

## ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ГОРМОНАЛЬНОГО БАЛАНСА КОЖИ У САМОК МЫШЕЙ В ДИНАМИКЕ РОСТА ПЕРЕВИВНОЙ МЕЛАНОМЫ В16/F10

Бандовкина В.А., Франциянц Е.М., Каплиева И.В.,  
Козлова М.Б., Трепитаки Л.К., Черярина Н.Д.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, Россия

**Контактная информация**  
Бандовкина Валерия Ахтымовна  
ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России  
14-я линия, д.63,  
Ростов-на-Дону, Россия, 344037  
E-mail: super.gormon@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 31.03.2017  
и принята к печати 07.08.2017.

### Резюме

Клетки кожи способны к локальному синтезу половых и регуляторных гормонов, что делает ее аналогом гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы, а также способствует независимому гормоногенезу меланомы. **Цель.** Изучить уровень гормонов в опухоли, перифокальной зоне, неповрежденной коже и гипофизе в динамике роста меланомы В16/F10 у самок мышей линии С57BL/6. **Материалы и методы.** Исследование изменений локального стероидогенеза в динамике роста перевивной меланомы В16/F10 (с 1-й по 4-ю недели) проводили на 40 самках мышей линии С57BL/6. Определение гормонов осуществляли стандартными ИФА и РИА методами в 10% гомогенатах опухоли, окружающей ее зоны, неповрежденной кожи и гипофизов. В опухоли, а затем поэтапно в окружающих ее тканях выявлен рост эстрогенов, в основном за счет эстрона, с формированием относительной андрогеновой недостаточности сначала в опухоли, а затем в перифокальной зоне и неповрежденной коже. **Заключение.** Регуляция и стимуляция установленных изменений осуществляется на начальных стадиях с помощью аутокринных механизмов регуляции, клетками перевитой и растущей меланомы, а затем паракринным способом, распространяя свое влияние на близлежащие ткани и весь организм в целом.

**Ключевые слова:** Меланома В16/F10, эстрогены, андрогены, ЛГ, ФСГ.

*Для цитирования:* Трансляционная медицина. 2017; 4 (3): 45–53.

////////////////////////////////////  
**CHARACTERISTICS OF SKIN HORMONAL  
BALANCE REGULATION IN FEMALE MICE  
IN DYNAMICS OF TRANSPLANTABLE B16/F10  
MELANOMA GROWTH**

**Bandovkina V.A., Frantsiyants E.M., Kaplieva I.V., Kozlova M.B.,  
Trepitaki L.K., Cheryarina N.D.**

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

**Corresponding author:**  
Valeriya A. Bandovkina  
Rostov Research Institute of Oncology  
14 line, 63,  
Rostov-on-Don, Russia, 344037  
E-mail: super.gormon@yandex.ru

*Received 31 March 2017; accepted 07 August  
2017.*

////////////////////////////////////  
**Abstract**

**Background:** Skin cells are capable of the local synthesis of sex and regulatory hormones which makes it an analogue of the hypothalamic-pituitary-gonadal system and facilitates independent melanoma hormonogenesis. **Aims:** to study the level of hormones in the tumor, perifocal zone, the skin is unaffected, and the pituitary gland in the dynamics of growth of melanoma B16/F10 in female C57BL/6 mice. **Materials and methods:** Changes in the local steroidogenesis in the dynamics of the growth of transplanted B16/F10 melanoma (from week 1 to week 4) were studied in 40 female C57BL/6 mice. Hormones were determined by standard ELISA methods and radioimmunoassay in homogenates of tumor, surrounding tissues and intact tissues. **Results:** Tumor and then surrounding tissues showed an increase in estrogens, mostly due to estrone increase, with the development of relative androgen deficiency primarily in tumor and then in the perifocal zone and in intact tissues. **Conclusions:** Regulation and stimulation of such changes were performed at early stages by autocrine regulatory mechanisms and cells of primary and growing melanoma, and later by the paracrine method spreading its influence on surrounding tissues and the whole body.

**Key words:** B16/F10 melanoma, estrogens, androgens, LH, FSH.

*For citation: Translyatsionnaya meditsina= Translational Medicine. 2017; 4 (3): 45–53.*

**Список сокращений:** E<sub>2</sub>-эстрадиол, E<sub>1</sub>-эстрон, E<sub>3</sub>-эстриол, T<sub>общ</sub>-тестостерон, T<sub>св</sub>-свободный тестостерон, P<sub>4</sub>-прогестерон, ЛГ-лютеинизирующий гормон, ФСГ - фолликулостимулирующий гормон, ССГ- секс-стероид-связывающий глобулин, цАМФ – циклический аденозин моно фосфат.

**Введение.** Необходимость исследования роли особенностей гормональной регуляции в патогенезе меланомы объясняется высокой агрессивностью опухолевого процесса, а также наличием гендерных различий в риске и течении заболевания. Клинические наблюдения больных с данной патологией выявили редкое проявление болезни до

половой зрелости и более высокие коэффициенты выживания у женщин по сравнению с мужчинами [1,2, 3]. В ряде исследований сообщают о наличии корреляционных связей между риском возникновения злокачественной меланомы и некоторыми репродуктивными факторами, приемом оральных контрацептивов, беременностью [4,5,6]. Кроме того, в меланоме было установлено наличие рецепторов эстрогенов [7]. Кожа, в которой с большой частотой развивается меланома, рассматривается как эндокринный орган, клетки которого способны к локальному синтезу стероидных гормонов и пептидных регуляторных гормонов, а также различных нейромедиаторов, что делает ее аналогом

гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и гипоталамической систем [8,9]. Подобная универсальность и многофункциональность клеток кожи позволяет ей поддерживать гомеостаз всего организма, но в тоже время дает возможность для развития самой агрессивной и гетерогенной злокачественной опухоли. Меланома развивается из меланоцитов [10], продуцирующих меланин и имеющих эмбриональное происхождение из нервного гребешка, из которого также развиваются нейроны чувствительных и автономных ганглиев, клетки мягкой и паутинной оболочек мозга, мозговое вещество надпочечников и части APUD-системы [11]. Известно, что стимуляцию меланогенеза вызывают УФ-радиация, меланостимулирующий гормон, адренкортикотропный гормон, гормоны половых желез, коркового вещества надпочечников, ацетилхолин, витамины В1 и В2, некоторые химические вещества [12,13].

Исследования, проведенные на линейных животных с перевивной меланомой В16/Ф10, позволяют всесторонне изучить в динамике роста опухоли возможные изменения гормонального фона не только непосредственно в опухолевой ткани, но и в других органах, что даст представление о патогенезе заболевания и возможных способах противоопухолевого воздействия на организм. Ранее нами были проведены исследование стероидных гормонов в коже, опухоли и перифокальной зоне у самцов, а также изменения функционирования тиреоидной системы у самцов и самок в динамике роста перевивной меланомы В16/Ф10, которые показали существенные половые различия протекания опухолевой болезни [14,15]. Так как роль эндокринного фактора в патогенезе меланомы до конца не определена, экспериментальные работы, позволяющие изучить изменения гормонального баланса систем организма в динамике роста опухоли, с учетом половой принадлежности животных, актуальны.

**Цель:** изучить уровень гормонов в опухоли, перифокальной зоне, непораженной коже и гипофизе в динамике роста меланомы В16/Ф10 у самок мышей линии С57ВЛ/6.

**Материалы и методы исследования.** Работа выполнена на самках мышей линии С57ВЛ/6 ( $n=60$ ), 8-недельного возраста с начальной массой 20-22 г. Животные были получены из ФГБУН Научный центр биомедицинских технологий «Андреевка» ФМБА (Московская область), содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к еде и воде. Случайным образом животные поделены на 6 групп по 10 особей. По стандартной методике [16] животным 5 групп ( $n=50$ ) произво-

дилась перевивка меланомы В16/Ф10 путем подкожного введения в правую заднюю лапку мыши (область бедра) 0,5мл взвеси опухолевой ткани меланомы В16 в растворе Хенкса (в разведении 1:10). Штамм меланомы В16/Ф10 был предоставлен РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (г. Москва). За первой группой животных с перевивной меланомой В16/Ф10 осуществляли наблюдение вплоть до естественной гибели животных. Животных из остальных 4-х групп с перевивной меланомой В16/Ф10 забивали через 1, 2, 3 и 4 недели после перевивки. Контролем служили здоровые самки ( $n=10$ ) без перевивной меланомы. Мышам контрольной группы осуществлялось однократное подкожное введение 0,5 мл раствора Хенкса. Все процедуры проводили в соответствии с международными правилами работы с животными (European Communities Council Directive, 86/609/EEC). Опухоль, перифокальную зону, кожу и гипофизы выделяли сразу после декапитации. Из тканей получали 10% гомогенаты, приготовленные на 0,1М калий-фосфатном буфере рН 7,4, содержащем 0,1% Твин-20 и 1% БСА, которые центрифугировали при 3000 об/мин 10 минут. В полученных гомогенатах стандартными ИФА методами, используя наборы для лабораторных животных (Cusabio, Китай), определяли уровень эстрадиола -  $E_2$ , эстрогена  $E_1$ , эстриола -  $E_3$ , общего и свободного тестостерона -  $T_{\text{общ}}$ ,  $T_{\text{св}}$ , прогестерона  $P_4$ , ЛГ и ФСГ, секс-стероид - связывающего глобулина ССГ; содержание цАМФ определяли с помощью методов РИА (IMMUNOTECH, Чехия). Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета Statistica 6,0 (Stat-Soft, 2001). Результаты представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  — арифметическое среднее значение, а  $m$  — стандартная ошибка среднего. Оценка достоверности произведена с использованием параметрического критерия Стьюдента и непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни. Достоверными считали различия между двумя выборками при  $p < 0,05$ . Анализ корреляции между параметрами определяли по коэффициенту линейной корреляции Пирсона  $r$ , корреляцию считали достоверной при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования.** Опухоль у самок мышей появилась на 10-12-й день после перевивки в 100% случаев. Средняя продолжительность жизни составила  $30,3 \pm 1,68$  дней. Через 1 неделю после перевивки опухоли в коже возросло в 1,8 раза содержание эстриола, уровень эстрогена и эстрадиола был в пределах показателей контрольной группы (таблица 1).

Табл 1. Одновременно с этим в 1,4 раза повысился уровень общего тестостерона, но не свободной

**Таблица 1. Уровень половых гормонов в опухоли и окружающих ее тканях на этапах роста меланомы B16/F10 у самок мышей**

	Эстрадиол нмоль/гтк	Эстриол нмоль/гтк	Эстрон пмоль/гтк	Т общ нмоль/гтк	Тсв. пмоль/гтк	ССГ нмоль/гтк
Интактная кожа	0,57±0,04	1,2±0,11	262,4±21,1	12,8±1,0	0,78±0,05	3,3±0,2
1 неделя						
Кожа	0,62±0,04	2,1±0,18 <sup>1</sup>	321,5±28,1	18,2±1,5 <sup>1</sup>	0,85±0,06	5,4±0,35 <sup>1</sup>
2 неделя						
Кожа	0,68±0,06	3,13±0,3 <sup>1,2,3</sup>	353±25,2 <sup>1,3</sup>	14,4±1,3	0,55±0,04 <sup>1,2,3</sup>	5,4±0,44 <sup>1</sup>
Опухоль	0,63±0,04	0,83±0,05 <sup>1</sup>	519,3±29,5 <sup>1</sup>	13,1±1,1	0,72±0,06	5,1±0,4 <sup>1</sup>
п/зона	0,63±0,05	1,2±0,1 <sup>3</sup>	361,5±31,1 <sup>1,3</sup>	12,7±1,0	0,53±0,04 <sup>1,3</sup>	5,0±0,5 <sup>1</sup>
3 неделя						
Кожа	0,71±0,05 <sup>1</sup>	1,63±0,14 <sup>1,2</sup>	403,2±33,2 <sup>1</sup>	14,7±1,1	0,45±0,04 <sup>1</sup>	4,2±0,32 <sup>1,2</sup>
Опухоль	0,74±0,04 <sup>1</sup>	1,3±0,10	494,5±30,8 <sup>1</sup>	12,8±1,2	0,37±0,03 <sup>1,2</sup>	4,9±0,4 <sup>1</sup>
п/зона	0,72±0,05 <sup>1</sup>	1,54±0,15	389±26,7 <sup>1</sup>	15,4±1,0	0,49±0,03 <sup>1</sup>	3,8±0,28 <sup>2,3</sup>
4 неделя						
Кожа	0,71±0,05 <sup>1</sup>	1,14±0,10 <sup>2,3</sup>	424,2±38,5 <sup>1,3</sup>	14,8±1,2 <sup>3</sup>	0,59±0,04 <sup>1,2,3</sup>	5,8±0,45 <sup>1,2</sup>
Опухоль	0,74±0,04 <sup>1</sup>	1,8±0,15 <sup>1,2</sup>	564±48 <sup>1</sup>	9,98±0,8 <sup>1,2</sup>	0,42±0,03 <sup>1</sup>	4,9±0,35 <sup>1</sup>
п/зона	0,72±0,05 <sup>1</sup>	1,03±0,09 <sup>2,3</sup>	441,5±35 <sup>1,3</sup>	13,4±1,0 <sup>3</sup>	0,42±0,03 <sup>1</sup>	2,6±0,21 <sup>1,2,3</sup>

**Примечание:** 1 – достоверно по отношению к показателям в интактной коже  $p < 0,05-0,01$ ; 2- достоверно по сравнению с такими же образцами на предыдущем этапе исследования  $p < 0,05-0,01$ ; 3 – достоверно по сравнению с опухолью на этом же этапе исследования  $p < 0,05-0,01$ . п/зона – перифокальная зона.

его формы, очевидно в связи с повышением содержания в 1,6 раза содержания ССГ. Через 2 недели после перевивки меланомы установлено повышение концентрации эстриола в 2,6 раза и в 1,3 раза эстрогена, по сравнению с нормой. В то же время уровень общего тестостерона в неповрежденной коже снизился в 1,3 раза по сравнению с предыдущим этапом исследования, вернувшись к нормальным величинам, а Тсв. упал в 1,4 раза, по сравнению с нормой и с показателями 1-й недели. Концентрация ССГ в коже оставалась в пределах показателей 1-й недели, превышая значения нормы в 1,6 раз. В опухолевой ткани уровень эстрадиола соответствовал величинам здоровой кожи, а эстрон был выше в 2 раза по сравнению с нормой. и в 1,5 раза, по сравнению с показателями в неповрежденной коже. При этом содержание эстриола было снижено в 3,8 раза, по сравнению с неповрежденной кожей на этом же этапе исследования, и в 1,4 раза по сравнению с нормой. Концентрация как общей, так и свободной формы тестостерона не отличалась от показателей контроля, несмотря на повышенное в 1,6 раз содер-

жание ССГ. В перифокальной зоне через 2 недели эксперимента, при сравнении с контролем, установлено только повышение в 1,4 раза содержания эстрогена и снижение в 1,5 раза – свТ, на фоне повышенной в 1,5 раза концентрации ССГ. Через 3 недели после перевивки меланомы в неповрежденной коже, опухоли и перифокальной зоне по сравнению с нормой возрос в 1,3 раза уровень эстрадиола. Концентрация эстрогена не изменилась по сравнению с предыдущим сроком исследования, оставаясь повышенной по сравнению с интактной кожей в 1,5 раза, в 1,9 раза и в 1,5 раза соответственно. Изменения по сравнению с предыдущим сроком исследования произошли в содержании эстриола, уровень которого в коже снизился в 1,9 раза, а в опухоли и перифокальной зоне повысился в 1,6 раза и в 1,3 раза соответственно. Через 3 недели после перевивки меланомы B16/F10 не установлено изменения содержания общей формы тестостерона, однако концентрация свободного Т в опухоли на данном этапе снизилась в 1,9 раза, по сравнению с предыдущим сроком исследования, в то время как в неповрежденной коже и перифокаль-

**Таблица 2. Коэффициенты соотношения эстрогенов и андрогенов в коже, опухоли и перифокальной зоне в динамике роста меланомы B16/F10**

	E1+E2/E3	T/Еакт	Тсв/Еакт
Интактная кожа	0,69±0,05	18,6±1,7	1,13±0,11
Кожа 1 неделя	0,45±0,04 <sup>1</sup>	40,4±3,5 <sup>1</sup>	1,9±0,14 <sup>1</sup>
2 неделя			
Кожа	0,33±0,03 <sup>1,2,3</sup>	43,6±3,9 <sup>1,3</sup>	1,7±0,15 <sup>1,3</sup>
Опухоль	1,38±0,11 <sup>1</sup>	9,5±0,7 <sup>1</sup>	0,52±0,04 <sup>1</sup>
п/зона	0,83±0,06 <sup>3</sup>	15,3±1,2 <sup>3</sup>	0,63±0,05 <sup>1</sup>
3 неделя			
Кожа	0,68±0,06 <sup>2</sup>	21,6±1,9 <sup>2</sup>	0,66±0,05 <sup>1,2,3</sup>
Опухоль	0,94±0,07 <sup>1,2</sup>	13,6±1,0 <sup>1,2</sup>	0,39±0,03 <sup>1,2</sup>
п/зона	0,72±0,05	21,4±1,8 <sup>2,3</sup>	0,68±0,05 <sup>1,3</sup>
4 неделя			
Кожа	0,99±0,08 <sup>1,2,3</sup>	15±1,2 <sup>2</sup>	0,6±0,04 <sup>1</sup>
Опухоль	0,72±0,06 <sup>2</sup>	13,9±1,1 <sup>1</sup>	0,58±0,03 <sup>1</sup>
п/зона	1,13±0,09 <sup>1,2,3</sup>	11,9±0,9 <sup>1,2</sup>	0,37±0,02 <sup>1,2,3</sup>

**Примечание:** 1 – достоверно по отношению к показателям в интактной коже  $p < 0,05-0,01$ ; 2- достоверно по сравнению с такими же образцами на предыдущем этапе исследования  $p < 0,05-0,01$ ; 3 – достоверно по сравнению с опухолью на этом же этапе исследования  $p < 0,05-0,01$ . п/зона – перифокальная зона.

ной зоне концентрация свободной формы андрогена оставалась на том же уровне, что и через 2 недели, то есть в среднем в 1,6 раза ниже нормы. При этом показатели ССГ оставались повышенными в коже и в опухоли в 1,3 раза и в 1,5 раза соответственно, а в перифокальной зоне не отличались от нормы, снизившись в 1,3 раза по сравнению с предыдущим этапом исследования. Через 4 недели эксперимента уровень эстрадиола в коже, опухоли и перифокальной зоне оставался, как и на предыдущем этапе исследования, повышенным в 1,3 раза, на фоне по-прежнему повышенного, в среднем в 1,8 раза, содержания эстрона. При этом только в образцах меланомы установлено повышение в 1,5 раза содержания эстриола. Уровень общей формы тестостерона снизился только в образцах меланомы в 1,3 раза, в коже и перифокальной зоне его содержание не отличалось от нормы и предыдущих сроков исследования. В то же время уровень активного, свободного тестостерона в исследованных образцах оставался сниженным, на фоне повышенного ССГ: в 1,8 раза в коже, в 1,5 раза в опухоли и сниженного в 1,3 раза в перифокальной зоне.

Известно, что эстрадиол и эстрон синтезируются из андрогенов и являются биологически актив-

ными эстрогенами, а образующийся из них метаболит эстриол – неактивным производным [17]. С целью установить изменения в балансе эстрогенов и андрогенов в исследуемых образцах в динамике роста меланомы B16/F10 у самок мышей нами были высчитаны коэффициенты соотношения E1+E2/E3 – как уровень «активных эстрогенов», а также T/Еакт и Тсв/Еакт (таблица 2).

Табл. 2 Установлено, что через 1 неделю после перевивки опухоли кожа самок мышей среагировала резким снижением активных форм эстрогенов с накоплением тестостерона, как общей, так и свободной формы. Эстрогены активные снизились в 1,5 раза, T/Еакт повысился в 2,2 раза, а Тсв/Еакт в 1,7 раза. То есть через неделю после введения опухолевой взвеси в неповрежденной коже затормозились процессы синтеза эстрогенов. Та же ситуация отмечена в неповрежденной коже и через 2 недели после перевивки, однако уровень активных эстрогенов продолжал достоверно снижаться, став в 1,4 раза ниже, чем на предыдущем этапе исследования. В меланоме, напротив, содержание активных эстрогенов возросло в 2 раза, а T/Еакт и Тсв/Еакт снизились в 2 раза по сравнению с интактной кожей. Можно предполагать усиленный синтез

**Таблица 3. Уровень прогестерона, пролактина, ССГ и цАМФ в коже, опухоли и перифокальной зоне у самок мышей с перевивкой меланомы В16.**

	ЛГ (МЕ/гтк)	ФСГ (МЕ/гтк)	ЛГ/ФСГ	цАМФ (пмоль/гтк)	ЛГ гипофиза МЕ/гтк	ФСГ гипофиза МЕ/гтк
Интактная кожа	13,4±0,9	4,7±0,4	2,9±0,2	1,9±0,14	19,2±1,5	23,5±2,1
1 неделя						
Кожа	7,9±0,65 <sup>1</sup>	4,1±0,4	2,2±0,19 <sup>1</sup>	2,0±0,2	26,8±1,9 <sup>1</sup>	11,8±1,0 <sup>1</sup>
2 неделя						
Кожа	7,2±0,6 <sup>1,3</sup>	4,4±0,35 <sup>3</sup>	1,6±0,13 <sup>1,2,3</sup>	1,8±0,15	65,1±5,4 <sup>1,2</sup>	63±6,1 <sup>1,2</sup>
опухоль	40,8±3,5 <sup>1</sup>	15,3±1,1 <sup>1</sup>	2,7±0,21	9,4±0,74 <sup>1</sup>		
п/зона	8,4±0,71 <sup>1,3</sup>	4,9±0,31 <sup>3</sup>	1,7±0,12 <sup>1,3</sup>	3,6±0,31 <sup>1,3</sup>		
3 неделя						
Кожа	9,8±0,75 <sup>1,2,3</sup>	5,2±0,45 <sup>3</sup>	1,9±0,16 <sup>1,3</sup>	1,4±0,11 <sup>1,3</sup>	84,3±6,5 <sup>1,2</sup>	39,2±2,9 <sup>1,2</sup>
опухоль	38,1±3,3 <sup>1</sup>	15,5±1,2 <sup>1</sup>	2,5±0,19	14,7±1,2 <sup>1,2</sup>		
п/зона	11,3±1,1 <sup>2,3</sup>	7±0,6 <sup>2,3</sup>	1,6±0,13 <sup>1,3</sup>	2,9±0,17 <sup>1</sup>		
4 неделя						
Кожа	8,9±0,7 <sup>1,3</sup>	2,9±0,23 <sup>1,2,3</sup>	2,1±0,19 <sup>1</sup>	4,9±0,38 <sup>1,2,3</sup>	86,6±7,5 <sup>1</sup>	54,9±4,3 <sup>1,2</sup>
опухоль	37,9±3,1 <sup>1</sup>	14±1,2 <sup>1</sup>	2,7±0,23	21,3±1,9 <sup>1,2</sup>		
п/зона	15,5±1,4 <sup>2,3</sup>	11±0,9 <sup>1,2</sup>	1,4±0,11 <sup>1</sup>	9,8±0,8 <sup>1,2,3</sup>		

**Примечание:** 1 – достоверно по отношению к показателям в интактной коже  $p < 0,05-0,01$ ; 2- достоверно по сравнению с такими же образцами на предыдущем этапе исследования  $p < 0,05-0,01$ ; 3 – достоверно по сравнению с опухолью на этом же этапе исследования  $p < 0,05-0,01$ . п/зона – перифокальная зона.

эстрогенов опухоли из тестостерона. Через 2 недели в перифокальной зоне не выявлены достоверные изменения содержания активных эстрогенов или Т/Еакт, однако Тсв/Еакт снизился, как и в опухоли, в 1,8 раза. Через 3 недели после перевивки меланомы В16/F10 в коже нормализовалось содержание активных форм эстрогенов, не было достоверных изменений в Т/Еакт, а Тсв/Еакт снизился в 1,7 раза. Можно предположить, что в коже начался процесс расхода свободного тестостерона для синтеза эстрогенов, в основном эстрона. В то же время в опухоли через 3 недели повышение активных эстрогенов уменьшилось и, хотя превышало в 1,4 раза показатели в интактной коже, оказалось в 1,5 раза ниже, чем на предыдущем этапе исследования, Т/Еакт был в 1,4 раза ниже нормы, а Тсв/Еакт в 2,9 раза. По сравнению с предыдущим этапом исследования соотношение общей формы тестостерона к эстрогенам было в 1,4 раза выше, а свободной, напротив, в 1,3 раз ниже. Возможно, синтез эстро-

генов в опухоли на данном сроке исследования был уже не настолько актуален, как на начальных этапах роста. В перифокальной зоне содержание активных эстрогенов и отношение к ним свободной формы тестостерона не отличались от предыдущих этапов исследования, в то же время Т/Еакт повысилось в 1,4 раза. Через 4 недели после перевивки меланомы в неповрежденной коже установлено повышение содержания активных эстрогенов в 1,4 раза по сравнению с нормой и снижение Тсв/Еакт в 1,9 раза, что может свидетельствовать о перестройке ее гормонального баланса сходным с опухолью образом. В то же время в самой опухоли содержание активных эстрогенов через 4 недели после перевивки не отличалось от показателей в интактной коже. В образцах меланомы и через 4 недели эксперимента выявлена нехватка как общей, так и свободной формы тестостерона. Гораздо более серьезными оказались изменения в перифокальной зоне, содержание активных эстрогенов в которой

повысилось в 1,6 раза по сравнению с интактной кожей и предыдущим этапом исследования, а Т/Еакт и Тсв/Еакт снизились как по сравнению с нормой, так и по сравнению с показателями в образцах перифокальной зоны через 3 недели эксперимента: в 1,6 и 3,1 раза и в 1,8 раза и в 1,8 раза соответственно. Изменения синтеза и метаболизм эстрогенов и андрогенов регулируются пептидами аденогипофиза [17]. В связи с этим были исследованы изменения уровня ЛГ и ФСГ в гипофизе мышей с перевивной меланомой В16/Ф10 (таблица 3).

Табл. 3 В гипофизе самок в динамике роста меланомы В16/Ф10 уровень ЛГ прогрессивно возрастал с 1-й по 3-ю недели, превышая показатели интактных животных в 1,4 раза, в 3,4 раза и 4,4 раза соответственно, оставаясь выше в 4,5 раза через 4 недели. Концентрация ФСГ в гипофизе через 1 неделю после перевивки снизилась в 2 раза. Затем, через 2 недели – повысилась в 2,7 раза, оставаясь выше нормы на протяжении оставшихся этапов исследования, но снизившись в 1,6 раз по сравнению с предыдущим сроком исследования через 3 недели и затем повысившись в 1,4 раза через 4 недели. Так как рядом исследователей установлена возможность синтеза непосредственно в коже гипофизарных и гипоталамических регуляторных пептидов [8,9,10], мы сочли необходимым исследовать изменение локального содержания ЛГ и ФСГ в коже в процессе роста меланомы В16/Ф10. Определение локального уровня ЛГ и ФСГ в образцах неповрежденной кожи, опухоли и перифокальной зоны в динамике роста перевивной меланомы В16/Ф10 у самок мышей выявило интересные факты (таблица 2). Для неповрежденной кожи было характерно снижение уровня ЛГ в 1 – 2 недели в 1,7-1,9 раза, а в 3-4 недели в 1,4-1,5 раза, на фоне нормального содержания ФСГ, за исключением падения его концентрации в 1,6 раза через 4 недели после перевивки опухоли. В то же время в опухоли установлено повышенное содержание как ЛГ, так и ФСГ на протяжении всего эксперимента: ЛГ в среднем в 2,9 раза, а ФСГ в среднем в 3,2 раза. В перифокальной зоне меланомы через 2 недели после перевивки уровень ЛГ и ФСГ соответствовал показателям неповрежденной кожи, то есть ЛГ был снижен в 1,6 раза, а ФСГ не отличался от нормы. Но через 3 недели уровень регуляторных пептидов стал нарастать, что, несомненно, влияло на гормональный баланс перифокальной зоны, приблизив его к опухоли: уровень ЛГ и ФСГ возрос в 1,3 раза и в 1,4 раза соответственно по сравнению с предыдущим сроком исследования. Через 4 недели после перевивки меланомы в перифокальной зоне прогрессивное нарастание ЛГ и ФСГ продолжалось, их концентрации возросли в 1,4 раза и в 1,6 раза со-

ответственно по сравнению с предыдущим сроком исследования. Однако уровень ЛГ и ФСГ в опухоли был наиболее повышен среди всех исследованных образцов до конца эксперимента. Известно, что биологические эффекты регуляторных пептидов ЛГ и ФСГ реализуются через цАМФ-зависимые протеинкиназы [18]. В настоящем исследовании установлен прогрессивный рост уровня цАМФ в опухолевой ткани по сравнению с интактной кожей на протяжении всего эксперимента: в 4,9 раза через 2 недели, в 7,7 раза – через 3 недели и в 11,2 раза – через 4 недели после перевивки меланомы. В перифокальной зоне также отмечен рост концентрации цАМФ, хотя и не столь быстрый как в опухоли: в 1,8 раза через 2-3 недели после перевивки и в 5,2 раза – через 4 недели. В неповрежденной коже рост в 2,6 раза содержания цАМФ был установлен только через 4 недели после перевивки меланомы. На остальных этапах исследования уровень вторичного мессенджера либо был в пределах нормы – 1-2 недели, либо был снижен в 1,4 раза – 3 неделя эксперимента.

**Обсуждение.** В ходе исследования гормональных показателей в коже самок мышей с перевивной меланомой В16/Ф10 установлен ряд фактов указывающих на важную патогенетическую роль гормонов для роста опухоли. В опухоли, а затем поэтапно и в окружающих ее тканях выявлен рост активных эстрогенов, в основном за счет эстрогена, на фоне сдвига эстрогеново-андрогенового баланса с формированием относительной андрогеновой недостаточности сначала в меланоме, а затем в перифокальной зоне и непораженной коже. На начальных этапах 1 и 2 недели после перевивки, даже после выхода опухоли, в непораженной коже преобладали андрогены над эстрогенами, тогда как в меланоме напротив, установлен сдвиг в сторону преобладания активных эстрогенов. Полученные результаты свидетельствуют о расширении опухолевого поля меланомы за счет изменения баланса между андрогенами и эстрогенами в процессе роста опухоли не только на перифокальную зону, но и на непораженную опухолевым процессом кожу. Известно, что биологические эффекты эстрогенов направлены на усиление пролиферации клеток, активизацию неангиогенеза. В исследовании на самцах мышей с меланомой В16Ф10 Бандовкиной В.А. (2015) [19] показано повышение уровня эстрогена в меланоме у самцов мышей, коррелировавшее с ростом активности факторов роста VEGF. Можно предположить усиленный синтез эстрогенов из андрогенов, регуляция которого происходила локально, регулируемая синтезируемыми опухолью регуляторными пептидами – ЛГ и ФСГ, на фоне роста

вторичного мессенджера цАМФ. Важным моментом в патогенезе меланомы оказался тот факт, что в непораженной коже до 2 недели эксперимента выявлена положительная корреляционная зависимость между Т/Еакт и ЛГ/ФСГ гипофиза ( $r=0,9$ ;  $p<0,05$ ), затем связи нарушаются. В опухолевой ткани со второй недели эксперимента положительная корреляционная связь ( $r=0,89$ ;  $p<0,05$ ) присутствовала между тестостероном и локальным ЛГ, а отрицательная между уровнем тестостерона и ЛГ гипофиза ( $r=0,79$ ;  $p<0,05$ ). В опухолевых образцах установлена сильная положительная связь между уровнем эстрогена и ЛГ/ФСГ ( $r=0,87$ ;  $p<0,05$ ). Подобные результаты могут свидетельствовать об отключении и даже извращении центральной регуляции аденогипофизом локального синтеза стероидов и переходом на аутокринное воздействие регуляторными пептидами опухолевых клеток.

**Заключение.** Таким образом, развитие и рост первичной меланомы B16/F10 является сложным многостадийным процессом, изменяющим гормональный баланс и его регуляцию не только в близлежащем опухолевом регионе, но и в организме в целом. Нарушения гормоногенеза возникают на начальных стадиях путем аутокринных механизмов регуляции клетками перевитой и растущей меланомы, а затем паракринным способом распространяя свое влияние на близлежащие ткани и центральные регуляторные системы организма. Учитывая полученные результаты, следует продолжить исследование эндокринных осей организма с целью выявления и возможной коррекцией основных ключевых моментов патогенеза меланомы в зависимости от половой принадлежности особи.

#### Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциально-го конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

#### Список литературы / References

1. Isola AL, Eddy K, Chen S. Biology, therapy and implications of tumor exosomes in the progression of melanoma. *Cancers (Basel)*. 2016;8(12):110.
2. Chao C, Martin RC, Ross MI, et al. Correlation between prognostic factors and increasing age in melanoma. *Ann Surg Oncol*. 2004;11:259-264.
3. Nosrati A, Wei ML. Sex disparities in melanoma outcomes: the role of biology. *Arch Biochem Biophys*. 2014; 563:42-50.
4. Balch CM, Soong SJ, Gershenwald JE, et al. Prognostic factors analysis of 17,600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer

melanoma staging system. *J Clin Oncol*. 2001;19:3622–3634.

5. Karagas MR, Zens MS, Stukel TA, et al. Pregnancy history and incidence in melanoma in women: a pooled analysis. *Cancer Causes Control*. 2006; 17:11-19.

6. Scoggins CR, Ross MI, Reintgen DS, et al. Melanoma trial gender-related differences in outcome for melanoma patients. *Ann Surg*. 2006; 243(5):693-700.

7. de Giorgi V, Mavilia C, Massi D, et al. Estrogen receptor expression in cutaneous melanoma: a real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction and immunohistochemical study. *Arch Dermatol*. 2009; 145(1):30-36.

8. Slominski A. Neuroendocrine activity of the melanocyte. *Exp Dermatol*. 2009;18(9): 760-763.

9. Slominski AT, Zmijewski MA, Skobowiat C, et al. Sensing the environment: regulation of local and global homeostasis by the skin's neuroendocrine system. *Adv Anat Embryol Cell Biol*. 2012; 212:1-115.

10. Cichorek M, Wachulska M, Stasiewicz A, Tymńska A. Skin melanocytes: Biology and development. *Adv Dermatol Allergol*. 2013;30(1):30-41.

11. Brenner M, Hearing VJ. The protective role of melanin against UV damage in human skin. *Photochem Photobiol*. 2008; 84:539-549.

12. Kichigina TN, Grushin VN, Belikova IS, Myadelets OD. Melanocytes: structure, function, methods of identification, role in cutaneous pathology. *Vestnik VGMU*. 2007;6(4):5-16. In Russian [Кичигина Т.Н., Грушин В.Н., Беликова И.С., Мяделец О.Д. Меланоциты: строение, функции, методы выявления, роль в кожной патологии. *Вестник ВГМУ*. 2007; 6(4):5-16.]

13. Jang YH, Lee JY, Kang HY, Lee ES, Kim YC. Oestrogen and progesterone receptor expression in melasma: an immunohistochemical analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2010; 24(11):1312-1316.

14. Bandovkina VA, Frantsiyants EM, Pogorelova YA, Cheryarina ND. Characteristics of steroidogenesis in the tumor and surrounding tissues in experimental melanoma B16. *Molekulyarnaya meditsina*. 2015;5:47-51. In Russian [Бандовкина В.А., Франциянц Е.М., Погорелова Ю.А., Черярина Н.Д. Особенности стероидогенеза в опухоли и окружающих тканях при экспериментальной меланоме B16. *Молекулярная медицина*. 2015; 5:47-51].

15. Kit OI, Frantsiyants EM, Bandovkina VA, Cheryarina ND. Growth factors vascular of endothelial and receptors in the dynamic of transplantable melanoma B16/F10 development. *Rossiiskii onkologicheskii zhurnal*. 2016; 21(5):253-258. In Russian [Кит О.И., Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Черярина Н.Д. Половые различия функционирования щитовидной железы в динамике роста перевитой меланомы B16/F10 у мышей. *Российский онкологический журнал*. 2016; 21(5):253-258].

16. Treshhalina EM, Zhukova OS, Gerasimova GK, Andronova NV, Garin AM The guidelines for preclinical studies of pharmaceuticals. М.: Гриф и К; Ч.1. 2012: 642—657. In Russian [Трещалина Е. М., Жукова О. С., Герасимова Г. К., Андропова Н. В., Гарин А. М. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К; Ч.1. 2012: 642—657].

17. Leonova ZA, Florensov VV. Synthesis and functions of female sex hormones. *Sibirskii meditsinskii zhurnal*. 2013; 2:10-13. In Russian [Леонова З.А., Флоренсов В.В. Синтез и функции женских половых гормонов. *Сибирский медицинский журнал*. 2013; 2:10-13.]

18. Yur'eva OV, Dubrovina VI Role of cyclic nucleotide signal systems in regulation of immuno- and pathogenesis. *Vyulleten' VSNTs SO RAMN*. 2012; 2(84):159-163. In Russian [Юрьева О.В., Дубровина В.И. Роль сигнальных систем циклических нуклеотидов в регуляции иммуно- и патогенеза. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2012; 2(84):159-163].

19. Bandovkina VA, Frantsiyants EM, Cheryarina ND, et al. Regulatory role of estrogens in activation of angiogenesis and lymphogenesis growth factors in pathogenesis of B16/F10 melanoma. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015; 4. In Russian [Бандовкина В.А., Франциянц Е.М., Черярина Н.Д., и др. Регуляторная роль эстрогенов в активации факторов роста ангио- и лимфогенеза в патогенезе меланомы B16/F10. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 4: URL: <http://www.science-education.ru/127-20520>].

#### Информация об авторах:

Бандовкина Валерия Ахтямовна, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России;

Франциянц Елена Михайловна, д.б.н., профессор, руководитель лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России;

Каплиева Ирина Викторовна, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России;

Козлова Маргарита Борисовна, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России;

Трепитаки Лидия Константиновна, научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России;

Черярина Наталья Дмитриевна, врач-лаборант лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России.

#### Author information:

Valeriya A. Bandovkina, PhD, senior researcher of Laboratory of malignant tumor pathogenesis study, Rostov Research Institute of Oncology;

Elena M. Frantziyants, Dr. Sci., Prof., Head of Laboratory of Malignant tumor pathogenesis, Rostov Research Institute of Oncology;

Irina V. Kaplieva, PhD, MD, senior researcher of Laboratory of malignant tumor pathogenesis study, Rostov Research Institute of Oncology;

Margarita B. Kozlova, PhD, senior researcher of Laboratory of malignant tumor pathogenesis study, Rostov Research Institute of Oncology;

Lidiya K. Trepitaki, researcher of Laboratory of malignant tumor pathogenesis study, Rostov Research Institute of Oncology;

Natal'ya D. Cheryarina, laboratory doctor of Laboratory of malignant tumor pathogenesis study, Rostov Research Institute of Oncology.