

## **ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛИ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ НА ОПУХОЛЕВЫЙ ПРОЦЕСС В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

**Жукова Г.В., Шихлярова А.И., Протасова Т.П., Лукбанова Е.А., Ходакова Д.В., Шевченко А.Н., Ващенко Л.Н., Снежко А.В., Триандафилиди Е.И., Быкадорова О.В., Шашкина Л.Ю., Филатова Е.В., Хомутенко И.А.**

*ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, galya\_57@mail.ru*

**В связи с актуальностью вопроса об изменении течения опухолевого процесса вследствие развития коморбидных состояний проведено изучение влияния хронической боли различной этиологии на динамику роста опухоли и *e-mail*: продолжительность жизни белых беспородных крыс с перевивной карциномой Герена. Были использованы модели хронической нейрогенной и воспалительной боли – односторонняя перевязка седалищного нерва по G.J. Bennet и введение формалина в область голеностопного сустава. Формирование хронического болевого синдрома сопровождалось резким снижением уровня двигательной активности. Как при введении формалина, так и при односторонней перевязке седалищного нерва наряду с ускорением роста опухоли у части животных наблюдалось увеличение продолжительности жизни по сравнению с максимальным показателем в контрольной группе (более 40% животных). Гибель таких животных наступала, как правило, при более значительных размерах опухоли, чем у крыс контрольной группы. Результаты экспериментального исследования отражают сложную нелинейную связь между процессами, обусловленными хронической болью, индивидуальными особенностями системной регуляции и онкогенезом. Нуждается в выяснении вопрос о механизмах адаптации к злокачественному процессу, способствующей сохранению жизнеспособности организма при продолжающемся росте опухолей и достижению ими крупных размеров.**

**Ключевые слова:** нейрогенная боль, воспалительная боль, перевязка седалищного нерва, введение формалина, рост перевивных опухолей, продолжительность жизни.

## **INFLUENCE OF CHRONIC PAIN OF VARIOUS ETIOLOGIES ON THE TUMOR PROCESS IN THE EXPERIMENT**

**Zhukova G.V., Shikhlyarova A.I., Protasova T.P., Lukbanova E.A., Khodakova D.V., Shevchenko A.N., Vashchenko L.N., Snezhko A.V., Triandafilidi E.I., Bykadorova O.V., Shashkina L.Yu., Filatova E.V., Khomutenko I.A.**

*National Medical Research Center for Oncology, Rostov-on-Don, e-mail: galya\_57@mail.ru*

**In connection with the relevance of the question of the change in the tumor process course due to the development of comorbid conditions, the influence of chronic pain of various etiologies on the dynamics of tumor growth and lifespan of white outbred rats with transplantable Guerin's carcinoma was studied. Models of chronic neurogenic and inflammatory pain were used – one-sided sciatic nerve ligation according to G.J. Bennet and the formalin into the ankle. The formation of chronic pain was accompanied by a severe decrease in the level of motor activity. On the unilateral ligation of the sciatic nerve as well as on formalin administration, along with accelerated tumor growth in some animals, an increase in life expectancy was observed compared with the maximum value in the control group (more than a third of the animals). The death of such animals occurred, as a rule, with larger tumor sizes than in rats of the control group. The results of an experimental study reflect a complex nonlinear relationship between processes caused by chronic pain, oncogenesis, and the individual characteristics of systemic regulation. The question of mechanisms of adaptation to the malignant process that contributes to maintaining the viability of the body with the continued growth of tumors and their achievement of large sizes needs to be clarified.**

**Keywords:** neurogenic pain, inflammatory pain, sciatic nerve ligation, formalin administration, transplantable tumor's growth, lifespan.

Актуальность исследования обусловлена широкой распространенностью заболеваний, связанных с развитием нейрогенного и воспалительного болевых синдромов, влияние которых на канцерогенез остается малоизученным. Ранее были показаны ускорение

канцерогенеза и снижение продолжительности жизни животных при двусторонней перевязке седалищного нерва (СН) [1]. Был получен целый ряд фундаментальных сведений о динамике роста злокачественных опухолей, гормональных и метаболических сдвигах, а также об изменении других биологически активных веществ в условиях двусторонней перевязки СН [2, 3]. Результат болевого воздействия, как и воздействия любой другой модальности, должен зависеть от интенсивности действующего фактора, а также от индивидуальной чувствительности организма, определяемой состоянием висцеральной рецепции и особенностями его системной регуляции [4–6]. В этой связи представлялось целесообразным оценить характеристики опухолевого процесса и изменения в состоянии животных также и при более слабом болевом воздействии, реализуемом путем воспроизведения не двусторонней перевязки СН, а широко используемой классической модели односторонней перевязки седалищного СН по G.J. Bennet [7, 8], которая отражает весьма распространенные в человеческой популяции нарушения нейродегенеративного и травматического характера. В качестве аналога данной модели, имеющего воспалительную природу, была выбрана модель формалиновой боли, предусматривающая введение водного раствора формалина в одну из конечностей лабораторного животного. Эта модель в различные фазы развития процесса может отражать картину изменений в организме, характерных как для острой, так и для хронической боли [9].

Цель исследования состояла в изучении влияния хронической нейрогенной и воспалительной боли на основные характеристики опухолевого процесса – рост опухоли и продолжительность жизни животных-опухоленосителей.

**Материал и методы исследования.** При проведении экспериментов соблюдали международные правила биоэтики. В исследованиях использовали белых беспородных крыс-самцов (41) одинакового возраста, который к началу эксперимента составил 6 месяцев. Исследования проводили на модели односторонней перевязки седалищного нерва (ПСН) по G.J. Bennet (16), а также при варианте формалиновой модели для формирования хронической воспалительной боли (17). В последнем случае 2%-ный водный раствор формалина вводили животным в объеме 0,2 мл в область голеностопного сустава справа дважды в течение 48 часов, а затем – спустя 4 недели после первого введения, перед перевязкой опухоли. В контрольную группу вошли крысы-самцы, не подвергавшиеся специальным воздействиям (8). Через месяц после ПСН и первых двух инъекций формалина животным всех исследованных групп по стандартной методике в заднюю боковую поверхность спины вводили 0,5 мл 33%-ной взвеси клеток карциномы Герена. В течение последующих двух месяцев оценивали динамику роста опухоли, рассчитывая ее объем по формуле Шрека для эллипсоидов. Для измерения объема новообразований использовали штангенциркуль с

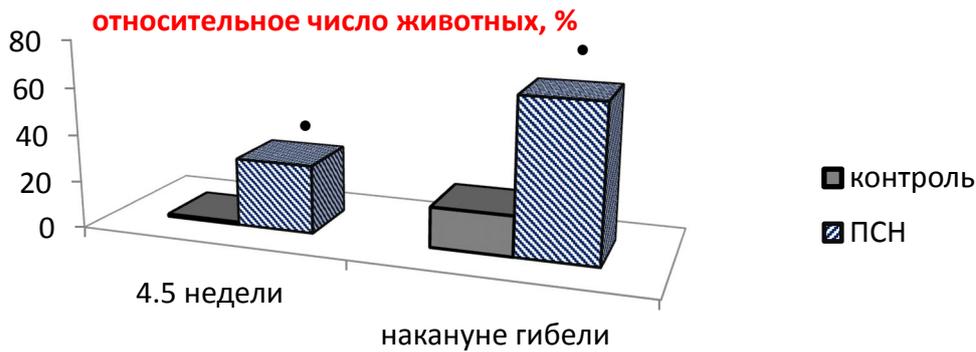
цифровым отсчетным устройством (ЩЦЦ.01.001 ПС). Также определяли продолжительность жизни крыс-опухоленосителей начиная со дня трансплантации карциномы Герена. Перед началом эксперимента и на его этапах оценивали двигательную активность животных с помощью теста «Открытое поле» в автоматизированном режиме [10]. При статистическом анализе данных исследования использовали t-критерий Стьюдента и критерий Вилкоксона–Манна–Уитни.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Полученные результаты свидетельствовали о сходстве влияния хронической боли разной этиологии на опухолевый процесс, а также о неоднозначном характере такого влияния.

Изучение двигательной активности с помощью теста «Открытое поле» до начала воздействий позволило выделить три диапазона значения показателя, соответствовавших низкому (13–15), среднему (40–74) и высокому (88–110) уровням. Число животных с высоким и низким уровнем двигательной активности было соответственно в 1,8–2 и 3–3,5 раза ниже, чем количество крыс, демонстрировавших умеренный уровень двигательной активности. Спустя 4 недели после перевязки СН и первых введений формалина, накануне трансплантации опухоли, при отсутствии уменьшения двигательной активности в контрольной группе было отмечено кратное снижение показателя по сравнению с исходными значениями – в большинстве случаев в 2–6 раз – у крыс с перевязкой СН и введением формалина ( $p < 0,001$ ). Такое изменение уровня двигательной активности могло указывать на развитие хронического болевого синдрома нейрогенной или воспалительной природы. У крыс контрольной группы заметного изменения рассматриваемого показателя не наблюдалось.

#### *1. Динамика роста карциномы Герена при хронической нейрогенной и воспалительной боли*

Изучение динамики злокачественного роста в экспериментальных группах позволило выявить изменения, вызванные хирургическим вмешательством и ПСН. Через 2 недели после трансплантации карциномы Герена минимальные размеры опухолей в контрольной группе и у животных с ПСН не отличались – 12 см<sup>3</sup>. В то же время в группе ПСН было отмечено увеличение диапазона значений объема карциномы Герена в 1,5 раза по сравнению с диапазоном значений этого показателя в контрольной группе за счет случаев ускоренного роста опухоли. Вследствие большого разброса значений межгрупповое сравнение средних величин этого показателя было неинформативным.



*Рис. 1. Ускорение роста карциномы Герена под влиянием нейрогенной хронической боли (ПСН). Относительное число животных (%) с размерами опухолей более 100 см<sup>3</sup> на этапах эксперимента*

Примечание: • – **статистически значимо** отличается от показателя в контрольной группе,  $p < 0,05$ .

Спустя 4 недели после перевивки карциномы Герена были отмечены выраженные отличия группы ПСН от контрольной группы животных по относительному числу случаев наиболее быстрого роста опухолей, достигших к этому времени объема 100 см<sup>3</sup> и выше (рис. 1). Так, через 4,5 недели после трансплантации карциномы Герена в группе ПСН такие случаи составили 31%, тогда как в контрольной группе они отсутствовали (рис. 1). Гибель крыс в контрольной группе в большинстве случаев наступала при меньших размерах опухолей, чем в группе ПСН. Относительное число животных с опухолями более 100 см<sup>3</sup> накануне гибели составило 25% в контрольной группе, тогда как в группе ПСН таких крыс было 69% ( $p < 0,05$ ; рис. 1).

Данные, свидетельствовавшие об ускорении роста опухолей под влиянием хронической боли, были получены и при введении формалина. Особенностью выбранной животной модели хронической воспалительной боли по сравнению с моделью нейрогенной боли было относительно равномерное распределение значений размеров карциномы Герена в группе. Это позволило провести статистическое сравнение средних величин рассматриваемого показателя на этапах эксперимента (рис. 2). Спустя 2 недели после трансплантации карциномы Герена не было отмечено статистически значимого изменения объема опухоли у крыс, получивших инъекции формалина, по сравнению с животными контрольной группы. Через 4 недели размеры опухоли у крыс с воспалительной болью в 1,4 раза превышали этот показатель в контрольной группе животных ( $p < 0,05$ ). Такое же соотношение размеров опухоли в исследованных группах сохранялось и спустя 5 недель после трансплантации карциномы Герена (рис. 2). При хронической воспалительной боли

относительное число животных с размерами опухоли более  $100 \text{ см}^3$  накануне гибели было близко к этому показателю при ПСН – 65%, то есть так же, как и в случае ПСН, значительно превышало относительное число крыс с опухолями более  $100 \text{ см}^3$  в контрольной группе ( $p < 0.05$ ). Следует также заметить, что у животных, получавших инъекции формалина, были зафиксированы наиболее значительные размеры карциномы Герена среди всех исследованных категорий крыс-опухоленосителей. Максимальный объем опухоли в группе составил  $206 \text{ см}^3$ .

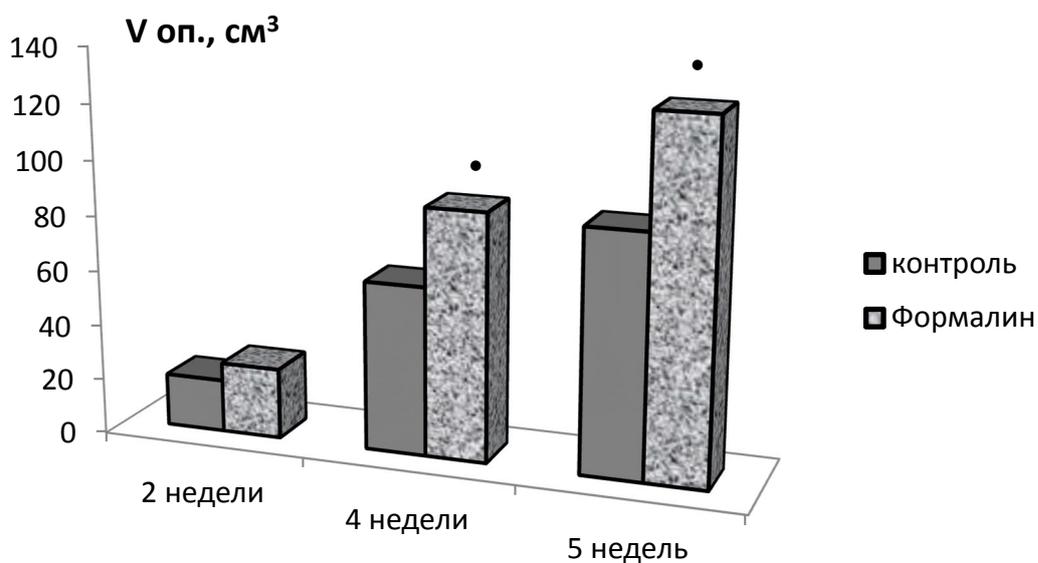


Рис. 2. Ускорение роста карциномы Герена под влиянием воспалительной хронической боли (введение формалина). Средний объем опухоли (см³) на этапах эксперимента

Примечание: \* – статистически значимо отличается от показателя в контрольной группе,  $p < 0,05$ .

## 2. Продолжительность жизни и устойчивость к росту опухоли при хронической нейрогенной и воспалительной боли

Наряду с ускорением роста опухолей у части животных с ПСН и введением формалина был отмечен эффект, носивший противоположный характер. Он заключался в увеличении ПЖ крыс, измеренной начиная со дня трансплантации карциномы Герена, по сравнению с максимальным значением этого показателя в контрольной группе, составившим 38 дней. При этом в число животных с увеличенной ПЖ вошла и часть крыс с ускоренным ростом опухоли. В таблице представлены обобщенные результаты, характеризующие рост карциномы Герена и ПЖ в исследованных группах, в том числе опухолевый рост у крыс с увеличенной ПЖ. Как видно из таблицы, относительное число животных с ПЖ, превышавшей максимальный показатель в контрольной группе, было сходным в группах с ПСН и введением формалина – 56% и 47%. При этом объем опухоли накануне гибели таких животных, как правило, был выше, чем у крыс контрольной группы. Так, при ПСН минимальный размер карциномы Герена у крыс с увеличенной ПЖ ( $112 \text{ см}^3$ ) был близок к

максимальному показателю в контрольной группе (117 см<sup>3</sup>), а максимальный объем опухоли превышал последний в 1,5 раза (табл.). В случае введения формалина минимальный размер опухоли у крыс с увеличенной ПЖ (100 см<sup>3</sup>) был только на 17% ниже максимального объема опухоли в контрольной группе, а максимальный объем превышал последний в 1,6 раза (194 см<sup>3</sup>) (табл.).

Продолжительность жизни животных (ПЖ) и размеры опухоли накануне их гибели

| Группа                     | ПЖ, сутки | Объем опухоли перед гибелью, см <sup>3</sup> | Число особей с опухолями более 100 см <sup>3</sup> перед гибелью, % | Животные с ПЖ более 38 суток |           |  |
|----------------------------|-----------|--|---|------------------------------|-----------|--|
|                            |           |  |   | Число особей, %              | ПЖ, сутки | Объем опухоли перед гибелью, см <sup>3</sup> |
| Контроль<br>n=8            | 20–38     | 26–117                                       | 25  | –                            |           |  |
| ПСН<br>n=16                | 23–56     | 36–150                                       | 69*   | 56                           | 40–56     | 112–178                                      |
| Введение формалина<br>n=17 | 20–49     | 37–206                                       | 65*   | 47                           | 39–49     | 100–194                                      |

Примечание: ПСН – односторонняя перевязка седалищного нерва; \* – статистически значимо отличается от показателя в контрольной группе, p<0,05.

Таким образом, животные с хронической болью различной этиологии, имевшие ПЖ выше максимальной ПЖ в контрольной группе, в большинстве случаев погибали при размерах опухоли, превышавших максимальные показатели в контрольной группе, и тем самым демонстрировали повышенную устойчивость к опухолевому росту. Эти результаты позволяют говорить о существовании двух разнонаправленных векторов влияния хронической нейрогенной и воспалительной боли на опухолевый процесс – ускорении роста опухоли и формировании устойчивости к такому росту.

Возникает вопрос о механизмах такой устойчивости. Поскольку рассматриваемое явление наблюдается у части животных, очевидна его связь с индивидуальными особенностями системной регуляции. Ранее были показаны выраженные противоопухолевые эффекты, обусловленные активизацией центральных регуляторных структур [4, 5], а также связь эффективности локальных противоопухолевых воздействий с изменениями в иммунной системе [5, 11]. При рассмотрении возможных эффекторных механизмов устойчивости к росту опухолей наиболее вероятной представляется ее связь со снижением инвазивной способности карциномы Герена, наступающим в определенный момент ее активного роста и, вероятно, имеющим временный характер. Можно предположить, что в силу неизвестных пока причин рост опухоли на какое-то время приобретает экспансивный характер, свойственный доброкачественным новообразованиям, без инфильтрации окружающих тканей. Как известно, в механизмах инвазивного роста злокачественных опухолей большую роль играют матриксные металлопротеиназы (ММП), способные

разрушать все компоненты экстраклеточного матрикса [12]. Также хорошо известна весьма значительная роль ММП в развитии воспаления и формировании болевой чувствительности [13, 14]. Таким образом, изменение характера роста карциномы Герена могло быть обусловлено факторами, ингибирующими активность ММП. На теоретическую возможность такого явления в условиях болевого синдрома, в частности, указывают сведения о выраженном повышении экспрессии тканевого ингибитора активности ММП – TIMP-1 – при моделировании иммунного хронического воспаления с помощью введения лабораторным животным полного адьюванта Фрейнда [15].

**Заключение.** Показано отличие влияния хронической нейрогенной боли, вызванной односторонней перевязкой седалищного нерва, и хронической воспалительной боли, обусловленной введением формалина в одну из конечностей, от установленного ранее однозначно негативного влияния на опухолевый процесс хронического болевого синдрома, обусловленного двусторонней перевязкой седалищного нерва [1–3]. Результаты, полученные на исследованных моделях, позволяют говорить о существовании двух разнонаправленных векторов влияния хронической нейрогенной и воспалительной боли на опухолевый процесс – ускорении роста опухоли и одновременно формировании у части лабораторных животных устойчивости к такому росту. Это свидетельствует о сложном нелинейном характере связи процессов развития хронической боли, воспаления, индивидуальных особенностей системной регуляции и онкогенеза. Полученные результаты представляют интерес в связи с актуальностью вопроса о влиянии развивающихся с возрастом дорсопатий и артритов на злокачественный процесс.

### Список литературы

1. Кит О.И., Франциянц Е.М., Котиева И.М., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Бандовкина В.А., Розенко Л.Я., Черярина Н.Д., Погорелова Ю.А. Некоторые механизмы повышения злокачественности меланомы на фоне хронической боли у самок мышей // Российский журнал боли. 2017. Т. 53(2). С. 14-20.
2. Кит О.И., Франциянц Е.М., Котиева И.М., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Бандовкина В.А., Розенко Л.Я., Черярина Н.Д., Погорелова Ю.А. Влияние хронической боли на динамику некоторых ростовых факторов в интактной и патологически измененной коже самок мышей с меланомой B16/f10 // Российский журнал боли. 2017. № 3-4 (54). С. 37-44.
3. Котиева И.М., Кит О.И., Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Черярина Н.Д., Погорелова Ю.А., Бликян М.В. Влияние хронической боли на уровень половых гормонов, пролактина и гонадотропных гормонов в сыворотке крови и патологически измененной коже у самок мышей в динамике роста злокачественной

меланомы // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. 2018. № 2(198). С. 106-116.

4. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. Ростов-на-Дону: изд-во Ростовского государственного университета, 1990. 223 с.

5. Zhukova G.V., Shikhliarova A.I., Barteneva T.A., Goroshinskaya I.A., Gudtskova T.N., Bragina M.I., Sheiko E.A., Maschenko N.M., Shirnina E.A., Zlatnik E.Y., Kachesova P.S., Kurkina T.A., Soldatov A.V., Polozhentsev O.E., Petrosian V.I. Some approaches to the activation of antitumor resistance mechanisms and functional analogs in the categories of synergetics. *Biophysics*. 2016. V. 61(2). P. 303-315. DOI: 10.1134/S0006350916020251.

6. Протасова Т.П., Гончарова А.С., Жукова Г.В., Лукбанова Е.А., Ткачев С.Ю., Миндарь М.В. Проблема хронической боли в онкологии и возможные пути ее преодоления // Южно-российский онкологический журнал. 2020. №1(1). С. 32-42. DOI: 10.37748/2687-0533-2020-1-1-3.

7. Bennett G.J. An animal model of neuropathic pain: a review. *Muscle Nerve*. 1993. V.16(10). P. 1040-1048.

8. Ткачев С.Ю., Кит О.И., Максимов А.Ю., Новикова И.А., Гончарова А.С., Хомутенко И.А., Шевченко А.Н., Филатова Е.В. Модели болевого синдрома в экспериментальной онкологии // Современные проблемы науки и образования. 2020. № 1. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=29420> (дата обращения: 13.03.2020).

9. Cong H., Sibgatullina R., Latypova L. Kurbangalieva A., Ziganshina L. Anti-Inflammatory Activity of Novel (S)-Naproxen Derivatives. *Bio.Nano. Sci.* 2017. V.7(1). P. 189. DOI: 10.1007/s12668-016-0329-3.

10. Grabovskaya S.V., Salyha Y.T. Do Results of the Open Field Test Depend on the Arena Shape? *Neurophysiology*. 2014. V. 46 (4). P. 376-380. DOI: 10.1007/s11062-014-9458-x.

11. Шалашная Е.В., Горошинская И.А., Качесова П.С., Жукова Г.В., Евстратова О.Ф., Бартенева Т.А., Нескубина И.В., Бородулин В.Б. Структурно-функциональные и биохимические изменения в органах иммунной системы при противоопухолевом действии наночастиц меди в эксперименте // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2011. Т. 152(11). С. 552-556.

12. Quintero-Fabián S, Arreola R., Becerril-Villanueva E., Torres-Romer J.C., Arana-Argáez V., Lara-Riegos J., Ramírez-Camacho M.A., Alvarez-Sánchez M.E. Role of Matrix Metalloproteinases in Angiogenesis and Cancer. *Front Oncol*. 2019. V. 9. P. 1370. DOI: 10.3389/fonc.2019.01370.

13. Авдеева А.С., Александрова Е.Н., Каратаев Д.Е., Панасюк Е.Ю., Смирнов А.В., Черкасова М.В., Насонов Е.Л. Взаимосвязь уровня матриксной металлопротеиназы-3 и

деструктивных изменений суставов при раннем и развернутом ревматоидном артрите. Терапевтический архив. 2016. V. 5. P. 13-18. DOI: 10.17116/terarkh201688513-18.

14. Li Y., Lu Y., Zhao Z., Wang J., Li J., Wang W., Li S., Song L. Relationships of MMP-9 and TIMP-1 proteins with chronic obstructive pulmonary disease risk: a systematic review and meta-analysis. *J. Res. Med. Sci.* 2016; 21:12. DOI: 10.4103/1735-1995.178737.

15. Knight B.E., Kozlowski N., Havelin J., King T, Crocker S.J., Young E.E., Baumbauer K.M. TIMP-1 Attenuates the Development of Inflammatory Pain Through MMP-Dependent and Receptor-Mediated Cell Signaling Mechanisms. *Front Mol. Neurosci.* 2019. V. 12. P. 220. DOI: 10.3389/fnmol.2019.00220.