

© Коллектив авторов, 2018

УДК 616.5-006.81-06-085:615.35

DOI 10.21886/2219-8075-2018-9-2-51-60

Влияние нейрогенной хронической боли на показатели калликреин-кининовой системы в коже самок мышей в динамике развития меланомы B16/F10

О.И. Кит¹, И.М. Котиева², Е.М. Франциянц¹, И.В. Каплиева¹, Л.С. Козлова¹,
В.А. Бандовкина¹, Ю.А. Погорелова¹, Н.Д. Черярина¹, М.В. Бликан²

¹Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия

²Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

Цель: изучение уровня показателей калликреин-кининовой системы (ККС) в меланоме кожи и коже, не связанной с опухолью, мышей-самок, в динамике роста меланомы B16/F10, воспроизведенной на фоне хронической нейрогенной боли. **Материалы и методы:** работа выполнена на самках мышей линии C57BL/6 (n=132) 8-недельного возраста массой 24-26 г. Группы животных: 64 – меланомы B16/F10 на фоне хронической нейрогенной боли (основная), 22 – модель хронической нейрогенной боли без перевивки опухоли, 27 – стандартная перевивка меланомы B16/F10 (группа сравнения), 19 самок интактных мышей. Показатели ККС определяли методами ИФА. Статистика: программа Statistica 10 и критерий Вилкоксона. **Результаты:** влияние хронической боли на развитие перевивной меланомы B16/F10: опухоли в коже мышей основной группы проявлялись через 1 неделю после перевивки, имели двухфазный рост, 100% метастазирование, помимо печени и легких, в нетрадиционные органы – в сердце и матку. У мышей группы сравнения опухоли появлялись через 2 недели, метастазы – через 4 недели. Средняя продолжительность жизни: в основной группе 19,17±1,35 дней, в группе сравнения – 30,25±1,67 дня. В коже мышей основной группы наблюдали прогрессивный расход кининогена, истощение KLK-1, начиная со второй недели роста опухоли, накопление его в опухоли с максимумом в конце 3 недели. KLK-14 достоверно возрастал в коже, а в опухоли, увеличившись на 1 неделю, стабилизировался. Получены достоверные различия показателей ККС в коже и опухоли мышей сравниваемых групп. **Выводы:** хроническая нейрогенная боль вызывает радикальную перестройку метаболизма ККС в коже интактных мышей: увеличение содержания кининогена, прекалликреина и снижение количества KLK-1. Перевивка меланомы B16/F10 на фоне хронической нейрогенной боли сохраняет рост прекалликреина в коже, но увеличивает его расход в ткани опухоли, одновременно с активацией KLK-1 (в коже вплоть до истощения) и KLK-14.

Ключевые слова: меланомы, хроническая нейрогенная боль, кининовая система.

Для цитирования Кит О.И., Котиева И.М., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Козлова Л.С., Бандовкина В.А., Погорелова Ю.А., Черярина Н.Д., Бликан М.В. Влияние нейрогенной хронической боли на показатели калликреин-кининовой системы в коже самок мышей в динамике развития меланомы B16/F10. *Медицинский вестник Юга России*. 2018;9(2):51-60. DOI 10.21886/2219-8075-2018-9-2-51-60

Контакты: Козлова Лариса Степановна, super.gormon@yandex.ru.

Influence of neurogenic chronic pain on indicators of kallikrein-kinin system in skin of female mice in dynamics of B16/F10 melanoma development

О.И. Кит¹, И.М. Котиева², Е.М. Frantsiyants¹, И.В. Kaplieva¹, Л.С. Kozlova¹, В.А. Bandovkina¹, Yu.A. Pogorelova¹, N.D. Cheryarina¹, M.V. Blikyan²

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

²Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Objective: determination of levels of the kallikrein-kinin system (KKS) indicators in cutaneous melanoma and in the skin not associated with tumor in female mice with chronic neurogenic pain in the dynamics of B16/F10 melanoma growth. **Materials and methods:** the study included 8 weeks old female C57BL/6 mice weighing 24-26 g (n=132). The animals were divided into 4 groups: 64 – B16/F10 melanoma with chronic neurogenic pain (main group), 22 – chronic neurogenic pain without melanoma, 27 – B16/F10 melanoma only (comparison group), 19 – intact mice. KKS parameters were determined by ELISA. Statistical processing of results was performing using the Statistica 10 program and the Wilcoxon test. **Results:** chronic pain influenced the development of transplantable B16/F10 melanoma: tumors in animals of the main group appeared 1 week after the transplantation and were bifocal; 100% metastasis to the liver, lungs and to non-typical sites (the heart and uterus).

Tumors in mice of the comparison group appeared in 2 weeks, and metastases in 4 weeks. The mean survival was 19.17 ± 1.35 days in the main group and 30.25 ± 1.67 days in the comparison group. In the skin of mice of the main group, we observed progressive kininogen consumption, KLK-1 depletion from the second week of the tumor growth, and its accumulation in the tumor with its maximum by the end of week 3. KLK-14 significantly increased in the skin; in the tumor it stabilized after an increase in week 1. KKS parameters differed significantly in the skin and tumor tissues of mice in compared groups. **Conclusions:** Chronic neurogenic pain causes a radical reorganization of KKS metabolism in the skin of intact mice: an increase in kininogen and prekallikrein and a decrease in KLK-1. B16/F10 melanoma transplantation with chronic neurogenic pain preserves the increase of prekallikrein in the skin, but increases as well its consumption in tumor tissue simultaneously with the activation of KLK-1 (in the skin until its exhaustion) and KLK-14.

Keywords: melanoma, chronic neurogenic pain, kinin system

For citation: Kit O.I., Kotieva I.M., Frantsiyants E.M., Kaplieva I.V., Kozlova L.S., Bandovkina V.A., Pogorelova Yu.A., Cheryarina N.D., Blikyan M.V. Influence of neurogenic chronic pain on indicators of kallikrein-kinin system in skin of female mice in dynamics of B16/F10 melanoma development. *Medical Herald of the South of Russia*. 2018;9(2):51-60. (In Russ.) DOI 10.21886/2219-8075-2018-9-2-51-60

Corresponding author: Larisa S. Kozlova, super.gormon@yandex.ru

Введение

Боль – сложный процесс, который включает взаимодействие массива биохимических передатчиков и рецепторов как в периферической, так и в центральной нервных системах. Хроническая боль связана с изменениями центральной нервной системы (ЦНС), такими как центральная гипервозбудимость, изменения в матрице боли в головном мозге и нисходящий контроль ноцицепции [1-4]. Ноцицепция активируется путем стимуляции свободных нервных окончаний волокон III группы (Aδ) и IV афферентного (C). Ноцицептивные сигналы генерируются периферическими сенсорными органами, называемыми ноцирецепторами, которые представляют собой окончания нервных волокон малого диаметра, реагирующих на тканевую среду. Бесчисленные химические медиаторы, способные активировать, сенсibilизировать или возбуждать ноцицепторы, включают в себя кинины, провоспалительные и противовоспалительные цитокины, простагландины, липооксигеназы, «центральный иммунный ответный медиатор» NF-κB, нейротрофины и другие факторы роста, нейротензины, оксид азота, гистамин, серотонин, протеиназы, возбуждающие аминокислоты, адренергические амины и опиоиды [1-4]. Эти медиаторы могут действовать в комбинации или в возникшем в данный момент процессе, вызывая изменения на молекулярном и рецепторном уровне, которые приводят к гипералгезии или аллодинии. Аллогены и воспалительные медиаторы, высвобождаемые из тканевой матрицы с помощью эффектов брадикинина, как и сам брадикинин, могут активировать первичные ноцицепторные клетки как через каналы, связанные с лиганд-рецептором, так и через рецептор-опосредованное G-белком открытие переходного рецептора потенциальных канонических каналов [5,6].

Для больного раком постоянная и прорывная боль является основной проблемой. Хотя этиология боли в раке остается предметом дискуссий, животные модели боли от рака позволили исследователям прояснить некоторые вызванные раком невропатологические процессы [7]. В результате происходящих изменений формируется

повышенная чувствительность ноцицепторов в месте повреждения – периферическая сенситизация [6,8,9]. В приведенных трудах показано, что изменения соматических сенсорных путей, вызванных периферическим воспалением или травмой, приводят к гиперчувствительности и патологической боли, таким как гипералгезия.

Меланома – агрессивная метастатическая опухоль с весьма слабым ответом на стандартные терапевтические подходы, такие как радио- и химиотерапия. Следовательно, пациенты, диагностированные на поздних стадиях заболевания, часто имеют плохой прогноз. Метастазы меланомы прямо связаны с метастатическим фенотипом первичной опухоли и являются основной причиной летального исхода онкологических больных. Чтобы достичь вторичных органов, опухолевые клетки должны приобретать способность отрываться от первичного участка, вторгаться в строу хозяина и достигать лимфатических или кровеносных сосудов, чему способствуют отек и воспаление с непрямым участием калликреин-кининовой системы (ККС) [3,4,10].

ККС известна как основной регулятор единой полисистемы, функции которой направлены на срочную адаптацию организма к изменяющимся условиям внутренней и внешней сред [3,4,10]. Семейство тканевых калликреинов (KLKs), охватывающее самый крупный, эволюционно неизменный, кластер сериновых протеиназ человека, который не утрачивает генов, давно привлекает внимание исследователей. Уникальные свойства членов семейства KLKs делают их идеальными для многих исследований [11]. KLK вовлечены в разные стадии развития рака и его прогрессии и, как показали испытания специфического антигена простаты – PSA, проявили себя как мощные опухолевые маркеры [11,12]. В клетках рака простаты экспрессия калликреинов-3 и -4 (KLK-3 и KLK-4) приводит к потере E-кадгерина и индукции мезенхимной экспрессии маркера Виментина, как отличительного признака эпителиально-мезенхимальных переходов, что является важным шагом в изучении метастазирования [12]. Существуют убедительные доказательства того, что члены семейства KLKs дублируют активность друг дру-

га попарно и согласованно регулируются в нормальных биологических жидкостях и тканях, в то же время они же часто демонстрируют общие закономерности аномальной экспрессии в патологии [10,11,13]. Потенциал KLKs как биомаркеров рака стал известен после демонстрации ассоциации между уровнями KLK3 или PSA (простат-специфического антигена) и прогрессией рака предстательной железы [11,12]. Кроме того, постоянно растущее число исследований *in vitro* и *in vivo* демонстрирует функциональное участие KLK в процессах, связанных с раком [10-17].

В коже кинины участвуют в клеточной пролиферации в качестве комитогенов, а также участвуют в процессах, распространяющих воспаление и боль [11]. Сенсорные изменения, связанные с различными моделями нейропатической боли, всегда связаны с кининовой системой. Ранее Ferreira J. et al. [18] получили данные, доказывающие, что именно рецептор B1 играет решающую роль в контроле стойкой гипералгезии у мышей в результате воспаления, тогда как B2-рецептор играет лишь вспомогательную роль в нарастании отеков. Это подтверждено Luiz et al. в более поздних исследованиях [5]. Werner M.F. et al. [19] показана высокая экспрессия рецепторов кининов B1 и B2 в кожных пробах задних лап мышей и образцах спинного нерва L4-L6 на 12-й день после операции односторонней травмы спинного нерва. Рецептор кинина B1 участвует во множестве патофизиологических событий, связанных с раком, таких как воспаление и ангиогенез. Кроме того, опухоли, образованные из клеток, стимулированных B1-специфическим агонистом, проявили несколько особенностей снижения агрессивности, таких как меньший размер и инфильтрация воспалительных клеток в области опухоли, более высокие уровни провоспалительных цитокинов, вовлеченных в иммунный ответ против опухолей хозяина [20].

Передача сигналов брадикинином является наиболее мощным индуктором воспалительной боли, это доказано, например, при патологии вульвы в клинике, меланоме кожи в эксперименте [3-5]. В клинических исследованиях авторами установлено, что рецепторы брадикинина экспрессируются на повышенных уровнях у онкологических больных, по сравнению со здоровыми, и контролируются фибробластами, которые вырабатывают повышенные уровни провоспалительных медиаторов со стимуляцией брадикинином. Ингибирование экспрессии B1 или обоих брадикининовых рецепторов (B1 и B2) значительно снижало продукцию провоспалительных медиаторов. Доказано, что брадикинин активирует сигнализацию ядерного фактора основного воспалительного пути, тогда как ингибирование этого пути успешно устраняло медиаторный ответ. Ноцицептивные ответы на периферии, в конечном счете, активируют и сенсibilизируют сигнальные болевые нейроны рогов спинного мозга, приводя к спонтанным ноцицептивным реакциям и гиперчувствительности. В эксперименте на модели сингенной меланомы кожи B16F10 A.G. Maria et al. [4] сравнивали скорость развития меланомы и генерализации процесса у мышей с нормальным содержанием рецептора брадикинина B1 и его дефицитом, причем у последних обнаружено появление опухоли с более высоким уровнем изъязвления, снижением иммунного ответа, более высоким митоти-

ческим индексом и более крупными метастатическими колониями.

Цель исследования: изучение уровня некоторых показателей ККС в ткани меланомы кожи и участков кожи, не связанных с опухолью, мышей-самок, в динамике роста экспериментальной меланомы B16/F10, воспроизведенной на фоне хронической нейрогенной боли.

Материалы и методы

Работа выполнена на самках мышей линии C57BL/6 (n=132) 8-недельного возраста с начальной массой 24-26 г. Животные получены из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий «Андреевка» ФМБА (Московская область)». В работе использовали клеточную линию мышинной, метастазирующей в легкие, меланомы B16/F10, полученную из РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН (г. Москва). Животные содержались при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Все исследования проводились в соответствии с требованиями и условиями, изложенными в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.03 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Распределение животных: основная группа — 64 животных, которым меланому B16/F10 воспроизводили после создания модели хронической боли, и контрольная группа — 22 животного с воспроизведенной моделью хронической нейрогенной боли без перевивки опухоли. В группу сравнения (стандартная модель меланомы) вошли 27 животных с перевивкой меланомы B16/F10 в той же дозе и объеме, что и в основной группе, но без воспроизведения модели хронической боли. Результаты сравнивали с данными, полученными при исследовании кожи 19 самок интактных мышей.

Все манипуляции с животными производили в боксе. Инструменты, посуду, руки дезинфицировали общепринятым способом. Каждому животному вводили ксилезолетилловый наркоз: за 10 минут до основного наркоза с целью премедикации животному внутримышечно вводили ксилазин (препарат Ксила) в дозе 0,05 мл/кг массы тела (по инструкции), затем Золетил-50 в дозе 10 мг/100 г массы тела. После наступления медикаментозного сна ассистент фиксировал мышь в положении на животе, удалял шерсть сзади в районе проекции седалищных нервов и смазывал кожу 70% спиртом. Экспериментатор в стерильных условиях выделял седалищный нерв, накладывал на него лигатуру, ушивал рану послойно и обрабатывал шов 5% спиртовым раствором йода. Через 2 недели после заживления операционной раны подкожно вводили 0,5 мл взвеси опухолевых клеток мышинной меланомы B16/F10 в физиологическом растворе в разведении 1:10. Для этого, соблюдая все условия асептики, описанные выше, ассистент фиксировал мышь спиной кверху, предварительно сбрав шерсть и обработав кожу 5% спиртовым раствором йода чуть ниже правой лопатки. Экспериментатор рукой в стерильной перчатке захватывал кожную складку, в центре которой прокалывал кожу и вводил опухолевую взвесь. Затем извлекал иглу, место введения плотно прижимал ватным тампоном, смочен-

ным в 70 % спирте с небольшим добавлением йода, на 1 минуту, чтобы исключить вытекание вводимой взвеси. При стандартной перевивке опухоль появляется в 100 % случаев, достаточно быстро растёт и на 12-16 сутки роста метастазирует, преимущественно гематогенно, в легкие (60-90 %), реже — в печень и селезенку [21].

Через 1, 2 и 3 недели эксперимента животных из групп сравнения и основной быстро декапитировали, все процедуры проводили в соответствии с международными правилами работы с животными (European Communities Council Directive, 86/609/EEC). Опухоль и кожу выделяли сразу после декапитации. Из тканей получали 10% цитозольные фракции, приготовленные на 0,1М калий-фосфатном буфере pH 7.4, содержащем 0,1 % Твин-20 и 1 % БСА, в которых с помощью стандартных тест-систем методами иммуно-ферментного анализа определяли уровень кининогена, прекалликреина, KLK-1 и KLK-14.

Статистическая обработка материала проводилась с помощью программы Statistica 10 с определением средних значений с указанием стандартных отклонений. Значимость различий средних показателей оценивалась с помощью критерия суммы рангов Вилкоксона. Существенными считали различия при $p < 0,05$. Анализ корреляции между параметрами определяли по коэффициенту линейной корреляции Пирсона «r», корреляцию считали достоверной при $p < 0,05$. При этом соблюдались общие рекомендации для медицинских исследований.

Результаты

Установлено, что нейрогенная хроническая боль приводит к значимым изменениям некоторых показателей ККС в коже интактных мышей-самок. Так, уровень кининогена был выше значений, полученных при исследовании кожи интактных животных (контроль), в 3,0 раза, прекалликреина – в 2,1 раза. При этом содержание KLK-1 было снижено в 2 раза, а KLK-14 – не имело достоверных отличий, от контрольных показателей (табл. 1: кожа, боль).

К окончанию 1 недели после перевивки опухоли на фоне хронической нейрогенной боли в коже мышей основной группы с хронической болью резко возрастал уровень KLK-1 — в 2,7 раза, относительно контрольного показателя у интактных животных. Уровень KLK-14 увеличивался только в 1,3 раза ($p < 0,05$). Это происходило на фоне снижения содержания кининогена в 1,7 раза

Таблица/ Table 1.

Уровень показателей ККС в ткани кожи самок мышей с меланомой B16/ F10 и меланомой, сочетанной с хронической болью
Levels of KKS parameters in skin tissues in female mice with B16/F10 melanoma alone and with chronic pain

	Кининоген <i>Kininogen</i>	Прекалликреин <i>Prekallikrein</i>	KLK-1	KLK-14
Интактные животные/ Intact animals				
Кожа инт. (контроль) <i>Intact skin (control)</i>	0,4±0,03	5,6±0,4	380,1±27,9	15,6±1,2
Кожа, боль (контроль) <i>Int.skin+pain (control)</i>	1,2±0,09 1	11,6±0,8 1	189,5±13,6 1	14,8±1,1
Через 1 неделю после перевивки меланомы B16/F10 1 week after B16/F10 melanoma transplantation				
Группа сравнения <i>Comparison group</i>	0,6±0,05 1	6,4±0,5 1	138,8±10,2 1	10,9±0,9 1
Основная группа <i>Main group</i>	0,7±0,06 1	12,8±1,1 1	505,0±36,3 1	18,1±1,1 1
2 недели роста меланомы B16/F10 Week 2 of B16/F10 melanoma growth				
Группа сравнения <i>Comparison group</i>	0,55±0,04 1,2	3,7±0,2 1,2	152,0±12,6 1	9,3±0,8 1
Основная группа <i>Main group</i>	0,4±0,03 1	11,9±1,1 1	132,3±11,7 1,2	20,7±1,1 1,2($p \leq 0,05$)
3 недели роста меланомы B16/F10 Week 3 of B16/F10 melanoma growth				
Группа сравнения <i>Comparison group</i>	0,6±0,05 1	13,3±1,2 1,2	304,1±25,8 2	10,3±0,9 1
Основная группа <i>Main group</i>	0,4±0,03	16,7±1,3 1	83,7±5,6 1,2	32,6±2,2 1,2

Примечание: 1 — различия достоверны, относительно соответствующих данных интактных животных ($p < 0,05$); 2 — различия достоверны, относительно предыдущего срока исследования ($p < 0,05$).

Note: 1 — differences were significant, compared with the corresponding values in intact animals ($p < 0.05$); 2 — differences were significant, compared with values in the previous week ($p < 0.05$, if the table does not specify otherwise).

($p < 0,05$), относительно контрольного показателя у животных с нейрогенной болью. В этот же срок исследования изменения уровня прекалликреина не обнаружено.

В коже мышей группы сравнения через 1 неделю после перевивки меланомы найдены иные изменения. Уровень калликреинов, в отличие от показателей у животных основной группы, снижался относительно соответствующего контроля: KLK-1 — в 2,7 раза, а KLK-14 — в 1,4 раза ($p < 0,05$). Содержание кининогена в коже животных группы сравнения в этот срок исследования, также, в отличие от показателей у животных основной группы, увеличивалось в 1,5 раза ($p < 0,05$). Сходным с показателями основной группы мышей было только неизменное, относительно контроля, содержание прекалликреина (табл. 1).

Через 2 и 3 недели после перевивки только в коже мышей группы сравнения уровень кининогена оставался без изменений, относительно предыдущего срока исследования (табл. 1). В коже мышей основной группы количество кининогена через 2 недели было ниже, чем в предыдущий срок исследования в 1,8 раза и оставалось на этом же уровне после 3 недель роста опухоли.

Прекалликреин через 2 недели после перевивки меланомы B16/F10 мышам основной группы оставался на прежнем уровне, а через 3 недели возрастал в 1,4 раза, относительно всех предыдущих сроков и контроля ин-

тактных животных с нейрогенной болью (табл. 1). В коже мышей группы сравнения прекалликреин снижался через 2 недели в 1,7 раза и возрастал к концу 3-й недели в 3,6 раза, относительно предыдущего срока исследования.

KLK-1 в коже мышей основной группы последовательно снижался: в 3,8 раза к концу 2 недели и в 1,6 раза к концу 3 недели относительно предыдущих сроков измерения. В конечном итоге его количество было снижено в 4,5 раза относительно интактной кожи и в 2,3 раза относительно данных кожи контрольных животных с нейрогенной болью. В коже мышей группы сравнения через 2 недели роста меланомы B16/F10 количество KLK-1 не изменилось по сравнению с 1-й неделей, а через 3 недели увеличилось в 2,0 раза относительно данных 2 недели.

KLK-14 в коже мышей основной группы через 2 недели роста меланомы B16/F10 сохранил тенденцию к увеличению (на 14,4 %, $p = 0,05$), а через 3 недели его количество возросло в 1,6 раза относительно данных 2 недели и было выше соответствующего контроля в 2,2 раза. В коже мышей группы сравнения через 2 недели уровень KLK-14 снизился в 1,2 раза, а после 3 недель роста опухоли вновь соответствовал данным 1 недели, что было в 1,5 раза ниже соответствующего контроля.

В ткани опухоли меланомы B16/F10 мышей основной группы через 1 неделю после перевивки меланомы B16/

Таблица/ Table 2.

Уровень показателей ККС в ткани опухоли самок мышей с меланомой B16/ F10 и меланомой, сочетанной с хронической болью
Levels of KKS parameters in tumor tissues in female mice with B16/F10 melanoma alone and with chronic pain

Группы <i>Groups</i>	Кининоген <i>Kininogen</i>	Прекалликреин <i>Prekallikrein</i>	KLK-1	KLK-14
Интактные животные/ <i>Intact animals</i>				
Кожа (контроль) <i>Intact skin (control)</i>	0,4±0,03	5,6±0,41	380,1±27,9	15,6±1,21
Кожа, боль (контроль) <i>Int.skin+pain (control)</i>	1,2±0,09 1	11,6±0,81 1	189,5±13,6 1	14,8±1,12
Через 1 неделю после перевивки меланомы B16/F10 <i>1 week after B16/F10 melanoma transplantation</i>				
Группа сравнения <i>Comparison group</i>	Образования опухолевых узлов не регистрировали <i>No tumors were registered</i>			
Основная группа <i>Main group</i>	0,6±0,046 1	3,5±0,30 1	363,6±27,8	58,2±4,7 1
2 недели роста меланомы B16/F10 <i>Week 2 of B16/F10 melanoma growth</i>				
Группа сравнения <i>Comparison group</i>	0,8±0,061 1	5,8±0,42	357,0±26,6	134,2±11,4 1,2
Основная группа <i>Main group</i>	0,6±0,041 1	4,5±0,33 1,2	376,8±29,4	41,4±3,4 1,2
3 недели роста меланомы B16/F10 <i>Week 3 of B16/F10 melanoma growth</i>				
Группа сравнения <i>Comparison group</i>	3,2±0,22 1	4,2±0,31 1	383,4±29,1	71,3±5,8 1,2
Основная группа	0,6±0,043 1	4,8±0,36 1($p \leq 0,05$)	489,2±35,7 1,2	42,1±3,5 1

Примечание: 1 — различия достоверны, относительно соответствующих данных интактных животных ($p < 0,05$); 2 — различия достоверны, относительно предыдущего срока исследования ($p < 0,05$).

Note: 1 — differences were significant, compared with the corresponding values in intact animals ($p < 0,05$, if the table does not specify otherwise); 2 — differences were significant, compared with values in the previous week ($p < 0,05$).

F10 найдено падение уровня кининогена в 2,0 раза и прекалликреина — в 3,3 раза относительно соответствующего контроля (интактных животных с нейрогенной болью). При этом возросли KLK-1 — в 1,9 раза ($p<0,05$) и KLK-14 — в 3,1 раза (табл. 2). Как упоминалось, в группе сравнения в этот срок исследования опухоли не выявлены.

Через 2 недели эксперимента в ткани опухоли меланомы B16/F10 у мышей основной группы состояние всех изученных компонентов ККС достоверно не изменялось, относительно показателей в предыдущий срок исследования. В этот срок в ткани опухоли животных группы сравнения найдено увеличение содержания кининогена в 2,0 раза относительно соответствующего контроля и KLK-14 — в 8,6 раза (табл. 2).

Через 3 недели роста опухоли в ткани меланомы животных основной группы вновь не обнаружено изменений исследованных показателей ККС, относительно предыдущих сроков исследования.

В то же время, в ткани меланомы B16/F10 у мышей группы сравнения найдены достоверные изменения некоторых показателей ККС. Так, уровень кининогена через 3 недели после перевивки в опухоли возрос в 4,0 раза относительно предыдущего срока исследования и в 8,0 раз относительно показателя у интактных контрольных животных (табл. 2). В это же время содержание прекалликреина снизилось в 1,4 раза ($p<0,05$). Уровень KLK-14, хоть и снизился в 1,9 раза ($p<0,01$), относительно предыдущего срока, однако оставался в 4,6 раза выше контрольных величин интактных животных.

Наблюдения, сделанные в ходе эксперимента, показали, что влияние хронической боли на развитие перевивной меланомы B16/F10 характеризовалось несколькими признаками. Опухоли в коже животных основной группы появлялись раньше, уже через 1 неделю после перевивки, имели двухфокусный рост, метастазирование — 100%, помимо традиционных мишеней (печени и легких), в нетрадиционные органы, а именно в сердце и матку. У мышей группы сравнения опухоли появлялись через 2 недели, метастазы регистрировались только через 4 недели. Сокращались сроки жизни животных: средняя продолжительность жизни для мышей основной группы составляла $19,17 \pm 1,35$ дней, в группе сравнения первая смерть наступила на 24 сутки, а средняя продолжительность их жизни составила $30,25 \pm 1,67$ дня.

Обсуждение

Понимание механизмов, лежащих в основе хронических болевых состояний, станет серьезным шагом в развитии новых методов лечения, предназначенных специально для конкретных механизмов хронической боли, влекущей за собой пластические изменения в центральной нервной системе, вызванные повышенной активностью в ноцицептивных первичных афферентных нервных волокнах. Однако до недавнего времени о метаболических изменениях, лежащих в основе этих очень длительных изменений возбудимости первичных афферентов, связанных с хроническими болевыми состояниями, известно мало.

Кинины являются мощными эндогенными аллогенными пептидами, и их роль в передаче боли широко

обсуждалась [3,4,10,11,22]. После воздействия калликреинов на кининоген и образования кининов последние реализуют свои действия через активацию двух подтипов GPCR, называемых рецепторами B1 и B2 [23]. Брадикинин является ведущим аллогеном и ключевым медиатором воспалительной гипералгезии. Внутримышечное введение брадикинина может вызвать боль и модифицировать восприимчивые поля нейронов дорсального рога к вредным раздражителям [3,4,15]. Таким образом, брадикинин может быть важным фактором возникновения и развития хронической боли.

Известно, что KLK-1 является более широко представленной кининогеназой, чем остальные члены семейства KLKs, и единственным клеточным калликреином с абсолютно специфичной кининогеназной активностью, а также высокоактивным адаптогеном к усиленному протеолизу [11,24]. Его ферментативная деятельность сводится к высвобождению брадикинина из низкомолекулярного кининогена, который, в свою очередь, соединяется со специфическим G-белком поверхностных клеточных рецепторов [3]. Хроническая нейрогенная боль, как показывают результаты настоящего исследования, не вызывала увеличения образования брадикинина в коже интактных самок мышей с перевязанными седалищными нервами, так как уровень кининогена регистрировался в 2,0 раза выше, чем у здоровых мышей (без нейрогенной боли), а KLK-1, напротив, вдвое ниже. Брадикинин является острофазовым полипептидом, поэтому неудивительно, что хроническая боль в исследованные сроки не сопровождалась увеличением его содержания в коже животных. Вместе с тем, повышенное содержание прекалликреина на фоне сниженного уровня KLK-1 свидетельствовало об усилении его синтеза под действием хронической боли.

Рак и иммунные клетки в области расположения опухолевых масс высвобождают несколько нейроиммунных медиаторов, которые взаимодействуют с различными рецепторами на периферических ноцицептивных нервных терминалах для развития аномального выделения и гипервозбудимости. Кроме того, опухоли, растущие вблизи периферических нервов, могут поставить под угрозу целостность нерва, вызывая невропатическое состояние, сопровождающееся постоянной болью, гипералгезией или аллодинией. Оба эти действия опухолей на периферический нерв могут привести к центральной сенсibilизации, что еще больше повысит эффективность ноцицептивной передачи через спинной мозг и восприятие спонтанной и прорывной боли [7]. Брадикинин, как продукт метаболизма ККС, находящийся на первом месте в ряду аллогенов, является одним из важнейших медиаторов воспаления [3,4,10]. Наличие связи между воспалением и раком было предположено еще в начале века [25], а в последнее время воспаление считается признаком рака [26], но конкретная роль иммунных клеток в области опухолей до сих пор полностью не выяснена. Касаясь медиаторной роли кининов, следует отметить полиморфизм их биологического действия и клинических проявлений, возникающих при активации калликреина: они повышают внутрикапиллярное и венозное давление, усиливают экссудацию, стимулируют пролиферацию Т-лимфоцитов, продукцию ими лимфокинов, усилива-

ют пролиферацию фибробластов, синтез коллагена, тем самым стимулируя пролиферацию, наконец, взаимодействуют с ноцирецепторами.

Следует подчеркнуть, что свободные кинины непосредственно вызывают хемотаксис и дегрануляцию лейкоцитов, усиливают синтез простагландинов многими типами клеток, а также высвобождение гистамина из тучных клеток [3,4], что также усиливает болевую реакцию. Агонисты рецептора кинина B1 индуцировали дозозависимую секрецию нейтрофилами KLK1, KLK6, KLK10, KLK13 и KLK14 в культуральную среду [27]. Авторы изучали экспрессию и биорегуляцию KLKs в человеческих нейтрофилах и рецептор B1, с точки зрения, индуцирует ли стимуляция с помощью кининового рецептора B1 их секрецию. Методом проточной цитометрии авторами установлено, что нейтрофилы экспрессируют только KLK1, KLK4, KLK10, KLK13, KLK14 и KLK15. При моделировании меланомы B16/F10 увеличение KLK-14 наблюдали и в коже, и в ткани опухоли мышей основной группы. В исследовании Paterson C.J. et al. [15] найден надежный и неинвазивный метод оценки аллогенных эффектов брадикинина у людей. Авторы смогли разделить несколько различных эффектов брадикинина, включая эффекты агонистов B1- и B2-рецепторов. Учитывая литературные данные и настоящие результаты, увеличение расхода кининогена и количества KLK1 и KLK14 в процессе роста мышинной меланомы B16F10 на фоне хронической нейрогенной боли свидетельствует об увеличении количества свободных кининов как в опухоли, так и в коже, непосредственно не связанной с опухолью, с реализацией их биологических свойств. Tiphaine Delaunay et al. [10] установлены коррелятивные связи экспрессии калликреинов со степенью агрессивности меланомы человека, в частности, клеточной миграцией и глубиной инвазии.

Итак, очевидно, что перевивка меланомы B16F10 на фоне хронической нейрогенной боли вызывала в коже мышей основной группы усиленное образование брадикинина, о чем свидетельствует прогрессивный расход кининогена и KLK-1 в динамике роста меланомы, начиная со второй недели после перевивки опухоли. KLKs имеют различные паттерны экспрессии и физиологическую роль, связанную, в том числе, со злокачественными процессами, такими как регуляция роста клеток, ангиогенез, инвазия и метастазирование [10,16].

Показано, что калликреины и сами поддерживают ангиогенез путем прямого или опосредованного разрушения внеклеточного матрикса [11]. Доказано также, что одновременно возникают перекрестные реакции между известными протеолитическими путями и калликреиновыми каскадами, с акцентом на активацию плазмينا и ее последствия, например, при раке простаты [28]. Ehrenfeld P. et al. [29] показано, что агонисты рецептора B1 действуют как функциональный стимул для секреции KLK-1, события, предшествующего производству кининов и клеточной инвазии. Авторами исследована возможность экспрессии истинных кининов тканевым KLK-1 из клеток рака молочной железы, в дополнение к стимуляции рецептора B1. В этом же исследовании показано, что стимулирование клеток рака молочной железы аналогом брадикинина вызывала высвобождение металлопротеиназ (ММП-2 и ММП-9) и увеличивала пролиферацию

клеток. В настоящем исследовании количество KLK-1 в неповрежденной коже возрастало к концу 1 недели после перевивки меланомы B16/F10 на фоне хронической боли с последующим его истощением и накоплением в опухоли с максимумом в конце 3 недели. Правоммерно предположение о том, что KLK-1 принимает непосредственное участие в росте меланомы и образовании ее сосудистой сети. Возможно также предположение о том, что опухоль меланомы может «использовать» эндогенные KLK для своего роста, ангиогенеза и прогрессии.

Это предположение подкрепляется динамикой KLK-14 (специфичного для кожи): в неповрежденной коже мышей основной группы его количество устойчиво растет, а в опухоли, увеличившись на 1 неделе, стабилизируется. Еще С.А. Borgoño et al. [13] показано, что KLK14 является прямым участником нескольких направлений прогрессирования опухоли, включая рост, инвазию и ангиогенез. В обзоре Pavlopoulou A. et al. [11] подчеркивается роль калликреинов в развитии различных видов рака: калликреины «вовлечены в разные стадии развития рака и его прогрессии и, как показали испытания PSA (простатический специфический антиген — KLK-3, *прим. автора*), проявились как важные опухолевые маркеры». Увеличение активности KLK-14 приводит к усилению протеолиза белковых субстратов кожи и непосредственной активации ММП-9, которая разрушает коллаген IV типа и другие компоненты базальной мембраны [30]. Белковые субстраты, которые образуют поверхностный слой кожи, развиваются совместно с их специфическими ферментами (KLK), поскольку последние играют важную роль в обновлении эпидермиса [11].

В обзоре Kontos C.K. et al. [14] изложен современный взгляд на состояние KLKs, как опухолевых маркеров. Авторами подчеркивается, что экспрессия различных KLKs прямо связана с клинико-патологическими параметрами онкологических больных. Несколько KLKs выполняют значительную прогностическую роль, благоприятную или неблагоприятную, при различных злокачественных опухолях, начиная с PSA, который теперь наиболее широко используется, как биомаркер, в клинической практике. Остальные члены семейства KLKs также считаются очень перспективными биомаркерами для индивидуализации терапии рака, особенно для мониторинга и прогнозирования реакции пациента на химиотерапию.

В обзоре Avgeris M., Scorilas A. [17] обобщена роль KLKs в физиологии и патологии человека, особое внимание уделялось раку простаты и кожным заболеваниям. Авторами обсуждались последние достижения в развитии терапии на основе регуляции KLKs. Подчеркивается, что большое количество разнообразных высокоэффективных ингибиторов-регуляторов KLKs, аналогичных эндогенным или с небольшими отличиями, уже синтезировано. Обнадеживающие результаты были задокументированы при использовании вакцин и иммунотерапии на основе KLKs, а также активации зимогенов лекарственных средств, опосредованной KLK. Критическая роль семейства KLKs во многих патологиях человека подчеркивает важность KLK как привлекательных молекулярных мишеней для разработки новых терапевтических средств и схем лечения.

В обзоре Kryza T. et al. [12] всесторонне рассмотрены биохимические особенности тканевых калликреинов, их функциональная роль в канцерогенезе, а также последние разработки и успешность терапии, «управляющей» калликреинами в противодействии прогрессированию рака. Потенциал семейства KLKs как биомаркеров рака теперь хорошо известен, после демонстрации ассоциации между уровнями KLK3 (PSA) и прогрессией рака предстательной железы.

В настоящем исследовании одновременный рост прекалликреина и кининогена в коже при моделировании нейрогенной боли указывает на радикальную перестройку метаболизма ККС всего пораженного органа в процессе формирования болевого синдрома. Далее, в динамике роста меланомы B16F10 на болевом фоне, в коже количество прекалликреина оставалось высоким с достоверным увеличением к концу наблюдения. В опухоли, начиная с 1 недели, содержание прекалликреина было снижено с достоверным повышением, не достигающим нормы, в последующие сроки наблюдения.

Таким образом, представленные данные доказывают угнетающее влияние хронической нейрогенной боли на процессы адаптации и защиты организма, в котором развивается злокачественная опухоль. Полученные результаты, касающиеся содержания в коже и опухоли исследованных компонентов ККС при росте меланомы B16F10 на фоне нейрогенной боли, могут иметь значение для клиницистов при выяснении молекулярного механизма развития меланомы и ее лечения, а также других онкологических заболеваний, при которых активность KLK повышена. Постоянно растущее число исследований *in vitro* и *in vivo* демонстрирует непосредственное участие KLK в процессах, связанных с раком. Эти соединения теперь счита-

ются ключевыми в регуляции роста раковых клеток, их миграции, инвазии, химиорезистентности и, что важно, в посредничестве между раковыми клетками и другими клеточными популяциями микроокружения опухоли для облегчения прогрессирования рака. Функциональная роль KLK в развитии рака подчеркивает их потенциал в разработке новых противораковых подходов.

Результаты проведенного исследования должны считаться предварительными, так как необходимо дальнейшее изучение не только специфичных калликреинов, но и кининогенов, и рецепторов брадикинина B1 и B2, а также эндогенных ингибиторов протеолиза и других смежных систем в росте и метастазировании меланомы B16F10 на фоне нейрогенной боли. Понимание роли ККС в генезе этой опухоли может быть полезно для клиницистов, так как должно привести к новым терапевтическим подходам и персонализации лечения.

Выводы

1. Хроническая нейрогенная боль вызывает радикальную перестройку метаболизма ККС в коже интактных мышей, а именно увеличение содержания кининогена, прекалликреина и снижение количества KLK-1.
2. Перевивка меланомы B16F10 на фоне хронической нейрогенной боли сохраняет рост прекалликреина в коже, но увеличивает его расход в ткани опухоли одновременно с активацией KLK-1 (в коже вплоть до истощения) и KLK-14.

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kuner R. Central mechanisms of pathological pain. // *Nat Med*. – 2010. – V.16(11). – P. 1258-1266. doi: 10.1038/nm.2231
2. Schweinhardt P, Bushnell M.C. Pain imaging in health and disease—how far have we come? // *J Clin Invest*. – 2010. – V.120(11). – P.3788-97. doi: 10.1172/JCI43498.
3. Falsetta M.L., Foster D.C., Woeller C.F., Pollock S.J., Bonham A.D., Haidaris C.G., Phipps R.P. A Role for Bradykinin Signaling in Chronic Vulvar Pain. // *J Pain*. – 2016. – V.17(11). – P.1183-1197. doi: 10.1016/j.jpain.2016.07.007
4. Maria A.G., Dillenburg-Pilla P, Reis R.I., Floriano E.M., Tefé-Silva C., Ramos S.G., Pesquero J.B., Nahmias C., Costa-Neto C.M. Host kinin B1 receptor plays a protective role against melanoma progression. // *Sci Rep*. – 2016. – V.6. – P.22078. doi: 10.1038/srep22078
5. Luiz A.P., Schroeder S.D., Rae G.A., Calixto J.B., Chichorro J.G. The contribution and interaction of kinin receptors and dinorphin A in the model of neuropathic pain of the trigeminal nerve in mice. // *Neuroscience*. – 2015. – V.300. – P. 189-200. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.05.015
6. Takeda M., Takehana S., Sekiguchi K., Kubota Y., Shimazu Y. Modulatory Mechanism of Nociceptive Neuronal Activity by Dietary Constituent Resveratrol. // *Int J Mol Sci*. – 2016. – V.17(10). – P.pii: E1702. doi: 10.3390/ijms17101702
7. Schmidt Bryan L., Hamamoto Darry T., Simone D., Wilcox George L. Mechanism of pain in cancer. // *Mol Interv*. – 2010. – V.10 (3). – P.164-178. doi: 10.1124/mi.10.3.7

REFERENCES

1. Kuner R. Central mechanisms of pathological pain. *Nat Med*. 2010;16(11):1258-1266. doi: 10.1038/nm.2231
2. Schweinhardt P, Bushnell MC. Pain imaging in health and disease—how far have we come? *J Clin Invest*. 2010;120(11):3788-97. doi: 10.1172/JCI43498
3. Falsetta ML, Foster DC, Woeller CF, Pollock SJ, Bonham AD, et al. A Role for Bradykinin Signaling in Chronic Vulvar Pain. *J Pain*. 2016;17(11):1183-1197. doi: 10.1016/j.jpain.2016.07.007
4. Maria AG, Dillenburg-Pilla P, Reis RI, Floriano EM, Tefé-Silva C, et al. Host kinin B1 receptor plays a protective role against melanoma progression. *Sci Rep*. 2016;6:22078. doi: 10.1038/srep22078
5. Luiz AP, Schroeder SD, Rae GA, Calixto JB, Chichorro JG. The contribution and interaction of kinin receptors and dinorphin A in the model of neuropathic pain of the trigeminal nerve in mice. *Neuroscience*. 2015;300:189-200. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.05.015
6. Takeda M, Takehana S, Sekiguchi K, Kubota Y, Shimazu Y. Modulatory Mechanism of Nociceptive Neuronal Activity by Dietary Constituent Resveratrol. *Int J Mol Sci*. 2016;17(10):pii:E1702. doi: 10.3390/ijms17101702
7. Schmidt Bryan L, Hamamoto Darry T, Simone D, Wilcox George L. Mechanism of pain in cancer. *Mol Interv*. 2010;10(3):164-178. doi: 10.1124/mi.10.3.7
8. Yang F, Xu Q, Shu B, Tiwari V, He SQ, et al. Activation of cannabinoid CB1 receptor contributes to suppression of spinal

8. Yang F, Xu Q, Shu B, Tiwari V, He S.Q., Vera-Portocarrero L.P., et al. Activation of cannabinoid CB1 receptor contributes to suppression of spinal nociceptive transmission and inhibition of mechanical hypersensitivity by A β -fiber stimulation. // *Pain*. – 2016. – V.157(11). – P. 2582-2593. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000000680
9. Basso L, Altier C. Transient Receptor Potential Channels in neuropathic pain. // *Curr Opin Pharmacol*. – 2017. – V.32. – P.9-15. doi: 10.1016/j.coph.2016.10.002
10. Delaunay T, Deschamps L, Haddada M, Walker F, Soosaipillai A., et al. Aberrant expression of kallikrein-related peptidase 7 is correlated with human melanoma aggressiveness by stimulating cell migration and invasion. // *Mol Oncol*. – 2017. – V.11(10). – P.1330-1347. doi: 10.1002/1878-0261.12103
11. Pavlopoulou A., Pampalakis G., Michalopoulos I., Sotiropoulou G. Evolutionary History of Tissue Kallikreins. // *PLoS One*. – 2010. – V.1(5). – P.e13781. doi: 10.1371/journal.pone.0013781
12. Kryza T., Silva M.L., Loessner D., Heuzé-Vourc'h N., Clements J.A. The kallikrein-related peptidase family: Dysregulation and functions during cancer progression. // *Biochimie*. – 2016. – V.122. – P. 283-99. doi: 10.1016/j.biochi.2015.09.002
13. Borgoño C.A., Michael I.P., Komatsu N., Jayakumar A., Kapadia R., et al. A potential role for multiple tissue kallikrein serine proteases in epidermal desquamation. // *J Biol Chem*. – 2007. – V.282. – P.3640-52.
14. Kontos C.K., Scorilas A. Kallikrein-related peptidases (KLKs): a gene family of novel cancer biomarkers. // *Clin Chem Lab Med*. – 2012. – V.50(11). – P. 1877-91. Doi: 10.1515/cclm-2012-0247
15. Paterson C.J., Zambreau L., Bennett D., McMahon S.B. Characteristics and mechanisms of pain caused by bradykinin, in humans using iontophoresis. // *Pain*. – 2013. – V.154(6). – P. 782-792. doi: 10.1016/j.pain.2013.01.003
16. Koumandou V.L., Scorilas A. Evolution of the plasma and tissue kallikreins, and their alternative splicing isoforms. // *PLoS One*. – 2013. – V.8(7). – P.e68074. doi: 10.1371/journal.pone.0068074
17. Avgeris M., Scorilas A. Kallikrein-related peptidases (KLKs) as emerging therapeutic targets: focus on prostate cancer and skin pathologies. // *Expert Opin Ther Targets*. – 2016. – V.20(7). – P.801-18. doi: 10.1517/14728222.2016.1147560
18. Ferreira J., Campos M.M., Peshero J.B., Araujo R.K., Bader M., Calixto J. Evidence of the participation of kinins in Freund-induced adjuvant inflammatory and nociceptive responses in mouse knockout mice of B1 and B2 kin. // *Neuropharmacology*. – 2001. – V. 41(8). – P. 1006-12.
19. Werner M.F., Kassuya C.A., Ferreira J., Zampronio A.R., Calixto J.B., Rae G.A. Mechanisms controlled by peripheral kinin receptors B (1) and B (2) are involved in neuropathic nociception caused by ligation of the spinal nerve in rats. // *Neuropharmacology*. – 2007. – V.53(1). – P.48-57. doi: 10.1016/j.neuropharm.2007.04.013
20. Dillenburg-Pilla P, Maria A.G., Reis R.I., Floriano E.M., Pereira C., et al. Kinin B1 receptor activation enhances melanoma tumor growth and metastasis. // *PLoS One*. – 2013. – V. 8(5). – P.e64453. doi: 10.1371/journal.pone.0064453
21. Dingemane K.P. B-16 Melanoma Metastasis in Mouse Liver and Lung. // *Inv. Metast*. – 1985. – V.(5). – P.50-60.
22. Huang X., Player M.P. B1 Bradykinin receptor antagonists as potential therapeutic agents for pain. // *J Med Chem*. – 2010. – V.53. – P.5383-5389.
23. Costa R., Motta E.M., Dutra R.C., Magnavaci M.N., Bento A. F., et al. Antinociceptive action of kinase receptor antagonists B 1 and B 2 on peripheral neuropathy induced by paclitaxel in mice. // *Br J Pharmacol*. – 2011. – V.164 (2b). – P.681-693. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01408.x
24. Tang S.C., Leung J.C., Lai K.N. The kallikrein-kinin system. // *Contribution of Nephrole*. – 2011. – V.170. – P.145-55. doi: 10.1159/000325650
25. nociceptive transmission and inhibition of mechanical hypersensitivity by A β -fiber stimulation. *Pain*. 2016;157(11):2582-2593. doi: 10.1097/j.pain.0000000000000680
9. Basso L, Altier C. Transient Receptor Potential Channels in neuropathic pain. *Curr Opin Pharmacol*. 2017;32:9-15. doi: 10.1016/j.coph.2016.10.002
10. Delaunay T, Deschamps L, Haddada M, Walker F, Soosaipillai A, et al. Aberrant expression of kallikrein-related peptidase 7 is correlated with human melanoma aggressiveness by stimulating cell migration and invasion. *Mol Oncol*. 2017;11(10):1330-1347. doi: 10.1002/1878-0261.12103
11. Pavlopoulou A, Pampalakis G, Michalopoulos I, Sotiropoulou G. Evolutionary History of Tissue Kallikreins. *PLoS One*. 2010;5(11):e13781. doi: 10.1371/journal.pone.0013781
12. Kryza T, Silva ML, Loessner D, Heuzé-Vourc'h N, Clements JA. The kallikrein-related peptidase family: Dysregulation and functions during cancer progression. *Biochimie*. 2016;122:283-99. doi: 10.1016/j.biochi.2015.09.002
13. Borgoño CA, Michael IP, Komatsu N, Jayakumar A, Kapadia R, et al. A potential role for multiple tissue kallikrein serine proteases in epidermal desquamation. *J Biol Chem*. 2007;282:3640-52.
14. Kontos CK, Scorilas A. Kallikrein-related peptidases (KLKs): a gene family of novel cancer biomarkers. *Clin Chem Lab Med*. 2012;50(11):1877-91. Doi: 10.1515/cclm-2012-0247
15. Paterson CJ, Zambreau L, Bennett D, McMahon SB. Characteristics and mechanisms of pain caused by bradykinin, in humans using iontophoresis. *Pain*. 2013;154(6):782-792. doi: 10.1016/j.pain.2013.01.003
16. Koumandou VL, Scorilas A. Evolution of the plasma and tissue kallikreins, and their alternative splicing isoforms. *PLoS One*. 2013;8(7):e68074
17. Avgeris M, Scorilas A. Kallikrein-related peptidases (KLKs) as emerging therapeutic targets: focus on prostate cancer and skin pathologies. *Expert Opin Ther Targets*. 2016;20(7):801-18. doi: 10.1517/14728222.2016.1147560
18. Ferreira J, Campos MM, Peshero JB, Araujo RK, Bader M, Calixto J. Evidence of the participation of kinins in Freund-induced adjuvant inflammatory and nociceptive responses in mouse knockout mice of B1 and B2 kin. *Neuropharmacology*. 2001;41(8):1006-12.
19. Werner MF, Kassuya CA, Ferreira J, Zampronio AR, Calixto JB, Rae GA. Mechanisms controlled by peripheral kinin receptors B (1) and B (2) are involved in neuropathic nociception caused by ligation of the spinal nerve in rats. *Neuropharmacology*. 2007;53(1):48-57. doi: 10.1016/j.neuropharm.2007.04.013
20. Dillenburg-Pilla P, Maria AG, Reis RI, Floriano EM, Pereira C, et al. Kinin B1 receptor activation enhances melanoma tumor growth and metastasis. *PLoS One*. 2013;8(5):e64453. doi: 10.1371/journal.pone.0064453
21. Dingemane KP. B-16 Melanoma Metastasis in Mouse Liver and Lung. *Inv. Metast*. 1985;(5):50-60.
22. Huang X, Player MP. B1 Bradykinin receptor antagonists as potential therapeutic agents for pain. *J Med Chem*. 2010;53:5383-5389.
23. Costa R, Motta EM, Dutra RC, Magnavaci MN, Bento AF, et al. Antinociceptive action of kinase receptor antagonists B 1 and B 2 on peripheral neuropathy induced by paclitaxel in mice. *Br J Pharmacol*. 2011;164(2b):681-693. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01408.x
24. Tang SC, Leung JC, Lai KN. The kallikrein-kinin system. *Contribution of Nephrole*. 2011;170:145-55. doi: 10.1159/000325650
25. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*. 2001;(17):539-545. doi: 10.1016/S0140-6736(00)04046-0

25. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? // *Lancet*. – 2001. – V.(17). – P.539-545 doi: 10.1016/S0140-6736(00)04046-0
26. Hanahan D., Weinberg R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. // *Cell*. – 2011. – V.144. – P.646-674. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013
27. Lizama A.J., Andrade Y., Colivoro P, Sarmiento J, Matus C.E., et al. Expression and bioregulation of the kallikrein-related peptidases family in the human neutrophil. // *Innate Immun.* – 2015. – V.21(6). – P.575-86. doi: 10.1177/1753425914566083
28. Pampalakis G., Sotiropoulou G. Tissue kallikrein proteolytic cascade pathways in normal physiology and cancer. // *Biochim Biophys Acta*. – 2007. – V.1776(1). – P.22-31. doi: 10.1016/j.bbcan.2007.06.001
29. Ehrenfeld P, Manso L., Pavicic M.F, Matus C.E., Borquez C., et al. Bioregulation of kallikrein-related peptidases 6, 10 and 11 by the kinin B₁ receptor in breast cancer cells. // *Anticancer Res.* – 2014. – V.34(12). – P. 6925-38.
30. Menashi S., Fridman R., Desrivieres S., Lu H., Legrand Y., Soria C. Regulation of 92-kDa gelatinase B activity in the extracellular matrix by tissue kallikrein. // *Ann N Y Acad Sci.* – 1994. – V.732(6). – P. 466-8.
26. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144:646-674. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013
27. Lizama AJ, Andrade Y, Colivoro P, Sarmiento J, Matus CE, et al. Expression and bioregulation of the kallikrein-related peptidases family in the human neutrophil. *Innate Immun.* 2015;21(6):575-86. doi: 10.1177/1753425914566083
28. Pampalakis G, Sotiropoulou G. Tissue kallikrein proteolytic cascade pathways in normal physiology and cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2007;1776(1):22-31. doi: 10.1016/j.bbcan.2007.06.001
29. Ehrenfeld P, Manso L, Pavicic MF, Matus CE, Borquez C, et al. Bioregulation of kallikrein-related peptidases 6, 10 and 11 by the kinin B₁ receptor in breast cancer cells. *Anticancer Res.* 2014;34(12):6925-38.
30. Menashi S, Fridman R, Desrivieres S, Lu H, Legrand Y, Soria C. Regulation of 92-kDa gelatinase B activity in the extracellular matrix by tissue kallikrein. *Ann N Y Acad Sci.* 1994;732(6):466-8

Информация об авторах

Кит Олег Иванович, член-корр. РАН, д.м.н., профессор, генеральный директор, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: 0000-0003-3061-6108. E-mail: onko-sekretar@mail.ru.

Котиева Инга Мовлиевна, к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии, Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: 0000-0002-3972-2452.

Франциянц Елена Михайловна, д.б.н., профессор, заместитель генерального директора по науке, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: 0000-0003-3618-6890. E-mail: super.gormon@yandex.ru.

Каплиева Ирина Викторовна, к.м.н., старший научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: 0000-0002-3972-2452

Козлова Лариса Степановна, к.б.н., доцент, старший научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: 0000-0002-3907-0976.

Бандовкина Валерия Ахтямовна, к.б.н., старший научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: 0000-0002-2302-8271.

Погорелова Юлия Александровна, к.б.н., старший научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: 0000-0002-2674-9832

Черярина Наталья Дмитриевна, врач лаборант, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: 0000-0002-3711-8155

Бликян Марина Владимировна, к.м.н., ассистент кафедры патологической физиологии, Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия.

Information about the authors

Oleg I. Kit, corresponding member. RAS, Doctor of Medicine, Professor, General Director, Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0003-3061-6108. E-mail: onko-sekretar@mail.ru

Inga M. Kotieva, PhD, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0002-3972-2452.

Elena M. Frantsiyants, Doctor of Biological Sciences, Professor, Deputy Director General for Science, Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0003-3618-6890. E-mail: super.gormon@yandex.ru.

Irina V. Kaplieva, PhD, Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0002-3972-2452

Larisa S. Kozlova, PhD, Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0002-3972-2452

Valeria A. Bandovkina, PhD, Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0002-2302-8271.

Yulia A. Pogorelova, PhD, Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0002-2674-9832

Natalya D. Cheryarina, Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0002-3711-8155

Marina V. Blikyan, PhD, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia.

Получено / Received: 31.01.2018

Принято к печати / Accepted: 07.02.2018