



СОДЕРЖАНИЕ ФАКТОРОВ АПОПТОЗА В МИТОХОНДРИЯХ КЛЕТОК КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА САМОК МЫШЕЙ C57BL/6 В ДИНАМИКЕ РОСТА МЕЛАНОМЫ В16/F10 НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОЙ НЕЙРОГЕННОЙ БОЛИ

Е. М. Франциянц, И. В. Нескубина✉, Н. Д. Черярина, Е. И. Сурикова, А. И. Шихлярова, В. А. Бандовкина, Л. А. Немашкалова, И. В. Каплиева, Л. К. Трепитики, П. С. Качесова

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

✉ neskubina.irina@mail.ru

Резюме

Цель исследования. Изучить показатели апоптоза в митохондриях клеток коры головного мозга мышей-самок линии C57BL/6 в динамике роста меланомы V16/F10, а также в процессе роста меланомы V16/F10 на фоне коморбидной патологии – хронической нейрогенной боли.

Материалы и методы. В эксперименте использовали мышей-самок ($n = 168$) линии C57BL/6. Группы: интактная ($n = 21$); контрольная ($n = 21$) – создание модели хронической нейрогенной боли (ХНБ); группа сравнения ($n = 63$) – подкожная трансплантация меланомы V16/F10; основная группа (ХНБ + V16/F10) ($n = 63$). В образцах митохондрий методом ИФА определяли концентрацию: цитохрома С (нг/мг белка), каспазы 9 (нг/мг белка), регулятор апоптоза (Bcl-2) (нг/мг белка), апоптоз индуцирующий фактор (AIF) (нг/мг белка), кальция (Ca²⁺) (мМоль/г белка). Статистический анализ – Statistica 10.0.

Результаты. Через 1 неделю роста опухоли на фоне коморбидной патологии ХНБ уровень кальция в митохондриях коры головного мозга животных был в 1,4 раза выше ($p < 0,05$), чем в этот же срок в группе сравнения, а через 2 недели снизился в 80,1 раза и через 3 недели – в 37,7 раза соответственно. Уровень AIF при росте меланомы на фоне ХНБ по сравнению со значениями в группе сравнения был ниже на 1 и 3 неделях в 25 раз и в 1,8 раза ($p < 0,05$). Более высокие значения Bcl-2 были в группе ХНБ + V16/F10 на 2 и 3 неделях в 2 раза и 1,4 раза ($p < 0,05$) соответственно. Уровень цитохрома С был ниже при росте опухоли на фоне ХНБ 1–3 неделях в 3,2 раза, 1,5 раза ($p < 0,05$) и 2,8 раза соответственно. Уровень каспазы 9 при росте меланомы на фоне ХНБ через 3 недели превышал значения в группе сравнения в 2,6 раза.

Заключение. Сочетание ХНБ и меланомы в организме животного на начальном этапе злокачественного процесса способствуют накоплению кальция и подавлению AIF и цитохрома С в митохондриях коры головного мозга. К терминальному этапу роста опухоли на фоне коморбидной патологии (ХНБ) формируется супрессия большинства звеньев дыхательной цепи митохондрий клеток коры головного мозга.

Ключевые слова:

митохондрии клеток, кора головного мозга, апоптоз, мыши-самки, экспериментальная меланома V16/F10, коморбидные заболевания, хроническая нейрогенная боль

Для корреспонденции:

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.

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

E-mail: neskubina.irina@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>

SPIN: 3581-8531, AuthorID: 794688

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Франциянц Е. М., Нескубина И. В., Черярина Н. Д., Сурикова Е. И., Шихлярова А. И., Бандовкина В. А., Немашкалова Л. А., Каплиева И. В., Трепитики Л. К., Качесова П. С. Содержание факторов апоптоза в митохондриях клеток коры головного мозга самок мышей C57BL/6 в динамике роста меланомы V16/F10 на фоне хронической нейрогенной боли. Исследования и практика в медицине. 2022; 9(2): 10–20. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-2-1>

Статья поступила в редакцию 26.04.2021; одобрена после рецензирования 14.03.2022; принята к публикации 07.06.2022.

© Франциянц Е. М., Нескубина И. В., Черярина Н. Д., Сурикова Е. И., Шихлярова А. И., Бандовкина В. А., Немашкалова Л. А., Каплиева И. В., Трепитики Л. К., Качесова П. С., 2022

LEVELS OF APOPTOSIS FACTORS IN MITOCHONDRIA OF BRAIN CORTEX CELLS IN FEMALE C57BL/6 MICE IN DYNAMICS OF B16/F10 MELANOMA GROWTH COMBINED WITH COMORBIDITY

E. M. Frantsiyants, I. V. Neskubina✉, N. D. Cheryarina, E. I. Surikova, A. I. Shikhlyarova, V. A. Bandovkina, L. A. Nemashkalova, I. V. Kaplieva, L. K. Trepitaki, P. S. Kachesova

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

✉ neskubina.irina@mail.ru

Abstract

Purpose of the study. To analyze the apoptosis indicators in mitochondria of brain cortex cells in female C57BL/6 mice in the dynamics of B16/F10 melanoma growth alone and in combination with comorbidity, i.e. chronic neurogenic pain.

Materials and methods. Female C57BL/6 mice ($n = 168$) were used in the experiment. Groups accounted: intact group ($n = 21$); control group ($n = 21$) with a model of chronic neurogenic pain (CNP); comparison group ($n = 63$) with B16/F10 melanoma transplanted subcutaneously; main group (CNP + B16/F10) ($n = 63$). Levels of cytochrome C (ng/mg protein), caspase 9 (ng/mg protein), Bcl-2 (ng/mg protein), AIF (ng/mg protein), calcium (Ca²⁺) (mMol/g protein) were measured by ELISA in mitochondrial samples. Statistical analysis was performed using the Statistica 10.0 program.

Results. In a week of the tumor growth in presence of comorbidity, i.e. CNP, levels of calcium in murine brain cortex mitochondria were 1.4 times higher ($p < 0.05$) than in the comparison group at the same time; in 2 weeks the levels declined by 80.1 times and after 3 weeks declined by 37.7 times. Compared to the values in the comparison group AIF levels in animals with CNP+B16/F10 were lower by 25 and 1.8 times ($p < 0.05$) at weeks 1 and 3, respectively. Higher levels of Bcl-2 in the group with CNP + B16/F10 were registered at weeks 2 and 3 by 2 and 1.4 times ($p < 0.05$), respectively. Levels of cytochrome C were decreased in animals with CNP+B16/F10 at weeks 1–3 by 3.2, 1.5 ($p < 0.05$) and 2.8 times, respectively. Caspase 9 in CNP+B16/F10 after 3 weeks exceeded the values in the comparison group by 2.6 times.

Conclusions. Combination of CNP and melanoma at an early stage in the animal body promotes the accumulation of calcium and suppression of AIF and cytochrome C in mitochondria of the brain cortex. By the terminal stage of tumor growth in presence of comorbidity (CNP), suppression of most units of the respiratory chain of mitochondria of brain cortex cells is formed.

Keywords:

cellular mitochondria, brain cortex, apoptosis, female mice, experimental B16/F10 melanoma, comorbidity, chronic neurogenic pain

For correspondence:

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.

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

E-mail: neskubina.irina@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>

SPIN: 3581-8531, AuthorID: 794688

Funding: this work was not funded.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Frantsiyants E. M., Neskubina I. V., Cheryarina N. D., Surikova E. I., Shikhlyarova A. I., Bandovkina V. A., Nemashkalova L. A., Kaplieva I. V., Trepitaki L. K., Kachesova P. S. Levels of apoptosis factors in mitochondria of brain cortex cells in female C57BL/6 mice in dynamics of B16/F10 melanoma growth combined with comorbidity. Research and Practical Medicine Journal (Issled. prakt. med.). 2022; 9(2): 10-20. (In Russ.). <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-2-1>

The article was submitted 26.04.2021; approved after reviewing 14.03.2022; accepted for publication 07.06.2022.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Одним из наиболее частых и изнурительных осложнений злокачественного процесса является поражение нервной системы, при этом почти 45 % таких пациентов нуждаются в оценке неврологической проблемы. Неврологические осложнения являются наиболее частой причиной экстренной госпитализации пациентов с онкологическими заболеваниями [1]. У онкологических больных обычно появляются симптомы, вызванные нарушением нормальной функции центральной нервной системы (ЦНС). Потеря веса, слабость, утомляемость и снижение когнитивных функций часто возникают при злокачественных новообразованиях вне ЦНС и развиваются до начала противоопухолевой терапии [2]. В настоящее время не существует эффективных методов лечения симптомов рака, опосредованных ЦНС. Механизмы дисфункции ЦНС при злокачественном процессе все еще недостаточно изучены, в качестве дисфункционального фактора предполагается возникновение асептического воспаления, через производство медиаторов воспаления в головном мозге [3].

Установлено, что с нейровоспалением и нейродегенеративными заболеваниями связана дисфункция митохондрий, но ее роль в качестве «движущей силы» этих процессов неясна. Также остается неясным, служат ли митохондрии «движущими силами» или «невинными свидетелями» нейровоспаления, т.е. является ли повреждение митохондрий причиной или следствием [4]. Митохондрии, расположенные в синапсах, играют ключевую роль в обеспечении энергией для поддержки синаптических функций и пластичности, поэтому их дефекты могут привести к синаптической недостаточности, что становится общим признаком нейровоспаления. Митохондрии выступают в качестве клеточной системы производства энергии, вырабатывают ключевые факторы во время воспаления и окисления, а также представляют собой основной источник активных форм кислорода и энергетических субстратов [5]. Поскольку потребность митохондрий клеток мозга в энергии выше по сравнению с другими тканями, тонкие изменения в производстве энергии митохондриями оказывают сильное влияние на метаболизм данного органа [6]. Митохондриальный метаболизм и аутофагия – два наиболее метаболически активных клеточных процесса, играющих важную роль в регулировании долголетия организма. Фактически, как митохондриальная дисфункция, так и снижение аутофагии ставят под угрозу клеточный гомеостаз и вызывают воспаление [7].

Цель исследования: изучить показатели апоптоза в митохондриях клеток коры головного мозга самок мышей линии C57BL/6 в динамике роста меланомы

B16/F10, а также в процессе роста меланомы B16/F10 на фоне коморбидной патологии – хронической нейрогенной боли.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на мышах-самках линии C57BL/6 ($n = 168$) 8 недельного возраста с начальной массой 21–22 г. Животные были получены из ФГБУ МНИЦ Научный центр биомедицинских технологий «Андреевка» ФМБА (Московская область). В работе использовали клеточную линию мышинной меланомы B16/F10, метастазирующую в легкие. Опухолевый штамм получен из ФГБУ «МНИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России. Работа с животными проводилась в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (Директива 86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, а также в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава России от 19 июня 2003 г. № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики». Животные содержались при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Комиссией по биоэтике ФГБУ «МНИЦ онкологии» Минздрава России от 31.05.2018 г., был одобрен протокол исследования (протокол этического комитета № 2). Манипуляции с животными производили в боксе с соблюдением общепринятых правил асептики и антисептики.

Животные ($n = 168$) были распределены методом случайной выборки на следующие экспериментальные группы: интактная группа ($n = 21$), контрольная группа ($n = 21$) – воспроизведение модели хронической нейрогенной боли (ХНБ) [8; 9]. Группа сравнения ($n = 63$) – мыши со стандартной подкожной перевивкой меланомы (B16/F10), основная группа ($n = 63$) (ХНБ+B16/F10) – мыши, которым меланому перевивали через 3 недели после создания модели ХНБ.

Мышам основной группы (ХНБ+B16/F10) осуществляли перевязку седалищного нерва с 2-х сторон под ксила-золетилловым наркозом: ксилазин (препарат Ксила) внутримышечно, в дозе 0,05 мл/кг (по инструкции), через 10 минут вводили Золетил-50 в дозе 10 мг/100 г. Через 3 недели после заживления операционной раны подкожно под правую лопатку вводили 0,5 мл взвеси опухолевых клеток меланомы B16/F10 в физиологическом растворе в разведении 1:10. Животным из группы сравнения трансплантировали меланому B16/F10 подкожно в той же дозе и объеме, что и в основной группе, но без воспроизведения модели хронической боли. Декапитировали мышей на гильотине. Животных из основной группы

и группы сравнения декапитировали в следующие сроки роста экспериментальной меланомы B16/F10: 1-я неделя – 7 день роста, 2-я неделя – 14 день роста и 3-я неделя – 21 день роста.

После декапитации у животных с использованием хладагентов быстро извлекали мозг и выделяли из коры головного мозга митохондрии по методу Егоровой М. В., Афанасьева С. А. (2011) [10] с применением дифференциального центрифугирования на высокоскоростной рефрижераторной центрифуге Avanti J-E, BECMAN COULTER, USA. Ткани промывали ледяным 0,9 % раствором KCl. Для разрушения межклеточных связей, клеточной стенки и плазматических мембран применяли механическую обработку тканей с измельчением ножницами и гомогенизацией в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком (гомогенизатор Поттера-Эльвегейма). На каждый грамм ткани добавляли по 10 мл среды выделения (0,22 М маннитол, 0,3 М сахараза, 1мМ ЭДТА, 2 мМ TRIS-HCL, 10мМ HEPES, pH 7,4). Ткани гомогенизировали и центрифугировали первый раз 10 минут при скорости 1000 g, температура 0–2 °С, второе и третье центрифугирование осуществляется при 20000 g, 20 минут, температура 0–2 °С. Между центрифугированием проводили процедуру ресуспендирования осадка митохондрий в среде выделения. Митохондрии дополнительно очищали от лизосом, пероксисом, меланосом и т.п., центрифугируя в 23 % градиенте Перколла. Суспензию субклеточных структур наслаивали на градиент Перколла, центрифугировали 15 минут при 21000 g, после этого наблюдалось разделение на 3 фазы, оставляли нижний слой митохондрий и ресуспендировали средой выделения. Следующую промывку митохондрий осуществляли путем центрифугирования в течение 10 минут при 15000 g, температура 0–2 °С. Полученные митохондриальные образцы (концентрация белка 4–6 г/л) до анализа хранили при -80°C в среде выделения. В митохондриальных образцах с помощью тест-систем на ИФА-анализаторе (Infinite F50 Tecan, Austria) определяли концентрацию: цитохрома С (нг/мг белка), каспазы-9 (нг/мг белка) (Bioscience, Austria); регулятор апоптоза (Bcl-2) (нг/мг белка) (Thermo Fisher Scientific, Austria); апоптоз индуцирующий фактор (AIF) (нг/мг белка) (RayBiotech, USA); кальция (Ca 2+) (мМоль/г белка) (Абрис, Россия) и концентрацию белка в мг/мл – биуретовым методом (Ольвекс Диагностика, Россия) на автоматическом анализаторе ChemWell (Awareness Technology INC, USA).

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0. Полученные данные подвергали анализу на соответствие распределения признаков нормальному закону распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка (для малых выборок). Сравнение количественных

данных в группах (независимые выборки) проводили с использованием критерия Краскела-Уоллиса (множественные сравнения). Данные таблиц представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, m – стандартная ошибка среднего, за уровень статистической значимости в случае трех сравниваемых групп принимали $p < 0,0017$, а для четырех групп $p < 0,0085$. Полученные результаты статистически обрабатывали с соблюдением общих рекомендаций для медицинских исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Прежде всего, представляло интерес изучение факторов апоптоза в митохондриях клеток коры головного мозга при ХНБ (табл. 1). Найдено, что уровень кальция был снижен в 1,4 раза ($p < 0,05$), каспазы 9 – в 4,4 раза. При этом повышенным оказался уровень AIF в 7,2 раза, Bcl-2 – в 1,3 раза ($p < 0,05$) и цитохрома С – в 1,9 раза ($p < 0,05$).

Далее изучили динамику факторов апоптоза в митохондриях клеток коры головного мозга при изолированном развитии меланомы B16/F10 у мышей (группа сравнения). Обнаружено, что уровень кальция через 1 и 2 недели роста опухоли был в среднем в 3,2 раза выше, чем в митохондриях коры головного мозга интактных животных, а через 3 недели снизился в 2,1 раза относительно предыдущего срока исследования, но оставался в 1,4 раза ($p < 0,05$) выше показателя у интактных животных. Уровень AIF резко увеличился через 1 неделю роста опухоли в 17,6 раза, а через 2 недели отмечали падение до нормальных значений и незначительный подъем в 1,4 раза ($p < 0,05$) к 3 недели эксперимента. Уровень Bcl-2 повысился относительно нормы через 1 неделю в 1,3 раза ($p < 0,05$), через 2 недели был ниже нормы в 1,7 раза ($p < 0,05$) и продолжал снижаться через 3 недели, в результате чего уровень Bcl-2 стал в 2,6 раза ниже значений у интактных мышей и в 1,6 раза ($p < 0,05$) предыдущего срока. Уровень цитохрома С в митохондриях коры головного мозга через 1 неделю роста меланомы повысился в 2,7 раза относительно контрольных величин, а затем на следующих неделях роста опухоли вернулся к значениям у интактных животных. Уровень каспазы 9 в митохондриях коры головного мозга мышей был снижен на протяжении всего срока исследования в среднем в 2,0 раза.

Известно, что болевой синдром присутствует у онкологических больных [11]. В данном эксперименте использовали хроническую нейрогенную боль (ХНБ), вызванную двусторонней перевязкой седалищных нервов, в качестве коморбидной патологии, предшествующей возникновению злокачественного процесса. Ранее было показано, что ХНБ способна не только сти-

мулировать рост экспериментальной меланомы, это проявлялось в более раннем выходе опухоли и метастазировании по сравнению со стандартным ростом меланомы (у самок метастазы появлялись в легких, печени, селезенке и нетрадиционных сайтах, в частности в матке), а также сокращению сроков жизни животных [9], но и отменять генетически детерминированное ингибирование роста злокачественной опухоли [12].

Через 1 неделю после перевивки опухоли на фоне ХНБ уровень кальция в митохондриях коры головного

мозга самок мышей вырос в 6,5 раза относительно величин у мышей контрольной группы (ХНБ) и был в 1,4 раза ($p < 0,05$) выше, чем в этот же срок при изолированном росте меланомы. В последующие сроки исследования в митохондриях коры головного мозга мышей с меланомой на фоне ХНБ уровень кальция снижался до мало определяемых значений и значимо отличался от показателей в группе сравнения – через 2 недели был ниже в 80,1 раза, через 3 недели в 37,7 раза. Уровень AIF в митохондриях коры

Таблица 1. Концентрация факторов апоптоза в митохондриях клеток коры головного мозга самок мышей в динамике роста меланомы B16/F10 и меланомы B16/F10 сопряженной с коморбидной патологией

Table 1. Concentration of apoptosis factors in the cortical mitochondria of female mice in the growth dynamics of melanoma B16/F10 and melanoma B16/F10 associated with comorbidity pathology

| | Ca ²⁺ мМоль/г белка / Ca ²⁺ mMol/g protein | AIF нг/мг белка / AIF ng/mg protein | Bcl-2 нг/мг белка / Bcl-2 ng/mg protein | Цитохром С нг/мг белка / Cytochrome C ng/mg protein | Каспаза 9 нг/мг белка / Caspase 9 ng/mg protein |
|--|---|---|---|--|--|
| Интактная группа / Intact group | 0,263 ± 0,0144 | 22,044 ± 2,092 | 82,937 ± 2,455 | 5,05 ± 0,334 | 0,457 ± 0,027 |
| Контрольная группа (ХНБ) / Control group (CNP) | 0,192 ± 0,0097 ¹ $p^1 = 0,0015$ | 159,37 ± 6,039 ¹ $p^1 = 0,0000$ | 107,391 ± 3,738 ¹ $p^1 = 0,0001$ | 9,72 ± 0,366 ¹ $p^1 = 0,0000$ | 0,103 ± 0,009 ¹ $p^1 = 0,0000$ |
| Рост меланомы B16/F10 (группа сравнения) / Melanoma growth B16/F10 (comparison group) | | | | | |
| 1 неделя / 1 st week | 0,868 ± 0,0399 ¹ $p^1 = 0,0000$ | 388,6 ± 13,890 ¹ $p^1 = 0,0000$ | 107,392 ± 3,787 ¹ $p^1 = 0,0001$ | 13,698 ± 0,839 ¹ $p^1 = 0,0000$ | 0,191 ± 0,014 ¹ $p^1 = 0,0000$ |
| 2 неделя / 2 nd week | 0,801 ± 0,0522 ¹ $p^1 = 0,0000$ | 22,222 ± 2,196 ³ $p^3 = 0,0000$ | 49,476 ± 2,689 ^{1,3} $p^1 = 0,0000$ $p^3 = 0,0000$ | 4,495 ± 0,568 ³ $p^3 = 0,0000$ | 0,231 ± 0,017 ¹ $p^1 = 0,0000$ |
| 3 неделя / 3 rd week | 0,377 ± 0,0195 ^{1,3} $p^1 = 0,0005$ $p^3 = 0,0000$ | 31,289 ± 2,668 ¹ $p^1 = 0,0184$ | 31,688 ± 3,172 ^{1,3} $p^1 = 0,00000$ $p^3 = 0,00107$ | 5,613 ± 0,431 | 0,231 ± 0,017 ¹ $p^1 = 0,0000$ |
| ХНБ + рост меланомы B16/F10 (основная группа) / CNP + melanoma B16/F10 growth (main group) | | | | | |
| 1 неделя / 1 st week | 1,248 ± 0,0389 ^{2,4} $p^2 = 0,0000$ $p^4 = 0,0000$ | 15,574 ± 2,556 ^{2,4} $p^2 = 0,0000$ $p^4 = 0,0000$ | 104,265 ± 3,849 | 4,334 ± 0,451 ^{2,4} $p^2 = 0,0000$ $p^4 = 0,0000$ | 0,231 ± 0,017 ² $p^2 = 0,0000$ |
| 2 неделя / 2 nd week | 0,010 ± 0,0009 ^{2,3,4} $p^2 = 0,0000$ $p^3 = 0,0000$ $p^4 = 0,0000$ | 58,903 ± 4,415 ^{2,3,4} $p^2 = 0,0000$ $p^3 = 0,0000$ $p^4 = 0,0000$ | 98,069 ± 5,023 ⁴ $p^4 = 0,0000$ | 3,01 ± 0,375 ² $p^2 = 0,0000$ | 0,298 ± 0,021 ² $p^2 = 0,0000$ |
| 3 неделя / 3 rd week | 0,010 ± 0,0009 ^{2,4} $p^2 = 0,0000$ $p^4 = 0,0000$ | 17,212 ± 2,238 ^{2,3,4} $p^2 = 0,0000$ $p^3 = 0,0000$ $p^4 = 0,0019$ | 44,994 ± 3,833 ^{2,3} $p^2 = 0,0000$ $p^3 = 0,0000$ | 2,022 ± 0,280 ^{2,4} $p^2 = 0,0000$ $p^4 = 0,0000$ | 0,596 ± 0,031 ^{2,3,4} $p^2 = 0,0000$ $p^3 = 0,0000$ $p^4 = 0,0000$ |

Примечание: статистически значимые различия ¹ – по отношению к уровню в интактной группе; ² – по отношению к уровню в группе ХНБ (контроль); ³ – по отношению к уровню на предыдущем сроке исследования; ⁴ – по отношению к уровню в группе сравнения на соответствующем сроке роста опухоли. ХНБ – хроническая нейрогенная боль. Уровень статистической значимости при сравнении трех групп – 0,0017; при сравнении четырех групп – 0,0085.

Note: statistically significant differences ¹ – in relation to the level in the intact group; ² – in relation to the level in the CNP group (control); ³ – in relation to the level at the previous period of the study; ⁴ – in relation to the level in the comparison group at the corresponding period of tumor growth. CNP is a chronic neurogenic pain. The level of statistical significance when comparing the three groups is 0.0017; when comparing four groups is 0.0085.

головного мозга в динамике роста опухоли на фоне ХНБ был снижен во все сроки исследования относительно контроля (ХНБ): через 1 неделю после перевивки – в 10,2 раза, через 2 недели – в 2,7 раза, через 3 недели – в 9,3 раза соответственно. По сравнению с изолированным ростом меланомы при наличии коморбидной патологии отмечались низкие уровни AIF на 1 и 3 неделях в 25 раз и в 1,8 раза ($p < 0,05$), а на 2 неделе – увеличение в 2,7 раза. Уровень Bcl-2 через 1 и 2 недели роста опухоли на фоне ХНБ не имел значимых отличий от соответствующего контроля (ХНБ), а затем через 3 недели снизился в 2,4 раза. Сравнивая изменения уровня Bcl-2 между изолированным ростом опухоли и ростом, сопряженным с ХНБ патологией, определили более высокие значения при наличии ХНБ на 2 неделе в 2,0 раза. Уровень цитохрома С по сравнению с контрольными значениями прогрессивно снижался в динамике роста меланомы на фоне ХНБ: через 1 неделю – в 2,2 раза, через 2 недели – в 3,2 раза, через 3 недели – в 4,8 раза. При этом уровень цитохрома С на 1 и 3 неделях исследования был ниже показателя в митохондриях коры головного мозга животных группы сравнения в 3,2 раза и 2,8 раза соответственно. Уровень каспазы 9 в митохондриях коры головного мозга мышей при росте меланомы на фоне коморбидной патологии – ХНБ был через 1 и 2 недели в среднем в 2,6 раза выше контрольных величин, а через 3 недели – в 5,8 раза и в этот же срок превышал значения при изолированном росте опухоли в 2,6 раза.

Адекватная реакция организма на стресс включает в себя различные одновременные процессы, которые необходимы для соответствующей адаптации к стрессору. Все эти процессы вместе требуют значительных ресурсов, в том числе энергии в форме АТФ, синтезируемой в основном митохондриями. Митохондрии лидируют в биоэнергетике, обеспечивая адаптацию к стрессу, и, следовательно, занимают центральное место в биологических реакциях клетки на стресс и сложных процессах в мозге, связанных со стрессом [13]. В то же время, сильный стресс может непосредственно влиять на митохондрии и прежде всего негативным образом [14].

Известно, что приток кальция в митохондрии необходим для их активации [15]. Кальций – чрезвычайно универсальный сигнальный ион, кодирующий клеточные ответы на широкий спектр внешних раздражителей. В нейронах митохондрии могут накапливать огромное количество кальция, в результате чего поглощение, секвестрация и высвобождение кальция митохондриями играют решающую роль в организации кальций-зависимых реакций, столь же разнообразных, как транскрипция генов и гибель клеток [16].

В настоящем исследовании обнаружено, что в динамике стандартного роста меланомы B16/F10 у самок мышей уровень кальция в митохондриях мозга в первые 2 недели резко возрастал в среднем в 3,2 раза, затем несколько снижался, при этом превосходил норму в 1,5 раза. Еще более резкое повышение уровня кальция найдено в митохондриях коры мозга мышей на 1 неделе роста меланомы на фоне коморбидной патологии – ХНБ – в 6,5 раза. Однако в этом случае через 2 и 3 недели отмечалось его существенное падение ниже контрольных значений.

Установлено, что перенос кальция в митохондрии стимулирует биоэнергетику клетки, а активность митохондрий, регулируемая кальцием, необходима для возбудимых клеток, потребляющих много энергии [17]. Известен также факт существования зависимости нейронов от продукции митохондриального АТФ для поддержания своей активности. Рядом авторов было показано, что проникновение кальция в митохондрии нейрональных клеток регулирует их энергетический метаболизм [18]. Активность нейронов, как было обнаружено, зависит от потребления АТФ в синапсах, для быстрого стимулирования нейрональных сигналов [19].

Полагаем, что, полученные результаты в представленном исследовании свидетельствуют об активации митохондрий в первые 2 недели стандартного роста меланомы, а в случае роста меланомы на фоне ХНБ наблюдается переактивация с дальнейшим истощением ресурса кальция.

Фактор, индуцирующий апоптоз (AIF), – это белок, участвующий в сборке и стабильности митохондриальной цепи переноса электронов и запрограммированной гибели клеток. Важная, но в то же время двойственная роль AIF подчеркивается, изменением свойств митохондриального AIF при возникновении мутаций, приводящим к острым митохондриопатиям и метастазам опухолей. Более того, подавление экспрессии AIF способствует метастазированию опухолевых клеток и коррелирует с плохим исходом у онкологических больных [20], а сверхэкспрессия AIF усугубляет гипоксически-ишемическое повреждение мозга у новорожденных мышей [21]. На одной модели нокаута и на 3 разных уровнях биологической организации – клетка, эмбрион и взрослые мыши, Delavallée L. et al. (2020) [22] показали, что, контролируя митохондриальный метаболизм, в частности окислительное фосфорилирование, AIF является ключевым фактором, регулирующим дифференцировку и «судьбу» клеток.

Резкое увеличение уровня AIF в первую неделю стандартного роста меланомы, возможно, указывает на возникновение краткосрочной гипоксии мозга с последующим восстановлением кислородного обеспечения.

Ряд авторов показал, что дефицит AIF в мозге запускает дестабилизацию митохондриальных комплексов I и IV электрон транспортной цепи, что приводит к потере митохондриального трансмембранного потенциала и высоким уровням генерации активных форм кислорода [22]. То есть, митохондриальная функция AIF, способствующая «выживанию», по-видимому, связана с его ролью в транспортировке и сборке ключевых белков комплексов электрон транспортной цепи [23].

При ХНБ AIF был значимо повышен, а в динамике роста опухоли, сопряженной с коморбидной патологией, напротив, снижен. Этот факт, вероятно, следует рассматривать как постепенный переход на гипоксический тип дыхания и выработку АТФ. С другой стороны, снижение уровня AIF при росте опухоли на фоне ХНБ можно было бы трактовать и с позиций внутриклеточного стресса, в результате которого происходит деполаризация мембраны митохондрий с последующим высвобождением апоптогенной формы AIF из митохондрий в ядро клетки.

Известно, что клетки мыши, лишённые AIF, накапливают молочную кислоту из-за снижения активности комплекса I дыхательной цепи, и что без AIF в комплексе I возникают наиболее серьезные повреждения, т.к. AIF требуется для нормального процесса окислительного фосфорилирования [24]. Кроме того, дефицит AIF приводит к более высокой чувствительности к окислительному стрессу.

В патологических условиях «митохондриальный стресс» вызывает гибель нейронов, что регулируется антиапоптотическим семейством белков Bcl-2. Группа белков семейства Bcl-2 локализована в митохондриях и находится как на внешней мембране, так и на внутренней мембране. Белки Bcl-2 обладают различными функциями, что позволяет им участвовать в ингибировании апоптоза и стимулировании биоэнергетических процессов в клетки [25].

Изменения, которые коснулись Bcl-2, были направлены в сторону постепенного снижения количества показателя при всех вариантах роста меланомы, что, по всей видимости, можно рассматривать как закрытие митохондриальной поры или как адаптацию к стрессу.

Цитохром С является важным металлопротеином для митохондриального метаболизма и гомеостаза, играющим двойную роль в жизни и смерти клеток. При гомеостатических процессах он действует как переносчик электронов в дыхательной цепи в митохондриях [26].

Повышение уровня цитохрома С при ХНБ, показанное в настоящем исследовании, вероятно, связано именно с активацией дыхательной цепи в митохондриях. Тогда как его снижение при росте меланомы

на фоне коморбидной патологии – ХНБ, возможно, говорит о нарушении стабильности дыхательной цепи в IV комплексе.

Цитохром С является важным компонентом дыхательной цепи митохондрий, ответственным за перенос электронов из комплекса III в IV, а также, благодаря его высокодинамичным взаимодействиям с окислительно-восстановительными мишенями, играет важную роль в окислительном фосфорилировании субстратов [27]. Электронно-транспортная цепь жестко регулируется посттрансляционными модификациями, расширяющими функцию его компонентов в гомеостатических и стрессовых условиях. Примечательно, что структура и активность цитохрома С контролируются *in vivo* путем фосфорилирования треонина 28, серина 47 и тирозина 48 и 97 [28; 29].

Что касается каспазы 9, то ряд исследований показывают, что гипоксия в ткани головного мозга приводит к повышенной активации каспазы 9 в митохондриях [30].

Сопоставляя уровни цитохрома С и каспазы 9 в митохондриях коры мозга на первых неделях при стандартном и сочетанном с ХНБ росте меланомы, было обращено внимание на их реципрокные взаимоотношения. Учитывая роль цитохрома С в регуляции дыхательной цепи митохондрий и изменения уровня каспазы 9, полученные результаты, можно трактовать с позиций кислородного обеспечения и дыхания этих органелл.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, ХНБ приводит к переактивации процессов дыхания в митохондриях, а также к открытию митохондриальной поры с высвобождением кальция из митохондрий в клетках коры головного мозга мышей C57/BL6. Начальный этап злокачественного процесса сопровождается стрессорными изменениями в митохондриях коры головного мозга, которое выражается в переактивации практически всех изучаемых показателей (кальций, AIF, Bcl-2, цитохром С), сменяющейся их истощением к терминальному этапу развития опухоли, т.е. подавлением энергетических процессов. Предваряющее перевивку меланомы воспроизведение модели ХНБ заблаговременно создает «стресс-основу» для злокачественного процесса, способствуя подавлению AIF и цитохрома С, отвечающих за перенос электронов из комплекса I в IV. Следовательно, подавление энергетических процессов в митохондриях клеток коры головного мозга с переизбытком кальция, вероятно, способствует усилению митохондриального окисления. В результате, к терминальному этапу роста опухоли на фоне коморбидной патологии (ХНБ) формируется

супрессия большинства звеньев дыхательной цепи митохондрий клеток коры головного мозга. Очевидно, что как при изолированном росте опухоли, так и при сочетанном с коморбидным заболеванием, присутствуют дисфункциональные изменения в митохондриях. Полагаем, что выявленные перестройки

в митохондриях клеток коры головного мозга на фоне злокачественного процесса и ХНБ могут приводить к возникновению нейродегенеративных и ишемических состояний мозга, однако пути реализации данных эффектов различны в зависимости от наличия или отсутствия коморбидной патологии – ХНБ.

Список источников

1. Batra D, Malhotra HS, Garg RK, Malhotra KP, Kumar N, Brahma Bhatt ML, et al. The spectrum of malignancies presenting with neurological manifestations: A prospective observational study. *J Family Med Prim Care*. 2019 Nov;8(11):3726–3735. https://doi.org/10.4103/jfmpc.jfmpc_506_19
2. Olson B, Marks DL. Pretreatment Cancer-Related Cognitive Impairment-Mechanisms and Outlook. *Cancers (Basel)*. 2019 May 16;11(5):687. <https://doi.org/10.3390/cancers11050687>
3. Burfeind KG, Zhu X, Norgard MA, Levasseur PR, Huisman C, Buenafe AC, et al. Circulating myeloid cells invade the central nervous system to mediate cachexia during pancreatic cancer. *Elife*. 2020 May 11;9:e54095. <https://doi.org/10.7554/eLife.54095>
4. Bargiela D, Chinnery PF. Mitochondria in neuroinflammation - Multiple sclerosis (MS), leber hereditary optic neuropathy (LHON) and LHON-MS. *Neurosci Lett*. 2019 Sep 25;710:132932. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.06.051>
5. Cavaliere G, Trinchese G, Penna E, Cimmino F, Pirozzi C, Lama A, et al. High-Fat Diet Induces Neuroinflammation and Mitochondrial Impairment in Mice Cerebral Cortex and Synaptic Fraction. *Front Cell Neurosci*. 2019;13:509. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00509>
6. Joshi AU, Mochly-Rosen D. Mortal engines: Mitochondrial bioenergetics and dysfunction in neurodegenerative diseases. *Pharmacol Res*. 2018 Dec;138:2–15. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.08.010>
7. Gabandé-Rodríguez E, Gómez de Las Heras MM, Mittelbrunn M. Control of Inflammation by Calorie Restriction Mimetics: On the Crossroad of Autophagy and Mitochondria. *Cells*. 2019 Dec 28;9(1):82. <https://doi.org/10.3390/cells9010082>
8. Патент № 2650587 С1 Российская федерация. Способ модификации хронической болью злокачественного роста меланомы B16 у мышей: № 2017114818 заявл. 26.04.2017: опубл. 16.04.2018. Кит О. И., Франциянц Е. М., Каплиева И. В., Трепитаки Л. К., Котиева И. М. Заявитель ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации.
9. Кит О. И., Котиева И. М., Франциянц Е. М., Каплиева И. В., Трепитаки Л. К., Бандовкина В. А. и др. Влияние хронической нейропатической боли на течение злокачественного процесса меланомы B16/F10 у самцов мышей. *Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки*. 2019;(1(201)):106–111.
10. Егорова М. В., Афанасьев С. А. Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: Современные методические приемы. *Сибирский медицинский журнал*. 2011;26(1-1):22–28.
11. Розенко Д. А., Шихлярова А. И., Попова Н. Н., Вереникина Е. В., Меньшенина А. П., Арджа А. Ю. и др. Оценка эффективности купирования послеоперационной боли и нормализация адаптационного статуса у пациенток с онкопатологией репродуктивной системы. *Южно-Российский онкологический журнал*. 2021;2(1):14–25. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-1-2>
12. 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>
13. Emmerzaal TL, Preston G, Geenen B, Verweij V, Wiesmann M, Vasileiou E, et al. Impaired mitochondrial complex I function as a candidate driver in the biological stress response and a concomitant stress-induced brain metabolic reprogramming in male mice. *Transl Psychiatry*. 2020 Jun 1;10(1):176. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-0858-y>
14. Picard M, McEwen BS. Psychological Stress and Mitochondria: A Systematic Review. *Psychosom Med*. 2018 Mar;80(2):141–153. <https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000545>
15. Umemoto T, Hashimoto M, Matsumura T, Nakamura-Ishizu A, Suda T. Ca²⁺-mitochondria axis drives cell division in hematopoietic stem cells. *J Exp Med*. 2018 Aug 6;215(8):2097–2113. <https://doi.org/10.1084/jem.20180421>
16. Pivovarov NB, Andrews SB. Calcium-dependent mitochondrial function and dysfunction in neurons. *FEBS J*. 2010 Sep;277(18):3622–3636. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2010.07754.x>
17. Rossi A, Pizzo P, Filadi R. Calcium, mitochondria and cell metabolism: A functional triangle in bioenergetics. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*. 2019 Jul;1866(7):1068–1078. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.10.016>
18. Llorente-Folch I, Rueda CB, Pardo B, Szabadkai G, Duchon MR, Satrustegui J. The regulation of neuronal mitochondrial metabolism by calcium. *J Physiol*. 2015 Aug 15;593(16):3447–3462. <https://doi.org/10.1113/JP270254>
19. Rangaraju V, Calloway N, Ryan TA. Activity-driven local ATP synthesis is required for synaptic function. *Cell*. 2014 Feb 13;156(4):825–835. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.042>

20. Shen S-M, Guo M, Xiong Z, Yu Y, Zhao X-Y, Zhang F-F, et al. AIF inhibits tumor metastasis by protecting PTEN from oxidation. *EMBO Rep.* 2015 Nov;16(11):1563–1580. <https://doi.org/10.15252/embr.201540536>
21. Li T, Li K, Zhang S, Wang Y, Xu Y, Cronin SJF, et al. Overexpression of apoptosis inducing factor aggravates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal mice. *Cell Death Dis.* 2020 Jan 30;11(1):77. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2280-z>
22. Delavallée L, Mathiah N, Cabon L, Mazeraud A, Brunelle-Navas M-N, Lerner LK, et al. Mitochondrial AIF loss causes metabolic reprogramming, caspase-independent cell death blockade, embryonic lethality, and perinatal hydrocephalus. *Mol Metab.* 2020 Oct;40:101027. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.101027>
23. Hangen E, Féraud O, Lachkar S, Mou H, Doti N, Fimia GM, et al. Interaction between AIF and CHCHD4 Regulates Respiratory Chain Biogenesis. *Mol Cell.* 2015 Jun 18;58(6):1001–1014. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.04.020>
24. Bano D, Prehn JHM. Apoptosis-Inducing Factor (AIF) in Physiology and Disease: The Tale of a Repented Natural Born Killer. *EBio-Medicine.* 2018 Apr;30:29–37. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.03.016>
25. Anilkumar U, Khacho M, Cuillerier A, Harris R, Patten DA, Bilén M, et al. MCL-1Matrix maintains neuronal survival by enhancing mitochondrial integrity and bioenergetic capacity under stress conditions. *Cell Death Dis.* 2020 May 5;11(5):321. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2498-9>
26. González-Arzola K, Díaz-Quintana A, Rivero-Rodríguez F, Velázquez-Campoy A, De la Rosa MA, Díaz-Moreno I. Histone chaperone activity of Arabidopsis thaliana NRP1 is blocked by cytochrome c. *Nucleic Acids Res.* 2017 Feb 28;45(4):2150–2165. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1215>
27. Pérez-Mejías G, Guerra-Castellano A, Díaz-Quintana A, De la Rosa MA, Díaz-Moreno I. Cytochrome c: Surfing Off of the Mitochondrial Membrane on the Tops of Complexes III and IV. *Comput Struct Biotechnol J.* 2019;17:654–660. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.05.002>
28. Mahapatra G, Varughese A, Ji Q, Lee I, Liu J, Vaishnav A, et al. Phosphorylation of Cytochrome c Threonine 28 Regulates Electron Transport Chain Activity in Kidney: IMPLICATIONS FOR AMP KINASE. *J Biol Chem.* 2017 Jan 6;292(1):64–79. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.744664>
29. Wan J, Kalpage HA, Vaishnav A, Liu J, Lee I, Mahapatra G, et al. Regulation of Respiration and Apoptosis by Cytochrome c Threonine 58 Phosphorylation. *Sci Rep.* 2019 Nov 1;9(1):15815. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52101-z>
30. Mishra OP, Randis T, Ashraf QM, Delivoria-Papadopoulos M. Hypoxia-induced Bax and Bcl-2 protein expression, caspase-9 activation, DNA fragmentation, and lipid peroxidation in mitochondria of the cerebral cortex of newborn piglets: the role of nitric oxide. *Neuroscience.* 2006 Sep 1;141(3):1339–1349. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.05.005>

References

1. Batra D, Malhotra HS, Garg RK, Malhotra KP, Kumar N, Brahma Bhatt ML, et al. The spectrum of malignancies presenting with neurological manifestations: A prospective observational study. *J Family Med Prim Care.* 2019 Nov;8(11):3726–3735. https://doi.org/10.4103/jfmpc.jfmpc_506_19
2. Olson B, Marks DL. Pretreatment Cancer-Related Cognitive Impairment-Mechanisms and Outlook. *Cancers (Basel).* 2019 May 16;11(5):687. <https://doi.org/10.3390/cancers11050687>
3. Burfeind KG, Zhu X, Norgard MA, Levasseur PR, Huisman C, Buenafe AC, et al. Circulating myeloid cells invade the central nervous system to mediate cachexia during pancreatic cancer. *Elife.* 2020 May 11;9:e54095. <https://doi.org/10.7554/eLife.54095>
4. Bargiela D, Chinnery PF. Mitochondria in neuroinflammation - Multiple sclerosis (MS), leber hereditary optic neuropathy (LHON) and LHON-MS. *Neurosci Lett.* 2019 Sep 25;710:132932. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.06.051>
5. Cavaliere G, Trinchese G, Penna E, Cimmino F, Pirozzi C, Lama A, et al. High-Fat Diet Induces Neuroinflammation and Mitochondrial Impairment in Mice Cerebral Cortex and Synaptic Fraction. *Front Cell Neurosci.* 2019;13:509. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00509>
6. Joshi AU, Mochly-Rosen D. Mortal engines: Mitochondrial bioenergetics and dysfunction in neurodegenerative diseases. *Pharmacol Res.* 2018 Dec;138:2–15. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.08.010>
7. Gabandé-Rodríguez E, Gómez de Las Heras MM, Mittelbrunn M. Control of Inflammation by Calorie Restriction Mimetics: On the Crossroad of Autophagy and Mitochondria. *Cells.* 2019 Dec 28;9(1):82. <https://doi.org/10.3390/cells9010082>
8. Patent No. 2650587 C1 Russian Federation. Method of modification by chronic pain of malignant growth of melanoma B16 in mice: No. 2017114818 application 26.04.2017: publ. 16.04.2018. Kit OI, Franzants EM, Kaplieva IV, Trepitaki LK, Kotieva IM Applicant of the Rostov Research Oncological Institute of the Ministry of Health of the Russian Federation. (In Russ.)
9. Kit OI, Kotieva IM, Frantsiyants EM, Kaplieva IV, Trepitaki LK, Bandovkina VA, et al. Influence of chronic neuropathic pain on the course of malignant B16/F10 melanoma in male mice. *News of higher educational institutions. The North Caucasus region. Series: Natural Sciences.* 2019;(1(201)):106–111. (In Russ.).
10. Egorova MV, Afanasyev SA. Isolation of mitochondria from cells and tissues of animals and human: modern methodical approaches. *Siberian Medical Journal.* 2011;26(1-1):22–28. (In Russ.).

11. Rozenko DA, Shikhlyarova AI, Popova NN, Verenikina EV, Menshenina AP, Ardza AYU, et al. Efficiency mark postoperative pain management and normalization of adaptation status in patients with reproductive system oncopathology. *South Russian Journal of Cancer*. 2021;2(1):14–25. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-1-2>
12. 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>
13. Emmerzaal TL, Preston G, Geenen B, Verweij V, Wiesmann M, Vasileiou E, et al. Impaired mitochondrial complex I function as a candidate driver in the biological stress response and a concomitant stress-induced brain metabolic reprogramming in male mice. *Transl Psychiatry*. 2020 Jun 1;10(1):176. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-0858-y>
14. Picard M, McEwen BS. Psychological Stress and Mitochondria: A Systematic Review. *Psychosom Med*. 2018 Mar;80(2):141–153. <https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000545>
15. Umemoto T, Hashimoto M, Matsumura T, Nakamura-Ishizu A, Suda T. Ca²⁺-mitochondria axis drives cell division in hematopoietic stem cells. *J Exp Med*. 2018 Aug 6;215(8):2097–2113. <https://doi.org/10.1084/jem.20180421>
16. Pivovarov NB, Andrews SB. Calcium-dependent mitochondrial function and dysfunction in neurons. *FEBS J*. 2010 Sep;277(18):3622–3636. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2010.07754.x>
17. Rossi A, Pizzo P, Filadi R. Calcium, mitochondria and cell metabolism: A functional triangle in bioenergetics. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*. 2019 Jul;1866(7):1068–1078. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.10.016>
18. Llorente-Folch I, Rueda CB, Pardo B, Szabadkai G, Duchen MR, Satrustegui J. The regulation of neuronal mitochondrial metabolism by calcium. *J Physiol*. 2015 Aug 15;593(16):3447–3462. <https://doi.org/10.1113/JP270254>
19. Rangaraju V, Calloway N, Ryan TA. Activity-driven local ATP synthesis is required for synaptic function. *Cell*. 2014 Feb 13;156(4):825–835. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.042>
20. Shen S-M, Guo M, Xiong Z, Yu Y, Zhao X-Y, Zhang F-F, et al. AIF inhibits tumor metastasis by protecting PTEN from oxidation. *EMBO Rep*. 2015 Nov;16(11):1563–1580. <https://doi.org/10.15252/embr.201540536>
21. Li T, Li K, Zhang S, Wang Y, Xu Y, Cronin SJF, et al. Overexpression of apoptosis inducing factor aggravates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal mice. *Cell Death Dis*. 2020 Jan 30;11(1):77. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2280-z>
22. Delavallée L, Mathiah N, Cabon L, Mazeraud A, Brunelle-Navas M-N, Lerner LK, et al. Mitochondrial AIF loss causes metabolic reprogramming, caspase-independent cell death blockade, embryonic lethality, and perinatal hydrocephalus. *Mol Metab*. 2020 Oct;40:101027. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.101027>
23. Hangen E, Féraud O, Lachkar S, Mou H, Doti N, Fimia GM, et al. Interaction between AIF and CHCHD4 Regulates Respiratory Chain Biogenesis. *Mol Cell*. 2015 Jun 18;58(6):1001–1014. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.04.020>
24. Bano D, Prehn JHM. Apoptosis-Inducing Factor (AIF) in Physiology and Disease: The Tale of a Repented Natural Born Killer. *EBio-Medicine*. 2018 Apr;30:29–37. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.03.016>
25. Anilkumar U, Khacho M, Cuillerier A, Harris R, Patten DA, Bilen M, et al. MCL-1Matrix maintains neuronal survival by enhancing mitochondrial integrity and bioenergetic capacity under stress conditions. *Cell Death Dis*. 2020 May 5;11(5):321. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2498-9>
26. González-Arzola K, Díaz-Quintana A, Rivero-Rodríguez F, Velázquez-Campoy A, De la Rosa MA, Díaz-Moreno I. Histone chaperone activity of Arabidopsis thaliana NRP1 is blocked by cytochrome c. *Nucleic Acids Res*. 2017 Feb 28;45(4):2150–2165. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1215>
27. Pérez-Mejías G, Guerra-Castellano A, Díaz-Quintana A, De la Rosa MA, Díaz-Moreno I. Cytochrome c: Surfing Off of the Mitochondrial Membrane on the Tops of Complexes III and IV. *Comput Struct Biotechnol J*. 2019;17:654–660. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.05.002>
28. Mahapatra G, Varughese A, Ji Q, Lee I, Liu J, Vaishnav A, et al. Phosphorylation of Cytochrome c Threonine 28 Regulates Electron Transport Chain Activity in Kidney: IMPLICATIONS FOR AMP KINASE. *J Biol Chem*. 2017 Jan 6;292(1):64–79. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.744664>
29. Wan J, Kalpage HA, Vaishnav A, Liu J, Lee I, Mahapatra G, et al. Regulation of Respiration and Apoptosis by Cytochrome c Threonine 58 Phosphorylation. *Sci Rep*. 2019 Nov 1;9(1):15815. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52101-z>
30. Mishra OP, Randis T, Ashraf QM, Delivoria-Papadopoulos M. Hypoxia-induced Bax and Bcl-2 protein expression, caspase-9 activation, DNA fragmentation, and lipid peroxidation in mitochondria of the cerebral cortex of newborn piglets: the role of nitric oxide. *Neuroscience*. 2006 Sep 1;141(3):1339–1349. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.05.005>

Информация об авторах:

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

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
Черярина Наталья Дмитриевна – врач-лаборант лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://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

Шихлярова Алла Ивановна – д.б.н., профессор, старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2943-7655>, SPIN: 6271-0717, AuthorID: 482103, Scopus Author ID: 6507723229

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: <https://orcid.org/0000-0002-2302-8271>, SPIN: 8806-2641, AuthorID: 696989, ResearcherID: AAG-8708-2019, Scopus Author ID: 57194276288

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

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

Трепитакки Лидия Константиновна – младший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9749-2747>, SPIN: 2052-1248, AuthorID: 734359

Качесова Полина Сергеевна – научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6928-5014>, SPIN: 5784-0475, AuthorID: 571595

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: <https://orcid.org/0000-0003-3618-6890>, SPIN: 9427-9928, AuthorID: 462868, ResearcherID: Y-1491-2018, Scopus Author ID: 55890047700

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

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: <https://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

Alla I. Shikhlyarova – Dr. Sci. (Biol.), Professor, senior researcher, Laboratory of Study of Malignant Tumor Pathogenesis, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2943-7655>, SPIN: 6271-0717, AuthorID: 482103, Scopus Author ID: 6507723229

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: <https://orcid.org/0000-0002-2302-8271>, SPIN: 8806-2641, AuthorID: 696989, ResearcherID: AAG-8708-2019, Scopus Author ID: 57194276288

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

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: <https://orcid.org/0000-0002-3972-2452>, SPIN: 5047-1541, AuthorID: 734116

Lidiya K. Trepitaki – assistant researcher at the laboratory for the study of pathogenesis of malignant tumors of National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9749-2747>, SPIN: 2052-1248, AuthorID: 734359

Polina S. Kachesova – researcher at the laboratory for the study of the pathogenesis of malignant tumors of National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6928-5014>, SPIN: 5784-0475, AuthorID: 571595

Вклад авторов:

Франциянц Е. М. – концепция и дизайн исследования, написание текста, анализ и интерпретация данных;

Нескубина И. В. – сбор, анализ и интерпретация данных, техническое редактирование, оформление библиографии;

Черярина Н. Д. – техническое редактирование;

Сурикова Е. И. – техническое редактирование, обработка материала;

Шихлярова А. И. – научное редактирование;

Бандовкина В. А. – ассистенция на операциях, подготовка статьи;

Немашкалова Л. А. – техническое редактирование;

Каплиева И. В. – научное редактирование;

Трепитакки Л. К. – ассистенция на операциях;

Качесова П. С. – оформление библиографии.

Authors contribution:

Frantsiyants E. M. – research concept and design, text writing, data analysis and interpretation;

Neskubina I. V. – collection, analysis and interpretation of data, technical editing, bibliography design;

Cheryarina N. D. – technical editing;

Surikova E. I. – technical editing, material processing;

Shikhlyarova A. I. – scientific editing;

Bandovkina V. A. – assistance in operations, management of the article;

Nemashkalova L. A. – technical editing;

Kaplieva I. V. – scientific editing;

Trepitaki L. K. – assistance in the operations;

Kachesova P. S. – bibliography design.