью коже мышей основной группы – рост меланомы B16 на фоне хронической боли – по сравнению с уровнем в контрольной группе (хроническая боль) мы наблюдали нарастающее увеличение концентрации эндотелина 1-38 и 1-21 в течение 3 нед: уровень эндотелина 1-38 вырос в среднем на 50% ($p<0,01$), уровень эндотелина 1-21 на 1-й нед – на 70,2% ($p<0,001$), на 2-й и 3-й нед – в среднем в 2,7 раза ($p<0,001$), в результате чего концентрация эндотелина в коже достигла показателей у интактных животных.

Анализируя динамику показателей, характеризующих функционирование NO-системы в коже мышей основной группы, можно отметить, что концентрация NOS-3 на 1-й нед не отличалась от уровня в контрольной группе, на 2-й и 3-й нед происходило её значительное снижение в 2 и 3,5 раза ($p<0,001$) соответственно. Концентрация NOS-2 на 1-й нед была выше показателя в контрольной группе на 36,2% ($p<0,05$), а к 3-й нед снизилась до уровня на 26,2% ниже ($p<0,05$), чем в контрольной группе. При этом уровень NOS-3 и NOS-2 на 1-й нед сохранялся на уровне в 3,9 и 2 раза выше, чем у интактных мышей ($p<0,001$), а к 3-й нед, снижаясь, достигал значений в группе интактных животных. Изменение концентрации аргинина происходило в соответствии с изменением уровня ферментов, его использующих: на 1-й нед развития ме-

ланомы на фоне хронической боли уровень субстрата был на 43,3% ($p<0,001$) ниже уровня в контрольной группе (что было в 3,1 раза ниже, чем его концентрация в коже интактных мышей), на 2-й и 3-й нед концентрация аргинина возрастала в 2 раза ($p<0,001$) и на 43,2% ($p<0,05$) соответственно, достигая уровня у интактных животных. Также статистически значимыми были изменения концентрации АДМА – увеличение по сравнению с показателем в контроле в среднем на 51% ($p<0,05$ - $p<0,001$).

Статистически значимых изменений концентрации общего нитрита в коже животных основной группы на протяжении 3 нед не наблюдалось, концентрация цитруллина на 1-2-й нед была на 43,3 и 33,6% соответственно выше уровня в контрольной группе, снижаясь к 3-й нед до уровня у интактных животных. Концентрация нитротирозина в течение 3 нед наблюдения понижалась: на 1-й нед она была ниже на 35,2% ($p<0,01$), на 2-й нед – ниже на 26,7% ($p<0,05$) по сравнению с уровнем в контроле, достигая на 3-й нед уровня показателя в интактной группе.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что при развитии хронической боли у мышей происходит изменение функционирования систем, регулирующих тонус сосудов в здоровой коже: значительно снижается уровень активного эндотелина 1-21 и, возможно, его предшественника эндотелина 1-38. При этом наблюдается активация функционирования NO-системы как за счёт увеличения концентрации ферментов – эндотелиальной NOS-3 и индуцибельной NOS-2, так и за счёт снижения уровня их эндогенного ингибитора АДМА. Обнаруженное на уровне статистической тенденции увеличение концентрации нитротирозина, считающегося маркером интенсивности процесса NO-зависимого повреждения белков, может являться результатом активации NOS-2 и свидетельствовать о формировании условий для проявления токсичности образующегося NO, например, активации образования пероксинитрита.

В отличие от изменений, наблюдаемых у мышей с хронической болью, рост и развитие меланомы B16 вызывает в коже однонаправленные изменения концентрации эндотелина-1 и эндотелиальной NOS-3 на разных сроках – ингибирование функционирования этих систем на 2-й нед и активация их работы на 3-й нед после перевивки. Следует отметить при этом отсутствие значимых изменений уровня индуцибельной NOS-2. При этом некоторое значимое увеличение концентрации общего нитрита на 2-й нед и значительное снижение уровня аргинина на 3-й нед могут свидетельствовать о возможной активации процессов метаболизма NO и аргинина, не связанных с функционированием ферментов NO-синтаз.

Наблюдая изменения изученных показателей в непоражённой опухолью коже мышей основной группы можно отметить, что рост меланомы на фоне хронической боли на протяжении 3 нед способствует стабильному увеличению уровня эндотелина-1, особенно значительно для активного эндотелина 1-21. При этом активность NO-системы со 2-й нед роста опухоли уменьшается, что выражается как в более низком уровне NOS-3, так и в более высоком уровне АДМА и аргинина.

Результаты исследования динамики концентрации эндотелина 1-38 и 1-21 и компонентов NO-системы в ткани опухоли представлены в таблицах 3 и 4.

Таблица 3

Динамика концентрации эндотелина-1 в ткани опухоли

	Эндотелин 1-38, нМ/г тк	Эндотелин 1-21, фМ/г тк
Кожа интактная, n=7	0,055 ± 0,0053	12,63 ± 0,12
Кожа на фоне боли, n=7 (контроль)	0,043 ± 0,0041 0,1 > p ₁ > 0,05	4,9 ± 0,43 p ₁ < 0,001
1-я нед роста В16/F10		
Группа сравнения, n=22	Опухоль отсутствует	
Основная группа, n=28	0,124 ± 0,012	8,57 ± 0,84
2-я нед роста В16/F10		
Группа сравнения, n=22	0,049 ± 0,0043	25,9 ± 2,43 p ₁ < 0,001
Основная группа, n=28	0,193 ± 0,018 p ₂ < 0,001	13,42 ± 1,32 p ₂ < 0,001
3-я нед роста В16/F10		
Группа сравнения, n=22	0,077 ± 0,007 p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,01	5,5 ± 0,48 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001
Основная группа, n=28	0,17 ± 0,015 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001	28,6 ± 2,47 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001

Пр и м е ч а н и е: статистически значимые различия: p₁ – относительно интактных животных, p₂ – относительно уровня на 2-й нед роста меланомы, p₃ – относительно уровня на 3-й нед роста меланомы.

При изучении ткани опухоли в процессе роста меланомы В16 у животных из группы сравнения было обнаружено, что концентрация эндотелина 1-38 изменялась только на 3-й нед после перевивки – она возрастала на 57,1% (p < 0,01) по сравнению с уровнем на 2-й нед и на 40% (p < 0,05) и по сравнению с уровнем в здоровой коже интактных мышей (табл. 3)

Концентрация эндотелина 1-21 в ткани опухоли начинала изменяться уже на 2-й нед – она была выше в 2,1 раза (p < 0,001), чем в здоровой коже интактных мышей, а к 3-й нед снижалась в 4,7 раза (p < 0,001) и достигла уровня в 2,3 раза (p < 0,001) ниже по сравнению с уровнем в здоровой коже интактных животных.

По сравнению с уровнем в здоровой коже интактных мышей на 2-й нед концентрация NOS-3 и NOS-2 в опухоли была выше на 52% (p < 0,01) и 98,1% (p < 0,001) соответственно, концентрация аргинина не отличалась, концентрация АДМА была выше на 29,6% (p < 0,05), общего нитрита и цитруллина – выше в среднем в 2,45 раза (p < 0,001), при этом концентрация нитротирозина была выше на 86,4% (p < 0,001) (табл. 4). На 3-й нед концентрация ферментов NOS-3 и NOS-2 в ткани опухоли продолжала расти и достигла уровня соответственно в 4,9 и в 2,8 раза выше (p < 0,001), чем в здоровой коже интактных животных, также остался повышенным уровень АДМА на 37% (p < 0,05), цитруллина – на 93,9% (p < 0,001) и нитротирозина – на 43,2% (p < 0,001). Концентрация аргинина на данном сроке была ниже уровня в здоровой коже на 68,4% (p < 0,001).

В процессе роста меланомы В16 на фоне хронической боли у животных основной группы в ткани опухоли было выявлено постепенное увеличение уровня эндотелина-1 по сравнению с уровнем в опухоли в группе сравнения (животные со стандартной подкожной перевивкой меланомы): концентрация эндотелина 1-38 на 1-й нед была выше в 2,5 раза, на 2-й нед – в 3,9 раза и на 3-й нед – в 2,2 раза (p < 0,001) по сравнению с уровнем на 2-й и 3-й нед роста меланомы в группе сравнения. Концентрация эндотелина 1-21 постепенно возрастала с уровня на 1-й нед в 3 раза ниже (p < 0,001), чем соответствующий показатель в группе сравнения (на 2-й нед) до уровня

Таблица 4

Динамика концентрации компонентов NO-системы в ткани опухоли

	NOS-3, нг/г ткани	NOS-2, нг/г ткани	Общий нитрит, мкМ/л	Аргинин, мкМ/г ткани	АДМА, мкМ/г ткани	L-цитруллин, мкМ/г ткани	Нитротиро- зин, нМ/г ткани
Кожа интактная, n=7	0,75 ± 0,07	1,1 ± 0,10	10,48 ± 0,9	44,6 ± 4,2	0,27 ± 0,02	8,2 ± 0,78	0,81 ± 0,07
Кожа на фоне боли (контроль), n=7	2,7 ± 0,02 p ₁ < 0,001	1,6 ± 0,14 p ₁ < 0,05	11,6 ± 1,1	25,7 ± 2,5 p ₁ < 0,01	0,15 ± 0,01 p ₁ < 0,001	7,6 ± 0,74	1,05 ± 0,09 0,1 > p ₁ > 0,05
1-я нед роста В16/F10							
Группа сравнения, n=22	опухоль отсутствует						
Основная группа, n=28	4,4 ± 0,41	4,23 ± 0,41	12,9 ± 1,2	28,5 ± 2,7	0,51 ± 0,05	9,8 ± 0,97	1,29 ± 0,12
2-я нед роста В16/F10							
Группа сравнения, n=22	1,14 ± 0,09 p ₁ < 0,01	2,18 ± 0,19 p ₁ < 0,001	26,1 ± 2,5 p ₁ < 0,001	49,4 ± 4,2	0,35 ± 0,032 p ₁ < 0,05	19,4 ± 1,7 p ₁ < 0,001	1,51 ± 0,14 p ₁ < 0,001
Основная группа, n=28	4,38 ± 0,43 p ₂ < 0,001	3,88 ± 0,37 p ₂ < 0,001	15,9 ± 1,48 p ₂ < 0,01	11,97 ± 1,1 p ₂ < 0,001	0,49 ± 0,048 p ₂ < 0,05	8,5 ± 0,84 p ₂ < 0,001	1,42 ± 0,13
3-я нед роста В16/F10							
Группа сравнения, n=22	3,7 ± 0,35 p ₁ < 0,001	3,1 ± 0,29 p ₁ < 0,001	12,95 ± 1,25	14,1 ± 1,35 p ₁ < 0,001	0,37 ± 0,036 p ₁ < 0,05	15,9 ± 1,48 p ₁ < 0,001	1,16 ± 0,10 p ₁ < 0,001
Основная группа, n=28	5,06 ± 0,49 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,05	3,8 ± 0,35 p ₁ < 0,001	14,1 ± 1,39	21,5 ± 2,1 p ₃ < 0,01	0,34 ± 0,031	13,7 ± 1,31 p ₁ < 0,01	1,06 ± 0,09

Пр и м е ч а н и е: статистически значимые различия: p₁ – относительно уровня в контроле – кожа животных с хронической болью, p₁ – относительно интактных животных, p₂ – относительно уровня на 2-й нед роста меланомы, p₃ – относительно уровня на 3-й нед роста меланомы.

в 5,2 раза выше ($p < 0,001$) соответствующего показателя на 3-й нед в группе сравнения. При этом на 3-й нед роста меланомы на фоне хронической боли концентрация эндотелина 1-38 в опухоли была в 3,1 раза ($p < 0,001$) выше, а эндотелина 1-21 — в 2,3 раза ($p < 0,001$) выше, чем их уровень в здоровой коже интактных животных.

При анализе динамики показателей функционирования NO-системы было выявлено, что на 1-3-й нед концентрация NOS-3 была стабильно более высокой, чем уровень ферментов в опухоли в группе сравнения на соответствующей нед (на 1–2-й нед – в 3,8 раза выше, на 3-й нед – выше на 36,8%). Концентрация NOS-2 была максимально повышена на 1-й нед – на 94%, а к 3-й нед снизилась до уровня показателя в группе сравнения. При этом концентрации обоих ферментов были в 6,7 раза и в 3,4 раза ($p < 0,001$) соответственно выше концентрации ферментов в здоровой коже интактных животных. Концентрация АДМА на 1–2-й нед была повышена в среднем на 47% ($p < 0,05$), а к 3-й нед она снижалась до уровня показателя в группе сравнения и показателя в здоровой коже интактных животных. Концентрация аргинина ко 2-й нед была снижена в 4,1 раза, а цитруллина в 2,3 раза ($p < 0,001$), чем соответствующие показатели в группе сравнения. При этом на 3-й нед концентрация аргинина выросла на 52,5% ($p < 0,01$) по сравнению с группой с ростом меланомы, в то время как концентрация цитруллина достигла уровня показателя в группе сравнения, что было на 67,1% ($p < 0,01$) выше уровня в здоровой коже интактных животных. Концентрация общего нитрита на 1–2-й нед была в среднем на 44,6% ниже чем соответствующий уровень в группе сравнения, однако на 3-й нед значимых изменений данного показателя выявлено не было. Также не было обнаружено значимых изменений концентраций нитротирозина по сравнению с соответствующими сроками в группе сравнения.

Таким образом, можно сказать, что в ткани меланомы В16 в процессе ее роста после стандартной перевивки динамика изменения изученных показателей была связана со значительной активацией функционирования NO-системы, что приводило к возникновению определённого уровня нитрозилирующего стресса, проявившегося в стойком увеличении концентрации нитротирозина в течение 2–3 нед. При этом динамика концентрации эндотелина-1, в частности активного эндотелина 1-21, была противоположно направлена — в начале роста опухоли увеличивалось количество активного эндотелина, а на 3-й нед, несмотря на увеличение концентрации проэндотелина, концентрация активного компонента снижалась, что свидетельствует об ингибировании активности специфического протеолиза до активного эндотелина 1-21.

При росте меланомы на фоне хронической боли в ткани опухоли происходит нарастание концентрации проэндотелина 1-38 и активного эндотелина 1-21 как по сравнению с обычным ростом меланомы, так и по сравнению с уровнем в здоровой коже интактных животных. В отличие от изменений, происходящих в непоражённой опухоли кожи, в ткани опухоли концентрация NO-синтаз значительно выше уровня показателей в группе сравнения и в здоровой коже интактных животных и не изменяется на протяжении

3 нед роста опухоли на фоне хронической боли, при этом концентрация ингибитора NO-синтаз АДМА сохраняется стабильно повышенной в течение 3 нед наблюдения. Следует обратить внимание на то, что при действии хронической боли на 1-й и 2-й нед роста опухоли наблюдается значительно более низкая концентрация аргинина в ткани меланомы, которая к 3-й нед возрастает, а также на отсутствие значимых изменений уровня нитротирозина в отличие от ткани опухоли при обычном росте меланомы. Таким образом, можно предположить, что хроническая боль способствует созданию условий активации системы эндотелина-1 и NO-системы.

Обсуждение

Уже длительное время большое внимание уделяется изучению роли регуляторных факторов, экспрессируемых эндотелием сосудов, в развитии различных патологических состояний организма. Среди них важное место занимают представители семейства эндотелинов, которые могут продуцироваться не только эндотелиальными клетками, но также и подлежащими гладкомышечными клетками, нейронами, астроцитами, тканевыми базофилами, меланоцитами и др. [11], в связи с чем эндотелины регулируют не только состояние самого эндотелия, но и активность различных клеток, находящихся в окружающей сосуды ткани, т. е. обладают аутокринными и паракринными свойствами.

Эндотелин-1 является самым распространённым в данном семействе пептидом, он быстро синтезируется под воздействием таких факторов, как гипоксия, ишемия, острый стресс [12]. Однако данный пептид обладает не только вазоконстрикторными свойствами. На животных моделях ноцицепции и в клинических исследованиях было показано, что он вовлечён в передачу боли — непосредственно активирует ноцицепторы и усиливает действие других альгогенов, включая капсаицин, формалин, арахидоновую кислоту. Показано, что эндотелин-1 участвует не только в нейропатической боли, но и в воспалительной боли, онкологической боли [9]. Эндотелин-1 и его рецепторы обнаруживаются на протяжении всего пути передачи болевых сигналов. В периферическом отделе рецепторы В-типа экспрессируются на эндотелиальных клетках, клетках гладкой мускулатуры, макрофагах и кератиноцитах в пределах дермы и эпидермиса кожи, где располагаются периферические окончания ноцицепторов [9].

Было показано, что эндотелин-1 и его мРНК гиперэкспрессируются во многих опухолях, таких как рак предстательной железы, молочной железы, желудка, толстой кишки и др. [13–15]. Кроме того, выявлена повышенная экспрессия эндотелиновых рецепторов, причем на разных опухолях преимущественно А- или В-типа [15–16]. Показано, что клетки меланомы экспрессируют эндотелиновые рецепторы В-типа [17]. Установлено, что эндотелин играет важную роль в заболеваниях кожи с гиперпигментацией – в образцах кожи людей была обнаружена повышенная экспрессия эндотелина-1 и рецепторов В-типа, при этом было обнаружено, что их активация приводит к стимуляции меланогенеза [18].

Активация аутокринной и паракринной сигнализации связыванием эндотелина-1 с его рецепторами оказывает плеiotропные эффекты на опухолевые клетки

и микроокружение, модулируя многие аспекты роста и прогрессирования опухолей, включая пролиферацию, ангиогенез, стромальную реакцию, эпителиально-мезенхимальный переход, апоптоз, инвазию, метастазирование и лекарственную устойчивость [19]. В исследовании Paraniolaou S. и соавт. (2017) было показано, что активация системы эндотелина-1 коррелировала с повышенным метастатическим потенциалом аденокарциномы предстательной железы и индуцировала эпителиально-мезенхимальный переход через активацию SNAIL-пути [20]. Wu M.H. и соавт. (2014), изучая хондросаркому, характеризующуюся высоким метастатическим потенциалом, показали, что эндотелин-1 был вовлечён в ангиогенез опухоли через сигнальные каскады ETAR, интегрин-связанных киназ ILK и Akt, которые, в свою очередь, активировали HIF-1 α , что приводило к активации экспрессии VEGF и способствовало ангиогенезу [21]. Shi L. и соавт. (2017) установили, что подавление экспрессии эндотелина-1 значительно ингибировало пролиферацию, миграцию клеток гепатоцеллюлярной карциномы и индуцировало остановку клеточного цикла и апоптоз [22]. Роль эндотелина-1 в качестве ингибитора апоптоза продемонстрирована и в работе Nelson J.V. и соавт. (2005). Авторы установили, что этот эффект, по крайней мере частично, опосредуется через семейство Bcl-2 [23].

Многолетние исследования показали, что между эндотелином-1 и оксидом азота существуют сложные неоднозначные взаимоотношения в процессе опухолевой прогрессии. Было показано, что активация эндотелином-1 рецепторов B-типа стимулирует увеличение активности NOS-3, вызывая вазорелаксирующий эффект. При этом было установлено, что при повышении уровня NO уменьшается секреция эндотелина-1 эндотелиальными клетками аорты [8].

Оксид азота, как и эндотелин-1, участвует в процессах, связанных с выживанием опухолевых клеток, их пролиферацией, инвазией, ангиогенезом, реализуя проопухолевые эффекты через регулирование экспрессии и активности NO-синтаз. Установлена важная роль NO в процессах ангиогенеза и лимфангиогенеза, а также его тесная взаимосвязь с метастазированием. Известно, что сигнальный путь VEGFA стимулирует образование NO, увеличивая экспрессию и активность NOS-3 в различных опухолях. Это указывает на то, что ангиогенный эффект VEGFA опосредуется действием оксида азота [24–25]. Установлено, что действие VEGFC также связано со стимуляцией эндотелиальной NOS-3: было показано, что ингибирование NOS-3 приводит к уменьшению количества опухолевых клеток, достигающих сторожевого лимфатического узла, и, таким образом, снижает вероятность образования макроскопических метастазов [26]. Показано участие в процессе ангиогенеза факторов EGF, COX-2, ANGPTL4, опосредованное активацией транскрипции индуцибельной NOS-2. Причем установлено, что в разных опухолях эффект активации NOS-2 был различным – у пациентов с меланомой наблюдалось снижение выживаемости при повышенной экспрессии NOS-2, в отличие от пациентов с раком молочной железы [25].

Другой важной программой, осуществляемой опухолевыми клетками в процессе метастазирования является эпителиально-мезенхимальный переход, который также подвержен эффектам NO, как и

регуляция матричных металлопротеиназ, контролирующих ремоделирование внеклеточного матрикса и процесс метастазирования [25, 27].

Однако результаты работы Saleh A. и соавт. по изучению возможных связей между генами, связанными с ангиогенезом, в частности NOS-3, и уровнем экспрессии VEGFA у здоровых людей подтверждают гипотезу о том, что в физиологических условиях существуют сложные генетические взаимосвязи между такими процессами, как ангиогенез, воспаление, проявляющиеся в существовании функционально связанных с ангиогенезом полиморфизмов генов [7]. Авторами подчеркивается необходимость учитывать существование таких сложных взаимодействий между различными факторами роста, в частности VEGF, и связанными с ними генами при интерпретации результатов, полученных при исследовании таких сложных хронических патологических процессов, как рак, диабет, сердечно-сосудистые патологии.

Анализируя полученные нами результаты можно прийти к выводу, что при росте меланомы B16/F10 после стандартной перевивки нарастание в коже уровня эндотелина-1 и активности NO-системы может способствовать активации процессов неоангиогенеза. При этом значительно сниженный уровень L-аргинина на 2-й нед опухолевого роста может свидетельствовать об активации метаболизма аргинина, связанного с аргиназой, с образованием пролина, полиаминов, что может способствовать усилению процессов ремоделирования коллагенового матрикса и, следовательно, подготавливать условия для неоангиогенеза и метастазирования опухоли. Наблюдаемый в опухоли повышенный уровень эндотелина-1 и NO-синтаз, и изменение их соотношения к 3-й нед роста опухоли, вероятно, может участвовать в стимуляции процессов меланогенеза, пролиферации, метастазирования. Значительная активация NO-системы по мере роста опухоли приводила к возникновению определённого уровня нитрозилирующего стресса, проявившегося стойким увеличением концентрации нитротирозина.

Развитие хронической боли, сопровождающееся снижением уровня вазоконстриктора эндотелина-1 и активацией NO-системы, выраженной в увеличении уровня индуцибельной NOS-2, эндотелиальной NOS-3, в снижении концентрации L-аргинина и их эндогенного ингибитора АДМА, вероятно, способствует формированию в коже мышей контрольной группы состояния воспаления. Некоторое увеличение концентрации нитротирозина может свидетельствовать о повышении уровня токсичного пероксинитрита. Установлено, что такие условия могут вызывать ингибирование T-клеточного ответа [28–31]. В связи с этим можно предположить, что состояние хронической боли может способствовать развитию в коже состояния иммунологической толерантности к опухолевым антигенам, вносимым в виде клеток перевиваемой меланомы B16/F10, что может быть одной из причин показанного нами более раннего появления подкожных опухолей у мышей с ростом меланомы на фоне хронической боли [6].

Заключение

Состояние хронической боли способствует формированию условий, не только облегчающих выживание опухолевых клеток, но и благоприятствующих дальнейшему развитию меланомы. Нарастание

уровня эндотелина-1 как в коже, так и в опухоли на протяжении 3 нед наблюдения, и стабильно повышенный уровень NO-синтаз в опухоли может способствовать стимуляции процессов эпителиально-мезенхимального перехода, усиления инвазивности опухоли, гемангио- и лимфангиогенеза. Наблюдаемый в условиях роста опухоли на фоне хронической боли стабильно повышенный уровень АДМА и его снижение к 3-й нед может свидетельствовать о более тонком контроле уровня NO, обеспечивающего повышенную инвазивность меланомы.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Данилов А.Б., Давыдов О.С. Эпидемиология нейропатической боли. *Ж. Боль.* 2007; 17 (4): 12–16.
2. Яхно Н.Н., Кукушкин М.Л., Давыдов О.С., Данилов А.Б., Амелин А.В., Куликов С.М. Результаты Российского эпидемиологического исследования распространенности нейропатической боли, ее причин и характеристик в популяции амбулаторных больных, обратившихся к врачу-неврологу. *Ж. Боль.* 2008; 18 (3): 24–32.
3. Worldwide palliative care alliance (WPCA); World Health Organization. 2015. www.who.int/nmh/Global_Atlas_of_Palliative_Care.pdf
4. Paice J.A., Bell R.F., Kalso E.A., Soyannwo O.A. *Cancer Pain. From Molecules to Suffering.* IASP Press. Seattle; 2010.
5. Кукушкин М.Л. Этиопатогенетические принципы лечения хронической боли. *Русский мед. журнал.* 2007; 15 (10): 827–32.
6. Кит О.И., Францианц Е.М., Котиева И.М., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Бандовкина В.А. и др. Некоторые механизмы повышения злокачественности меланомы на фоне хронической боли у самок мышей. *Российский журнал боли.* 2017; 53 (2): 14–20.
7. Saleh A., Stathopoulou M.G., Dadé S., Ndiaye N.C., Azimi-Nezhad M., Murray H. et al. Angiogenesis related genes NOS3, CD14, MMP3 and IL4R are associated to VEGF gene expression and circulating levels in healthy adults. *BMC Med Genet.* 2015. doi: 10.1186/s12881-015-0234-6.
8. Lankhorst S., Danser A.H., van den Meiracker A.H. Endothelin-1 and antiangiogenesis. *Am. J. Physiol Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2016, 310 (3):230–4. doi: 10.1152/ajpregu.00373.2015.
9. Smith T.P., Haymond T., Smith S.N., Sweitzer S.M. Evidence for the endothelin system as an emerging therapeutic target for the treatment of chronic pain. *Journal of pain research.* 2014; (7): 531–4.
10. Yang Y., Zhang J., Liu Y., Zheng Y., Bo J., Zhou X. et al. Role of nitric oxide synthase in the development of bone cancer pain and effect of L-NMMA. *Mol. Med. Rep.* 2016, 13(2):1220-1226. doi: 10.3892/mmr.2015.4647.
11. Koschimbahr A.M. von, Swope V.B., Starner R.J., Abdel-Malek Z.A. Endothelin-1 protects human melanocytes from UV-induced DNA damage by activating JNK and p38 signaling pathways. *Exp. Dermatol.* 2015. doi: 10.1111/exd.12638.
12. Willey K.E., Davenport A.P. Nitric oxide-medulation of the endothelin-1 signaling pathway in the human cardiovascular system. *Brit. J. Pharmacology.* 2001; 132: 213–20.
13. Pirtskhalaishvili G., Nelson J.B. Endothelium-derived factors as paracrine mediators of prostate cancer progression. *Prostate.* 2000; 44 (1): 77–87.
14. Lalich M., McNeel D.G., Wilding G., Liu G. Endothelin receptor antagonists in cancer therapy. *Cancer Invest.* 2007; 25 (8): 785–94.
15. Rossanò L., Spinella F., Bagnato A. Endothelin 1 in cancer: bio-

logical implications and therapeutic opportunities. *Nat. Rev. Cancer.* 2013a; 13: 637–51.

16. Davenport A.P. Hyndman K.A., Dhaun N., Southan C. et al. Endothelin. *Pharmacological reviews.* 2016; 68 (2): 357–418.
17. Bagnato A., Rosanò L., Spinella F., Di Castro V., Tecce R., Natali P.G. Endothelin B receptor blockade inhibits dynamic of cell interactions and communications in melanoma cell progression. *Cancer Research.* 2004; 64: 1436–43.
18. Murase D. Cooperation of endothelin-1 signaling with melanosomes plays a role in developing and/or maintaining human skin hyperpigmentation *Biol. Open.* 2015; 4 (10): 1213–21.
19. Irani S., Salajegheh A., Smith R.A., Lam A.K. A review of the profile of endothelin axis in cancer and its management. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2014; 89: 314–21.
20. Papanikolaou S., Bravou V., Papadaki H., Gyftopoulos K. The role of the endothelin axis in promoting epithelial to mesenchymal transition and lymph node metastasis in prostate adenocarcinoma. *Urol. Ann.* 2017, 9(4):372-379. doi: 10.4103/UA.UA_43_17.
21. Wu M.H., Huang C.Y., Lin J.A., Wang S.W., Peng C.Y., Cheng H.C., Tang C.H. Endothelin-1 promotes vascular endothelial growth factor-dependent angiogenesis in human chondrosarcoma cells. *Oncogene.* 2014; 33 (13): 1725–35. doi: 10.1038/onc.2013.109.
22. Shi L., Zhou S.S., Chen W.B., Xu L. Functions of endothelin-1 in apoptosis and migration in hepatocellular carcinoma. *Exp. Ther. Med.* 2017, 13(6):3116-3122. doi: 10.3892/etm.2017.4314.
23. Nelson J.B., Udan M.S., Guruli G., Pflug B.R. Endothelin-1 inhibits apoptosis in prostate cancer. *Neoplasia.* 2005; 7 (7): 631–7.
24. Lankhorst S., Kappers M.H., van Esch J.H., Danser A.H., van den Meiracker A.H. Hypertension during vascular endothelial growth factor inhibition: focus on nitric oxide, endothelin-1, and oxidative stress. *Antioxid. Redox Signal.* 2014; 20 (1): 135–45. doi: 10.1089/ars.2013.5244.
25. Vahora H., Khan M.A., Alalami U., Hussain A. The Potential Role of Nitric Oxide in Halting Cancer Progression Through Chemoprevention. *J. Cancer Prev.* 2016; 21 (1): 1-12. doi: 10.15430/JCP.2016.21.1.1. Epub 2016 Mar 30.
26. Lahdenranta J., Hagendoorn J., Padera T.P., Hoshida T., Nelson G., Kashiwagi, S. Endothelial nitric oxide synthase mediates lymphangiogenesis and lymphatic metastasis. *Cancer Res.* 2009; 69: 2801–8.
27. Ridnour L.A., Windhausen A.N., Isenberg J.S., Yeung N., Thomas D.D., Vitek M.P. Nitric oxide regulates matrix metalloproteinase-9 activity by guanylyl-cyclase-dependent and -independent pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2007; 104: 16898–903.
28. Mazzoni A., Bronte V., Visintin A., Spitzer J.H., Apolloni E., Serafini P. et al. Myeloid suppressor lines inhibit T-cell responses by an NO-dependent mechanism. *J. Immunol.* 2002; 168: 689–95.
29. Nagaraj S., Gupta K., Pisarev V., Kinarsky L., Sherman S., Kang L. et al. Altered recognition of antigen is a mechanism of CD8+ T-cell tolerance in cancer. *Nat. Med.* 2007; (13): 828–35.
30. Rodriguez P.C., Quiceno D.G., Ochoa A.C. L-arginine availability regulates T-lymphocyte cell-cycle progression. *Blood.* 2007; 109: 1568–73.
31. Viola A., Bronte V. Metabolic mechanisms of cancer-induced inhibition of immune responses. *Semin. Cancer Biol.* 2007; 17(4): 309–16.

REFERENCES

1. Danilov A.B., Davydov O.S. Epidemiology of Neuropathic Pain. *J. Bol'.* 2007; 17 (4): 12–6.
2. Jahno N.N., Kukushkin M.L., Davydov O.S., Danilov A.B., Amelin A.V., Kulikov S.M. The results of the Russian epidemiological study of the prevalence of neuropathic pain, its causes and characteristics in a population of outpatients who consulted a neurologist. *J. Bol'.* 2008; 18 (3): 24–32.
3. Worldwide palliative care alliance (WPCA); World Health Or-

- ganization 2015. www.who.int/nmh/Global_Atlas_of_Palliative_Care.pdf
4. Paice J.A., Bell R.F., Kalso E.A., Soyannwo O.A. *Cancer Pain. From Molecules to Suffering*. IASP Press. Seattle; 2010.
 5. Kukushkin M.L. Etiopathogenetic principles of chronic pain management. *Rus.med. J.* 2007; 15 (10): 827–32.
 6. Kit O.I., Frantsiyants E.M., Kotieva I.M., Kaplieva I.V., Trepitaki L.K., Bandovkina V.A. *in dr*. Some mechanisms for increasing malignancy of melanoma against the background of chronic pain in female mice. *Ross.j.boli.* 2017; 53 (2): 14–20.
 7. Saleh A., Stathopoulou M.G., Dadé S., Ndiaye N.C., Azimi-Nezhad M., Murray H. et al. Angiogenesis related genes NOS3, CD14, MMP3 and IL4R are associated to VEGF gene expression and circulating levels in healthy adults. *BMC Med. Genet.* 2015. doi: 10.1186/s12881-015-0234-6.
 8. Lankhorst S., Danser A.H., van den Meiracker A.H. Endothelin-1 and antiangiogenesis. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp Physiol.* 2016, 310(3):230-234. doi: 10.1152/ajpregu.00373.2015.
 9. Smith T.P., Haymond T., Smith S.N., Sweitzer S.M. Evidence for the endothelin system as an emerging therapeutic target for the treatment of chronic pain. *Journal of pain research.* 2014; (7): 531–4.
 10. Yang Y., Zhang J., Liu Y., Zheng Y., Bo J., Zhou X. et al. Role of nitric oxide synthase in the development of bone cancer pain and effect of L-NMMA. *Mol. Med. Rep.* 2016, 13(2):1220-1226. doi: 10.3892/mmr.2015.4647.
 11. Koschembahr A.M. von, Swope V.B., Starner R.J., Abdel-Malek Z.A. Endothelin-1 protects human melanocytes from UV-induced DNA damage by activating JNK and p38 signaling pathways. *Exp. Dermatol.* 2015. doi: 10.1111/exd.12638.
 12. Willey K.E., Davenport A.P. Nitric oxide-medulation of the endothelin-1 signaling pathway in the human cardiovascular system. *Brit. J. Pharmacology.* 2001; 132: 213–20.
 13. Pirtskhalaishvili G., Nelson J.B. Endothelium-derived factors as paracrine mediators of prostate cancer progression. *Prostate.* 2000; 44 (1): 77–87.
 14. Lalich M., McNeel D.G., Wilding G., Liu G. Endothelin receptor antagonists in cancer therapy. *Cancer Invest.* 2007; 25 (8): 785–94.
 15. Rosanò L., Spinella F., Bagnato A. Endothelin 1 in cancer: biological implications and therapeutic opportunities. *Nat. Rev. Cancer.* 2013a, 13:637–651.
 16. Davenport A.P., Hyndman K.A., Dhaun N., Southan C. et al. Endothelin. *Pharmacological reviews.* 2016; 68 (2): 357–418.
 17. Bagnato A., Rosanò L., Spinella F., Di Castro V., Tecce R., Natali P.G. Endothelin B receptor blockade inhibits dynamic of cell interactions and communications in melanoma cell progression. *Cancer Research.* 2004; 64: 1436–43.
 18. Murase D. Cooperation of endothelin-1 signaling with melanocytes plays a role in developing and/or maintaining human skin hyperpigmentation. *Biol. Open.* 2015; 4 (10): 1213–21.
 19. Irani S., Salajegheh A., Smith R.A., Lam A.K. A review of the profile of endothelin axis in cancer and its management. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2014; 89: 314–21.
 20. Papanikolaou S., Bravou V., Papadaki H., Gyftopoulos K. The role of the endothelin axis in promoting epithelial to mesenchymal transition and lymph node metastasis in prostate adenocarcinoma. *Urol. Ann.* 2017; 9 (4): 372–9. doi: 10.4103/UA.UA_43_17.
 21. Wu M.H., Huang C.Y., Lin J.A., Wang S.W., Peng C.Y., Cheng H.C., Tang C.H. Endothelin-1 promotes vascular endothelial growth factor-dependent angiogenesis in human chondrosarcoma cells. *Oncogene.* 2014; 33 (13): 1725–35. doi: 10.1038/onc.2013.109.
 22. Shi L., Zhou S.S., Chen W.B., Xu L. Functions of endothelin-1 in apoptosis and migration in hepatocellular carcinoma. *Exp. Ther. Med.* 2017; 13 (6): 3116–22. doi: 10.3892/etm.2017.4314.
 23. Nelson J.B., Udan M.S., Guruli G., Pflug B.R. Endothelin-1 inhibits apoptosis in prostate cancer. *Neoplasia.* 2005; 7 (7): 631–7.
 24. Lankhorst S., Kappers M.H., van Esch J.H., Danser A.H., van den Meiracker A.H. Hypertension during vascular endothelial growth factor inhibition: focus on nitric oxide, endothelin-1, and oxidative stress. *Antioxid. Redox Signal.* 2014; 20 (1): 135–45. doi: 10.1089/ars.2013.5244.
 25. Vahora H., Khan M.A., Alalami U., Hussain A. The Potential Role of Nitric Oxide in Halting Cancer Progression Through Chemoprevention. *J. Cancer Prev.* 2016, 21(1):1-12. doi: 10.15430/JCP.2016.21.1.1. Epub 2016 Mar 30.
 26. Lahdenranta J., Hagendoorn J., Padera T.P., Hoshida T., Nelson G., Kashiwagi, S. Endothelial nitric oxide synthase mediates lymphangiogenesis and lymphatic metastasis. *Cancer Res.* 2009; 69: 2801–8.
 27. Ridnour L.A., Windhausen A.N., Isenberg J.S., Yeung N., Thomas D.D., Vitek M.P. Nitric oxide regulates matrix metalloproteinase-9 activity by guanylyl-cyclase-dependent and -independent pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2007; 104: 16898–903.
 28. Mazzoni A., Bronte V., Visintin A., Spitzer J.H., Apolloni E., Serafini P. et al. Myeloid suppressor lines inhibit T-cell responses by an NO-dependent mechanism. *J. Immunol.* 2002; 168: 689–95.
 29. Nagaraj S., Gupta K., Pisarev V., Kinarsky L., Sherman S., Kang L. et al. Altered recognition of antigen is a mechanism of CD8+ T-cell tolerance in cancer. *Nat. Med.* 2007; (13): 828–35.
 30. Rodriguez P.C., Quiceno D.G., Ochoa A.C. L-arginine availability regulates T-lymphocyte cell-cycle progression. *Blood.* 2007; 109: 1568–173.
 31. Viola A., Bronte V. Metabolic mechanisms of cancer-induced inhibition of immune responses. *Semin Cancer Biol.* 2007; 17 (4): 309–16.

Поступила 20.04.2018
Принята к печати 25.06.2018