



ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ РЕЦЕПТОРА УРОКИНАЗЫ И ДРУГИХ КОМПОНЕНТОВ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ТКАНИ МОЗГА У МЫШЕЙ С НОКАУТОМ ГЕНА УРОКИНАЗЫ ПРИ РОСТЕ ПЕРЕВИВНОЙ МЕЛАНОМЫ В16/F10 НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОЙ НЕЙРОГЕННОЙ БОЛИ

Е. М. Франциянц, В. А. Бандовкина, И. В. Каплиева, Н. Д. Черярина, Е. И. Сурикова✉, И. В. Нескубина, Ю. А. Погорелова, Л. А. Немашкалова

НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ sunsur2000@mail.ru

Резюме

Цель исследования. Изучить изменение содержания компонентов урокиназной системы в мозге у мышей с нокаутом урокиназы (uPA^{-/-}) в случае самостоятельного и сочетанного с хронической нейрогенной болью (ХНБ) роста перевивной меланомы В16/F10.

Материалы и методы. Работа выполнена на мышах обоего пола линии C57BL/6-Plautml.IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu (uPA^{-/-}) ($n = 48$) и линии C57BL/6 (uPA^{+/+}) ($n = 80$), которым в самостоятельном или сочетанном с ХНБ вариантах перевивали меланому В16/F10. В мозге животных стандартным ИФА методом определяли содержание рецептора урокиназы (uPAR), плазмينا (PAP) и активность и содержание ингибитора PAI-I.

Результаты. Только у интактных самцов uPA^{-/-} содержание uPAR, PAI-I и PAP в мозге отличалось – было выше, чем у uPA^{+/+} мышей в среднем в 1,6 раза ($p < 0,05$). При ХНБ у uPA^{-/-} самцов в ткани мозга возрастал уровень PAI-I в 1,3 раза ($p < 0,05$) и снижался PAP в 2,6 раза ($p < 0,05$), у uPA^{+/+} самцов изменения уровня PAI-I и PAP были противоположны; у uPA^{-/-} самок уровень всех показателей возрастал в 1,6–2,1 раза ($p < 0,05$), в отличие от uPA^{+/+} самок. При самостоятельном росте меланомы картина изменений уровня uPAR, PAI-I и PAP в ткани мозга uPA^{-/-} самцов была иной, чем в группе с ХНБ и у uPA^{+/+} самцов; у самок uPA^{+/+} возрастал уровень uPAR и PAP в 1,7 и в 3,0 раза ($p < 0,05$), а у uPA^{-/-} самок – только PAP в 3,2 раза ($p < 0,05$). Сочетанный с ХНБ рост меланомы у uPA^{-/-} мышей, не зависимо от пола, снижал содержание uPAR и PAI-I в среднем в 1,5 и в 2,0 раза, соответственно ($p < 0,05$) и увеличивал PAP в среднем в 2,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с уровнем у животных с ХНБ, при этом у uPA^{+/+} животных отмечено аналогичное снижение uPAR только у самцов в 3,7 раза ($p < 0,05$) и увеличение PAI-I в 2,0 раза ($p < 0,05$) у всех мышей.

Заключение. Изменение изученных показателей в ткани головного мозга животных с нокаутом в ответ на влияние стрессорных факторов указывает на роль урокиназной системы мозга в реакции как на ХНБ, так и на рост меланомы, а половые особенности этих изменений могут оказаться одним из факторов, обуславливающих гендерные различия риска возникновения и течения меланомы кожи.

Ключевые слова:

нокаут гена урокиназы, меланома В16/F10, хроническая нейрогенная боль, рецептор урокиназы, плазмин, ингибитор активатора плазминогена

Для корреспонденции:

Сурикова Екатерина Игоревна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14 линия, д. 63

E-mail: sunsur2000@mail.ru

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

SPIN: 2401-4115, AuthorID: 301537

ResearcherID: AAG-8748-2019

Scopus Author ID: 6507092816

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Каплиева И. В., Черярина Н. Д., Сурикова Е. И., Нескубина И. В., Погорелова Ю. А., Немашкалова Л. А. Изменение содержания рецептора урокиназы и других компонентов фибринолитической системы в ткани мозга у мышей с нокаутом гена урокиназы при росте перевивной меланомы В16/F10 на фоне хронической нейрогенной боли. Исследования и практика в медицине. 2022; 9(1): 12–22.

<https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-1-1>.

Статья поступила в редакцию 21.04.2021; одобрена после рецензирования 21.12.2021; принята к публикации 14.03.2022.

© Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Каплиева И. В., Черярина Н. Д., Сурикова Е. И., Нескубина И. В., Погорелова Ю. А., Немашкалова Л. А., 2022

CHANGES IN LEVELS OF UROKINASE RECEPTOR AND OTHER COMPONENTS OF FIBRINOLYTIC SYSTEM IN BRAIN TISSUES IN UROKINASE GENE-KNOCKOUT MICE WITH B16/F10 MELANOMA GROWING TOGETHER WITH CHRONIC NEUROGENIC PAIN

E. M. Frantsiyants, V. A. Bandovkina, I. V. Kaplieva, N. D. Cheryarina, E. I. Surikova[✉], I. V. Neskubina, Yu. A. Pogorelova, L. A. Nemashkalova

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ sunsur2000@mail.ru

Abstract

Purpose of the study. An analysis of the changes in components of the urokinase system in the brain of urokinase gene-knockout mice (uPA^{-/-}) with B16/F10 melanoma growing alone and together with chronic neurogenic pain (CNP).

Materials and methods. The study included male and female C57BL/6-Plautml.IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu mice (uPA^{-/-}) ($n = 48$) and C57BL/6 mice (uPA^{+/+}) ($n = 80$) with transplanted B16/F10 melanoma growing solitarily and together with CNP. Levels of the urokinase receptor (uPAR) and plasmin (PAP) and activity and levels of the PAI-I inhibitor were measured in the brain of animals by ELISA.

Results. Levels of uPAR, PAI-I and PAP in the brain differed only in intact uPA^{-/-} males, being on average 1.6 times higher ($p < 0.05$) than in uPA^{+/+} mice. Among animals with CNP, uPA^{-/-} males showed increased PAI-I by 1.3 times ($p < 0.05$) and decreased PAP by 2.6 times ($p < 0.05$), while in uPA^{+/+} males, changes in PAI-I and PAP were opposite; in uPA^{-/-} females, levels of all indicators increased by 1.6–2.1 times ($p < 0.05$), unlike uPA^{+/+} females. Among animals with melanoma only, changes in the levels of uPAR, PAI-I and PAP in the brain tissues in uPA^{-/-} males differed from the group with CNP and from uPA^{+/+} males; in uPA^{+/+} females, levels of uPAR and PAP increased by 1.7 and 3.0 times ($p < 0.05$), and only PAP increased in uPA^{-/-} females by 3.2 times ($p < 0.05$). Combination of CNP with melanoma in uPA^{-/-} mice, regardless of their gender, down-regulated levels of uPAR and PAI-I on the average by 1.5 and 2.0 times, respectively ($p < 0.05$), and up-regulated PAP on the average by 2.2 times ($p < 0.05$) compared to the levels in animals with CNP; in uPA^{+/+} animals, similar decline of uPAR by 3.7 times ($p < 0.05$) was registered only in males, and an increase of PAI-I by 2.0 times ($p < 0.05$) was noted in all mice.

Conclusion. Changes in the studied parameters in the brain tissue of urokinase gene-knockout animals in response to stress factors indicate the role of the brain urokinase system in the response to both CNP and melanoma growth, and the gender specificity of these changes may be another factor that conditions gender differences in the risk of occurrence and course of cutaneous melanoma.

Keywords:

urokinase gene knockout, B16/F10 melanoma, chronic neurogenic pain, urokinase receptor, plasmin, plasminogen activator inhibitor

For correspondence:

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

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

E-mail: sunsur2000@mail.ru

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

SPIN: 2401-4115, AuthorID: 301537

ResearcherID: AAG-8748-2019

Scopus Author ID: 6507092816

Funding: this work was not funded.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Frantsiyants E. M., Bandovkina V. A., Kaplieva I. V., Cheryarina N. D., Surikova E. I., Neskubina I. V., Pogorelova Yu. A., Nemashkalova L. A. Changes in levels of urokinase receptor and other components of fibrinolytic system in brain tissues in urokinase gene-knockout mice with B16/F10 melanoma growing together with chronic neurogenic pain. Research and Practical Medicine Journal (Issled. prakt. med.). 2022; 9(1): 12-22. (In Russ.).

<https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-1-1>.

The article was submitted 21.04.2021; approved after reviewing 21.12.2021; accepted for publication 14.03.2022.

ВВЕДЕНИЕ

Последние два десятилетия растет интерес к изучению роли uPA и uPAR в ткани мозга [1; 2]. Ранее фибринолитическую систему рассматривали как участника ремоделирования матрикса, деградации фибрина, активации превращения плазминогена в плазмин, а также как участника неангиогенеза. Недавние исследования показали ключевую роль фибринолитической системы во множестве плазминоген-зависимых и -независимых событий, затрагивающих нервную систему [1; 3], таких как миграция, рост и ремоделирование нейронов [4], синаптическая пластичность [5], обучение, стресс-индуцированная тревога, нейропротекция [2; 6], регуляция проницаемости гематоэнцефалического барьера и нейровоспаление, а также в патогенезе таких заболеваний как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, аутизм, эпилепсия [1].

Исследования, проведенные на геномодифицированных животных, показали, что нокаут гена урокиназного рецептора влечет за собой многочисленные нарушения как поведенческого так и физиологического характера, которые не выявляются у животных без нокаута гена урокиназы. Экстранейрональные аномалии фенотипов у мышей с дефицитом uPA незначительны: нарушена регенерация кожи, мышц, печени и сосудов; более высокая смертность от инфекционных агентов и снижение метастазирования рака. Тем не менее, они не связаны с повышенной восприимчивостью к судорогам, нарушениями тонкой двигательной активности и мышечной координации [7].

Урокиназа не является единственным лигандом для uPAR, ряд функций могут быть опосредованы или модулированы кининогеном или SRPX2 (белок-сушиповтор, связанный с X), который также связывается с uPAR. Предполагают, что специфичность функций, опосредованных uPAR, зависит от лиганда, занимающего рецептор [1; 7].

Основываясь на исследованиях, проводимых в основном в области рака, установлено, что взаимодействие uPA – uPAR способствует адгезии, пролиферации, дифференцировке и миграции клеток, а также деградации матрикса, апоптозу и ангиогенезу [7–9]. Кроме того, экспрессия uPA и uPAR увеличивается во время фазы восстановления после ишемического инсульта, а связывание uPA с uPAR способствует процессам восстановления в ишемическом мозге [2; 6].

Использование различных экспериментальных опухолевых моделей позволяет глубже изучить механизмы злокачественного роста [10–12]. В предыдущих исследованиях было показано, что рост злокачественной опухоли, в том числе и перевивной меланомы B16/F10, а также хроническая нейрогенная боль в самостоятельном и сочетанном варианте оказывают не

только местное, но и системное воздействие на весь организм, приводя к изменению содержания биогенных аминов, нейротрофинов и нейростероидов в структурах центральной нервной системы [13; 14]. Кроме того, наблюдалась стимуляция хронической болью роста перевивной опухоли на модели мышей с нокаутом гена урокиназы, который сам по себе вызывает торможение роста и метастазирования опухоли [15; 16]. В связи с вышесказанным представляет интерес изучить, каким образом изменяется в мозге содержание uPAR, плазмина и PAI-I у мышей с нокаутным геном урокиназы при воздействии ХНБ, росте перевивной меланомы, а также сочетании этих двух факторов.

Цель исследования: изучить изменение содержания некоторых компонентов фибринолитической системы в мозге у мышей с нокаутом гена урокиназы в случае самостоятельного и сочетанного с хронической нейрогенной болью роста перевивной меланомы B16/F10.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использованы мыши 8-недельного возраста масса – 21–24 г обоего пола. Животные линии C57BL/6-Plautm1.1Bug-ThisPlau6Fdhu/GFDhu (uPA^{-/-}) ($n = 48$), полученные из питомника лабораторных животных «Пушино» Филиала Института биорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН (Московская область). Мыши линии C57BL/6-Plautm1.1BugThisPlauGFDhu/GFDhu: характеризуются черной окраской шерсти, целевой мутацией (нокаут) с получением белка (uPA), не способного связываться с рецептором активатора плазминогена урокиназного типа. Животные могут использоваться в исследованиях хронического воспаления ткани, механизмов фибринолиза, онкогенеза и роста сосудов в тканях.

Для сравнения использовали мышей 8-недельного возраста обоего пола линии C57BL/6 (uPA^{+/+}) ($n = 80$), полученных из филиала «Андреевка» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России. 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 Приказе Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Протокол исследования был одобрен биоэтическим комитетом по работе с животными ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, протокол № 2 от 29.05.2018 г.

Животные обоего пола каждой линии (uPA-/- и uPA+/+) были распределены методом случайной выборки на группы: интактные; контроль – животные с хронической нейрогенной болью, вызванной двусторонним лигированием седалищных нервов [17]; группа сравнения – животные через 21 день стандартного роста меланомы B16/F10, перевитой подкожно в правую подлопаточную область; основная группа – животные, перевивку меланомы которым производили через 2 недели после моделирования ХНБ (B16/F10 + ХНБ).

В работе использовали клеточную линию мышинной меланомы B16/F10, полученную из ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России. Материал для перевивки меланомы B16/F10 получали от мышей-доноров на 12–16 сутки развития опухолей. После декапитации животных мозг быстро извлекали, отмывали от крови, и на льду готовили 10 % гомогенат белого вещества на 0,1М калий-фосфатном буфере рН 7,4, содержащем 0,1 % Твин-20 и 1 % БСА. Стандартными методами ИФА определяли: содержание рецептора урокиназы (uPAR), плазмину (РАР), активность и содержание PAI-I (Cusabio, Китай).

Статистическую обработку полученных результатов проводили программой Statistica 10.0. Все результаты были проверены на соответствие закону о нормальном распределении (критерий Шапиро-Уилка). Для показателей, распределение которых соответствовало нормальному распределению, мы использовали критерий Стьюдента, для показателей, распределение которых не соответствовало нормальному распределению – критерий Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия между двумя выборками при $p < 0,05$. Данные представлены в виде среднего арифметического значения \pm стандартная ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование компонентов фибринолитической системы в ткани мозга у самок мышей показало, что у интактных животных линии C57BL/6 по сравнению с животными, нокаутированными по гену урокиназы, содержание uPAR, плазмину, PAI-I и активность PAI-I не имели значимых отличий (табл. 1).

Хроническая нейрогенная боль (контрольная группа) вызывала повышение в ткани мозга uPA-/- самок содержания uPAR в 2 раза, PAI-I – в 1,5 раза и плазмину – в 2 раза, а также активности PAI-I в 1,4 раза ($p < 0,05$). В то же время у самок линии C57BL/6 uPA+/+ под действием ХНБ в ткани мозга повысился уровень только плазмину и uPAR в 1,8 раза и в 2,1 раза соответственно ($p < 0,05$).

Перевивка меланомы B16/F10 у самок uPA-/- не изменила содержание в ткани мозга uPAR и PAI-I, но повысила РАР в 3,3 раза, а активность PAI-I – в 1,4 раза, по сравнению с интактными самками-нокаутами ($p < 0,05$). У самок uPA+/+, через 21 день роста перевивной меланомы B16/F10 в ткани мозга повысился уровень uPAR в 1,7 раза, РАР в 3 раза и увеличилась активность PAI-I в 1,3 раза, однако его содержание не изменилось по сравнению с уровнем в интактной группе ($p < 0,05$).

Сочетанное с ХНБ развитие злокачественного процесса у самок uPA-/- сопровождалось снижением в ткани мозга уровня uPAR в 1,5 раза, активности PAI-I – в 1,4 раза и его содержания – в 2 раза, по сравнению с контролем нокаутов, но при этом в ткани мозга выросла концентрация плазмину в 2 раза ($p < 0,05$). Рост перевивной меланомы на фоне ХНБ у самок uPA+/+ привел к увеличению в ткани мозга активности и содержания PAI-I в 1,8 раза и в 2,2 раза соответственно ($p < 0,05$). Уровень uPAR и РАР не имел значимых отличий от показателей у самок мышей с ХНБ.

Результаты исследования показателей урокиназной системы в ткани мозга у мышей самцов представлены в таблице 2. Самцы мышей uPA-/- отличались от интактных животных uPA+/+ более высоким (в 1,7 раза выше) содержанием в ткани мозга uPAR, повышенным содержанием PAI-I (в 1,7 раза) и РАР в 1,5 раза ($p < 0,05$).

У самцов uPA-/- ХНБ вызвала повышение уровня uPAR и PAI-I в 1,3 раза, что сопровождалось снижением содержания РАР в 2,6 раза ($p < 0,05$). У самцов uPA+/+ при ХНБ в ткани мозга также повышался уровень uPAR в 1,7 раза, РАР в 1,8 раза, но снижалось содержание PAI-I в 1,4 раза, без изменения его активности ($p < 0,05$).

У самцов uPA-/- рост меланомы B16/F10 вызвал снижение в ткани мозга уровня uPAR в 2,3 раза, РАР в 1,6 раза и содержание PAI-I в 1,4 раза, без изменения активности последнего ($p < 0,05$). В то же время у самцов uPA+/+ через 21 день роста меланомы B16/F10 установлено повышение содержания uPAR и PAI-I в 1,5 раза без изменения уровня РАР и активности PAI-I в мозге ($p < 0,05$).

У самцов uPA-/- при росте меланомы на фоне ХНБ по сравнению с группой нокауты контроль снизился уровень uPAR в 1,5 раза и PAI-I в 1,4, но повысилось содержание РАР в 2,3 раза ($p < 0,05$).

У самцов uPA+/+ при росте меланомы на фоне ХНБ в ткани мозга снизилось содержание uPAR в 3,7 раза, повысился уровень и активность PAI-I в 1,8 раза и в 1,3 раза, соответственно, а содержание плазмину не изменилось ($p < 0,05$).

Кроме урокиназы существует еще ряд возможных лигандов для uPAR, в частности гипоталамический белок SRPX2, интегрины и ряд рецепторов факторов

роста, таких как EGFR, VEGFR и др, которые необходимы для протеолиза внеклеточного матрикса и ремоделирования тканей после повреждения головного мозга [18]. Благодаря возможности uPAR связываться с различными лигандами животные с дефицитом урокиназы являются жизнеспособными, но имеют особенности ответных реакций на различные стрессорные воздействия, в том числе и на рост злокачественных опухолей.

Животные с нокаутом гена урокиназы имели половые особенности содержания изученных компонентов урокиназной системы в мозге. У интактных самок мышей uPA^{-/-} в мозге не отмечено значимых различий в содержании uPAR, PAP и PAI-I по сравнению с интактными uPA^{+/+} животными. У самцов uPA^{-/-}, в отличие от uPA^{+/+} животных, в ткани мозга оказался выше уровень uPAR, плазмينا и содержание PAI-I, что, однако, не повлияло на активность последнего. Надо отметить, что в работе Semina E и соавт. также была отмечена более интенсивная экспрессия рецептора uPAR в эксплантатах ганглиев задних корешков самцов мышей с uPA-дефицитом [19]. Направленность изменений изученных нами показателей в ткани мозга под влиянием роста перевивной меланомы и ХНБ в самостоятельном и сочетанном вариантах также имела половые особенности. Так, ХНБ повы-

шала в ткани мозга содержание uPAR и PAI-I у uPA^{-/-} животных обоего пола, однако у самок росла также активность PAI-I и повышалась концентрация плазмينا, тогда как у самцов не установлено изменений активности PAI-I в ткани мозга, а уровень PAP снижался. Сравнение с показателями у uPA^{+/+} животных показало, что у самок вне зависимости от состояния гена урокиназы изменения содержания uPAR и PAP были однонаправленными. У самцов ХНБ однонаправленно влияла на уровень uPAR, но разнонаправленно на содержание в мозге PAI-I и PAP в зависимости от наличия или отсутствия нокаута. У uPA^{-/-} самцов повышалось содержание PAI-I, но снижался уровень PAP, тогда как у uPA^{+/+} самцов наоборот.

Известно, что различные патологические воздействия, в частности ишемия, вызванная травмами и инсультом, приводит к увеличению экспрессии uPAR до уровней, наблюдаемых во время развития, что, как предполагают, способствует функциональному восстановлению после острого ишемического инсульта [2; 9]. Ряд исследований подтверждает связь сверхэкспрессии uPAR и окислительного стресса, ангиогенеза, воспаления и нейродегенерации [20; 21]. С другой стороны, взаимодействия между рецептором урокиназного активатора плазминогена и его различными лигандами регулируют рост опухоли,

Таблица 1. Содержание рецептора урокиназы, плазмينا, PAI-I активности и антигена в мозге самок мышей
Table 1. The urokinase, plasmin receptors, as well as PAI-I activity and antigen maintenance in female mice brain samples

Группы / Groups	uPAR	PAI-I акт. / PAI-I act.	PAI-I сод. / PAI-I maint.	PAP
Самки C57Bl/6 / C57Bl/6 female				
Интактные / Intact	50,0 ± 4,8	2,0 ± 0,19	2,5 ± 0,21	18,37 ± 1,7
Контроль (ХНБ) / Control (CNP)	106,7 ± 9,7 ¹	1,9 ± 0,15 ³	2,6 ± 0,24	32,22 ± 3,1 ¹
B16/F10 / B16/F10	86,3 ± 7,5 ¹	2,6 ± 0,25 ¹	2,7 ± 0,27	54,43 ± 4,9 ¹
B16/F10 + ХНБ / B16/F10 + CNP	90,6 ± 8,8 ¹	3,4 ± 0,33 ^{1,2,3}	5,7 ± 0,55 ^{1,2,3}	33,18 ± 3,3 ^{1,3}
Самки нокауты PLAU uPA ^{-/-} / Knockout female mice PLAU uPA ^{-/-}				
Интактные / Intact	53,4 ± 5,1	2,1 ± 0,19	3,1 ± 0,27	14,8 ± 1,3
Контроль (ХНБ) / Control (CNP)	104,8 ± 9,7 ¹	2,9 ± 0,25 ^{1,4}	4,7 ± 0,46 ^{1,4}	29,5 ± 2,7 ¹
B16/F10	66,95 ± 6,5 ⁴	2,9 ± 0,27 ¹	2,9 ± 0,25	48,1 ± 4,6 ¹
B16/F10 + ХНБ / B16/F10 + CNP	70,6 ± 6,9 ^{1,2,4}	2,1 ± 0,18 ^{2,3,4}	2,35 ± 0,22 ^{1,2,4}	59,98 ± 5,7 ^{1,2,4}

Примечание: статистически значимо ¹ – по сравнению с уровнем у интактных животных; ² – по сравнению с соответствующим контролем (ХНБ); ³ – по сравнению с самостоятельным ростом меланомы; ⁴ – по сравнению с соответствующей группой у мышей uPA^{+/+} ($p < 0,05$).

Note: Statistically significant ¹ – in comparison with levels detected in intact animals; ² – in comparison with control groups (CNP); ³ – in comparison with solid melanoma growth; ⁴ – in comparison with PA^{+/+} mice ($p < 0.05$).

инвазию и метастазирование [22]. Существуют исследования, демонстрирующие сигнальные пути, посредством которых урокиназа может регулировать выживаемость опухоли, а также ее устойчивость к цитотоксическим агентам за счет связывания в ядре клеток с транскрипционными факторами – NOXA5, NHEX, Lhx-2 [23].

Проведенные ранее исследования показали, что рост перевивной меланомы B16/F10 у мышей обоего пола, но особенно у самок с uPA^{-/-}, тормозился по сравнению с животными uPA^{+/+} [15]. Изменения исследованных показателей в ответ на рост перевивной меланомы у самок uPA^{-/-} и uPA^{+/+} были одинаковым, тогда как у самцов с нокаутом по урокиназе и диким типом гена – разнонаправленными. У самцов uPA^{-/-} рост меланомы вызывал снижение в ткани мозга содержания uPAR, PAP и PAI-I, у самок – повышение uPAR, PAP и активности PAI-I. Полученные результаты свидетельствуют о существенной роли половой принадлежности индивидуума в развитии меланомы, что имеет подтверждение в клинической практике и экспериментальных работах.

Можно сказать, что направленность изменений изученных показателей системы активации плазминогена в ткани мозга при воздействии стрессорных агентов при самостоятельных вариантах ХНБ

и меланомы B16/F10 у самок мышей не зависела от состояния гена урокиназы, тогда как у самцов такая зависимость выявлялась.

Несмотря на то, что перевивка меланомы B16/F10, а также моделирование хронической нейрогенной боли путем лигирования седалищных нервов не оказывают прямого повреждающего воздействия на функциональное состояние головного мозга, как это происходит при черепно-мозговой травме или при инсульте, ряд исследований указывает на изменение нейромедиаторного и нейростероидного статуса в мозге, как при самостоятельном росте злокачественных опухолей, так и в сочетании с ХНБ [14].

Сочетанный с ХНБ рост перевивной меланомы у мышей с дефицитом урокиназы вне зависимости от пола животного снижал содержание uPAR и PAI-I, но повышал уровень PAP по сравнению с исходным контролем животными с ХНБ. При этом у самок uPA^{-/-} сочетанный с ХНБ рост меланомы B16/F10 резко менял направленность всех изменений по сравнению с uPA^{+/+} самками, тогда как у самцов uPA^{-/-} по своей направленности отличалось только изменение содержания PAI-I и PAP. Учитывая тот факт, что воздействие ХНБ на развитие перевивной меланомы у животных обоего пола с нокаутом отменяло генетически детерминированное торможение роста злокачественной

Таблица 2. Содержание рецептора урокиназы, плазмина, PAI-I активности и антигена в мозге самцов мышей
Table 2. The urokinase, plasmin receptors, as well as PAI-I activity and antigen maintenance in male mice brain samples

Группы / Groups	uPAR	PAI-I акт. / PAI-I act.	PAI-I сод. / PAI-I maint.	PAP
Самцы C57Bl/6 / Male C57Bl/6				
Интактные / Intact	51,16 ± 4,7	2,4 ± 0,21	2,3 ± 0,21	31,1 ± 2,7
Контроль (ХНБ) / Control (CNP)	88,0 ± 8,5 ¹	2,1 ± 0,18	1,7 ± 0,16 ¹	57,4 ± 5,3 ¹
B16/F10	78,2 ± 7,6 ¹	2,1 ± 0,19	3,4 ± 0,32 ¹	26,7 ± 2,4
B16/F10 + ХНБ / B16/F10 + CNP	24,0 ± 2,1 ^{1,2}	2,7 ± 0,25 ²	3,1 ± 0,27 ^{1,2}	53,6 ± 5,2 ¹
Самцы нокауты PLAU uPA ^{-/-} / Knockout female mice PLAU uPA ^{-/-}				
Интактные / Intact	85,7 ± 8,1 ⁴	2,4 ± 0,21	3,8 ± 0,34 ⁴	46,9 ± 4,4 ⁴
Контроль (ХНБ) / Control (CNP)	109,3 ± 9,5	2,98 ± 0,27	5,1 ± 0,48 ¹	18,23 ± 1,7 ¹
B16/F10	36,8 ± 3,4 ⁴	2,2 ± 0,19	2,8 ± 0,24 ¹	29,1 ± 2,5 ¹
B16/F10 + ХНБ / B16/F10 + CNP	74,6 ± 7,2 ^{2,4}	2,5 ± 0,24	3,7 ± 0,35 ²	41,3 ± 3,7 ²

Примечание: статистически значимо ¹ – по сравнению с уровнем у интактных животных; ² – по сравнению с соответствующим контролем (ХНБ); ³ – по сравнению с самостоятельным ростом меланомы; ⁴ – по сравнению с соответствующей группой у мышей uPA^{+/+} ($p < 0,05$).

Note: Statistically significant ¹ – in comparison with levels detected in intact animals; ² – in comparison with control groups (CNP); ³ – in comparison with solid melanoma growth; ⁴ – in comparison with PA^{+/+} mice ($p < 0.05$).

опухоли, изменение баланса изученных показателей урокиназной системы мозга может быть одним из механизмов данного эффекта.

Известно, что в мозге плазмин вырабатывается нейронами и эпителиальными клетками, и что он может выполнять дополнительные функции по сравнению с тромболизом как в развивающемся, так и в зрелом мозге [3]. Предполагают, что повышение уровня плазмينا в мозге может быть связано с повышением проницаемости гематоэнцефалического барьера, и имеет важное значение не только при различных черепно-мозговых травмах, но и при опухолевом росте [24]. У самок uPA^{-/-} ХНБ и B16/F10 как в самостоятельном, так и в сочетании вариантов, вызывали повышение уровня PAR в ткани мозга, тогда как у uPA^{+/+} самок повышение PAR было выявлено только при самостоятельном варианте воздействия, рост меланомы на фоне ХНБ не изменил уровень PAR по отношению к изначально повышенному в контрольной группе. В то же время у самцов uPA^{-/-} самостоятельное воздействие ХНБ и B16/F10 снижали уровень PAR в ткани мозга, и только сочетание этих факторов повышало его. У самцов uPA^{+/+} ХНБ в самостоятельном варианте вызывала повышение PAR, которое сохранялось и при росте меланомы на фоне ХНБ, тогда как при самостоятельном росте меланомы уровень плазмينا в мозге значимо не изменялся. Однако в наших исследованиях мы не выявили связи данных нарушений с изменениями в ткани мозга содержания uPAR или PAI-I. Известно, что зависимые от плазмينا пути, когда усиленная генерация *in situ* плазмينا увеличивает проницаемость гематоэнцефалического барьера, могут блокироваться антифибринолитическими агентами, включая аналоги лизина (транексамовая кислота) или прямыми ингибиторами плазмينا (апротинин, антиплазмин), ингибиторами MMP, ингибиторами калликреина, антагонистами рецептора брадикинина B2 или антагонистами рецептора C3a [25].

У uPA^{-/-} мышей обоего пола ХНБ повышала уровень PAI-I, тогда как у животных uPA^{+/+} содержание PAI-I либо снижалось (самцы), либо не изменялось (самки) под влиянием ХНБ. Опухолевый рост иначе воздействовал на PAI-I: у самцов с uPA^{-/-} снижал содержание, не влияя на активность, у самок напротив, повышал активность без изменения содержания. У мышей uPA^{+/+} в мозге иначе проходили изменения содержания и активности PAI-I в ответ на самостоятельные воздействия ХНБ и роста опухоли. У самок uPA^{+/+} ХНБ не влияла на содержание и активность PAI-I, а рост меланомы повышал активность без изменения содержания. У самцов uPA^{+/+} напротив, ХНБ снижала содержание PAI-I в ткани мозга без изменения содержания, тогда как рост меланомы напротив, повышал содержание без изменения актив-

ности PAI-I. Некоторые исследования показали, что высокие уровни PAI-I в плазме являются одновременно фактором риска [26] и негативным предиктором выживаемости после ишемического инсульта и присутствуют у пациентов после травмы головы, тогда как генетический дефицит PAI-I снижает повреждение головного мозга после экспериментального ишемического инсульта [27].

Рост меланомы на фоне ХНБ у животных uPA^{-/-} обоего пола вызывал снижение в ткани мозга уровня PAI-I без изменения активности у самцов и со снижением активности у самок. Следует отметить, что такие изменения происходили при отмене генетически детерминированного торможения роста опухоли. Известно, что сверхэкспрессия PAI-I может ингибировать подвижность опухолевых клеток и инвазию через компоненты внеклеточного матрикса, в частности при глиомах. Однако противоречивые результаты, полученные в научных исследованиях, свидетельствуют о более сложных биологических эффектах системы урокиназа/ PAI-I и ставят под сомнение упрощенное представление о PAI-I как ингибиторе инвазии опухоли головного мозга.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом можно сказать, что исследование содержания uPAR, PAR и PAI в ткани мозга у животных с нокаутом гена урокиназы показали неоднозначность и половую специфичность влияния стрессорных факторов – рост перевивной меланомы и ХНБ в самостоятельном и сочетании вариантах. Несмотря на отсутствие значимых изменений исследованных показателей в ткани головного мозга у интактных uPA-дефицитных самок по сравнению с группой uPA^{+/+} животных ответная реакция на ХНБ оказалась более выраженной и затрагивала систему PAI-I, а реакция на рост меланомы менее выраженной. Рост меланомы на фоне ХНБ у самок uPA^{-/-} менял направленность изменений изученных показателей, по сравнению с uPA^{+/+} животными. У интактных самцов обнаружено изначально различное содержание изученных компонентов uPA-системы в ткани головного мозга, при этом уровень плазмينا и PAI-I как в самостоятельном варианте, так и при сочетании ХНБ и B16/F10 изменялся в зависимости от состояния гена урокиназы.

Таким образом, изменение изученных показателей в ткани головного мозга животных с нокаутом в ответ на влияние стрессорных факторов указывает на роль урокиназной системы мозга в реакции как на ХНБ, так и на рост меланомы, а половые особенности этих изменений могут оказаться еще одним фактором, обуславливающим гендерные различия риска возникновения и течения меланомы кожи.

Список источников

1. Yepes M. The Plasminogen Activation System Promotes Neurorepair in the Ischemic Brain. *Curr Drug Targets*. 2019;20(9):953–959. <https://doi.org/10.2174/1389450120666181211144550>
2. Merino P, Diaz A, Manrique LG, Cheng L, Yepes M. Urokinase-type plasminogen activator (uPA) promotes ezrin-mediated reorganization of the synaptic cytoskeleton in the ischemic brain. *J Biol Chem*. 2018 Jun 15;293(24):9234–9247. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.002534>
3. Medcalf RL. Fibrinolysis: from blood to the brain. *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH*. 2017 Nov;15(11):2089–2098. <https://doi.org/10.1111/jth.13849>
4. Lee SH, Ko HM, Kwon KJ, Lee J, Han SH, Han DW, et al. tPA regulates neurite outgrowth by phosphorylation of LRP5/6 in neural progenitor cells. *Mol Neurobiol*. 2014 Feb;49(1):199–215. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8511-x>
5. Kyyriäinen J, Bolkvadze T, Koivisto H, Lipponen A, Pérez LO, Ekolle N, Ekane X, et al. Deficiency of urokinase-type plasminogen activator and its receptor affects social behavior and increases seizure susceptibility. *Epilepsy Res*. 2019 Mar;151:67–74. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2019.02.009>
6. Merino P, Diaz A, Jeanneret V, Wu F, Torre E, Cheng L, Yepes M. Urokinase-type Plasminogen Activator (uPA) Binding to the uPA Receptor (uPAR) Promotes Axonal Regeneration in the Central Nervous System. *J Biol Chem*. 2017 Feb 17;292(7):2741–2753. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.761650>
7. Rantalaa J, Kemppainen S, Nnode-Ekane XE, Lahtinen L, Bolkvadze T, Gurevicius K, et al. Urokinase-type plasminogen activator deficiency has little effect on seizure susceptibility and acquired epilepsy phenotype but reduces spontaneous exploration in mice. *Epilepsy Behav*. 2015 Jan;42:117–128. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2014.11.001>
8. Wu F, Catano M, Echeverry R, Torre E, Haile WB, An J, et al. Urokinase-type plasminogen activator promotes dendritic spine recovery and improves neurological outcome following ischemic stroke. *J Neurosci*. 2014 Oct 22;34(43):14219–14232. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5309-13.2014>
9. Diaz A, Merino P, Manrique LG, Ospina JP, Cheng L, Wu F et al. Cross Talk between Neuronal Urokinase-type Plasminogen Activator (uPA) and Astrocytic uPA Receptor (uPAR) Promotes Astrocytic Activation and Synaptic Recovery in the Ischemic Brain. *J Neurosci*. 2017 Oct 25;37(43):10310–10322. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1630-17.2017>
10. Кит О. И., Франциянц Е. М., Каплиева И. В., Трепитаки Л. К., Евстратова О. Ф. Способ получения метастазов печени в эксперименте. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2014;157(6):745–747.
11. Кит О. И., Франциянц Е. М., Димитриади С. Н., Шевченко А. Н., Каплиева И. В., Трепитаки Л. К. Экспрессия маркеров неоангиогенеза и фибринолитической системы в динамике экспериментальной ишемии почки у крыс. *Экспериментальная и клиническая урология*. 2015;(1):20–23.
12. Жукова Г. В., Шихлярова А. И., Сагакянц А. Б., Протасова Т. П. О расширении вариантов использования мышей BALB/c nude для экспериментального изучения злокачественных опухолей человека *in vivo*. *Южно-Российский онкологический журнал*. 2020;1(2):28–35. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-2-4>
13. Кит О. И., Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Каплиева И. В., Котиева И. М., Трепитаки Л. К. и др. Влияние хронической нейрогенной боли на нейромедиаторные системы головного мозга у самцов мышей в динамике роста злокачественной меланомы *Вопросы онкологии*. 2019;65(6):920–924.
14. Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Каплиева И. В., Черярина Н. Д., Сурикова Е. И., Нескубина И. В. и др. Влияние злокачественного роста и хронической нейрогенной боли на уровень нейростероидов в мозге крыс. *Биомедицинская химия*. 2020;66(2):151–155. <https://doi.org/10.18097/PBMC20206602151>
15. Франциянц Е. М., Каплиева И. В., Сурикова Е. И., Нескубина И. В., Бандовкина В. А., Трепитаки Л. К. и др. Влияние нокаута по гену урокиназы на рост меланомы в эксперименте. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2019;39(4):62–70. <https://doi.org/10.15372/SSMJ20190408>
16. Almholt K, Lund LR, Rygaard J, Nielsen BS, Danø K, Rømer J, Johnsen M. Reduced metastasis of transgenic mammary cancer in urokinase-deficient mice. *Int J Cancer*. 2005;113(4):525–532. <https://doi.org/10.1002/ijc.20631>
17. Кит О. И., Франциянц 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;2(53):14–20.
18. Anwer M, Bolkvadze T, Puhakka N, Nnode-Ekane XE, Pitkänen A. Genotype and Injury Effect on the Expression of a Novel Hypothalamic Protein Sushi Repeat-Containing Protein X-Linked 2 (SRPX2). *Neuroscience*. 2019 Sep 1;415:184–200. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.07.040>
19. Semina E, Rubina K, Sysoeva V, Rysenkova K, Klimovich P, Plekhanova O, Tkachuk V. Urokinase and urokinase receptor participate in regulation of neuronal migration, axon growth and branching. *Eur J Cell Biol*. 2016 Sep;95(9):295–310. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2016.05.003>
20. Aouiss A, Anka Idrissi D, Kabine M, Zaid Y. Update of inflammatory proliferative retinopathy: Ischemia, hypoxia and angiogenesis. *Curr Res Transl Med*. 2019 May;67(2):62–71. <https://doi.org/10.1016/j.retram.2019.01.005>

21. Cammalleri M, Dal Monte M, Pavone V, De Rosa M, Rusciano D, Bagnoli P. The uPAR System as a Potential Therapeutic Target in the Diseased Eye. *Cells*. 2019 Aug 18;8(8):925. <https://doi.org/10.3390/cells8080925>
22. Hu J, Jo M, Eastman BM, Gilder AS, Bui JD, Gonias SL. uPAR induces expression of transforming growth factor β and interleukin-4 in cancer cells to promote tumor-permissive conditioning of macrophages. *Am J Pathol*. 2014 Dec;184(12):3384–3393. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2014.08.003>
23. Stepanova V, Lebedeva T, Kuo A, Yarovoi S, Tkachuk S, Zaitsev S et al. Nuclear translocation of urokinase-type plasminogen activator. *Blood*. 2008 Jul 1;112(1):100–110. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-07-104455>
24. Niego B, Medcalf RL. Plasmin-dependent modulation of the blood-brain barrier: a major consideration during tPA-induced thrombolysis? *J Cereb Blood Flow Metab*. 2014 Aug;34(8):1283–1296. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2014.99>
25. Marcos-Contreras OA, Martinez de Lizarrondo S, Bardou I, Orset C, Pruvost M, Anfray A, et al. Hyperfibrinolysis increases blood-brain barrier permeability by a plasmin- and bradykinin-dependent mechanism. *Blood*. 2016 Nov 17;128(20):2423–2434. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-03-705384>
26. Tuttolomondo A, Pinto A, Corrao S, Raimondo D Di, Fernandez P, Sciacca R Di, et al. Immuno-inflammatory and thrombotic/fibrinolytic variables associated with acute ischemic stroke diagnosis. *Atherosclerosis*. 2009;203:503–508. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2008.06.030>
27. Griemert EV, Schwarzmaier SM, Hummel R, Gözl C, Yang D, Neuhaus W, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 augments damage by impairing fibrinolysis after traumatic brain injury. *Ann Neurol*. 2019 May;85(5):667–680. <https://doi.org/10.1002/ana.25458>

References

1. Yepes M. The Plasminogen Activation System Promotes Neurorepair in the Ischemic Brain. *Curr Drug Targets*. 2019;20(9):953–959. <https://doi.org/10.2174/1389450120666181211144550>
2. Merino P, Diaz A, Manrique LG, Cheng L, Yepes M. Urokinase-type plasminogen activator (uPA) promotes ezrin-mediated reorganization of the synaptic cytoskeleton in the ischemic brain. *J Biol Chem*. 2018 Jun 15;293(24):9234–9247. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.002534>
3. Medcalf RL. Fibrinolysis: from blood to the brain. *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH*. 2017 Nov;15(11):2089–2098. <https://doi.org/10.1111/jth.13849>
4. Lee SH, Ko HM, Kwon KJ, Lee J, Han SH, Han DW, et al. tPA regulates neurite outgrowth by phosphorylation of LRP5/6 in neural progenitor cells. *Mol Neurobiol*. 2014 Feb;49(1):199–215. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8511-x>
5. Kyyriäinen J, Bolkvadze T, Koivisto H, Lipponen A, Pérez LO, Ekolle Ndode-Ekane X, et al. Deficiency of urokinase-type plasminogen activator and its receptor affects social behavior and increases seizure susceptibility. *Epilepsy Res*. 2019 Mar;151:67–74. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2019.02.009>
6. Merino P, Diaz A, Jeanneret V, Wu F, Torre E, Cheng L, Yepes M. Urokinase-type Plasminogen Activator (uPA) Binding to the uPA Receptor (uPAR) Promotes Axonal Regeneration in the Central Nervous System. *J Biol Chem*. 2017 Feb 17;292(7):2741–2753. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.761650>
7. Rantalaa J, Kempainen S, Ndode-Ekane XE, Lahtinen L, Bolkvadze T, Gurevicius K, et al. Urokinase-type plasminogen activator deficiency has little effect on seizure susceptibility and acquired epilepsy phenotype but reduces spontaneous exploration in mice. *Epilepsy Behav*. 2015 Jan;42:117–128. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2014.11.001>
8. Wu F, Catano M, Echeverry R, Torre E, Haile WB, An J, et al. Urokinase-type plasminogen activator promotes dendritic spine recovery and improves neurological outcome following ischemic stroke. *J Neurosci*. 2014 Oct 22;34(43):14219–14232. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5309-13.2014>
9. Diaz A, Merino P, Manrique LG, Ospina JP, Cheng L, Wu F et al. Cross Talk between Neuronal Urokinase-type Plasminogen Activator (uPA) and Astrocytic uPA Receptor (uPAR) Promotes Astrocytic Activation and Synaptic Recovery in the Ischemic Brain. *J Neurosci*. 2017 Oct 25;37(43):10310–10322. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1630-17.2017>
10. Kit OI, Franciyanc EM, Kaplieva IV, Tripitaki LK, Evstratova OF. A method for reproduction of metastases in the liver. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2014;157(6):745–747. (In Russ.).
11. Kit OI, Franciyanc EM, Dimitriadi SN, Shevchenko AN, Kaplieva IV, Tripitaki LK. Neoangiogenesis and fibrinolytic system biomarkers expression in the dynamics of experimental kidney ischemia in rats. *Experimental and Clinical Urology*. 2015;(1):20–23. (In Russ.).
12. Zhukova GV, Shikhliarova AI, Sagakyants AB, Protasova TP. About expanding options for using BALB/C nude mice for experimental study of human malignant tumors in vivo. *South Russian Journal of Cancer*. 2020;1(2):28–35. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-2-4>
13. Kit OI, Frantsiyants EM, Bandovkina VA, Kaplieva IV, Kotieva IM, Trepitaki LK, et al. Influence of chronic neurogenic pain on brain neurotransmitter systems of male mice in dynamics of melanoma growth. *Problems in Oncology*. 2019;65(6):920–924. (In Russ.).
14. Frantsiyants EM, Bandovkina VA, Kaplieva IV, Cheryarina ND, Surikova EI, Neskubina IV, et al. Influence of malignant growth and

chronic neurogenic pain on neurosteroid levels in rat brain. *Biomeditsinskaya Khimiya*. 2020;66(2):151–155. (In Russ.).

<https://doi.org/10.18097/PBMC20206602151>

15. Frantsiyants EM, Kaplieva IV, Surikova EI, Bandovkina VA, Neskubina IV, Trepitaki LK, et al. Effect of urokinase gene-knockout on growth of melanoma in experiment. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2019;39(4):62–70. (In Russ.). <https://doi.org/10.15372/SSMJ20190408>

16. Almholt K, Lund LR, Rygaard J, Nielsen BS, Danø K, Rømer J, Johnsen M. Reduced metastasis of transgenic mammary cancer in urokinase-deficient mice. *Int J Cancer*. 2005;113(4):525–532. <https://doi.org/10.1002/ijc.20631>

17. Kit OI, Frantsiyants EM, Kotieva IM, Kaplieva IV1, Trepitaki LK1, 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 Russ.).

18. Anwer M, Bolkvadze T, Puhakka N, Ndode-Ekane XE, Pitkänen A. Genotype and Injury Effect on the Expression of a Novel Hypothalamic Protein Sushi Repeat-Containing Protein X-Linked 2 (SRPX2). *Neuroscience*. 2019 Sep 1;415:184–200.

<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.07.040>

19. Semina E, Rubina K, Sysoeva V, Rysenkova K, Klimovich P, Plekhanova O, Tkachuk V. Urokinase and urokinase receptor participate in regulation of neuronal migration, axon growth and branching. *Eur J Cell Biol*. 2016 Sep;95(9):295–310.

<https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2016.05.003>

20. Aouiss A, Anka Idrissi D, Kabine M, Zaid Y. Update of inflammatory proliferative retinopathy: Ischemia, hypoxia and angiogenesis. *Curr Res Transl Med*. 2019 May;67(2):62–71. <https://doi.org/10.1016/j.retram.2019.01.005>

21. Cammalleri M, Dal Monte M, Pavone V, De Rosa M, Rusciano D, Bagnoli P. The uPAR System as a Potential Therapeutic Target in the Diseased Eye. *Cells*. 2019 Aug 18;8(8):925. <https://doi.org/10.3390/cells8080925>

22. Hu J, Jo M, Eastman BM, Gilder AS, Bui JD, Gonias SL. uPAR induces expression of transforming growth factor β and interleukin-4 in cancer cells to promote tumor-permissive conditioning of macrophages. *Am J Pathol*. 2014 Dec;184(12):3384–3393.

<https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2014.08.003>

23. Stepanova V, Lebedeva T, Kuo A, Yarovoi S, Tkachuk S, Zaitsev S et al. Nuclear translocation of urokinase-type plasminogen activator. *Blood*. 2008 Jul 1;112(1):100–110. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-07-104455>

24. Niego B, Medcalf RL. Plasmin-dependent modulation of the blood-brain barrier: a major consideration during tPA-induced thrombolysis? *J Cereb Blood Flow Metab*. 2014 Aug;34(8):1283–1296. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2014.99>

25. Marcos-Contreras OA, Martinez de Lizarrondo S, Bardou I, Orset C, Pruvost M, Anfray A, et al. Hyperfibrinolysis increases blood-brain barrier permeability by a plasmin- and bradykinin-dependent mechanism. *Blood*. 2016 Nov 17;128(20):2423–2434.

<https://doi.org/10.1182/blood-2016-03-705384>

26. Tuttolomondo A, Pinto A, Corrao S, Raimondo D Di, Fernandez P, Sciacca R Di, et al. Immuno-inflammatory and thrombotic/fibrinolytic variables associated with acute ischemic stroke diagnosis. *Atherosclerosis*. 2009;203:503–508.

<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2008.06.030>

27. Griemert EV, Schwarzmaier SM, Hummel R, Gölz C, Yang D, Neuhaus W, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 augments damage by impairing fibrinolysis after traumatic brain injury. *Ann Neurol*. 2019 May;85(5):667–680. <https://doi.org/10.1002/ana.25458>

Информация об авторах:

Франциянец Елена Михайловна – д.б.н., профессор, заместитель генерального директора по науке ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>, SPIN: 9427-9928, AuthorID: 462868, ResearcherID: Y-1491-2018, Scopus Author ID: 55890047700

Бандовкина Валерия Ахтямовна – д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2302-8271>, SPIN: 8806-2641, AuthorID: 696989, ResearcherID: AAG-8708-2019, Scopus Author ID: 57194276288

Каплиева Ирина Викторовна – д.м.н., заведующая лабораторией изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3972-2452>, SPIN: 5047-1541, AuthorID: 734116

Черярина Наталья Дмитриевна – врач-лаборант лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3711-8155>, SPIN: 2189-3404, AuthorID: 558243

Сурикова Екатерина Игоревна [✉] – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4318-7587>, SPIN: 2401-4115, AuthorID: 301537, ResearcherID: AAG-8748-2019, Scopus Author ID: 6507092816

Нескубина Ирина Валерьевна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>, SPIN: 3581-8531, AuthorID: 794688

Погорелова Юлия Александровна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории «Изучение патогенеза злокачественных опухолей», ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2674-9832>, SPIN: 2168-8737, AuthorID: 558241

Немашкалова Людмила Анатольевна – научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2713-8598>, SPIN: 1355-8652, AuthorID: 734146, Scopus Author ID: 7801520904

Information about authors:

Elena M. Frantsiyants – Dr. Sci. (Biol.), professor, Deputy General Director for Science National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>, SPIN: 9427-9928, AuthorID: 462868, ResearcherID: Y-1491-2018, Scopus Author ID: 55890047700

Valeriya A. Bandovkina – Dr. Sci. (Biol.), senior researcher of the laboratory for the study of pathogenesis of malignant tumors of National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2302-8271>, SPIN: 8806-2641, AuthorID: 696989, ResearcherID: AAG-8708-2019, Scopus Author ID: 57194276288

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, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3972-2452>, SPIN: 5047-1541, AuthorID: 734116

Natalia D. Cheryarina – laboratory assistant at the laboratory for the study of the pathogenesis of malignant tumors National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3711-8155>, SPIN: 2189-3404, AuthorID: 558243

Ekaterina I. Surikova – Cand. Sci. (Biol.), senior research fellow at the Laboratory for the study of the pathogenesis of malignant tumors National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4318-7587>, SPIN: 2401-4115, AuthorID: 301537, ResearcherID: AAG-8748-2019, Scopus Author ID: 6507092816

Irina V. Neskubina – Cand. Sci. (Biol.), senior research fellow at the laboratory for the study of the pathogenesis of malignant tumors National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>, SPIN: 3581-8531, AuthorID: 794688

Yulia A. Pogorelova – Cand. Sci. (Biol.), senior research fellow at Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2674-9832>, SPIN: 2168-8737, AuthorID: 558241, Scopus Author ID: 37026863400

Lyidmila A. Nemashkalova – research fellow at the laboratory for the study of the pathogenesis of malignant tumors National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2713-8598>, SPIN: 1355-8652, AuthorID: 734146, Scopus Author ID: 7801520904

Вклад авторов:

Франциянц Е. М. – концепция эксперимента, анализ и интерпретация результатов;

Бандовкина В. А. – концепция и дизайн эксперимента, написание текста;

Каплиева И. В. – концепция и дизайн эксперимента, анализ и интерпретация результатов;

Черярина Н. Д. – выполнение ИФА-анализа;

Сурикова Е. И. – редактирование рукописи;

Нескубина И. В. – проведение эксперимента, сбор и анализ данных;

Погорелова Ю. А. – оформление библиографии, подготовка иллюстраций;

Немашкалова Л. А. – проведение эксперимента, ассистенция на операциях.

Authors contribution:

Frantsiyants E. M. – concept of the experiment, analysis and interpretation of results;

Bandovkina V. A. – concept and design of the experiment, writing the text;

Kaplieva I. V. – concept and design of the experiment, analysis and interpretation of results;

Cheryarina N. D. – performance of ELISA analysis;

Surikova E. I. – editing the manuscript;

Neskubina I. V. – conducting an experiment, collection and analysis of data;

Pogorelova Yu. A. – bibliography design, preparation of illustrations;

Nemashkalova L. A. – conducting an experiment, assistance in operations.