



ВЛИЯНИЕ НОКАУТА ПО ГЕНУ УРОКИНАЗЫ У МЫШЕЙ C57BL/6-PLAUTM1.IBUGTHISPLAU6FDHU/ GFDHU НА ФАКТОРЫ РОСТА ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ МЕЛАНОМЕ

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

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

Резюме

Цель исследования. Изучить особенности динамики факторов роста в условно здоровой коже, опухоли и перифокальной зоне меланомы у мышей с нокаутом по урокиназе (uPA).

Материалы и методы. Исследование проведено на разнополых мышах линий C57 BL/6 ($n=47$) и C57BL/6-Plautm1.1BugThisPlauGFDhu/GFDhu – с нокаутом по uPA ($n=31$). Меланому B16/F10 перививали под кожу в дозе 0,5 мл (1:10 в физ. растворе). Контроль – интактные мыши соответствующей линии. В коже, опухоли и перифокальной зоне, выделенных на 21-й день роста опухоли, методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли уровни VEGFA, VEGFC, sVEGFR1, sVEGFR3, IGF1, IGF2, TGFβ1 и FGF21.

Результаты. Нокаут по uPA замедлял рост (больше у самок) и метастазирование (больше у самцов) меланомы у мышей. Тормозить миграцию злокачественных клеток у самцов мог низкий уровень TGF-β1 – меньший, чем у мышей линии C57BL/6: в коже – в 5,0 раз, в опухоли – в 1,8 раза, в перифокальной зоне – в 6,1 раза. У самок с нокаутом по uPA меньшая, чем у самцов, редукция TGF-β1 в опухоли (в 1,4 раза) ограничивала метастазирование, но полностью его не подавляла – регистрировались единичные очаги в легких. Высокая концентрация IGF1 в тканях у всех мышей с нокаутом по uPA: у самцов в опухоли – в 1,4 раза, в перифокальной зоне – в 2,6 раза, в коже – в 3,6 раза, у самок в опухоли – в 2,6 раза, в перифокальной зоне – в 25,0 раз, в коже – в 13,9 раза по сравнению с мышами линии C57 BL/6 могла поддерживать метастатический фенотип раковых клеток (у самок) или большую пролиферативную активность клеток меланомы (у самцов). Низкий уровень FGF-21 в опухоли (у самцов – в 5,3 раза, у самок – в 18,4 раза), перифокальной зоне (у самцов – в 9,6 раза, у самок – в 8,5 раза) и коже (у самцов – в 6,7 раза, у самок – в 3,3 раза) у животных с нокаутом по uPA мог быть обусловлен ростом IGF-1, поскольку известно об их реципрокном взаимодействии. Неожиданным оказалось значительное, хотя и меньшее, чем у мышей с нормальным генотипом, накопление VEGFA в ткани меланомы: у самцов в опухоли – в 44,9 раза, в перифокальной зоне – в 6,8 раза, в коже – в 2,4 раза, у самок в опухоли – в 5,6 раза, в перифокальной зоне – в 2,6 раза, в коже – в 3,3 раза по сравнению с соответствующим интактным контролем вследствие вероятного участия рецептора uPA (uPAR) в реализации VEGF-индуцированных процессов.

Заключение. Нокаут по гену uPA, изменяя активность системы ряда ростовых факторов, модифицирует метаболизм меланомы, замедляя ее рост и устраняя или снижая ее метастатическую активность.

Ключевые слова:

мыши, нокаут по гену uPA, меланома, факторы роста, опухоль, перифокальная зона, половые особенности

Оформление ссылки для цитирования статьи

Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Нескубина И.В., Бандовкина В.А., Трепитаки Л.К., Сурикова Е.И., Черярина Н.Д., Немашкалова Л.А., Лесовая Н.С. Влияние нокаута по гену урокиназы у мышей C57BL/6-Plautm1.1BugThisPlau6FDhu/ GFDhu на факторы роста при злокачественной меланоме. Исследования и практика в медицине. 2020; 7(1): 25-37. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2020-7-1-3>

Для корреспонденции

Сурикова Екатерина Игоревна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63
E-mail: sunsur2000@mail.ru
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4318-7587>
SPIN: 2401-4115

Информация о финансировании. Финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 09.04.2019, принята к печати 02.02.2020, опубликована 13.03.2020.

INFLUENCE OF UROKINASE GENE-KNOCKOUT IN C57BL/6-PLAUTMI. IBUGTHISPLAU6FDHU/GFDHU MICE ON GROWTH FACTORS IN MALIGNANT MELANOMA

Elena M. Frantsiyants, Irina V. Kaplieva, Irina V. Neskubina, Valeriya A. Bandovkina, Lidiya K. Trepitaki, Ekaterina I. Surikova*, Natalya D. Cheryarina, Lyudmila A. Nemashkalova, Natalya S. Lesovaya

National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia,
63 14 line, Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

Abstract

Purpose of the study. Studying characteristics of the growth factor dynamics in the intact skin, tumors and perifocal tissues of melanoma in urokinase (uPA) gene-knockout mice.

Materials and methods. The study included male and female C57 BL/6 mice ($n=47$) and C57BL/6-Plautm1.1BugThisPlau6FDhu/GFDhu mice with uPA gene-knockout ($n=31$). B16/F10 melanoma was transplanted subcutaneously at a dose of 0.5 mL (1:10 in normal saline). Intact mice of the same strain served as controls. Levels of VEGFA, VEGFC, sVEGFR1, sVEGFR3, IGF1, IGF2, TGF β 1 and FGF21 were determined by ELISA in the skin, tumor and perifocal tissues isolated on the 21st day of the tumor growth.

Results. uPA gene-knockout inhibited the growth (mostly in females) and metastasis (predominantly in males) of melanoma in mice. Inhibition of the migration of malignant cells in males could be due to low levels of TGF- β 1 compared to C57 BL/6 mice: in the skin – by 5.0 times, in tumors – by 1.8 times and in perifocal tissues – by 6.1 times. In uPA gene-knockout females, lower levels of TGF- β 1 were observed in tumors – by 1.4 times inhibited metastasis, but not completely, and solitary metastatic foci were registered in the lungs. High levels of IGF1 in tissues of all uPA gene-knockout mice (males: in tumors by 1.4 times, in perifocal tissues by 2.6 times, in the skin by 3.6 times; females: in tumors by 2.6 times, in perifocal tissues by 25.0 times, in the skin by 13.9 times, compared to C57 BL/6 mice) could maintain the metastatic phenotype of cancer cells (in females) or higher proliferative activity of melanoma cells (in males). Lower levels of FGF-21 in tumors (males – by 5.3 times, females – by 18.4 times), perifocal tissues (males – by 9.6 times, females – by 8.5 times) and skin (males – by 6.7 times, females – by 3.3 times) in uPA gene-knockout animals could be due to the IGF-1 growth, as their reciprocal interaction is known. Interestingly, a significant, although lesser than in mice with a normal genotype, accumulation of VEGFA in melanoma tissues was observed: in males – in tumors by 44.9 times, in perifocal tissues by 6.8 times, in the skin by 2.4 times; in females – in tumors by 5.6 times, in perifocal tissues by 2.6 times, in the skin by 3.3 times, compared to the corresponding intact controls, due to the probable involvement of the uPA receptor (uPAR) in the implementation of VEGF-induced processes.

Conclusion. Changing the activity of a system of some growth factors, uPA gene-knockout modifies melanoma metabolism by inhibiting its growth and eliminating or reducing its metastatic activity.

Keywords:

mice, uPA gene-knockout, melanoma, growth factors, tumor, perifocal area, gender differences

For citation

Frantsiyants E.M., Kaplieva I.V., Neskubina I.V., Bandovkina V.A., Trepitaki L.K., Surikova E.I., Cheryarina N.D., Nemashkalova L.A., Lesovaya N.S. Influence of urokinase gene-knockout in C57BL/6-Plautm1.1BugThisPlau6FDhu/GFDhu mice on growth factors in malignant melanoma. Research and Practical Medicine Journal (Issled. prakt. med.). 2020; 7(1): 25-37. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2020-7-1-3>

For correspondence

Ekaterina I. Surikova – Cand. Sci. (Biol.), senior researcher of the laboratory for the study of pathogenesis of malignant tumors of National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Address: 63 14 line, Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: sunsur2000@mail.ru

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4318-7587>

SPIN: 2401-4115

Information about funding. No funding of this work has been held.

Conflict of interest. Authors report no conflict of interest.

Submitted 09.04.2019, accepted for publication 02.02.2020, published 13.03.2020.

Изучение различных аспектов онкологической патологии часто осуществляется на моделях злокачественного роста, воспроизведённых на мышах. Традиционными моделями являются иммунокомпетентные и иммунодефицитные мыши с сингенными и ксеногенными опухолями, трансплантированными подкожно или ортотопически. Эти модели и до сих пор широко задействуются в различных видах исследований. Однако в настоящее время все более актуальным становится изучение связи между генами, предположительно участвующими в неопластических процессах, и канцерогенезом, что не только помогает дополнить информацию о патогенезе различных злокачественных заболеваний, но и нацеливает на разработку новых лекарственных препаратов для их лечения. В решении этих задач онкологам приходят на помощь генетически модифицированные животные, у которых онкогены могут быть конститутивно или условно экспрессированы, а гены-супрессоры опухолей могут быть подавлены с использованием традиционных методов, таких как ретровирусная инфекция, микроинъекция ДНК-конструкций и так называемый «направленный на гены» трансгенный подход. Экспериментальные модели, основанные на изменении генетической информации животных, очень важны в исследованиях канцерогенеза [1].

Ключевой механизм, лежащий в основе туморогенеза, включает сочетание усиленной пролиферации клеток и подавления апоптотической гибели клеток [2]. «Активатор плазминогена типа урокиназы», или просто «урокиназа» (uPA), является ключевой сериновой протеазой, участвующей в превращении неактивного плазминогена в активный плазмин, который, в свою очередь, функционирует в ряде событий канцерогенеза. Продемонстрировано участие системы uPA-uPAR в прогрессировании опухолей, в частности, у мышей с дефицитом uPA замедлялся рост неоплазм и уменьшалось метастазирование во внутренние органы [3, 4, 5]. Subramanian et al. (2006) показали, что РНК-опосредованное ингибирование как uPA, так и uPAR одновременно запускает апоптоз в клетках рака молочной железы через активацию различных белков каспазы [6]. Было установлено, что компоненты системы uPA могут увеличивать пролиферацию клеток посредством протеолитической активации различных типов факторов роста, таких как фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), эпидермальный фактор роста (EGF), фактор роста фибробластов-2 (FGF-2) и трансформирующий фактор роста β (TGF- β), а также молекул адгезии, таких как интегрины $\alpha 5 \beta 1$ [2, 7, 8].

Система ростовых факторов, помимо прочих специфических функций, участвует в построении сосу-

дистой сети опухоли – сложного и скоординированного процесса неоангиогенеза. Центральными звеньями гемангио- и лимфангиогенеза являются члены семейства VEGF [9, 10]. Вместе с тем особый интерес при злокачественном росте представляют факторы «запуска» ангиогенеза: FGF, TGF- β и инсулиноподобные факторы роста – IGF1 и IGF2 [11, 12].

Цель исследования: изучить особенности динамики факторов роста в условно здоровой коже, опухоли и перифокальной зоне меланомы у мышей с нокаутом по гену *uPA*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Мыши линии C57 BL/6 обоего пола ($n=47$) с начальной массой 21–23 г были получены из филиала «Андреевка» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА РФ (Московская область). Эти животные составили 1-ю группу.

Мыши линии C57BL/6-Plautml.1Bug-ThisPlau6FDhu/GFDhu обоего пола ($n=31$) с начальной массой у самок – 24–26 г, у самцов – 31–33 г были получены из питомника лабораторных животных филиала ФГБУН «Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова» РАН (г. Пущино, Московская область). Характеристика животных линии C57BL/6-Plautml.1BugThisPlauGFDhu/GFDhu: окраска шерсти – черная, метод модификации – целевая мутация (нокаут) с получением белка (uPA), неспособного связываться с рецептором активатора плазминогена урокиназного типа. Животные-мутанты могут использоваться в исследованиях хронического воспаления ткани, механизмов фибринолиза, онкогенеза и роста сосудов в тканях. Эти животные составили 2-ю группу.

Все мыши из 1-й и 2-й групп были разделены на две подгруппы в каждой группе: интактный контроль и основные группы (мыши со стандартной перевивкой меланомы B16/F10 под кожу). Количество мышей в контрольных подгруппах линии C57 BL/6 составило: самцов – 10, самок – 10, линии C57BL/6-Plautml.1Bug-ThisPlau6FDhu/GFDhu: самцов – 8, самок – 8; в основных подгруппах линии C57 BL/6: самцов – 15, самок – 12, линии C57BL/6-Plautml.1Bug-ThisPlau6FDhu/GFDhu: самцов – 7, самок – 8 особей. 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».

В работе использовали клеточную линию мышинной меланомы B16/F10, полученную из ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» МЗ РФ (Москва). Всем мышам меланому перевивали одномоментно подкожно по 0,5 мл в разведении 1:10 в физиологическом растворе по общепринятой методике [13]. Опухолевый материал для перевивки брали от мышей-доноров линии C57 BL/6 (3 пассаж). Известно, что при стандартной подкожной перевивке опухоль появляется в 100% случаев и на 12–16-е сутки роста метастазирует в легкие, печень и селезенку. Клеточная популяция меланомы B16/F10 гетерогенна, включает как фрагменты с незначительным содержанием меланина, так и выраженные пигментированные участки. Пролиферативный пул опухоли составляет 71,6%. Модальный класс опухоли насчитывает 40 хромосом. Материал для перевивки меланомы B16/F10 получали от мышей-доноров на 12–16-е сутки развития опухолей. За объем опухоли принимали произведение трех взаимно перпендикулярных ее размеров (длины, ширины и высоты), измеренных в сантиметрах штангенциркулем.

Через 3 нед. после перевивки животных декапитировали и на льду выделяли опухоль, перифокальную зону и кожу. Из тканей получали 10% цитозольные фракции, приготовленные на 0,1 М

калий-фосфатном буфере pH 7.4, содержащем 0,1% Твин-20 и 1% БСА (бычий сывороточный альбумин), в которых с помощью стандартных тест-систем методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли уровни VEGF-A, VEGF-C, sVEGF-R1, sVEGF-R3, IGF1, IGF2, TGF- β 1 (CUSABIO BIOTECH Co., Ltd., Китай) и FGF21 (BioVender, Чехия).

Статистическую обработку результатов проводили в программе Statistica 10.0, представляя числовые данные в виде «среднее значение $\pm$ стандартная ошибка». Значимость различий оценивали с помощью параметрического t-критерия Стьюдента и непараметрического критерия Вилкоксона–Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия между двумя выборками при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Содержание и активность uPA в коже самцов мышей линии C57 BL/6 были равны $215,3 \pm 16,8$ нг/г ткани и $1,6 \pm 0,1$ ед/г ткани соответственно, линии C57 BL/6-Plautml. IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu – $0,2 \pm 0,02$ нг/г ткани и $0,01 \pm 0,001$ ед/г ткани соответственно. Содержание и активность uPA в коже самок мышей линии C57 BL/6 были равны $31,7 \pm 2,1$ нг/г ткани и $1,6 \pm 0,1$ ед/г ткани соответственно, линии

Таблица 1. Содержание ростовых факторов в тканях мышей-самцов C57BL/6 с меланомой
Table 1. The content of growth factors in tissues of male mice C57BL/6 with melanoma

Показатели / Indicators	Кожа интактных мышей / Skin of intact mice	Мыши с меланомой B16/F10 / Mice with melanoma B16/F10		
		Кожа / Skin	Опухоль / Tumor	Перифокальная зона опухоли / Perifocal area of the tumor
VEGF-A (нг/г ткани) / VEGF-A (pg/g of the tissue)	$209,1 \pm 15,1$	$348,2 \pm 24,0^*$	$12933,9 \pm 600^{*,\kappa}$	$5210,3 \pm 232,0^{*,\kappa, \circ}$
sVEGF-R1 (нг/г ткани) / sVEGF-R1 (ng/g of the tissue)	$1,5 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,1^*$	$38,6 \pm 1,2^{*,\kappa}$	$7,4 \pm 0,54^{*,\kappa, \circ}$
VEGF-C (нг/г ткани) / VEGF-C (pg/g of the tissue)	$6,5 \pm 1,3$	$5,5 \pm 0,8$	$161,9 \pm 24,5^{*,\kappa}$	$106,9 \pm 16,7^{*,\kappa}$
sVEGF-R3(нг/г ткани) / sVEGF-R3 (ng/g of the tissue)	$15,2 \pm 1,4$	$5,9 \pm 0,6^*$	$5,9 \pm 0,6^*$	$15,4 \pm 0,6^{\kappa, \circ}$
IGF-I(нг/г ткани) / IGF-I (ng/g of the tissue)	$14,9 \pm 1,3$	$16,4 \pm 1,6$	$41,2 \pm 4,1^{*,\kappa}$	$14,9 \pm 1,3^{\circ}$
IGF-II (нг/г ткани) / IGF-II (ng/g of the tissue)	$10,4 \pm 0,9$	$9,3 \pm 0,9$	$13,9 \pm 1,2$	$10,7 \pm 0,8$
TGF- β 1 (нг/г ткани) / TGF- β 1 (ng/g of the tissue)	$1,5 \pm 0,2$	$3,0 \pm 0,3^*$	$3,0 \pm 0,3^*$	$4,3 \pm 0,4^*$
FGF-21 (нг/г ткани) / FGF-21 (ng/g of the tissue)	$405,1 \pm 34,2$	$784,6 \pm 66,8^*$	$784,6 \pm 72,2^*$	$1468,8 \pm 121,7^{*,\kappa, \circ}$

Примечание: * – статистически значимые отличия от показателей в интактной коже; κ – статистически значимые отличия от показателей в коже;

$\circ$ – статистически значимые отличия от показателей в опухоли

Note: * – statistically significant differences from indicators in the intact skin, κ – statistically significant differences from indicators in the skin,

$\circ$ – statistically significant differences from indicators in the tumor

C57 BL/6-Plautml. IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu – $0,2\pm0,02$ нг/г ткани и $0,01\pm0,001$ ед/г ткани соответственно. Это доказывало конститутивный нокаут мышей C57 BL/6-Plautml. IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu обоего пола по гену урокиназы.

Вместе с тем уровень рецептора uPA (uPAR) у самцов линии C57 BL/6 был $110,3\pm6,5$ пг/г ткани, а у самцов линии C57 BL/6-Plautml. IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu – $56,9\pm2,8$ пг/г ткани, тогда как у самок линии C57 BL/6 уровень uPAR был сходен с уровнем у самок линии C57 BL/6-Plautml. IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu – $56,0\pm4,5$ пг/г ткани и $58,1\pm3,1$ пг/г ткани соответственно. Полученные данные свидетельствовали о сохранности гена uPAR у всех мышей, независимо от пола.

В группе самцов линии C57 BL/6 с меланомой средняя продолжительность жизни составила $22,2\pm1,8$ дня. Средний объем опухоли перед гибелью животных был $7,9\pm2,1$ см³, изъязвление опухоли регистрировалось у 20% мышей. Меланома метастазировала в легкие, кровоизлияний не было. В группе мышей-самцов линии C57 BL 6-Plautml. IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu с мела-

номой средняя продолжительность жизни составила $23,3\pm3,2$ дня. Средний объем опухоли накануне их гибели был $6,5\pm0,4$ см³, у всех мышей опухоли были с изъязвлением. Метастазы не визуализировались, однако отмечались кровоизлияния в легких, реже – в сердце.

В группе самок линии C57 BL/6 с меланомой средняя продолжительность жизни составила $30,2\pm1,7$ дня. Средний объем первичной опухоли накануне гибели животных был $4,7\pm0,9$ см³, ее изъязвление регистрировалось у 17% мышей. Меланома метастазировала в селезенку. В группе самок линии C57 BL/6-Plautml. IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu с меланомой средняя продолжительность жизни составила $34,7\pm0,7$ дня. Средний объем опухоли накануне гибели животных не превысил $1,0\pm0,1$ см³, у всех мышей опухоли изъязвлялись. В легких регистрировались единичные метастазы, кровоизлияний не было.

Очевидно, что нокаут по гену uPA оказывал большее влияние на рост опухоли, вызывая ее задержку, особенно у самок линии C57 BL/6-Plautml. IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu, объем первичной опу-

Таблица 2. Содержание ростовых факторов в тканях мышей-самцов C57BL/6-Plautml.IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu с меланомой
Table 2. The content of growth factors in the tissues of male mice C57BL/6-Plautml.IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu with melanoma

Показатели / Indicators	Кожа интактных мышей / Skin of intact mice	Мыши с меланомой B16/F10 / Mice with melanoma B16/F10		
		Кожа / Skin	Опухоль / Tumor	Перифокальная зона опухоли / Perifocal area of the tumor
VEGF-A (нг/г ткани) / VEGF-A (pg/g of the tissue)	$47,8\pm3,6^N$ ↓	$114,1\pm10,2^{*,N}$ ↓	$2147,3\pm256,2^{*,K,N}$ ↓	$326,1\pm33,1^{*,K,O,N}$ ↓
sVEGF-R1 (нг/г ткани) / sVEGF-R1 (ng/g of the tissue)	$0,51\pm0,03^N$ ↓	$0,5\pm0,06^N$ ↓	$0,75\pm0,08^N$ ↓	$0,5\pm0,02^N$ ↓
VEGF-C (нг/г ткани) / VEGF-C (pg/g of the tissue)	$27,9\pm1,9^N$ ↑	$9,5\pm0,82^{*,N}$ ↑	$25,7\pm3,2^{*,N}$ ↓	$20,4\pm2,6^{*,K,N}$ ↓
sVEGF-R3 (нг/г ткани) / sVEGF-R3 (ng/g of the tissue)	$1,5\pm0,1^N$ ↓	$0,65\pm0,02^{*,N}$ ↓	$0,73\pm0,07^{*,N}$ ↓	$2,3\pm0,3^{*,K,O,N}$ ↓
IGF-I (нг/г ткани) / IGF-I (ng/g of the tissue)	$148,1\pm12,6^N$ ↑	$58,5\pm4,5^{*,N}$ ↑	$59,2\pm6,5^{*,N}$ ↑	$39,0\pm2,8^{*,K,O,N}$ ↑
IGF-II (нг/г ткани) / IGF-II (ng/g of the tissue)	$13,8\pm1,1$	$15,7\pm1,2^N$ ↑	$1,2\pm0,09^{*,K,N}$ ↓	$16,7\pm1,5^O$
TGF-β1 (нг/г ткани) / TGF-β1 (ng/g of the tissue)	$0,3\pm0,02^N$ ↓	$0,5\pm0,06^{*,N}$ ↓	$1,7\pm0,15^{*,K,N}$ ↓	$0,7\pm0,03^{*,O,N}$ ↓
FGF-21 (нг/г ткани) / FGF-21 (pg/g of the tissue)	$184,1\pm18,8^N$ ↓	$117,8\pm12,4^{*,N}$ ↓	$148,7\pm15,4^N$ ↓	$152,7\pm12,4^N$ ↓

Примечание: * – статистически значимые отличия от показателей в интактной коже; к – статистически значимые отличия от показателей в коже; о – статистически значимые отличия от показателей в опухоли; N – статистически значимые отличия от показателей у мышей с нормальным геномом; ↓ ↑ – направленность сдвигов относительно показателей у мышей с нормальным геномом

Note: * – statistically significant differences from indicators in the intact skin, к – statistically significant differences from indicators in skin, о – statistically significant differences from indicators in the tumor, N – statistically significant differences from indicators in the mice with normal genome, ↓ ↑ – direction of shifts relative to indicators in the mice with normal genome

холи которых на 21-е сутки развития опухоли был почти в 70 раз, а через 4 нед (перед гибелью) – в 4,5 раза меньше, чем у самок линии C57 BL/6, тогда как у самцов линии C57 BL/6-Plautml. IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu размер первичной опухоли на 21-е сутки развития опухоли был в 2,8 раза меньше, чем у самцов линии C57 BL/6, а через 4 нед (перед гибелью) становился одинаковым у мышей двух линий. Продолжительность жизни мышей с нокаутом гена *uPA*, вне зависимости от их пола, статистически значимо не отличалась от животных с нормальным геномом, однако все самки жили в 1,4–1,5 раза ($p<0,05$) дольше самцов.

Мы не встретили данных о влиянии нокаута по гену *uPA* на содержание факторов роста в организме, в частности, в коже интактных животных двух линий. Однако тот факт, что мыши C57 BL/6-Plautml. IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu доживают до взрослого возраста и используются для изучения канцерогенеза, косвенно подтверждает наши результаты, полученные при сравнительном изучении двух линий мышей.

Далее представляло интерес изучить влияние нокаута по гену *uPA* на уровень факторов роста при развитии меланомы B16/F10. Содержание ростовых факторов в коже интактных мышей, а также в опу-

холи, ее перифокальной зоне и коже, не затронутой злокачественным процессом, у самцов представлены в таблицах 1 и 2, у самок – в таблицах 3 и 4.

При сравнительном изучении факторов роста в коже интактных животных двух линий были установлены принципиальные отличия в их содержании (см. табл. 1–4). Так, в коже интактных самцов линии C57 BL/6-Plautml. IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu показатели VEGF-A, sVEGF-R1, sVEGF-R3, TGF- β 1 и FGF-21 были ниже, чем в коже интактных самцов линии C57 BL/6 соответственно в 4,4 раза, 2,9 раза, 10,1 раза, 5,0 раз и 2,2 раза (см. табл. 1, 2). Выше показателей контроля у мышей-самцов линии C57 BL/6-Plautml. IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu были уровни VEGF-C – в 4,3 раза и IGF-I – в 9,9 раза. Уровни IGF-II в коже у всех самцов были одинаковыми (см табл. 1, 2).

Установлено, что в коже самок линии C57BL/6-Plautml. IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu уровни VEGF-A, VEGF-C, IGF-I, IGF-II и TGF- β 1 были в 1,8 ($p<0,05$), в 23,9, в 11,9, в 5,8 и в 3,7 раза соответственно больше, тогда как содержание FGF-21 и количество рецепторов: sVEGF-R1 и sVEGF-R3, напротив, было соответственно в 2,5, в 1,7 ($p<0,05$) и в 4,5 раза ниже, чем у самок линии C57 BL/6 (см. табл. 3, 4).

Таблица 3. Содержание ростовых факторов в тканях мышей-самок C57BL/6 с меланомой
Table 3. The content of growth factors in the tissues of female C57BL/6 mice with melanoma

Показатели / Indicators	Кожа интактных мышей / Skin of intact mice	Мыши с меланомой B16/F10 / Mice with melanoma B16/F10		
		Кожа / Skin	Опухоль / Tumor	Перифокальная зона опухоли / Perifocal area of the tumor
VEGF-A (нг/г ткани) / VEGF-A (pg/g of the tissue)	169,4±8,3	895,2±61,4*	930,1±83,9*	838,1±69,4*
sVEGF-R1 (нг/г ткани) / sVEGF-R1 (ng/g of the tissue)	0,95±0,1	2,1±0,2*	2,8±0,3*	2,2±0,3*
VEGF-C (нг/г ткани) / VEGF-C (pg/g of the tissue)	6,8±0,5	12,4±1,5*	60,2±6,3*, ^к	13,6±1,7*, ^о
sVEGF-R3 (нг/г ткани) / sVEGF-R3 (ng/g of the tissue)	6,7±0,6	7,7±0,8	11,5±1,3*, ^к	8,1±0,9 ^о
IGF-I (нг/г ткани) / IGF-I (ng/g of the tissue)	4,5±0,4	17,1±1,3*	21,2±1,8*	15,4±1,7*
IGF-II (нг/г ткани) / IGF-II (ng/g of the tissue)	2,0±0,2	4,5±0,5*	6,6±0,7*	3,4±0,4 ^о
TGF- β 1 (нг/г ткани) / TGF- β 1 (ng/g of the tissue)	1,4±0,15	1,6±0,1	3,9±0,4*, ^к	3,8±0,5*, ^к
FGF-21 (нг/г ткани) / FGF-21 (pg/g of the tissue)	379,1±31,9	599,2±61,4*	1722,7±134,2*, ^к	954,9±86,3*, ^{к, о}

Примечание: * – статистически значимые отличия от показателей в интактной коже; к – статистически значимые отличия от показателей в коже;

о – статистически значимые отличия от показателей в опухоли

Note: * – statistically significant differences from indicators in the intact skin, к – statistically significant differences from indicators in the skin, о – statistically significant differences from indicators in the tumor

При развитии меланомы B16/F10 уровень VEGF-A в исследованных образцах мышей-самцов линии C57 BL/6-Plautml.IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu повышался относительно интактных значений: в нетронутой злокачественным процессом коже – в 2,4 раза, в опухоли и ее перифокальной зоне – в 44,9 раза и в 6,8 раза соответственно (см. табл. 2). В группе самцов линии C57 BL/6 увеличение в нетронутой злокачественным процессом коже, опухоли и ее перифокальной зоне относительно интактной ткани составило 1,7 ($p<0,05$), 61,9 и 24,9 раза соответственно (см. табл. 1).

Неожиданно высоким оказался уровень VEGF-A в исследованных образцах мышей-самок линии C57 BL/6-Plautml.IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu, у которых регистрировалось торможение роста первичного опухолевого узла в нетронутой злокачественным процессом коже, в опухоли и ее перифокальной зоне относительно показателя в интактной коже соответственно в 2,6, в 5,6 и в 3,3 раза (см. табл. 4). В группе самок линии C57 BL/6 увеличение в не тронутой злокачественным процессом коже, опухоли и ее перифокальной зоне относительно интактной ткани составило 5,3, 5,5 и 4,9 соответственно (см. табл. 3).

Интересно, что динамика другого фактора семейства VEGF, связанного с лимфангиогенезом – VEGF-C при росте меланомы у мышей линии C57BL/6-Plautml.IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu была иной. Так, у нокаутированных самцов уровень VEGF-C в не тронутой злокачественным процессом коже снижался относительно показателя интактных животных этой линии в 2,9 раза, а в ткани опухоли и ее перифокальной зоне не отличался от интактных значений (см. табл. 2). В группе мышей-самцов линии C57 BL/6 в не тронутой злокачественным процессом коже уровень VEGF-C не изменялся, а в ткани опухоли и ее перифокальной зоне был в 24,9 раза и 16,4 раза соответственно выше интактных показателей (см. табл. 1).

У самок линии C57BL/6-Plautml.IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu в не тронутой злокачественным процессом коже и перифокальной зоне опухоли показатель не изменялся относительно контрольных значений, а в опухоли, напротив, снижался практически четырехкратно (см. табл. 4). В группе мышей-самок линии C57 BL/6 в не тронутой злокачественным процессом коже, перифокальной зоне и в ткани опухоли уровень VEGF-C повышался в 1,8 ($p<0,05$), в 2,0 и в 8,9 раза соответственно (см. табл. 3).

Таблица 4. Содержание ростовых факторов в тканях мышей-самок C57BL/6-Plautml.IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu с меланомой
Table 4. The content of growth factors in the tissues of female mice C57BL/6-Plautml.IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu with melanoma

Показатели / Indicators	Кожа интактных мышей / Skin of intact mice	Мыши с меланомой B16/F10 / Mice with melanoma B16/F10		
		Кожа / Skin	Опухоль / Tumor	Перифокальная зона опухоли / Perifocal area of the tumor
VEGF-A (нг/г ткани) / VEGF-A (pg/g of the tissue)	304,2±28,3 ^N ↑	792,6±64,5 [*]	1689,6±180,2 ^{*,K,N}	1009,1±128,3 ^{*,K}
sVEGF-R1 (нг/г ткани) / sVEGF-R1 (ng/g of the tissue)	0,55±0,07 ^N ↓	1,3±0,2 ^{*,N} ↓	1,1±0,1 ^{*,N} ↓	18,1±1,5 ^{*,K,O,N} ↑
VEGF-C (нг/г ткани) / VEGF-C (pg/g of the tissue)	162,2±13,9 ^N ↑	161,3±18,3 ^N ↑	41,1±4,8 ^{*,K,N} ↓	168,3±14,3 ^{O,N} ↑
sVEGF-R3 (нг/г ткани) / sVEGF-R3 (ng/g of the tissue)	1,5±0,09 ^N ↓	2,0±0,3 ^N ↓	0,8±0,02 ^{*,K,N} ↓	3,2±0,3 ^{*,K,O,N} ↓
IGF-I (нг/г ткани) / IGF-I (ng/g of the tissue)	53,4±5,8 ^N ↑	237,8±39,6 ^{*,N} ↑	54,9±5,12 ^{K,N} ↑	387,4±36,4 ^{*,K,O,N} ↑
IGF-II (нг/г ткани) / IGF-II (ng/g of the tissue)	11,5±1,0 ^N ↑	23,9±2,8 ^{*,N} ↑	1,6±0,1 ^{*,K,N} ↓	45,5±3,2 ^{*,K,O,N} ↑
TGF-β1 (нг/г ткани) / TGF-β1 (ng/g of the tissue)	5,1±0,4 ^N ↑	7,8±0,5 ^{*,N} ↑	2,8±0,4 ^{*,K,N} ↓	9,0±0,7 ^{*,K,O,N} ↑
FGF-21 (нг/г ткани) / FGF-21 (pg/g of the tissue)	151,5±12,3 ^N ↓	179,5±20,4 ^N ↓	93,5±8,5 ^{*,K,N} ↓	100,9±10,1 ^{*,K,N} ↓

Примечание: * – статистически значимые отличия от показателей в интактной коже; K – статистически значимые отличия от показателей в коже; O – статистически значимые отличия от показателей в опухоли; N – статистически значимые отличия от показателей у мышей с нормальным геномом; ↓ ↑ – направленность сдвигов относительно показателей у мышей с нормальным геномом

Note: * – statistically significant differences from indicators in intact skin, K – statistically significant differences from indicators in skin, O – statistically significant differences from indicators in tumor, N – statistically significant differences from indicators in mice with normal genome, ↓ ↑ – direction of shifts relative to indicators in mice with normal genome

Содержание рецептора sVEGF-R1 в не тронутый злокачественным процессом коже у самцов линии C57BL/6-Plautml. IBUG-ThisPlau 6FDhu/GFDhu с меланомой не отличалось от значений интактной кожи, тогда как концентрация рецептора sVEGF-R3 в коже, не тронутый злокачественным процессом, и в опухоли была ниже соответственно в 2,3 раза и в 2,1 раза, а в перифокальной зоне – выше в 1,5 раза ($p<0,05$), чем в коже интактных мышей-самцов с нокаутом по урокиназе (см. табл. 2). У самцов линии C57BL/6 уровень рецептора sVEGF-R1 увеличивался по сравнению с соответствующим интактным контролем везде: в коже, не тронутый злокачественным процессом, – в 1,9 раза ($p<0,05$), в опухоли – в 25,7 раза и в перифокальной зоне – в 4,9 раза. Количество рецептора sVEGF-R3 в коже и опухоли уменьшалось по сравнению с контролем в 2,6 раза, а в перифокальной зоне опухоли не отличалось от контрольных цифр (см. табл. 1).

У самок линии C57BL/6-Plautml. IBUG-ThisPlau 6FDhu/GFDhu с меланомой, в отличие от самцов этой же линии, содержание рецептора sVEGF-R1 увеличивалось в коже в 2,4 раза, в опухоли – в 2,0 раза, в перифокальной зоне – в 32,9 раза по сравнению с уровнем в коже интактных мышей. Уровень рецептора sVEGF-R3 в коже значительно не изменялся, в опухоли – уменьшался в 1,9 раза ($p<0,05$), а в перифокальной зоне опухоли – возрастал в 2,1 раза (см. табл. 4). У самок линии C57BL/6 концентрация рецептора sVEGF-R1 увеличивалась во всех исследуемых тканях: в непораженной коже, опухоли и перифокальной зоне соответственно в 2,2, в 2,9 и в 2,3 раза по сравнению с интактным контролем. Количество рецептора sVEGF-R3 у самок с нормальным геномом значительно не изменялось в нетронутой коже и перифокальной зоне и увеличивалось в 1,7 раза ($p<0,05$) в опухоли по сравнению с интактным контролем (см. табл. 3).

Уровень TGF- β 1 при росте меланомы у мышей-самцов линии C57BL/6-Plautml. IBUG-ThisPlau 6FDhu/GFDhu в не тронутый злокачественным процессом коже, ткани меланомы и перифокальной зоне опухоли повышался относительно контроля в 1,7 ($p<0,05$), 5,7 и 2,3 раза соответственно (см. табл. 2). У мышей-самцов линии C57 BL/6 в коже, не тронутый злокачественным процессом, и ткани опухоли содержание TGF- β 1 увеличивалось двукратно, а в перифокальной зоне опухоли – в 2,9 раза относительно контроля (см. табл. 1).

Количество TGF- β 1 у мышей-самок линии C57BL/6-Plautml. IBUG-ThisPlau 6FDhu/GFDhu в нетронутой коже и перифокальной зоне повышалось относительно интактных цифр в 1,5 раза ($p<0,05$) и 1,8 раза ($p<0,05$), а в ткани меланомы было в 1,8 раза ($p<0,05$)

ниже, чем в коже у интактных мышей (см. табл. 4). У самок линии C57 BL/6 в коже, не тронутый злокачественным процессом, уровень фактора относительно интактных величин значимо не изменялся, а в ткани опухоли и ее перифокальной зоне был в среднем в 2,8 раза больше, чем в интактной коже (см. табл. 3).

У самцов линии C57BL/6-Plautml. IBUG-ThisPlau 6FDhu/GFDhu с меланомой содержание IGF-I во всех исследуемых образцах уменьшалось по сравнению с интактной величиной: в коже и опухоли – в 2,5 раза, в перифокальной зоне – в 3,8 раза, тогда как концентрация IGF-II в не тронутый злокачественным процессом коже и перифокальной зоне опухоли не отличалась от интактного контроля, а в самой ткани опухоли была снижена в 11,5 раза (см. табл. 2). У мышей-самцов линии C57 BL/6, напротив, все исследуемые образцы по уровню IGF-II не отличались от контроля, а содержание IGF-I не изменялось в не тронутый злокачественным процессом коже и перифокальной зоне опухоли, тогда как в самой ткани опухоли было повышено в 2,8 раза относительно интактных цифр (см. табл. 1).

Содержание IGF-I и IGF-II в не тронутый злокачественным процессом коже у самок линии C57BL/6-Plautml. IBUG-ThisPlau 6FDhu/GFDhu с меланомой превышало интактные значения в 4,5 раза и 2,1 раза соответственно, в перифокальной зоне опухоли – в 7,3 раза и 4,0 раза соответственно, а в ткани опухоли уровень IGF-I не отличался от контроля, тогда как IGF-II был снижен в 7,2 раза (см. табл. 4). Совсем иная динамика IGF-I и IGF-II обнаружена при росте меланомы у самок линии C57 BL/6. В ткани неизмененной кожи, ткани опухоли и ее перифокальной зоны уровень IGF-I был повышен относительно интактных значений в 3,8, 4,7 и 3,4 раза соответственно, а IGF-II – в 2,2, 3,3 и 1,7 раза ($p<0,05$) соответственно (см. табл. 3).

У самцов линии C57BL/6-Plautml. IBUG-ThisPlau 6FDhu/GFDhu содержание FGF-21 было снижено относительно интактных значений только в непораженной коже – в 1,6 раза ($p<0,05$), тогда как в опухоли и перифокальной зоне не отличалось от значений FGF-21 в коже интактных мышей (см. табл. 2). У самцов линии C57 BL/6 уровень FGF-21, напротив, был повышен: в нетронутой коже и ткани опухоли – в 1,9 раза ($p<0,05$), в перифокальной зоне – в 3,6 раза (см. табл. 1).

Уровень FGF-21 в нетронутой коже у самок линии C57BL/6-Plautml. IBUG-ThisPlau 6FDhu/GFDhu с меланомой не имел статистически значимых отличий от показателей контроля, а в опухоли и перифокальной зоне был снижен в 1,6 раза ($p<0,05$) и 1,5 раза ($p<0,05$) соответственно (см. табл. 4). У самок линии

C57 BL/6 показатели в нетронутой коже, ткани опухоли и ее перифокальной зоны были повышены в 1,6 ($p<0,05$), 4,5 и 2,5 раза (см. табл. 3).

В целом можно отметить, что у животных обоего пола, нокаутированных по урокиназе, динамика практически всех факторов роста отличалась в исследованных образцах ткани от соответствующих образцов у мышей линии C57BL/6.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Итак, в настоящем пилотном исследовании было показано, что нокаут по гену урокиназы тормозил рост и метастазирование меланомы B16/F10 у мышей обоего пола линии C57BL/6-Plautml.IBugThisPlau6FDhu/GFDhu по сравнению с контрольными животными линии C57BL/6, особенно у самок. Эти результаты согласуются с имеющимися в литературе данными. Так, на модели мышей с дефицитом uPA, а также у мышей с дефицитом PAI-1 показано, что рост фибросаркомы был значительно ингибирован, и сосуды демонстрировали различную неоваскулярную морфологию [4]. Сходным образом рост опухолей подкожно инъецированных клеток рака простаты значительно замедлялся у мышей с дефицитом uPA или uPAR по сравнению с мышами дикого типа [14].

Получение мышей, дефицитных по компонентам системы uPA-uPAR, позволило оценить роль отдельных участников этой системы в ангиогенезе *in vivo* [15]. Хотя эмбриональное и постнатальное сосудистое развитие у этих мышей не было затронуто, P. Carmeliet и D. Collen (2000), оспаривая этот факт, выявили роль системы uPA-uPAR в неоангиогенезе [16]. Ангиогенез включает в себя серию строго регулируемых клеточных процессов, инициируемых главным образом VEGF. Система активатора плазминогена урокиназного типа, состоящая из самого uPA, его клеточного рецептора – uPAR и его ингибитора PAI-1, участвует в реализации этих VEGF-индуцированных процессов [15].

Учитывая изложенное, в настоящей работе можно было ожидать снижения уровня VEGF-A в ткани опухоли при нокауте uPA. Однако этого не произошло, напротив, содержание фактора роста эндотелия в ткани меланомы оказалось выше, чем в опухоли животных из группы сравнения, не имеющих такого нокаута. Мы склонны объяснять это тем, что рецептор урокиназы – uPAR мог участвовать в реализации VEGF-индуцированных процессов путем увеличения количества фактора. Известно, что uPAR имеет функцию протеолитической деградации внеклеточного матрикса, и это связано с инвазией и метастазированием меланомы [17, 18].

Кроме того, uPAR поддерживает пролиферацию, миграцию и проницаемость эндотелиальных клеток [15, 19]. Эти и другие данные подтверждают важность ангиогенеза опухоли в агрессивности меланомы и предполагают, что uPAR является индикатором пролиферации сосудов и потенциальным биомаркером при меланоме [20].

Интересны показанные в настоящем исследовании изменения уровня TGF- β 1 в исследуемых образцах ткани при росте меланомы у двух линий мышей: его активация в ткани опухоли у мышей линии C57BL/6 и изначально низкий уровень TGF- β 1 у самцов-мышей с нокаутом по урокиназе, который предотвращал метастазирование меланомы, при этом у самок с измененным геномом больший уровень TGF- β 1 на фоне его снижения только в опухоли лишь ограничивал метастазирование, но полностью его не подавлял – регистрировались единичные очаги в легких. Предполагается, что TGF- β играет двойную роль в прогрессировании опухоли, выступая в роли супрессора опухолей на ранних стадиях канцерогенеза и оказывая проонкогенную роль на последних стадиях метастатического заболевания [21]. Известно, что uPA, связываясь с uPAR, модулирует клеточную адгезию, пролиферацию и миграцию [22]. TGF- β усиливает адгезию клеток меланомы к эндотелию одновременно с uPA-зависимой активацией TGF- β , что может указывать на положительную петлю между TGF- β и uPA при инвазии меланомы и метастазировании [23]. Наоборот, в панели клеточных линий меланомы человека TGF- β сильно ингибировал миграцию и инвазию клеток. В этих клетках TGF- β индуцировал экспрессию ингибитора uPA – PAI-1 в результате сниженной активации плазминогена в плазмин [24]. Эти результаты подтверждаются тем фактом, что TGF- β ингибирует рост опухоли после подкожной инъекции клеток B16/F1 у сингенных мышей за счет снижения экспрессии uPA/uPAR, а также индукции экспрессии PAI-1, что указывает на предполагаемую защитную роль TGF- β 1 на самых ранних стадиях прогрессирования опухоли [25]. Поскольку было показано, что клетки меланомы экспрессируют большие количества uPA, эти результаты подразумевают, что TGF- β может провоцировать и нарушать баланс uPA-зависимой протеолитической активности для ингибирования роста опухоли и метастазирования. Тем не менее TGF- β и система uPA принадлежат к сложной регуляторной сети инвазивного поведения прогрессирования меланомы [23]. Полученные нами результаты, скорее всего, отражают взаимосвязь TGF- β и системы uPA и коррелируют с объемом опухоли, подтверждая роль этой связи в росте меланомы.

Резко отличалась динамика показателя FGF-21 при росте меланомы у двух линий мышей: повышение во всех исследуемых образцах линии C57 BL/6 и низкое содержание в некоторых образцах мышей с нокаутом по урокиназе. Как правило, семейство полипептидов фактора роста фибробластов (FGF) действует как митогены для фибробластов. Однако FGF-21, нетипичный для FGF, не обладает митогенной активностью и выполняет функцию гормона, регулирующего метаболизм углеводов и жирных кислот. FGF-21 является плейотропным регулятором, который вызывает различные физиологические и патогенные явления [26]. Хотя понимание FGF-21 как основного регулятора метаболизма в последнее десятилетие улучшилось, некоторые аспекты биологии FGF-21 остаются противоречивыми и требуют приоритетов. Передача сигналов FGF-21 не ограничивается одной тканью или физиологическим процессом. Широкая сеть метаболических элементов сходится на FGF-21 и регулирует его экспрессию в ответ на различные физиологические и патологические стимулы.

Известно о реципрокном взаимодействии FGF-21 и IGF-I [27], поэтому снижение уровня FGF-21 в коже животных обоего пола с нокаутом по урокиназе в настоящем исследовании может быть обусловлено повышенным уровнем IGF-I.

Система IGF включает три лиганда (IGF-I, IGF-II и инсулин) и два гомологичных рецептора – IGF-1R и INSR. Сигнализация инсулиноподобных факторов роста может играть решающую роль в выживании раковых стволовых клеток. Bendall et al. (2007) было показано, что IGF-II играет непосредственную роль в выживании и способности к самооб-

новлению плюрипотентных эмбриональных стволовых клеток человека [28]. Также было показано, что IGF-II способствует выживанию нервных стволовых клеток [29]. Злокачественные клетки часто используют передачу сигналов IGF, фундаментальный путь, опосредующий развитие, рост клеток и выживание. Как следствие, некоторые компоненты передачи сигналов IGF не регулируются при раке и поддерживают прогрессирование опухоли. В настоящее время поддерживается концепция, согласно которой передача сигналов IGF не только играет пролиферативную и антиапоптотическую роль в раковых клетках, но также поддерживает EMT и стволовость неопластических клеток, две ключевые особенности обновления раковых клеток и метастатического фенотипа [30]. Динамика уровней IGF-I и IGF-II в ткани меланомы мышей линии C57 BL/6-Plautml. IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu относительно уровня в интактной ткани и по сравнению с показателями в ткани меланомы мышей линии C57 BL/6 свидетельствует о снижении активности пути IGF при нокауте по uPA, что в некоторой степени объясняет замедление роста меланомы и активности ее метастазирования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя в целом полученные результаты, очевидно, что нокаут по гену урокиназы, изменяя активность системы ряда ростовых факторов, приводит к изменению метаболизма меланомы, замедляя ее рост и снижая ее биологическую агрессивность, выражающуюся в отсутствии или уменьшении метастазирования.

Список литературы

1. Lamprecht Tratar U, Horvat S, Cemazar M. Transgenic Mouse Models in Cancer Research. *Front Oncol.* 2018; 8:268. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00268>
2. Duffy MJ. The urokinase plasminogen activator system: role in malignancy. *Curr Pharm Des.* 2004; 10(1):39–49. <https://doi.org/10.2174/1381612043453559>
3. Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Погорелова Ю. А., Ткаля Л. Д., Черярина Н. Д. Активность компонентов системы активации плазминогена и некоторых факторов неопластического развития в динамике развития перевиваемой меланомы B16/F10. *Современные проблемы науки и образования.* 2015;(5):617.
4. Gutierrez LS, Schulman A, Brito-Robinson T, Noria F, Ploplis VA, Castellino FJ. Tumor Development Is Retarded in Mice Lacking the Gene for Urokinase-Type Plasminogen Activator or Its Inhibitor, Plasminogen Activator Inhibitor-1. *Cancer Res.* 2000 Oct 15; 60(20):5839–5847.
5. Almholzt K, Lund LR, Rygaard J, Nielsen BS, Danø K, Rømer J, et al. Reduced metastasis of transgenic mammary cancer in urokinase-deficient mice. *International Journal of Cancer.* 2005;

- 113(4):525–532. <https://doi.org/10.1002/ijc.20631>
6. Subramanian R, Gondi CS, Lakka SS, Jutla A, Rao JS. siRNA-mediated simultaneous downregulation of uPA and its receptor inhibits angiogenesis and invasiveness triggering apoptosis in breast cancer cells. *International Journal of Oncology.* 2006 Apr 1; 28(4):831–839. <https://doi.org/10.3892/ijo.28.4.831>
7. Aguirre-Ghiso JA, Liu D, Mignatti A, Kovalski K, Ossowski L. Urokinase Receptor and Fibronectin Regulate the ERKMAPK to p38MAPK Activity Ratios That Determine Carcinoma Cell Proliferation or Dormancy In Vivo. *MBoC.* 2001 Apr 1; 12(4):863–879. <https://doi.org/10.1091/mbc.12.4.863>
8. Ullisse S, Baldini E, Sorrenti S, D'Armiento M. The urokinase plasminogen activator system: a target for anti-cancer therapy. *Curr Cancer Drug Targets.* 2009 Feb; 9(1):32–71. <https://doi.org/10.2174/156800909787314002>
9. Чехонин В. П., Шеин С. А., Корчагина А. А., Гурина О. И. Роль VEGF в развитии неопластического ангиогенеза. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2012; 67(2):23–34. <https://doi.org/10.15690/vramn.v67i2.119>

10. Ferrara N, Gerber H-P, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*. 2003 Jun; 9(6):669–76. <https://doi.org/10.1038/nm0603-669>
11. Pollak M. Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. *Nat Rev Cancer*. 2008 Dec; 8(12):915–928. <https://doi.org/10.1038/nrc2536>
12. Santos Bernardes S, de Souza-Neto FP, Pasqual Melo G, Guarnier FA, Marinello PC, Cecchini R, et al. Correlation of TGF- β 1 and oxidative stress in the blood of patients with melanoma: a clue to understanding melanoma progression? *Tumor Biol*. 2016 Aug 1; 37(8):10753–10761. <https://doi.org/10.1007/s13277-016-4967-4>
13. Кит О.И., Франциянц Е.М., Котиева И.М., Каплиева И.В., Трепитики Л.К., Бандовкина В.А. и др. Некоторые механизмы повышения злокачественности меланомы на фоне хронической боли у самок мышей. *Российский журнал боли*. 2017; 2(53):14–20.
14. Zhang J, Sud S, Mizutani K, Gyetko MR, Pienta KJ. Activation of urokinase plasminogen activator and its receptor axis is essential for macrophage infiltration in a prostate cancer mouse model. *Neoplasia*. 2011 Jan; 13(1):23–30. <https://doi.org/10.1593/neo.10728>
15. Breuss JM, Uhrin P. VEGF-initiated angiogenesis and the uPA/uPAR system. *Cell Adhesion & Migration*. 2012 Nov 17; 6(6):535–540. <https://doi.org/10.4161/cam.22243>
16. Carmeliet P, Collen D. Transgenic mouse models in angiogenesis and cardiovascular disease. *J Pathol*. 2000 Feb; 190(3):387–405. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(200002\)190:3<387::AID-PATH595>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(200002)190:3<387::AID-PATH595>3.0.CO;2-R)
17. Kriegbaum MC, Clausen OPF, Lærum OD, Ploug M. Expression of the Ly6/uPAR-domain proteins C4.4A and Haldisin in non-invasive and invasive skin lesions. *J Histochem Cytochem*. 2015; 63(2):142–154. <https://doi.org/10.1369/0022155414563107>
18. Shi H, Liu L, Liu L-M, Geng J, Chen L. Inhibition of tumor growth by β -elemene through downregulation of the expression of uPA, uPAR, MMP-2, and MMP-9 in a murine intraocular melanoma model. *Melanoma Res*. 2015 Feb; 25(1):15–21. <https://doi.org/10.1097/CMR.0000000000000124>
19. Alexander RA, Prager GW, Mihaly-Bison J, Uhrin P, Sunzenauer S, Binder BR, et al. VEGF-induced endothelial cell migration requires urokinase receptor(uPAR)-dependent integrin redistribution. *Cardiovasc Res*. 2012 Apr 1; 94(1):125–135. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvs017>
20. Hugdahl E, Bachmann IM, Schuster C, Ladstein RG, Akslen LA. Prognostic value of uPAR expression and angiogenesis in primary and metastatic melanoma. *PLOS ONE*. 2019 Jan 14; 14(1): e0210399. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210399>
21. Roberts AB, Wakefield LM. The two faces of transforming growth factor beta in carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003 Jul 22; 100(15):8621–8623. <https://doi.org/10.1073/pnas.1633291100>
22. Jo M, Thomas KS, Marozkina N, Amin TJ, Silva CM, Parsons SJ, et al. Dynamic assembly of the urokinase-type plasminogen activator signaling receptor complex determines the mitogenic activity of urokinase-type plasminogen activator. *J Biol Chem*. 2005 Apr 29; 280(17):17449–17457. <https://doi.org/10.1074/jbc.M413141200>
23. Santibanez JF. Transforming growth factor-Beta and urokinase-type plasminogen activator: dangerous partners in tumorigenesis-implications in skin cancer. *ISRN Dermatol*. 2013 Jul 18; 2013:597927. <https://doi.org/10.1155/2013/597927>
24. Humbert L, Lebrun J-J. TGF- β 1 inhibits human cutaneous melanoma cell migration and invasion through regulation of the plasminogen activator system. *Cellular Signalling*. 2013 Feb 1; 25(2):490–500. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2012.10.011>
25. Ramont L, Pasco S, Hornebeck W, Maquart F-X, Monboisse JC. Transforming growth factor-beta1 inhibits tumor growth in a mouse melanoma model by down-regulating the plasminogen activation system. *Exp Cell Res*. 2003 Nov 15; 291(1):1–10. [https://doi.org/10.1016/s0014-4827\(03\)00336-7](https://doi.org/10.1016/s0014-4827(03)00336-7)
26. Xie T, Leung PS. Fibroblast growth factor 21: a regulator of metabolic disease and health span. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2017 May 30; 313(3): E292–E302. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00101.2017>
27. Ables GP, Perrone CE, Orentreich D, Orentreich N. Methionine-restricted C57BL/6J mice are resistant to diet-induced obesity and insulin resistance but have low bone density. *PLoS ONE*. 2012; 7(12): e51357. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051357>
28. Bendall SC, Stewart MH, Menendez P, George D, Vijayaragavan K, Werbowetski-Ogilvie T, et al. IGF and FGF cooperatively establish the regulatory stem cell niche of pluripotent human cells in vitro. *Nature*. 2007 Aug; 448(7157):1015–1021. <https://doi.org/10.1038/nature06027>
29. Ziegler AN, Chidambaram S, Forbes BE, Wood TL, Levison SW. Insulin-like Growth Factor-II(IGF-II) and IGF-II Analogs with Enhanced Insulin Receptor- α Binding Affinity Promote Neural Stem Cell Expansion. *J Biol Chem*. 2014 Feb 21; 289(8):4626–4633. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.537597>
30. Malaguarnera R, Belfiore A. The emerging role of insulin and insulin-like growth factor signaling in cancer stem cells. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2014; 5:10. <https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00010>

References

1. Lamprecht Tratar U, Horvat S, Cemazar M. Transgenic Mouse Models in Cancer Research. *Front Oncol*. 2018; 8:268. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00268>
2. Duffy MJ. The urokinase plasminogen activator system: role in malignancy. *Curr Pharm Des*. 2004; 10 (1):39–49. <https://doi.org/10.2174/1381612043453559>
3. Frantsiyants EM, Bando vkina VA, Pogorelova YuA, Tkalya LD, Cheryarina ND. The activity of plasminogen activation system components and some factors of neoangiogenesis in the development dynamics of transplantable melanoma B16/F10. *Modern problems of science and education*. 2015; (5):617. (In Russian).
4. Gutierrez LS, Schulman A, Brito-Robinson T, Noria F, Ploplis VA, Castellino FJ. Tumor Development Is Retarded in Mice Lacking the Gene for Urokinase-Type Plasminogen Activator or Its Inhibitor, Plasminogen Activator Inhibitor-1. *Cancer Res*. 2000 Oct 15; 60 (20):5839–5847.
5. Almholdt K, Lund LR, Rygaard J, Nielsen BS, Danø K, Rømer J, et al. Reduced metastasis of transgenic mammary cancer in urokinase-deficient mice. *International Journal of Cancer*. 2005; 113 (4):525–532. <https://doi.org/10.1002/ijc.20631>
6. Subramanian R, Gondi CS, Lakka SS, Jutla A, Rao JS. siRNA-mediated simultaneous downregulation of uPA and its receptor inhibits angiogenesis and invasiveness triggering apoptosis in breast cancer cells. *International Journal of Oncology*.

- 2006 Apr 1; 28 (4):831–839. <https://doi.org/10.3892/ijo.28.4.831>
7. Aguirre-Ghiso JA, Liu D, Mignatti A, Kovalski K, Ossowski L. Urokinase Receptor and Fibronectin Regulate the ERKMAPK to p38MAPK Activity Ratios That Determine Carcinoma Cell Proliferation or Dormancy In Vivo. *MBoC*. 2001 Apr 1; 12 (4):863–879. <https://doi.org/10.1091/mbc.12.4.863>
8. Ulisse S, Baldini E, Sorrenti S, D'Armiento M. The urokinase plasminogen activator system: a target for anti-cancer therapy. *Curr Cancer Drug Targets*. 2009 Feb; 9 (1):32–71. <https://doi.org/10.2174/156800909787314002>
9. Chekhonin VP, Shein SA, Korchagina AA, Gurina OI. VEGF in neoplastic angiogenesis. *Annals of the Russian Academy of medical sciences*. 2012; 67 (2):23–34. (In Russian). <https://doi.org/10.15690/vramn.v67i2.119>
10. Ferrara N, Gerber H-P, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*. 2003 Jun; 9 (6):669–676. <https://doi.org/10.1038/nm0603-669>
11. Pollak M. Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. *Nat Rev Cancer*. 2008 Dec; 8 (12):915–928. <https://doi.org/10.1038/nrc2536>
12. Santos Bernardes S, de Souza-Neto FP, Pasqual Melo G, Guarnier FA, Marinello PC, Cecchini R, et al. Correlation of TGF- β 1 and oxidative stress in the blood of patients with melanoma: a clue to understanding melanoma progression? *Tumor Biol*. 2016 Aug 1; 37 (8):10753–10761. <https://doi.org/10.1007/s13277-016-4967-4>
13. Kit OI, Frantsiyants EM, Kotieva IM, Kaplieva IV, Trepitaki LK, Bandovkina VA, et al. Some mechanisms of increasing malignancy of B16/F10 melanoma in female mice with chronic pain. *Russian Journal of Pain*. 2017; 2 (53):14–20. (In Russian).
14. Zhang J, Sud S, Mizutani K, Gyetko MR, Pienta KJ. Activation of urokinase plasminogen activator and its receptor axis is essential for macrophage infiltration in a prostate cancer mouse model. *Neoplasia*. 2011 Jan; 13 (1):23–30. <https://doi.org/10.1593/neo.10728>
15. Breuss JM, Uhrin P. VEGF-initiated angiogenesis and the uPA/uPAR system. *Cell Adhesion & Migration*. 2012 Nov 17; 6 (6):535–540. <https://doi.org/10.4161/cam.22243>
16. Carmeliet P, Collen D. Transgenic mouse models in angiogenesis and cardiovascular disease. *J Pathol*. 2000 Feb; 190 (3):387–405. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(200002\)190:3<387::AID-PATH595>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(200002)190:3<387::AID-PATH595>3.0.CO;2-R)
17. Kriegbaum MC, Clausen OPF, Lærum OD, Ploug M. Expression of the Ly6/uPAR-domain proteins C4.4A and Haldisin in non-invasive and invasive skin lesions. *J Histochem Cytochem*. 2015; 63 (2):142–154. <https://doi.org/10.1369/0022155414563107>
18. Shi H, Liu L, Liu L-M, Geng J, Chen L. Inhibition of tumor growth by β -elemene through downregulation of the expression of uPA, uPAR, MMP-2, and MMP-9 in a murine intraocular melanoma model. *Melanoma Res*. 2015 Feb; 25 (1):15–21. <https://doi.org/10.1097/CMR.0000000000000124>
19. Alexander RA, Prager GW, Mihaly-Bison J, Uhrin P, Sunzenauer S, Binder BR, et al. VEGF-induced endothelial cell migration requires urokinase receptor (uPAR)-dependent integrin redistribution. *Cardiovasc Res*. 2012 Apr 1; 94 (1):125–135. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvs017>
20. Hugdahl E, Bachmann IM, Schuster C, Ladstein RG, Akslen LA. Prognostic value of uPAR expression and angiogenesis in primary and metastatic melanoma. *PLOS ONE*. 2019 Jan 14; 14 (1):e0210399. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210399>
21. Roberts AB, Wakefield LM. The two faces of transforming growth factor beta in carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003 Jul 22; 100 (15):8621–8623. <https://doi.org/10.1073/pnas.1633291100>
22. Jo M, Thomas KS, Marozkina N, Amin TJ, Silva CM, Parsons SJ, et al. Dynamic assembly of the urokinase-type plasminogen activator signaling receptor complex determines the mitogenic activity of urokinase-type plasminogen activator. *J Biol Chem*. 2005 Apr 29; 280 (17):17449–17457. <https://doi.org/10.1074/jbc.M413141200>
23. Santibanez JF. Transforming growth factor-Beta and urokinase-type plasminogen activator: dangerous partners in tumorigenesis-implications in skin cancer. *ISRN Dermatol*. 2013 Jul 18; 2013:597927. <https://doi.org/10.1155/2013/597927>
24. Humbert L, Lebrun J-J. TGF- β inhibits human cutaneous melanoma cell migration and invasion through regulation of the plasminogen activator system. *Cellular Signalling*. 2013 Feb 1; 25 (2):490–500. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2012.10.011>
25. Ramont L, Pasco S, Hornebeck W, Maquart F-X, Monboisse JC. Transforming growth factor-beta1 inhibits tumor growth in a mouse melanoma model by down-regulating the plasminogen activation system. *Exp Cell Res*. 2003 Nov 15; 291 (1):1–10. [https://doi.org/10.1016/s0014-4827\(03\)00336-7](https://doi.org/10.1016/s0014-4827(03)00336-7)
26. Xie T, Leung PS. Fibroblast growth factor 21: a regulator of metabolic disease and health span. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2017 May 30; 313 (3):E292–E302. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00101.2017>
27. Ables GP, Perrone CE, Orentreich D, Orentreich N. Methionine-restricted C57BL/6J mice are resistant to diet-induced obesity and insulin resistance but have low bone density. *PLoS ONE*. 2012; 7 (12):e51357. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051357>
28. Bendall SC, Stewart MH, Menendez P, George D, Vijayaragavan K, Werbowetski-Ogilvie T, et al. IGF and FGF cooperatively establish the regulatory stem cell niche of pluripotent human cells in vitro. *Nature*. 2007 Aug; 448 (7157):1015–1021. <https://doi.org/10.1038/nature06027>
29. Ziegler AN, Chidambaram S, Forbes BE, Wood TL, Levison SW. Insulin-like Growth Factor-II (IGF-II) and IGF-II Analogs with Enhanced Insulin Receptor- α Binding Affinity Promote Neural Stem Cell Expansion. *J Biol Chem*. 2014 Feb 21; 289 (8):4626–4633. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.537597>
30. Malaguarnera R, Belfiore A. The emerging role of insulin and insulin-like growth factor signaling in cancer stem cells. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2014; 5:10. <https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00010>

Информация об авторах:

Франциянц Елена Михайловна – д.б.н., профессор, заместитель генерального директора по научной работе, руководитель лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>, SPIN: 9427-9928

Каплиева Ирина Викторовна – д.м.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3972-2452>, SPIN: 5047-1541

Нескубина Ирина Валерьевна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>, SPIN: 3581-8531

Бандовкина Валерия Ахтямовна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2302-8271>, SPIN: 8806-2641

Трепитак Лидия Константиновна – научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9749-2747>, SPIN: 2052-1248

Сурикова Екатерина Игоревна* – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4318-7587>, SPIN: 2401-4115

Черярина Наталья Дмитриевна – врач-лаборант лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3711-8155>, SPIN: 2189-3404

Немашкалова Людмила Анатольевна – научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2713-8598>, SPIN: 1355-8652

Лесовая Наталья Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5686-8659>, SPIN: 6995-9917

Information about authors:

Elena M. Frantsiyants – Dr. Sci. (Biol.), professor, deputy director general for science, head of the laboratory for the study of the pathogenesis of malignant tumors of National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>, SPIN: 9427-9928

Irina V. Kaplieva – Dr. Sci. (Med.), senior researcher of the laboratory for the study of pathogenesis of malignant tumors of National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3972-2452>, SPIN: 5047-1541

Irina V. Neskubina – Cand. Sci. (Biol.), senior researcher of the laboratory for the study of pathogenesis of malignant tumors of National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>, SPIN: 3581-8531

Valeriya A. Bandovkina – Cand. Sci. (Biol.), senior researcher of the laboratory for the study of pathogenesis of malignant tumors of National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2302-8271>, SPIN: 8806-2641

Lidiya K. Trepitaki – assistant researcher of the laboratory for the study of pathogenesis of malignant tumors of National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9749-2747>, SPIN: 2052-1248

Ekaterina I. Surikova* – Cand. Sci. (Biol.), senior researcher of the laboratory for the study of pathogenesis of malignant tumors of National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4318-7587>, SPIN: 2401-4115

Natalya D. Cheryarina – doctor-laboratory assistant of the laboratory for studying the pathogenesis of malignant tumors of National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3711-8155>, SPIN: 2189-3404

Lyudmila A. Nemashkalova – researcher at the laboratory for the study of the pathogenesis of malignant tumors of National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2713-8598>, SPIN: 1355-8652

Natalya S. Lesovaya – junior researcher of the laboratory for the study of pathogenesis of malignant tumors of National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5686-8659>, SPIN: 6995-9917

Участие авторов:

Франциянц Е.М. – разработка концепции и дизайна эксперимента, анализ и интерпретация результатов, написание текста, окончательное утверждение рукописи для публикации.

Каплиева И.В. – анализ и интерпретация результатов, проверка критически важного интеллектуального содержания, научное редактирование.

Нескубина И.В. – проведение эксперимента и обработка материала.

Бандовкина В.А. – анализ и интерпретация результатов.

Трепитак Л.К. – проведение эксперимента, подготовка образцов тканей для исследования.

Сурикова Е.И. – техническое редактирование, оформление библиографии.

Черярина Н.Д. – выполнение ИФА-анализа, статистическая обработка данных.

Немашкалова Л.А. – подготовка образцов тканей для исследования, выполнение ИФА-анализа.

Лесовая Н.С. – проведение эксперимента.

Authors contribution:

Elena M. Frantsiyants – development of the concept and design of the experiment, analysis and interpretation of the results, writing the text, final approval of the manuscript for publication.

Irina V. Kaplieva – analysis and interpretation of results, verification of critical intellectual content, scientific editing.

Irina V. Neskubina – conducting an experiment and processing the material.

Valeriya A. Bandovkina – analysis and interpretation of the results.

Lidiya K. Trepitaki – conducting an experiment, preparing tissue samples for research.

Ekaterina I. Surikova – technical editing, bibliography design.

Natalya D. Cheryarina – performing ELISA analysis, statistical data processing.

Lyudmila A. Nemashkalova – preparation of tissue samples for research, ELISA analysis.

Natalya S. Lesovaya – conducting an experiment.