

Звенья фибринолитической системы у мышей с нокаутом по гену урокиназы на фоне роста меланомы B16/F10

Е. М. Франциянц¹, В. А. Бандовкина¹✉, Е. И. Сурикова¹, И. В. Каплиева¹, Ю. А. Погорелова¹,
И. В. Нескубина¹, Л. К. Трепитаки¹, Н. Д. Черярина¹, Н. Д. Ушакова¹, О. Г. Ишониная^{1,2},
М. А. Гусарева¹, И. А. Удаленкова¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ valerryana@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучение влияния нокаута по гену урокиназы у мышей обоего пола с перевитой меланомой B16/F10 на функционирование звеньев фибринолитической системы.

Материалы и методы. Были использованы мыши обоего пола: основная группа генмодифицированная линия C57BL/6-Plautm1.1Bug – ThisPlauGFDhu/GFDhu (uPA^{-/-}); группа контроля – линия C57Bl/6 (uPA^{+/+}). Животным по стандартной методике перевивали меланому B16/F10 и через 3 недели роста в 10 % гомогенатах опухоли и ее перифокальной зоне ИФА методом определяли уровень: плазминогена (ПГ), плазмина (РАР), рецептора урокиназы uPAR, содержание (АГ) и активность (акт) uPA, t-PA и PAI-I (Cussabio, Китай).

Результаты. У интактных животных uPA^{-/-} в коже оказалась существенно подавлена, по сравнению с uPA^{+/+} активность и содержание урокиназы (в 100–860 раз), однако у самок не изменился уровень uPAR, тогда как у самцов снизился в 1,9 раза. Уровень плазмина у uPA^{-/-} мышей был выше в 2,1–4,2 раза, по сравнению с uPA^{+/+} животными. Рост меланомы B16/F10 у uPA^{-/-} мышей был замедлен, тормозилось метастазирование, однако не увеличивалась продолжительность жизни. Динамика изменений компонентов фибринолитической системы при росте меланомы у uPA^{-/-} мышей отличалась от uPA^{+/+}: в образцах опухоли снижались уровень РАР более чем в 2 раза, не повышался уровень и активность uPA, практически не реагировала PAI, однако, как и у uPA^{+/+} возрастала активность t-PA в 3,8–8,2 раза.

Заключение. Несмотря на подавление роста первичного узла опухоли и процессов метастазирования у мышей uPA^{-/-}, средняя продолжительность жизни не увеличивалась, что свидетельствует о сложных механизмах опухолевой болезни и наличии альтернативных биологических путей, позволяющих меланоме прогрессировать в условиях нокаута гена урокиназы.

Ключевые слова: нокаут по гену урокиназы, мыши, меланома B16/F10, фибринолитическая система

Для цитирования: Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Сурикова Е. И., Каплиева И. В., Погорелова Ю. А., Нескубина И. В., Трепитаки Л. К., Черярина Н. Д., Ушакова Н. Д., Ишониная О. Г., Гусарева М. А., Удаленкова И. А. Звенья фибринолитической системы у мышей с нокаутом по гену урокиназы на фоне роста меланомы B16/F10. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(2):14-24. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-2-2>, <https://elibrary.ru/incomr>

Для корреспонденции: Бандовкина Валерия Ахтямовна – д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14 линия, д. 63
E-mail: valerryana@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2302-8271>
SPIN: 8806-2641, AuthorID: 696989
ResearcherID: AAG-8708-2019
Scopus Author ID: 57194276288

Соблюдение этических стандартов: 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 19.06.2003 г. № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики». Комиссией по биоэтике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации от 24.12.2019 г., был одобрен протокол исследования (протокол этического комитета № 15/75) по работе с мышами линии Balb/c Nude

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Статья поступила в редакцию 13.10.2023; одобрена после рецензирования 01.04.2024; принята к публикации 09.05.2024

© Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Сурикова Е. И., Каплиева И. В., Погорелова Ю. А., Нескубина И. В., Трепитаки Л. К., Черярина Н. Д., Ушакова Н. Д., Ишониная О. Г., Гусарева М. А., Удаленкова И. А., 2024

Units of fibrinolytic system in mice with urokinase gene knockout in presence of growing B16/F10 melanoma

E. M. Frantsiyants¹, V. A. Bandovkina¹✉, E. I. Surikova¹, I. V. Kaplieva¹, Yu. A. Pogorelova¹, I. V. Nes Kubina¹, L. K. Trepitaki¹, N. D. Cheryarina¹, N. D. Ushakova¹, O. G. Ishonina^{1,2}, M. A. Gusareva¹, I. A. Udalenkova¹

¹ National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

² Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ valerryana@yandex.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. Was to reveal the effect of urokinase gene knockout in male and female mice with transplanted B16/F10 melanoma on the functions of the fibrinolytic system units.

Materials and methods. Male and female mice were used: main group with genetically modified mice C57BL/6-Plautm1.1Bug – ThisPlauGFDhu/GFDhu (uPA^{-/-}); control group with C57Bl/6 (uPA^{+/+}) mice. B16/F10 melanoma was transplanted by the standard methods to the animals, and levels of plasminogen (PG), plasmin (PAP), urokinase receptor uPAR, content (AG) and activity (act) of uPA, t-PA and PAI-I were measured with ELISA (Cussabio, China) in 10 % tumor homogenates and peritumoral area after 3 weeks of tumor growth.

Results. The activity and levels of urokinase in intact uPA^{-/-} animals were significantly (by 100–860 times) inhibited, compared to uPA^{+/+}, but uPAR levels were unchanged in females and were 1.9 times lower in males. PAP levels in uPA^{-/-} mice were 2.1–4.2 times higher than in uPA^{+/+} animals. The growth of B16/F10 melanoma in uPA^{-/-} mice was slower and metastasizing was suppressed, but their survival was not improved. The dynamics of changes in components of the fibrinolytic system in presence of melanoma growth differed in uPA^{-/-} mice, compared to uPA^{+/+} animals: PAP levels in tumor samples decreased by over 2 times, uPA levels and activity were not increased, PAI was practically unchanged, but activity of t-PA elevated by 3.8–8.2 times, as well as in uPA^{+/+} mice.

Conclusion. Despite the suppression of the growth and metastasis of the primary tumor nodes in uPA^{-/-} mice, their average survival was not improved, which indicates that the mechanisms of tumor are complex and there are alternative biological pathways supporting melanoma to survive in conditions of the urokinase gene knockout.

Keywords: urokinase gene knockout, mice, melanoma B16/F10, fibrinolytic system

For citation: Frantsiyants E. M., Bandovkina V. A., Surikova E. I., Kaplieva I. V., Pogorelova Yu. A., Nes Kubina I. V., Trepitaki L. K., Cheryarina N. D., Ushakova N. D., Ishonina O. G., Gusareva M. A., Udalenkova I. A. Units of fibrinolytic system in mice with urokinase gene knockout in presence of growing B16/F10 melanoma. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(2):14-24. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-2-2>, <https://elibrary.ru/incomr>

For correspondence: Valeriya A. Bandovkina – Dr. Sci. (Biol.), senior researcher at the laboratory for the study of 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: valerryana@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2302-8271>

SPIN: 8806-2641, AuthorID: 696989

ResearcherID: AAG-8708-2019

Scopus Author ID: 57194276288

Compliance with ethical standards: the work with animals was carried out in compliance with the rules of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (Directive 86/609/EEC) and the Helsinki Declaration, as well as in compliance with the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals, and Order No. 267 of the Ministry of Health of the Russian Federation dated 06/19/2003 "On approval of the rules for laboratory practice". The Bioethics Commission of the National Medical Research Center of Oncology dated 12/24/2019, approved the research protocol (Protocol of the Ethical Committee No. 15/75) on working with Balb/c Nude mice

Funding: this work was not funded

Conflict of interest: the authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article

The article was submitted 13.10.2023; approved after reviewing 01.04.2024; accepted for publication 09.05.2024

ВВЕДЕНИЕ

Фибринолитическая система считается одним из ведущих механизмов канцерогенеза, за счет разрушения клеточных мембран, пролиферации, миграции и инвазии клеток [1].

Активаторы плазминогена урокиназного типа (uPA) и тканевого типа (t-PA) представляют собой сериновые протеазы, которые превращают плазминоген в плазмин после связывания с рецептором uPA (uPAR) [2]. uPA обнаруживают на поверхности опухолевых клеток, а его сверхэкспрессия на конечной стадии трансформации злокачественных клеток, способствует процессам метастазирования [3]. Активация фибринолитической системы и образование плазмина стимулирует металлопротеиназы, ангиогенные факторы роста, что разрушает физический барьер на пути миграции опухолевых клеток и стимулирует рост опухоли [4].

Ряд исследователей считают, что понимание молекулярных механизмов биологического действия системы плазмин/плазминоген и ингибирования ангиогенеза посредством блокирования сериновых протеаз может позволить улучшить терапевтические стратегии для регуляции роста злокачественных опухолей и нарушений, связанных с неоваскуляризацией [5, 6].

Ранее было показано, что у мышей линии C57Bl/6 с диким типом генов в динамике роста перевивной меланомы B16/F10 происходят изменения звеньев фибринолитической системы кожи, характеризующиеся повышенной активностью всех компонентов системы активации плазминогена, приводящей к повышенному содержанию в ней плазмина, а коморбидное заболевание – хроническая нейрогенная боль – оказывает модифицирующее влияние на исследованные показатели [7–9].

Экспериментальные модели опухолей дают возможность выяснить причины, изучить патогенез опухолевого процесса, разработать методы его профилактики и лечения, при этом обоснованным является использование различных линий животных, в том числе с генетически детерминированными характеристиками [10]. Модели генно-инженерных мышей успешно используются на протяжении десятилетий при моделировании опухолевого процесса [11]. Существуют определенные типы трансгенных мышей, используемые в исследованиях злокачественного процесса, у которых онкогены могут быть конститутивно или условно

экспрессированы. В таких животных моделях гены-супрессоры опухолей могут быть подавлены с использованием традиционных методов, таких как ретровирусная инфекция, микроинъекция ДНК-конструкций и так называемый «направленный на гены» трансгенный подход. На сегодняшний день трансгенные модели стали традиционными и успешно применяются в исследованиях канцерогенеза [12].

Для нас наибольший интерес представляли мыши с нокаутом гена uPA, полученные с помощью молекулярно-генетического метода, в ходе которого изменения вносятся в нуклеотидную последовательность гена uPA, в результате чего урокиназа не связывается рецептором активатора плазминогена урокиназного типа (uPAR). Данные животные-мутанты могут использоваться в изучении процессов воспаления, онкогенеза, механизмов фибринолиза в опухоли и окружающих тканях.

Цель исследования: изучение влияния нокаута по гену урокиназы у мышей обоего пола с перевивной меланомой B16/F10 на функционирование звеньев фибринолитической системы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании были использованы генмодифицированные самки и самцы мышей линии C57BL/6-Plautm1.1Bug – ThisPlauGFDhu/GFDhu (uPA^{-/-}) с начальной массой самок 24–26 г, самцов – 31–33 г, полученные из питомника лабораторных животных «Пушино» Филиала Института биорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова (Пушино, Московская область). Животные с нокаутом по гену урокиназы (uPA^{-/-}) могут использоваться в исследованиях хронического воспаления ткани, механизмов фибринолиза, онкогенеза и роста сосудов в опухоли и окружающей ее ткани. В качестве контроля использовали мышей обоего пола линии C57BL/6 (uPA^{+/+}) с начальной массой 21–23 г полученных из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий «Андреевка» ФМБА» (Московская область). Животных содержали при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Исследование было проведено в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики».

Исследование выполнено на 64 самцах и 64 самках мышей. Животные были разделены на группы по 10 особей в каждой: интактные самки и самцы линии C57BL/6 (uPA+/+); интактные самки и самцы линии C57BL/6-Plautm1.1Bug – ThisPlauGFDhu/GFDhu (uPA-/-); контрольная группа самки и самцы линии C57BL/6 (uPA+/+) через 3 недели после перевивки меланомы B16/F10; основная группа самки и самцы линии C57BL/6-Plautm1.1Bug – ThisPlauGFDhu/GFDhu (uPA-/-) через 3 недели после перевивки меланомы B16/F10. Срок исследования – через 3 недели после перевивки меланомы B16/F10 – был выбран, так как это был этап массовой гибели для самцов мышей и начало гибели самок, кроме того через 3 недели были отмечены максимальные отличия в средних объемах опухоли у животных uPA-/- и uPA+/+ линий. Отдельно были выделены группы uPA-/- (по 12 особей каждого пола) и uPA+/+ (по 25 особей каждого пола) животных для исследования средней продолжительности жизни.

В работе использовали клеточную линию мышечной, метастазирующей в легкие меланомы B16/F10, полученную из РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (г. Москва). Меланома B16/F10 перевивалась путем подкожного введения 0,5 мл взвеси опухолевой ткани в физиологическом растворе (1:10) в правую заднюю лапу мыши по стандартной методике [13]. При стандартной перевивке опухоль появляется в 100 % случаев, достаточно быстро растет и на 12–16 сутки роста метастазирует преимущественно гематогенно в легкие (60–90 %), реже – в печень и селезенку [14]. Для проведения эксперимента использовали второй пассаж перевивки меланомы B16/F10 мышам линии C57BL/6.

Рост опухоли оценивали путем ежедневного измерения диаметров ее в трех взаимно перпендикулярных областях, с последующим расчетом объема опухоли как произведение трех ее замеров.

Интактных животных, а также мышей контрольных и основных групп через 3 недели после перевивки меланомы декапитировали, на холоде выделяли: опухоль, перифокальную зону, кожу. Образцы механически гомогенизировали, из тканей получали 10 % гомогенаты, приготовленные на 0,1М калий-фосфатном буфере pH 7.4, содержащем 0,1 % Твин-20 и 1 % БСА В гомогенатах тканей иммуноферментными методами определяли уровень: плазминогена (РГ), плазмина (РАР), рецептора урокиназы uPAR, содержание (АГ) и активность (акт) uPA, t-PA и PAI-I (Cussabio, Китай).

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи программы Statistica 10.0. Для всех количественных данных вычисляли групповое среднее арифметическое (M) и стандартную ошибку (m). Все полученные результаты были проверены на соответствие закону о нормальном распределении (критерий Шапиро-Уилка (для малых выборок)). При соответствии выборки нормальному распределению использовали параметрическую статистику (критерий Стьюдента), при несоответствии – использовали непараметрическую статистику (критерии Вилкоксона-Манна-Уитни). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установлено, что процесс канцерогенеза у генемодифицированных самок мышей (uPA-/-) по сравнению с контролем (uPA+/+) имел особенности, заключающиеся в сокращении доклинического периода развития меланомы и снижении средних объемов опухолевых узлов на всех этапах наблюдения (с 1 по 4 нед.). У самок опытной группы диагностировали единичные метастазы в легких, тогда как в контроле наблюдалось метастатическое поражение легких и печени. У самцов опухоли характеризовались достаточно активным, «скачкообразным» ростом, а их средний объем на 4 неделе после перевивки не отличался от таковых значений у мышей с нормальным геномом. У самцов uPA-/- на всех этапах роста перевивной меланомы B16/F10 видимые метастазы во внутренние органы не выявлены, однако обнаружены кровоизлияния в легкие. Средняя продолжительность жизни у мышей uPA-/- и uPA+/+ не имела значимых отличий и составила у самок $34,67 \pm 0,67$ против $30,25 \pm 1,67$, а у самцов $23,33 \pm 3,18$ против $22,1 \pm 0,82$ соответственно [15].

Исходя из полученных ранее результатов различий в росте злокачественных опухолей у животных с нокаутом гена урокиназы и диким типом гена представляло интерес выяснить, какие отличия в содержании и активности основных звеньев фибринолитической системы кожи характерны для животных с нокаутом по гену урокиназы (табл. 1, 2).

По сравнению с животными контрольной группы в коже интактных мышей uPA -/- обоего пола регистрировались только следы uPA: отмечено снижение уровней содержания и активности uPA

в 100–860 раз (табл. 1, 2). У интактных самок uPA-/- привлекает внимание высокое содержание PAP, превосходящее в 4,2 раза тот же показатель у самок мышей uPA+/+ при сниженном в 1,3 раза ($p < 0,05$) содержании ПГ.

У интактных uPA-/- самцов в коже были повышены концентрации как PAP в 2,1 раза, так и в 1,8 раза ПГ по сравнению с показателями в коже интактных мышей uPA+/+ (табл. 2).

В условиях дефицита uPA при высоком содержании PAP ожидалось возрастание уровня второго активатора ПГ – tPA, однако содержание и активность его была снижена только у самцов uPA-/- в 4,3 раза и в 1,7 раза соответственно. У самок uPA-/- выявлено снижение относительно данных

у мышей uPA+/+ только активности tPA в 2,5 раза, несмотря на повышение его содержания в 1,7 раза.

Количество рецептора uPAR у uPA-/- мышей-самок было на том же уровне, что и у мышей uPA+/+, тогда как у самцов оказалось снижено в 1,9 раза. Значительные различия с нормой замечены и по PAI-I: у самок uPA-/- активность PAI-I и его содержание оказались ниже нормы в 15,0 и 3,0 раза соответственно, у самцов в 4,9 раза и в 9,8 раза соответственно.

Так как средние размеры опухоли у самок мышей uPA-/- через 3 недели эксперимента были меньше, чем у самок uPA+/+ [15], далее провели сравнительный анализ звеньев фибринолитической системы в образцах меланомы животных с нокаутом и мышей с диким типом генома.

Таблица 1. Содержание и активность компонентов фибринолитической системы в коже, опухоли и перифокальной зоне у самок мышей uPA -/- с меланомой B16/F10 через 3 недели после перевивки ($M \pm m$)

Показатели	Кожа интактных животных (норма)	Кожа через 3 недели роста меланомы	Опухоль через 3 недели после перевивки	Перифокальная зона через 3 недели после перевивки
Самки uPA -/-				
uPA-акт (ед/г тк)	0,010 ± 0,001 ³	0,009 ± 0,0009 ^{2,3}	0,025 ± 0,002 ³	0,01 ± 0,001 ³
uPA-АГ (нг/г тк)	0,220 ± 0,02 ³	0,24 ± 0,018 ^{2,3}	0,14 ± 0,011 ^{1,3}	0,73 ± 0,06 ^{1,2,3}
uPAR (пг/г тк)	58,20 ± 4,3	56,2 ± 4,7	66,2 ± 5,3 ³	59,5 ± 5,3 ³
PAP (нг/г тк)	45,0 ± 3,4 ³	18,75 ± 1,6 ¹	19,7 ± 1,4 ^{1,3}	24,4 ± 2,2 ^{1,3}
ПГ (нг/г тк)	7,70 ± 0,6 ³	10 ± 0,97 ^{1,3}	8 ± 0,77 ³	20 ± 1,7 ^{1,2,3}
tPA-акт (ед/гтк)	0,240 ± 0,02 ³	0,16 ± 0,014 ^{1,2,3}	1,95 ± 0,16 ¹	0,155 ± 0,014 ^{1,2,3}
tPA-АГ (нг/гтк)	0,670 ± 0,05 ³	0,34 ± 0,028 ^{1,2,3}	0,69 ± 0,05 ³	1,55 ± 0,13 ^{1,2,3}
PAI-I-акт (ед/гтк)	1,60 ± 0,1 ³	1,85 ± 0,15 ^{2,3}	3,05 ± 0,29 ^{1,3}	5,25 ± 4,4 ^{1,2,3}
PAI-I-АГ (нг/гтк)	3,30 ± 0,3 ³	2,2 ± 0,17 ^{1,3}	2,7 ± 0,24 ³	2,8 ± 0,22 ³
Самки uPA +/+				
uPA-акт (ед/г тк)	1,6 ± 0,12	2,5 ± 0,2 ¹	2,8 ± 0,19 ¹	2,6 ± 0,17 ¹
uPA-АГ (нг/г тк)	31,7 ± 2,1	187,5 ± 13 ^{1,2}	335,5 ± 23 ¹	186,5 ± 12,5 ^{1,2}
uPAR (пг/г тк)	56,06 ± 4,5	65,36 ± 5,6 ²	141,8 ± 11,7 ¹	112,0 ± 9,6 ¹
PAP (нг/г тк)	10,7 ± 0,7	19,9 ± 1,1 ^{1,2}	36,4 ± 1,5 ¹	18,9 ± 1,2 ^{1,3}
ПГ (нг/г тк)	10,25 ± 0,9	13,5 ± 1,1 ¹	16,7 ± 1,4 ¹	11,03 ± 0,9
tPA-акт (ед/гтк)	0,6 ± 0,04	0,7 ± 0,03 ²	2,2 ± 0,19 ¹	0,7 ± 0,06 ³
tPA-АГ (нг/гтк)	0,4 ± 0,02	2,0 ± 0,15 ^{1,2}	12,3 ± 0,9 ¹	2,5 ± 0,13 ^{1,3}
PAI-I-акт (ед/гтк)	24,0 ± 0,16	24,0 ± 1,4 ²	71,1 ± 4,2 ¹	81,0 ± 5,8 ¹
PAI-I-АГ (нг/гтк)	9,9 ± 0,4	24,5 ± 1,8 ^{1,2}	79,5 ± 6,3 ¹	71,6 ± 5,2 ¹

Примечание: ¹ – различия статистически значимы относительно нормы у животных; ² – по сравнению с опухолью; ³ – по сравнению с аналогичными образцами у uPA+/+ животных ($p < 0,05$)

В образцах опухоли у самок uPA-/- по сравнению с образцами опухоли самок uPA+/+ оказались существенно ниже показатели определяемых факторов: активность и содержание uPA в 112 раз и в 2396 раз, уровень uPAR в 2,1 раза, PAP и ПГ в 1,8 раза и 2,1 раза, содержание tPA в 17,8 раза, активность и содержание PAI-I в 23,3 раза и в 29 раза соответственно. Только активность tPA не имела значимых отличий в образцах опухоли в зависимости от гена урокиназы.

То есть через 3 недели после перевивки меланомы В16/F10 у самок uPA+/+ в образцах опухоли по сравнению с соответствующей интактной кожей отмечено возрастание всех изученных показателей фибринолитической системы, тогда как у самок

uPA-/- в образцах меланомы такая стимуляция не выявлена, за исключением роста активности, но не содержания tPA.

Также были отмечены различия исследованных показателей в перифокальной зоне и непокрашенной опухолевым ростом коже. Так, в перифокальной зоне у самок uPA-/- через 3 недели роста меланомы активность и уровень uPA были меньше, чем в перифокальной зоне мышей uPA+/+ в 260 и 255 раз соответственно, также была ниже в 1,9 раза концентрация uPAR. Уровень tPA, как и его активность, были ниже, чем у животных без нокаута в 1,6 раза и в 4,5 раза соответственно. Активность PAI-I и его содержание оказались сниженными в 15,4 раза и в 25,6 раза. Несмотря на

Таблица 2. Содержание и активность компонентов фибринолитической системы в коже, опухоли и перифокальной зоне у самцов мышей uPA -/- с меланомой В16/F10 через 3 недели после перевивки ($M \pm m$)

Показатели	Кожа интактных животных (норма)	Кожа через 3 недели роста меланомы	Опухоль через 3 недели после перевивки	Перифокальная зона через 3 недели после перевивки
Самцы uPA -/-				
uPA-акт (ед/г тк)	0,010 ± 0,001 ³	0,009 ± 0,0007 ^{2,3}	0,013 ± 0,0011 ^{1,3}	0,015 ± 0,001 ^{1,3}
uPA-АГ (нг/г тк)	0,250 ± 0,02 ³	0,25 ± 0,018 ^{2,3}	0,10 ± 0,009 ^{1,3}	0,39 ± 0,03 ^{1,3}
uPAR (пг/г тк)	56,90 ± 4,3 ³	67,4 ± 5,9	90,8 ± 7,6 ¹	67,55 ± 5,5 ²
PAP (нг/г тк)	30,0 ± 2,5 ³	18,13 ± 1,4 ^{1,3}	14,4 ± 0,9 ^{1,3}	18,13 ± 1,7 ¹
ПГ (нг/г тк)	12,50 ± 0,9 ³	9,1 ± 0,77 ^{1,3}	10 ± 0,07 ³	12,2 ± 0,8
tPA-акт (ед/гтк)	0,320 ± 0,02 ³	0,17 ± 0,015 ^{1,2,3}	1,22 ± 0,78 ^{1,3}	0,17 ± 0,014 ^{1,2,3}
tPA-АГ (нг/гтк)	0,70 ± 0,05 ³	0,66 ± 0,06 ^{2,3}	0,46 ± 0,04 ^{1,3}	0,88 ± 0,071 ^{2,3}
PAI-I-акт (ед/гтк)	2,60 ± 0,2 ³	1,77 ± 0,13 ^{1,2,3}	2,87 ± 0,21 ³	2,37 ± 0,18 ³
PAI-I-АГ (нг/гтк)	4,10 ± 0,3 ³	2,43 ± 0,21 ^{1,2,3}	3,9 ± 0,33 ³	4,8 ± 0,43 ³
Самцы uPA +/+				
uPA-акт (ед/г тк)	1,561 ± 0,10	1,65 ± 0,143	2,7 ± 0,21	1,9 ± 0,17
uPA-АГ (нг/г тк)	215,3 ± 16,8	181,6 ± 17,1 ³	300,4 ± 24	210,3 ± 19
uPAR (пг/г тк)	110,3 ± 6,5	65,13 ± 5,7 ¹	73,48 ± 5,3 ¹	85,96 ± 7,2 ¹
PAP (нг/г тк)	14,52 ± 0,9	30,7 ± 2,9	48,8 ± 4,1	19,8 ± 1,7
ПГ (нг/г тк)	6,851 ± 0,5	15 ± 1,2	21,6 ± 1,9	13 ± 1,1
tPA-акт (ед/гтк)	0,551 ± 0,04	0,86 ± 0,07	2,4 ± 0,19	0,8 ± 0,06
tPA-АГ (нг/гтк)	2,981 ± 0,2	4,8 ± 0,38 ¹	11,6 ± 0,9	5,5 ± 0,42
PAI-I-акт (ед/гтк)	12,61 ± 1,02	52,5 ± 4,7	41,3 ± 3,8	59,4 ± 5,6
PAI-I-АГ (нг/гтк)	40,0 ± 3,5	28 ± 2,5	39 ± 3,4	54,8 ± 4,5

Примечание: ¹ – различия статистически значимы относительно нормы у животных; ² – по сравнению с опухолью; ³ – по сравнению с аналогичными образцами у uPA+/+ животных ($p < 0,05$)

это уровень PАР и ПГ в перифокальной зоне самок uPA-/- оказался выше, чем у самок uPA+/+ в 1,3 раза и в 1,8 раза соответственно.

То есть в перифокальной зоне у самок мышей uPA+/+ через 3 недели роста меланомы также практически все звенья фибринолитической системы (за исключением ПГ и tPA активности) превосходили показатели в коже интактных животных, тогда как у uPA-/- мышей в перифокальной зоне по сравнению с кожей интактных животных выявлен рост только содержания ПГ, uPA и tPA без повышения их активностей, а также возросла активность PAI-I.

В непораженной опухолевым ростом коже у самок uPA-/- были снижены практически все показатели фибринолитической системы за исключением отсутствия отличий в PАР и uPAR по сравнению с образцами кожи у самок uPA+/+. Так, в образцах кожи при росте опухоли у самок uPA-/- активность и содержание uPA были ниже в 277,8 раза и в 781,3 раза; активность и содержание tPA в 4,4 раза и в 5,9 раза; активность и содержание PAI-I в 13 раз и 11,4 раза соответственно. Через 3 недели опухолевого роста динамика изменений исследованных показателей в непораженной коже у самок uPA+/+ по сравнению с интактными мышами в целом соответствовала направленности в опухоли и перифокальной зоне – наблюдалась активация фибринолитической системы, тогда как у самок uPA-/-, напротив, либо отсутствие изменений, либо снижение уровня PАР, активности и содержания tPA и содержания PAI-I по сравнению с интактными мышами этой же линии.

На этапе через 3 недели после перевивки объемы первичных опухолей у самцов uPA-/- были меньше, чем у животных с диким типом генов [15].

В образцах опухоли у самцов uPA-/- по сравнению с аналогичными образцами у самцов uPA+/+ оказался снижен уровень плазмينا в 3,4 раза и плазминогена в 2,2 раза (табл. 2). Активность и содержание uPA у самцов с нокаутом гена урокиназы были ниже, чем у животных с диким типом гена в 208 раз и в 3004 раза соответственно, а содержание и активность tPA были ниже в 25,2 раза и в 2 раза соответственно. Кроме того, выявлено снижение активности и концентрации PAI-I в 14,4 раза и в 10 раз соответственно.

Только содержание uPAR не имело отличий в зависимости от состояния гена урокиназы. То есть, если у самцов uPA+/+ в образцах опухоли по сравнению с интактной кожей (норма) возрастали

практически все исследованные параметры фибринолитической системы, за исключением уровня рецептора, то в меланоме у самцов uPA-/- отмечен только рост активности tPA и uPAR.

В перифокальной зоне у самцов uPA-/- по сравнению с перифокальной зоной самцов uPA+/+ были ниже активность и уровень uPA в 127 раз и в 538 раз соответственно и tPA в 25 раз и 11,4 раз соответственно, а PAI-I в 25 раз и 8,8 раза соответственно. При этом уровень uPAR, плазмينا и ПГ в перифокальной зоне не имел значимых отличий в зависимости от состояния гена урокиназы. Оказалось, что при росте опухоли у uPA+/+ самцов в перифокальной зоне повышалось содержание PАР, PГ, а также активности и содержания tPA и PAI-I по сравнению с кожей соответствующих интактных животных, тогда как у самцов uPA-/- либо не изменялись по сравнению с интактной кожей, либо снижались.

В образцах непораженной кожи у самцов uPA-/- с меланомой B16/F10 по сравнению с показателями в непораженной коже у самцов uPA+/+ были ниже концентрации PАР и ПГ в среднем в 1,7 раза, активность и содержание uPA в 183 раза и в 726 раза, активность и содержание tPA в 5,1 раза и в 7,3 раза, активность и концентрация PAI-I в 29,7 раз и в 11,5 раза. Только уровень uPAR не имел значимых отличий. При этом следует отметить, что у uPA+/+ самцов и у мышей с нокаутом по гену урокиназы одинаковым в непораженной коже при росте меланомы оказалось только отсутствие изменения активности и содержания uPA, а также снижение уровня PAI-I по сравнению с показателями здоровой кожи соответствующих интактных животных. Остальные из изученных параметров изменялись разнонаправленно – у uPA-/- самцов либо снижались (PАР, ПГ, tPA активность), либо не изменялись (PAI-I активность, tPA содержание, uPAR), тогда как у uPA+/+ выявлена активация (за исключение uPAR).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время известно, что урокиназа (uPA) секретируется во многих злокачественных клетках, включая рак поджелудочной железы, молочной железы, колоректальный рак и ее экспрессия часто коррелирует с прогнозом течения заболевания [4, 16]. Биологическая роль этой протеиназы – связаться с рецептором uPAR, чтобы стимулировать протеолитический каскад и превратить неактивные

протеазы, такие как плазмин и матриксная металлопептидаза 9 (MMP-9), в активные формы, тем самым наделяя опухолевые клетки способностью разрушать компоненты внеклеточного матрикса, активировать рост и метастазирование опухолевых клеток [17–19]. Следовательно, роль uPA в миграции, инвазии и метастазировании опухолевых клеток несомненна [18].

Ранее мы получили подтверждение влияния нокаута гена урокиназы на опухолевый процесс, а именно существенное подавление роста объема опухоли и ее метастазирование у животных обоего пола [15]. Нами было установлено, что у интактных uPA-дефицитных мышей линии C57BL/6-Plautml.IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu в коже подавлен практически весь каскад регуляторов ПГ (за исключением содержания рецептора урокиназы uPAR и содержания tPA только у самок). Мы предполагали обнаружить увеличение активности ряда ферментов, однако у интактных uPA-/- мышей регистрировалось увеличенное содержание только плазмينا. При дефиците uPA у мышей C57BL/6-Plautml.IBug-ThisPlau6FDhu/GFDhu в нашем эксперименте активность плазмينا могла найти и другие мишени. Мы считаем, что повышение у нокаутных мышей содержания PAR является своеобразной компенсацией, способствуя при резком снижении урокиназы расщеплению ее рецептора.

Несмотря на существенное подавление фибринолитической системы у мышей uPA-/-, перевивная меланома росла, и хотя имела существенно меньшие объемы (особенно у самок) и редко метастазировала (у самцов отсутствовали видимые метастазы), продолжительность жизни животных двух линий не имела значимых различий. Кроме того, уровень плазмينا в коже у интактных uPA-/- мышей превышал показатели у животных линии C57BL/6. Эти моменты свидетельствуют о наличии альтернативных биологических путей которыми «пользуется» меланома для своего выживания в условиях нокаута гена урокиназы.

Одним из альтернативных путей в условиях нокаута гена урокиназы может быть uPAR, известный как CD-87, который высоко экспрессируется в различных опухолевых клетках, а различные сигналы, регулируемые uPAR, играют важную роль в пролиферации и метастазировании неоплазмы, связанном с опухолью гликолизе, а также микроокружении опухоли и ее ангиогенезе [20]. Имеются данные о том, что именно uPAR регулирует миграцию клеток меланомы за счет сборки в сложных

регуляторных единицах с трансмембранными рецепторами [21].

В нашем исследовании показано, что на фоне существенного подавления урокиназы уровень рецептора uPAR в интактной коже у самок не изменился, а у самцов хотя и выявлено почти двукратное снижение его концентрации, однако его содержание в опухоли и окружающих ее тканях на фоне роста меланомы B16/F10 не имеет значимых отличий от показателей у животных с диким типом генома. Известно, что uPAR конкурирует с uPA за участие во многих не протеолитических биологических процессах, таких как миграция, адгезия, пролиферация клеток и ангиогенез [22]. То есть, у мышей uPA-/- функции uPA могли выполняться uPAR. В нашем исследовании у самок uPA-/- уровень урокиназного рецептора в исследованных образцах не изменялся по отношению к показателям у интактных животных, тогда как у самцов в образцах опухоли возрастал, что сопровождалось большими объемами меланомы у самцов по сравнению с самками.

Ряд исследований подтверждает, что снижение экспрессии uPAR на клеточной поверхности смягчает развитие характерных признаков рака, вызванных мутациями PIK3CA и KRas при колоректальном раке [23], а взаимодействуя с uPA и IGF1R, uPAR способен усиливать злокачественный потенциал тройного негативного рака молочной железы [24]. Клинические наблюдения подтверждаются экспериментальными исследованиями, в которых нокаут гена uPAR у мышей приводит к остановке G2/M, тем самым подавляя пролиферацию клеток [25]. Имеются исследования о возможности применения ингибиторов uPA для замедления роста опухоли и метастазирования [26].

Считают, что сверхэкспрессия uPAR в клетках меланомы человека контролирует инвазивный и гликолитический фенотип. Уже установленные пути, опосредованные uPAR, включают интегрин-зависимую ассоциацию uPAR как минимум с четырьмя системами *IL-TKR: EGFR, IGFR, PDGFR* и *MET* [27]. Результаты наших исследований показали существенное увеличение уровня uPAR в образцах опухоли и ее перифокальной зоны у мышей uPA+/+, тогда как у самок uPA-/- такая закономерность не прослеживалась, и только у самцов uPA-/- в образцах опухоли возрастала концентрация рецептора урокиназы. Сложность различных молекулярных путей позволяет злокачественным клеткам продолжать пролиферировать и мигрировать даже в условиях дефицита

урокиназы, используя uPA-независимые пути протеолитической активации факторов ангиогенеза. Это было подтверждено проведенными нами ранее исследованиями факторов ангиогенеза у животных с нокаутом по гену урокиназы, демонстрирующими повышенное содержание в непораженной коже VEGF-A и особенно VEGF-C у самок мышей uPA-/- [28].

В то же время стоит понимать, что нокаут по гену урокиназы является своеобразным искусственно вызванным генетическим коморбидным заболеванием, в результате которого происходит угнетение фибринолитической системы не только в кожных покровах, но и в других органах и системах. Участие фибринолитической системы в различных физиологических процессах, заживлении ран, а также в сохранении нейронов мозга после различных ишемических повреждений свидетельствует о возможной недостаточности этих процессов у животных uPA-/-.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тот факт, что у мышей uPA-/-, несмотря на крайне малые объемы первичной опухоли и редкое метастазирование, опухолевая болезнь вызывала гибель животных на тех же сроках, что и у животных uPA+/+, свидетельствует о существенном влиянии опухолевой болезни на все регуляторные системы организма вне зависимости от размера неоплазмы. Наше исследование подтвердило положение о том, что применение препаратов, ингибирующих пути урокиназы, может быть перспективно в лечении заболевания за счет замедления роста объема неоплазмы и ее метастазирования, но не является панацеей, так как действие злокачественной опухоли на организм гораздо более сложное, поэтому требуются дальнейшие исследования патогенеза злокачественного роста.

Список источников

1. Ismail AA, Shaker BT, Bajou K. The Plasminogen-Activator Plasmin System in Physiological and Pathophysiological Angiogenesis. *Int J Mol Sci.* 2021 Dec 29;23(1):337. <https://doi.org/10.3390/ijms23010337>
2. Brungs D, Chen J, Aghmesheh M, Vine KL, Becker TM, Carolan MG, et al. The urokinase plasminogen activation system in gastroesophageal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Oncotarget.* 2017 Apr 4;8(14):23099–23109. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15485>
3. Wyganowska-Świątkowska M, Tarnowski M, Murtagh D, Skrzypczak-Jankun E, Jankun J. Proteolysis is the most fundamental property of malignancy and its inhibition may be used therapeutically (Review). *Int J Mol Med.* 2019 Jan;43(1):15–25. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3983>
4. Shantha Kumara H, Poppy A, Gamage DN, Mitra N, Yan X, Hedjar Y, et al. Compared to preoperative plasma levels post-operative urokinase-type plasminogen activator-1 levels are persistently elevated for 6 weeks after minimally invasive colorectal resection. *J Gastrointest Oncol.* 2023 Feb 28;14(1):187–197. <https://doi.org/10.21037/jgo-22-113>
5. Ogino R, Yokooji T, Hayashida M, Suda S, Yamakawa S, Hayashida K. Emerging Anti-Inflammatory Pharmacotherapy and Cell-Based Therapy for Lymphedema. *Int J Mol Sci.* 2022 Jul 9;23(14):7614. <https://doi.org/10.3390/ijms23147614>
6. Elmoselhi AB. Advantages of Understanding the Molecular Mechanisms of Angiogenesis in Various Physiological and Pathological Conditions. *Int J Mol Sci.* 2023 Mar 12;24(6):5412. <https://doi.org/10.3390/ijms24065412>
7. Кит О. И., Франциянц Е. М., Котиева М. М., Каплиева И. В., Трепитики Л. К., Бандовкина В. А. и др. Динамика тканевой системы регуляторов плазминогена при меланоме кожи на фоне хронической боли у самок мышей. *Трансляционная медицина.* 2018;5(2):38–46. <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2018-5-2-38-46>, EDN: XRHEOL
8. Кит О. И., Франциянц Е. М., Козлова Л. С., Каплиева И. В., Бандовкина В. А., Погорелова Ю. А. и др. Урокиназа и ее рецептор в меланоме кожи, воспроизведенной на фоне хронической нейрогенной боли, у мышей обоего пола в сравнительном аспекте. *Вопросы онкологии.* 2020;66(4):445–450. <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2020-66-4-445-450>, EDN: HMDEUV
9. Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Погорелова Ю. А., Ткаля Л. Д., Черярина Н. Д. Активность компонентов системы активации плазминогена и некоторых факторов неоангиогенеза в динамике развития перевиваемой меланомы B16/F10. *Современные проблемы науки и образования.* 2015;(5):617. EDN: YTIGLR
10. Кит О. И., Франциянц Е. М., Козлова Л. С., Каплиева И. В., Бандовкина В. А., Погорелова Ю. А. и др. Урокиназа и ее рецептор в меланоме кожи, воспроизведенной на фоне хронической нейрогенной боли, у мышей обоего пола в сравнительном аспекте. *Вопросы онкологии.* 2020; 66(4):445–450. <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2020-66-4-445-450>

11. Frese KK, Tuveson DA. Maximizing mouse cancer models. *Nat Rev Cancer*. 2007 Sep;7(9):645–658. <https://doi.org/10.1038/nrc2192>
12. Lamprecht Tratar U, Horvat S, Cemazar M. Transgenic Mouse Models in Cancer Research. *Front Oncol*. 2018;8:268. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00268>
13. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздрава России. Том Часть 1. Москва: Гриф и К, 2012, 944 с. EDN SDEWMP
14. Dingemans KP, van Spronsen R, Thunnissen E. B16 melanoma metastases in mouse liver and lung. I. Localization. *Invasion Metastasis*. 1985;5(1):50–60.
15. Франциянц Е. М., Каплиева И. В., Сурикова Е. И., Нескубина И. В., Бандовкина В. А., Трепитаки Л. К. и др. Влияние нокаута по гену урокиназы на рост меланомы в эксперименте. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2019;39(4):62–70. <https://doi.org/10.15372/SSMJ20190408>, EDN: PLXEYI
16. Leth JM, Ploug M. Targeting the Urokinase-Type Plasminogen Activator Receptor (uPAR) in Human Diseases With a View to Non-invasive Imaging and Therapeutic Intervention. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:732015. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.732015>
17. Mahmood N, Mihalcioiu C, Rabbani SA. Multifaceted Role of the Urokinase-Type Plasminogen Activator (uPA) and Its Receptor (uPAR): Diagnostic, Prognostic, and Therapeutic Applications. *Front Oncol*. 2018;8:24. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00024>
18. Ding Y, Niu W, Zheng X, Zhou C, Wang G, Feng Y, et al. Plasminogen activator, urokinase enhances the migration, invasion, and proliferation of colorectal cancer cells by activating the Src/ERK pathway. *J Gastrointest Oncol*. 2022 Dec;13(6):3100–3111. <https://doi.org/10.21037/jgo-22-1215>
19. Zhai BT, Tian H, Sun J, Zou JB, Zhang XF, Cheng JX, et al. Urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR) as a therapeutic target in cancer. *J Transl Med*. 2022 Mar 18;20(1):135. <https://doi.org/10.1186/s12967-022-03329-3>
20. Lv T, Zhao Y, Jiang X, Yuan H, Wang H, Cui X, et al. uPAR: An Essential Factor for Tumor Development. *J Cancer*. 2021;12(23):7026–7040. <https://doi.org/10.7150/jca.62281>
21. Ragone C, Minopoli M, Ingangi V, Botti G, Fratangelo F, Pessi A, et al. Targeting the cross-talk between Urokinase receptor and Formyl peptide receptor type 1 to prevent invasion and trans-endothelial migration of melanoma cells. *J Exp Clin Cancer Res*. 2017 Dec 8;36(1):180. <https://doi.org/10.1186/s13046-017-0650-x>
22. Chen JS, Chang LC, Wu CZ, Tseng TL, Lin JA, Lin YF, et al. Significance of the urokinase-type plasminogen activator and its receptor in the progression of focal segmental glomerulosclerosis in clinical and mouse models. *J Biomed Sci*. 2016 Feb 4;23:24. <https://doi.org/10.1186/s12929-016-0242-7>
23. Ahn SB, Mohamedali A, Pascovici D, Adhikari S, Sharma S, Nice EC, et al. Proteomics Reveals Cell-Surface Urokinase Plasminogen Activator Receptor Expression Impacts Most Hallmarks of Cancer. *Proteomics*. 2019 Nov;19(21–22):e1900026. <https://doi.org/10.1002/pmic.201900026>
24. Huber MC, Mall R, Braselmann H, Feuchtinger A, Molatore S, Lindner K, et al. uPAR enhances malignant potential of triple-negative breast cancer by directly interacting with uPA and IGF1R. *BMC Cancer*. 2016 Aug 8;16:615. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2663-9>
25. Gogineni VR, Nalla AK, Gupta R, Dinh DH, Klopfenstein JD, Rao JS. Chk2-mediated G2/M cell cycle arrest maintains radiation resistance in malignant meningioma cells. *Cancer Lett*. 2011 Dec 26;313(1):64–75. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2011.08.022>
26. Hosen SMZ, Uddin MN, Xu Z, Buckley BJ, Perera C, Pang TCY, et al. Metastatic phenotype and immunosuppressive tumour microenvironment in pancreatic ductal adenocarcinoma: Key role of the urokinase plasminogen activator (PLAU). *Front Immunol*. 2022;13:1060957. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1060957>
27. Laurenzana A, Chillà A, Luciani C, Peppicelli S, Biagioni A, Bianchini F, et al. uPA/uPAR system activation drives a glycolytic phenotype in melanoma cells. *Int J Cancer*. 2017 Sep 15;141(6):1190–1200. <https://doi.org/10.1002/ijc.30817>
28. Кит О. И., Франциянц Е. М., Каплиева И. В., Сурикова Е. И., Нескубина И. В., Бандовкина В. А. и др. Динамика факторов ангиогенеза у мышей линии C57BL/6-PLAUTMI. IBUG-THIS PLAU6FDHU/GFDHU при меланоме, развивающейся на фоне хронической нейрогенной боли. *Вопросы онкологии*. 2020;66(4):439–444. <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2020-66-4-439-444>, EDN: RIXXPH

Информация об авторах:

Франциянц Елена Михайловна – д.б.н., профессор, заместитель генерального директора по научной работе, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 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

Бандовкина Валерия Ахтямовна ✉ – д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

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

Сурикова Екатерина Игоревна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4318-7587>, SPIN: 2401-4115, AuthorID: 301537, ResearcherID: AAG-8748-2019, Scopus Author ID: 6507092816

Каплиева Ирина Викторовна – д.м.н., руководитель лабораторией изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3972-2452>, SPIN: 5047-1541, AuthorID: 734116, ResearcherID: AAE-3540-2019, Scopus Author ID: 23994000800

Погорелова Юлия Александровна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2674-9832>, SPIN: 2168-8737, AuthorID: 558241, ResearcherID: AAE-4168-2022, Scopus Author ID: 37026863400

Нескубина Ирина Валерьевна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>, SPIN: 3581-8531, AuthorID: 794688, ResearcherID: AAG-8731-2019, Scopus Author ID: 6507509066

Трепитаки Лидия Константиновна – к.б.н., научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9749-2747>, SPIN: 2052-1248, AuthorID: 734359, ResearcherID: AAG-9218-2019, Scopus Author ID: 55357624700

Черярина Наталья Дмитриевна – врач-лаборант лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3711-8155>, SPIN: 2189-3404, AuthorID: 558243, Scopus Author ID: 56204439400

Ушакова Наталья Дмитриевна – д.м.н., профессор, врач анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и реанимации, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0068-0881>, SPIN: 9715-2250, AuthorID: 571594, Scopus Author ID: 8210961900

Ишонина Оксана Георгиевна – к.б.н., заведующий отделом подготовки и переподготовки специалистов, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация; доцент кафедры медицинской биологии и генетики ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5300-1213>, SPIN: 4051-5165, AuthorID: 612417, Scopus Author ID: 37115461900

Гусарева Марина Александровна – к.м.н., заведующий отдела радиотерапии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9426-9662>, SPIN: 9040-5476, AuthorID: 705242

Удаленкова Ирина Александровна – к.м.н., врач-онколог отделения противоопухолевой лекарственной терапии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0075-6935>, SPIN: 2175-4570, AuthorID: 974753

Вклад авторов:

Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Каплиева И. В. – разработка концепции и дизайна эксперимента, написание исходного текста, анализ и интерпретация данных, окончательное утверждение рукописи для публикации;

Сурикова Е. И., Черярина Н. Д. – статистическая обработка результатов, техническое редактирование и подготовка рукописи к публикации; Погорелова Ю. А., Нескубина И. В., Трепитаки Л. К. – проведение эксперимента, выполнение ИФА-анализа;

Ушакова Н. Д., Ишонина О. Г. – научное редактирование, доработка текста, подбор литературы, оформление библиографии;

Гусарева М. А., Удаленкова И. А. – научное редактирование, доработка текста.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.