

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В СОДЕРЖАНИИ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ В МИТОХОНДРИЯХ КЛЕТОК СЕРДЦА НА ЭТАПАХ РАЗВИТИЯ МЕЛАНОМЫ B16/F10, СОПРЯЖЕННОЙ С ХРОНИЧЕСКОЙ НЕЙРОГЕННОЙ БОЛЬЮ

Франциянц Е. М., Нескубина И. В., Каплиева И. В., Сурикова Е. И., Черярина Н. Д., Бандовкина В. А., Погорелова Ю. А., Шихлярова А. И., Трепитаки Л. К., Немашкалова Л. А., Позднякова В. В., Солдаткина Н. В., Маслов А. А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 344037, ул. 14 линия, 63, Ростов-на-Дону, Россия

Для корреспонденции: Ирина Валерьевна Нескубина? к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» МЗ РФ, e-mail: nes kubina.irina@mail.ru

For correspondence: Irina V. Neskubina, PhD, senior researcher at Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, National Medical Research Centre for Oncology, e-mail: nes kubina.irina@mail.ru

Информация об авторах:

Frantsiyants E. M., <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>
Neskubina I. V., <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>
Kapljeva I. V., <http://orcid.org/0000-0002-3972-2452>
Surikova E. I., <http://orcid.org/0000-0002-4318-7587>
Cheryarina N. D., <http://orcid.org/0000-0002-3711-8155>
Bandovkina V. A., <http://orcid.org/0000-0002-2302-8271>
Pogorelova Yu. A., <http://orcid.org/0000-0002-2674-9832>
Shikhlyarova A. I., <https://orcid.org/0000-0003-2943-7655>
Trepitaki L. K., <http://orcid.org/0000-0002-9749-2747>
Nemashkalova L. A., <https://orcid.org/0000-0003-2713-8598>
Pozdnyakova V. V., <https://orcid.org/0000-0002-3782-6899>
Soldatkina N. V., <https://orcid.org/0000-0003-4902-5789>
Maslov A. A., <https://orcid.org/0000-0002-0118-4935>

РЕЗЮМЕ

Целью исследования было изучение уровня стероидных гормонов в митохондриях клеток сердца на этапах роста меланомы B16/F10, сопряженной с хронической нейрогенной болью у мышей линии C57BL/6 обоего пола. Работа выполнена на мышах линии C57BL/6 обоего пола (n=336). Экспериментальные группы: интактная (♂ n=21; ♀ n=21); контрольная (♂ n=21; ♀ n=21) - модель хронической нейрогенной боли (ХНБ); группа сравнения (♂ n=63; ♀ n=63) - мыши с меланомой (B16/F10); основная (♂ n=63; ♀ n=63) (ХНБ+B16/F10) - меланому перевивали через 3 недели после создания ХНБ. В митохондриальных образцах методом ИФА определяли концентрацию: эстрадиола (пг/г белка), эстрона (пг/г белка), прогестерона (нг/г белка), общего тестостерона (нг/г белка), свободного тестостерона (пг/г белка). При ХНБ изменения уровней половых гормонов были определены только в митохондриях сердца мышей-самок: эстрадиол был снижен в 4,6 раза, эстрон в 2,2 раза, прогестерон в 1,8 раза (p<0,05), общий тестостерон в 2,4 раза по сравнению с интактными значениями. Рост меланомы (3 недели) у самок снижал уровень эстрадиола в 1,7 раза (p<0,05), эстрона в 1,8 раза (p<0,05), прогестерона в 2,1 раза и общего тестостерона в 2,3 раза относительно интактных значений. У самцов в этот же срок снижался лишь уровень общего тестостерона в 2,1 раза. Рост меланомы на фоне ХНБ (3 недели) у самок снижал уровень эстрадиола в 1,6 раза (p<0,05) относительно контрольных величин. При этом у самцов обнаружено снижение уровней эстрадиола, общего и свободного тестостерона в 1,3 раза (p<0,05), в 1,9 раза (p<0,05) и 2,7 раза, а также повышенный уровень эстрона в 1,6 раза (p<0,05). В большей степени ХНБ и рост меланомы B16/F10 ослабляет сердце самок через вовлечение более широкого спектра гормонов и снижение их уровней в митохондриях сердца, нежели у самцов. При сочетании ХНБ с меланомой B16/F10 у самцов определялась более существенная разбалансировка гормонального фона, чем у самок.

Ключевые слова: митохондрии клеток, сердце, меланома B16/F10, хроническая нейрогенная боль, эстрадиол, эстрон, прогестерон, тестостерон, мыши.

GENDER DIFFERENCES IN LEVELS OF STEROID HORMONES IN HEART CELL MITOCHONDRIA AT THE STAGES OF B16/F10 MELANOMA DEVELOPMENT COMBINED WITH CHRONIC NEUROGENIC PAIN

Frantsiyants E. M., Neskubina I. V., Kapljeva I. V., Surikova E. I., Cheryarina N. D., Bandovkina V. A., Pogorelova Yu. A., Shikhlyarova A. I., Trepitaki L. K., Nemashkalova L. A., Pozdnyakova V. V., Soldatkina N. V., Maslov A. A.

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russia

SUMMARY

Aim - an analysis of levels of steroid hormones in heart cell mitochondria at the stages of B16/F10 melanoma development in combination with chronic neurogenic pain in male and female C57BL/6 mice. The study included male and female C57BL/6 mice (n=336). Experimental groups were: intact animals (♂ n=21; ♀ n=21); controls (♂ n=21; ♀ n=21) with a model of chronic neurogenic pain (CNP); the comparison group (♂ n=63; ♀ n=63) with melanomas (B16/F10); the main group (♂ n=63; ♀ n=63) (CNP+B16/F10) with melanoma transplanted 3 weeks after the CNP model creation. Levels of estradiol (pg/g protein), estrone (pg/g protein), progesterone (ng/g protein), total testosterone (ng/g protein), and free testosterone (pg/g protein) were determined by ELISA in mitochondrial samples. In animals with CNP, changes in levels of steroid hormones were detected only in heart mitochondria of female mice: estradiol was reduced by 4.6 times, estrone by 2.2 times, progesterone by 1.8 times (p<0.05), and total testosterone by 2.4 times compared with intact values. Melanoma growth (3 weeks) in females downregulated levels of estradiol by 1.7 times (p<0.05), estrone by 1.8 times (p<0.05), progesterone by 2.1 times, and total testosterone by 2.3 times compared with intact values. In males, only total testosterone decreased by 2.1 times during the same period. Melanoma growth in presence of CNP (3 weeks) in females decreased levels of estradiol by 1.6 times (p<0.05) compared with control values, while males showed reduced levels of estradiol and total and free testosterone by 1.3 times (p<0.05), 1.9 times (p<0.05) and 2.7 times, respectively, as well as elevated levels of estrone by 1.6 times (p<0.05). CNP and the growth of B16/F10 melanoma to a greater extent weaken the heart of females due to the involvement of a wider spectrum of hormones and a decrease in their levels in the heart mitochondria, compared to males. When CNP was combined with B16/F10 melanoma, a more significant hormonal imbalance was determined in males than in females.

Key words: cell mitochondria, heart, B16/F10 melanoma, chronic neurogenic pain, estradiol, estrone, progesterone, testosterone, mice.

Открытие комплексной регуляции функций митохондрий гормонами – одно из важных достижений митохондриологии [1]. Эстрогены оказывают прямое и косвенное влияние на функцию митохондрий в различных тканях. Роль эстрогенов во влиянии на функциональное состояние митохондрий была достаточно хорошо определена [2; 3], однако защитные эффекты эстрогенов в митохондриях еще предстоит полностью выяснить [2; 3]. Известно, что стероидные рецепторы - ER α и ER β присутствуют в митохондриях различных морфологических типов клеток и тканей [4]. Эстрогены регулируют функцию митохондрий для достижения своих физиологических и фармакологических эффектов через активацию геномных ER α и ER β , которые в свою очередь стимулируют транскрипцию ядерного респираторного фактора - NRF-1, и напрямую взаимодействуют с митохондриальной ДНК (мтДНК), чтобы способствовать ее транскрипции [5]. Вместе с тем системный недостаток ER α приводит к ультраструктурному повреждению и снижению дыхательной функции изолированных митохондрий сердца мыши после сердечной ишемии-реперфузии [6]. В исследовании Kamraengsri T. et al. (2021) [7] было высказано предположение, что истощение женских половых гормонов нарушает митохондриальную аутофагию в сердце. Стероидные рецепторы на мембранах митохондрий экспрессируют сигнал митохондриальной локализации (MLS) [8], а прогестерон напрямую влияет на митохондриальную активность через сигнал-рецептор MLS. Этот путь ведет к прогестерон-зависимому увеличению клеточного дыхания и может играть определенную роль во многих физиологических процессах, начиная от модуля-

ции клеточного дыхания до более масштабного воздействия на ткани, требующие повышенной энергии для удовлетворения метаболических потребностей организма [8].

Ряд исследований установили, что тестостерон оказывает защитное действие на митохондрии [9]. У кастрированных крыс индукция инфаркта миокарда (ИМ) вызывала более серьезные изменения в митохондриальных структурах, приводящие к апоптозу кардиомиоцитов и нарушению сердечной функции [10; 9]. Эти митохондриальные изменения были блокированы добавлением тестостерона с ассоциированным увеличением АМР-активируемой протеинкиназы (АМПК), которая важна для регуляции клеточного энергетического гомеостаза и инициацией рецептора- γ , активируемого пролифератором пероксисом коактиватором 1 (PGC1 α), являющийся коактиватором митохондриального биогенеза в клетках [10]. Кроме того было определено, что апоптоз кардиомиоцитов и окислительный стресс снижаются за счет активации тестостероном фосфорилирования серин-треонинкиназы (Akt) в сердечных миоцитах [11; 9]. Анализируя все выше сказанное можно утверждать, что половые гормоны защищают митохондрии, путем сдерживания апоптоза, стабилизации структуры митохондрий, модуляции клеточного дыхания, а значит, непосредственно влияют на функциональное состояние органов в целом. Бесспорно, изучение патогенетических механизмов любой болезни требует привлечение экспериментальных моделей и приемов [12; 13; 14], что является фундаментом для адаптированных клинических исследований на людях.

Целью исследования явилось изучение уровня стероидных гормонов в митохондриях клеток

сердца на этапах роста меланомы B16/F10, сопряженной с хронической нейрогенной болью у мышей линии C57BL/6 обоего пола.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на мышах линии C57BL/6 (n=336) обоего пола 8 недельного возраста с начальной массой 21-22 г. Животные были получены из ФГБУ МНИЦ Научный центр биомедицинских технологий «Андреевка» ФМБА (Московская область). В работе использовали клеточную линию мышинной меланомы B16/F10, полученную из ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Работа с животными проводилась в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (Директива 86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, а также в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава России от 19 июня 2003 г. № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики». Животные содержались при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Комиссией по биоэтике ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России от 19. 12. 2019, был одобрен протокол исследования (протокол этического комитета №14/74). Манипуляции с животными производили в боксе с соблюдением общепринятых правил асептики и антисептики.

Животные каждого пола были распределены методом случайной выборки на экспериментальные группы: интактная (♂ n=21; ♀ n=21); контрольная (♂ n=21, ♀ n=21) - воспроизведение модели хронической нейрогенной боли (ХНБ) [15]; группа сравнения (♂ n=63, ♀ n=63) - стандартная подкожной перевивка меланомы (B16/F10); основная группа (♂ n=63, ♀ n=63) (ХНБ+B16/F10) - меланому трансплантировали через 3 недели после создания модели ХНБ. Мышам основной группы (ХНБ+B16/F10) осуществляли перевязку седалищных нервов с 2-х сторон под ксила-золетилловым наркозом: ксилазин (препарат Ксила) внутримышечно, в дозе 0,05 мл/кг (по инструкции), через 10 минут вводили Золетил-50 в дозе 10 мг/100г. Через 3 недели после заживления операционной раны подкожно под правую лопатку вводили 0,5 мл взвеси опухолевых клеток меланомы B16/F10 в физиологическом растворе в разведении 1:10. Животным из группы сравнения трансплантировали меланому B16/F10 подкожно в той же дозе и объеме, что и в основной группе, но без воспроизведения модели ХНБ. Животных из основной группы и группы сравнения декапитировали

на гильотине в следующие сроки роста меланомы B16/F10: 1-я неделя -7 день роста, 2-я неделя - 14 день роста и 3-я неделя -21 день роста.

После декапитации у животных быстро извлекали сердце и выделяли митохондрии по методу Егоровой М.В., Афанасьева С.А. (2011) [16] с применением холододового дифференциального центрифугирования на высокоскоростной рефрижераторной центрифуге Avanti J-E, BECTON COULTER, USA. Митохондриальные образцы (концентрация белка 4-6 г/л) до анализа хранили при -80°C в среде выделения. В образцах митохондрий с помощью тест-систем на ИФА-анализаторе (Infinite F50 Tecan, Austria) определяли концентрацию: эстрадиола (пг/г белка), эстрогена (пг/г белка) (DBC, Канада); прогестерона (нг/г белка), общего тестостерона (нг/г белка), свободного тестостерона (пг/г белка) (ХЕМА, Россия) и белка в мг/мл - биуретовым методом (Ольвекс Диагностикум, Россия) на автоматическом анализаторе ChemWell (Awareness Technology INC, USA).

Статистический анализ результатов проводили – пакет программ Statistica 10.0. Полученные данные подвергали анализу на соответствие распределения признаков нормальному закону распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка (для малых выборок). Сравнение количественных данных в группах (независимые выборки) проводили с использованием критерия Краскела-Уоллиса (множественные сравнения). Данные таблиц представлены в виде $M \pm m$, где M - среднее арифметическое значение, m - стандартная ошибка среднего, за уровень статистической значимости принимали $p < 0,05$. Полученные результаты статистически обрабатывали с соблюдением общих рекомендаций для медицинских исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты эксперимента по изучению содержания половых гормонов в митохондриях клеток сердца мышей самок и самцов при влиянии роста меланомы B16/F10 и хронической нейрогенной боли представлены в таблицах 1 и 2.

Установлено, что у мышей-самок ХНБ способствовала снижению содержания большинства изучаемых половых гормонов в митохондриях клеток сердца (таблица 1). Так уровень эстрадиола был снижен в 4,6 раза, уровень эстрогена в 2,2 раза, уровень прогестерона в 1,8 раза ($p < 0,05$) и уровень общего тестостерона в 2,4 раза соответственно. Вместе с тем, в митохондриях клеток сердца мышей-самцов при ХНБ не было зафиксировано статистически значимых изменений в уровне определяемых гормонов (таблица 2).

Таблица 1

Содержание половых гормонов в митохондриях клеток сердца самок мышей в динамике роста меланомы B16/F10, сопряженной с хронической нейрогенной болью

	Эстрадиол пг/г белка	Эстрон пг/г белка	Прогестерон нг/г белка	Тестостерон общий нг/г белка	Тестостерон свободный пг/г белка
Интактная группа	87,32±4,281	70,832±4,385	1,4113±0,170	0,932±0,099	1,2538±0,144
Контрольная группа (ХНБ)	18,855±2,3951 $p_1=0,0000$	32,643±3,2971 $p_1=0,0000$	0,764±0,0771 $p_1=0,0047$	0,3816±0,0561 $p_1=0,0004$	1,0187±0,129
Рост меланомы B16/F10 (группа сравнения)					
1 неделя	51,745±3,4691 $p_1=0,0000$	39,828±2,9501 $p_1=0,0000$	0,7971±0,0901 $p_1=0,0078$	0,3776±0,0531 $p_1=0,0003$	0,9372±0,128
2 неделя	60,661±3,8551 $p_1=0,0005$	28,89±3,4631 $p_1=0,0000$	0,7635±0,0981 $p_1=0,0064$	0,4225±0,0411 $p_1=0,0004$	1,1908±0,148
3 неделя	52,394±3,1521 $p_1=0,0000$	38,807±2,9121 $p_1=0,0000$	0,6559±0,0781 $p_1=0,0016$	0,3970±0,0531 $p_1=0,0004$	1,0491±0,125
ХНБ + рост меланомы B16/F10 (основная группа)					
1 неделя	63,372±3,8052 $p_2=0,0000$	35,171±3,426	0,9347±0,125	0,6115±0,0562 $p_2=0,0134$	1,0868±0,123
2 неделя	35,704±4,2832 $p_2=0,0000$	35,309±3,338	0,8459±0,107	0,6424±0,0432 $p_2=0,0031$	1,1333±0,145
3 неделя	11,855±1,8572 $p_2=0,0394$	38,097±3,851	0,7425±0,081	0,3178±0,043	0,9516±0,123

Примечание: статистически значимые различия 1 - по отношению к уровню в интактной группе; 2 - по отношению к уровню в группе ХНБ (контроль). ХНБ – хроническая нейрогенная боль.

Таблица 2

Содержание половых гормонов в митохондриях клеток сердца самцов мышей в динамике роста меланомы B16/F10, сопряженной с хронической нейрогенной болью

	Эстрадиол пг/г белка	Эстрон пг/г белка	Прогестерон нг/г белка	Тестостерон общий нг/г белка	Тестостерон свободный пг/г белка
Интактная группа	70,361±4,565	42,962±4,347	1,156±0,163	0,8547±0,126	0,89184±0,121
Контрольная группа (ХНБ)	61,378±4,231	48,225±4,637	0,785±0,089	0,7891±0,111	0,83145±0,123
Рост меланомы B16/F10 (группа сравнения)					
1 неделя	51,229±3,1131 $p_1=0,0046$	53,739±4,249	1,1206±0,134	0,6166±0,047	1,0667±0,144
2 неделя	87,813±4,236	46,667±3,651	1,0051±0,140	0,6362±0,0711 $p_1=0,0073$	0,9005±0,132
3 неделя	59,272±3,991	38,01±3,956	0,8225±0,114	0,4125±0,0541 $p_1=0,0000$	1,2494±0,171
ХНБ + рост меланомы B16/F10 (основная группа)					
1 неделя	55,531±3,684	31,171±3,5482 $p_2=0,0128$	0,8095±0,114	0,3833±0,0632 $p_2=0,0080$	1,2443±0,156
2 неделя	49,011±3,800	45,161±3,692	0,9629±0,137	0,5326±0,078	0,86209±0,137
3 неделя	46,346±3,7142 $p_2=0,02041$	76,11±5,3832 $p_2=0,0020$	0,7185±0,081	0,4245±0,0592 $p_2=0,0137$	0,3098±0,0472 $p_2=0,0019$

Примечание: статистически значимые различия 1 - по отношению к уровню в интактной группе; 2 - по отношению к уровню в группе ХНБ (контроль). ХНБ – хроническая нейрогенная боль.

Следующий раздел работы был посвящен изучению уровней половых гормонов в митохондриях сердца животных на этапах роста меланомы B16/F10 (таблица 1, 2). У мышей-самок в митохондриях сердца через 1 неделю роста меланомы было зафиксировано снижение уровня эстрадиола в 1,7 раза ($p < 0,05$), уровня эстрогена в 1,8 раза ($p < 0,05$), уровня прогестерона в 1,8 раза ($p < 0,05$) и общего тестостерона в 2,5 раза по сравнению со значениями в интактной группе. У самцов мышей в этот же период (1 неделя) роста меланомы отмечали статистически значимое снижение всего одного уровня гормона – эстрадиола в 1,4 раза ($p < 0,05$). Через 2 недели роста меланомы B16/F10 у мышей-самок уровни эстрадиола, эстрогена, прогестерона и общего тестостерона оставались ниже интактных значений в 1,4 раза ($p < 0,05$), 2,4 раза, 1,8 раза ($p < 0,05$) и 2,2 раза соответственно. В то же время, у самцов статистически значимые изменения содержания гормонов в митохондриях сердца не были выявлены. Через 3 недели роста меланомы B16/F10 динамика изучаемых гормонов у самок соответствовала предыдущей неделе эксперимента. Так уровни эстрадиола, эстрогена, прогестерона и общего тестостерона продолжали быть сниженными по сравнению с интактными значениями в 1,7 раза ($p < 0,05$), в 1,8 раза ($p < 0,05$), в 2,1 раза и 2,3 раза соответственно. У самцов через 3 недели по сравнению с интактными значениями уровень общего тестостерона снизился в 2,1 раза.

В финальной части работы было проведено изучение сочетанного влияния ХНБ и злокачественного процесса на содержание половых гормонов в митохондриях клеток сердца у самок и самцов мышей (таблица 1, 2). Через 1 неделю роста меланомы B16/F10 на фоне ХНБ у мышей-самок в митохондриях сердца выявили высокие уровни эстрадиола и общего тестостерона по сравнению со значениями в контрольной группе в 3,4 раза и в 1,6 раза ($p < 0,05$) соответственно. У самцов на данном этапе развития опухоли на фоне ХНБ обнаружили низкие значения эстрогена в 1,5 раза ($p < 0,05$) и общего тестостерона в 2 раза. Через 2 недели у самок уровень эстрадиола был уже не столь высоким и отличался от контрольных значений всего в 1,9 раза ($p < 0,05$), а общий тестостерон оставался на уровне предыдущего срока, превышая контрольные величины в 1,7 раза ($p < 0,05$). Вместе с тем, у самцов статистически значимые изменения в уровне определяемых гормонов не отмечали. Через 3 недели сочетанного влияния двух патологических процессов (ХНБ+меланома B16/F10) у самок было определено, что в митохондриях сердца уровень всего одного гормона - эстрадиола статистиче-

ски значимо изменился и стал в 1,6 раза ($p < 0,05$) ниже контрольных величин. В то же время у самцов обнаружено снижение уровней эстрадиола, общего тестостерона и свободного тестостерона в 1,3 раза ($p < 0,05$), в 1,9 раза ($p < 0,05$) и 2,7 раза, а также повышенный уровень эстрогена в 1,6 раза ($p < 0,05$).

Таким образом, на всех этапах эксперимента в митохондриях клеток сердца в зависимости от пола было зафиксировано различное количество гормонов, вовлеченных в патологические процессы. Наиболее активно отреагировали митохондрии сердца самок при ХНБ и росте меланомы B16/F10, митохондрии сердца самцов проявляли большую стабильность при ХНБ и меланоме B16/F10. Однако при сочетании ХНБ и меланомы B16/F10 отмечали сниженный гормональный фон именно у самцов. Объединяет все выявленные особенности функционирования митохондрий сердца самок и самцов не зависимо от патологии факт снижения уровня половых гормонов, что свидетельствует об ослаблении гормональной защиты митохондрий.

ОБСУЖДЕНИЕ

Для сохранения адекватной функции сердца в условиях любой патологии необходим хорошо сбалансированный гормональный и метаболический гомеостаз для поддержания энергетического метаболизма миокарда [17]. Митохондрии, которые до сих пор были описаны как основной источник клеточной энергии, также являются местом синтеза всех стероидных гормонов [18]. К ним относятся прогестагены (например, прогестерон), минералокортикоиды (например, альдостерон), глюкокортикоиды (например, кортизол и кортикостерон), андрогены (например, тестостерон) и эстрогены (например, эстриол) [19].

Следует отметить, что женский и мужской организмы имеют качественно разные митохондрии [18]. В самом деле, даже если все митохондрии и мтДНК однозначно унаследованы от матери [18], различия в составе и функции белков приобретаются в процессе развития, и в результате многие аспекты биологии митохондрий у взрослых животных различаются по полу [20]. Отчасти это связано с тем, что половые гормоны регулируют биогенез и функцию митохондрий [21]. Метаболические сигнатуры, которые косвенно отражают митохондриальный и клеточный метаболизм всего организма, показывают, что в норме до одной трети метаболитов различаются между женщинами и мужчинами [18].

Поскольку установлен факт существования различного исходного уровня метаболитов в целом, а также гормонального фона в митохондри-

ях в зависимости от пола [18], то можно предположить, что и проявления митохондриального дисбаланса, присутствующие в организме в ответ на патологический процесс будут различны у каждого пола. В представленном исследовании было определено, что в ответ на ХНБ в митохондриях клеток сердца самок мышей произошло одновременное снижение четырех определяемых гормонов (эстрадиол, эстрон, прогестерон, общий тестостерон) из пяти, в то время как у самцов ни одного. Следовательно, хронический болевой синдром в большей степени ослабляет сердце самок через вовлечение более широкого спектра гормонов и снижение их уровня в митохондриях сердца, нежели у самцов.

Похожая ситуация фиксировалась и в случае самостоятельного роста меланомы B16/F10, в митохондриях сердца у самок был выявлен низкий гормональный фон по четырем показателям (эстрадиол, эстрон, прогестерон, общий тестостерон) против одного показателя (прогестерон) у самцов. Данный факт показывает, что меланома B16/F10 вызывает более выраженную дестабилизацию митохондрий сердца у самок, чем у самцов. Различия по полу в дестабилизирующем влиянии меланомы на гормональный фон самок и самцов были показаны ранее в немалигнизированных органах [22] и в злокачественной опухоли и окружающих тканях [23]. По результатам представленного исследования можно утверждать, что независимо от пола животных имеет место вовлечение немалигнизированного органа - сердца в опухолевую болезнь с дестабилизацией субклеточных структур, в которых созданы условия, приводящие к подавлению защитных гормонозависимых механизмов.

Совершенно другая ситуация складывается в случае возникновения двух патологических процессов (ХНБ и меланома B16/F10) в организме животных сообразно полу. У самок на начальном этапе роста опухоли, сочетанной с ХНБ в митохондриях сердца, отмечался повышенный гормональный фон по двум показателям (эстрадиол, общий тестостерон), при этом у самцов напротив фиксировали снижение по двум показателям - эстрон, общий тестостерон. К терминальному этапу роста опухоли, сопряженной с ХНБ у самок регистрировали изменения всего по одному показателю - снижению эстрадиола, а у самцов определялась более существенная разбалансировка гормонального фона с превалированием сниженного уровня эстрадиола, общего и свободного тестостерона.

Известно, что тестостерон оказывает защитное действие на митохондрии кардиомиоцитов, а при его отсутствии происходит индукция инфаркта миокарда вызывая серьезные изменения

в митохондриальных структурах с дальнейшим усилением апоптоза кардиомиоцитов [10]. По результатам представленного исследования, именно на третьей недели сочетанного влияния ХНБ и меланомы на организм мышей-самцов, определялось падение уровня, как общего тестостерона, так и свободного в митохондриях сердца, что свидетельствует о снижении защитного действия тестостерона и возможном усилении апоптоза. Защитные резервы митохондрий сердца были ослаблены еще и за счет падения уровня эстрадиола мышей-самцов в этих же условиях двух патологий. Следует отметить, что не только эстрадиол, но и другие стероидные гормоны регулируют дыхательную способность митохондрий и участвуют в подавлении окислительного стресса [18]. Следовательно, можно говорить об опосредованном гормональном регулировании функций митохондрий, а значит в данном случае (ХНБ + меланома B16/F10) об активации апоптоза, о снижении функции дыхания митохондрий сердца у самцов с усилением окислительного стресса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог данному исследованию, хотелось бы отметить, что у экспериментальных животных обоего пола (мыши линии C57BL/6) были определены половые различия в стероидном статусе митохондрий сердца при ХНБ, росте меланомы и сочетании ХНБ с меланомой. Патологически измененный гормональный фон у представителей каждого пола влечет за собой соответственно и разный подход к осмыслению патогенетических факторов, а значит и их коррекции. Полагаем, что включение представителей обоих полов в экспериментальные исследования способствуют дальнейшему развитию более адаптированных доклинических и клинических исследований исходя из известных половых различий в митохондриальной биологии, физиологии стресса и риске заболеваний у людей.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of Interests. The authors declare that there is no conflict of interests.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кулинский В. И., Колесниченко Л. С. Регуляция гормонами и сигнал-трансдукторными системами метаболических и энергетических функций митохондрий. Биомедицинская химия. 2006;52(5):425-447.
2. Jia G, Arora A. R, Sowers J. R. Chapter Nine - Estrogen and Mitochondria Function in Cardiorenal Metabolic Syndrome. In: Heinz DO (ed) Progress in Molecular Biology and Translational Science.

2014;127:229-249. doi: 10.1016/B978-0-12-394625-6.00009-X.

3. Carson J. A, Manolagas S. C. Effects of sex steroids on bones and muscles: Similarities, parallels, and putative interactions in health and disease. *Bone*. 2015;80:67–78. doi:10.1016/j.bone.2015.04.015.

4. Psarra A-M. G, Sekeris C. E. Glucocorticoid receptors and other nuclear transcription factors in mitochondria and possible functions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 2009;1787:431–436. doi:10.1016/j.bbabo.2008.11.011.

5. Klinge C. M. Estrogens regulate life and death in mitochondria. *J Bioenerg Biomembr*. 2017;49(4):307-324. doi: 10.1007/s10863-017-9704-1.

6. Zhai P, Eurell T. E, Cooke P. S, Lubahn D. B, Gross D. R. Myocardial ischemia-reperfusion injury in estrogen receptor-alpha knockout and wild-type mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;278:1640–1647.

7. Kampaengsri T, Ponpuak M, Wattanapermpool J, Bupha-Intr T. Deficit of female sex hormones desensitizes rat cardiac mitophagy. *Chin J Physiol*. 2021;64(2):72-79. doi: 10.4103/cjp.cjp_102_20. PMID: 33938817.

8. Qunsheng Dai, Anish A. Shah, Rachana V. Garde, Bryan A. Yonish, Li Zhang, Neil A. Medvitz, Sara E. Miller, Elizabeth L. Hansen, Carrie N. Dunn, Thomas M. Price. A Truncated Progesterone Receptor (PR-M) Localizes to the Mitochondrion and Controls Cellular Respiration. *Molecular Endocrinology*. 2013;27(5):741–753, doi:10.1210/me.2012-1292.

9. Bianchi V. E. Testosterone, myocardial function, and mortality. *Heart Fail Rev*. 2018;23:773–788. doi:10.1007/s10741-018-9721-0.

10. Wang F, Yang J, Sun J, Dong Y, Zhao H, Shi H, Fu L. Testosterone replacement attenuates mitochondrial damage in a rat model of myocardial infarction. *J Endocrinol*. 2015;225(2):101–111. doi:10.1530/JOE-14-0638.

11. Ikeda Y, Aihara K, Akaike M, Sato T, Ishikawa K, Ise T, Yagi S, Iwase T, Ueda Y, Yoshida S, Azuma H, Walsh K, Tamaki T, Kato S, Matsumoto T. Androgen receptor counteracts doxorubicin-induced cardiotoxicity in male mice. *Mol Endocrinol*. 2010;24(7):1338–1348. doi:10.1210/me.2009-0402.

12. Сидоренко Ю. С., Франциянц Е. М., Комарова Е. Ф., Погорелова Ю. А., Шихлярова А. И. Способ получения экспериментальных злокачественных опухолей легких. Патент на изобретение RU 2375758 С1, 10.12.2009. Заявка № 2008133091/14 от 11.08.2008.

13. Франциянц Е. М., Каплиева И. В., Сурикова Е. И., Нескубина И. В., Бандовкина В. А., Трепитаки Л. К., Лесовая Н. С., Черярина Н. Д., Погорелова Ю. А., Немашкалова Л. А. Влияние нокаута по гену урокиназы на рост меланомы в эксперименте. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2019;39(4):62-70.

14. Жукова Г. И., Шихлярова А. И., Логинова Л. Н., Протасова Т. П. Эффекты комбинированного воздействия низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона и комплексов незамени-

мых аминокислот у крыс-опухоленосителей старческого возраста. *Южно-российский онкологический журнал*. 2020;1(4):38-46.

15. Кит О. И., Франциянц Е. М., Каплиева И. В., Трепитаки Л. К., Котиева И. М. Способ модификации хронической болью злокачественного роста меланомы В16 у мышей. Патент на изобретение RU 2650587 С1, 16.04.2018. Заявка № 2017114818 от 26.04.2017.

16. Егорова М. В., Афанасьев С. А. Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: Современные методические приемы. *Сибирский медицинский журнал*. 2011;26(1-1):22-28.

17. Peter Wolf, Yvonne Winhofer, Martin Krššák, Michael Krebs. Heart, lipids and hormones. *Endocr Connect*. 2017;6(4):59–69. doi:10.1530/EC-17-0031.

18. Martin Picard, Bruce S McEwen, Elissa S Epel, Carmen Sandi. An energetic view of stress: Focus on mitochondria. *Front Neuroendocrinol*. 2018;49:72–85. doi:10.1016/j.yfrne.2018.01.001.

19. Midzak A, Papadopoulos V. Adrenal mitochondria and steroidogenesis: from individual proteins to functional protein assemblies. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2016;7:106. doi: 10.3389/fendo.2016.00106.

20. Ventura-Clapier R, Moulin M, Piquereau J, Lemaire C, Mericskay M, Veksler V, Garnier A. Mitochondria: a central target for sex differences in pathologies. *Clin Sci (Lond)*. 2017;131:803–822. doi:10.1042/CS20160485.

21. Gaignard P, Liere P, Therond P, Schumacher M, Slama A, Guennoun R. Role of sex hormones on brain mitochondrial function, with special reference to aging and neurodegenerative diseases. *Front Aging Neurosci*. 2017;9:406. doi: 10.3389/fnagi.2017.00406.

22. Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Каплиева И. В., Трепитаки Л. К., Черярина Н. Д., Димитриади С. Н., Пржедецкий Ю. В. Влияние роста перевивной меланомы в16/f10 на функционирование гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и тиреоидной осей организма у самцов и самок мышей. *Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки*. 2017;3-2(195-2):118-124.

23. Бандовкина В.А., Франциянц Е.М., Погорелова Ю.А., Черярина Н.Д. Особенности стероидогенеза в опухоли и окружающих тканях при экспериментальной меланоме В16. *Молекулярная медицина*. 2015;5:47-51.

REFERENCES

1. Kulinskij V. I., Kolesnichenko L. S. Regulation of metabolic and energetic mitochondrial functions by hormones and signal transduction systems. *Biochemistry*. 2006;52(5):425-447. (In Russ.).

2. Jia G, Aror A. R, Sowers J. R. Chapter Nine - Estrogen and Mitochondria Function in Cardiorenal Metabolic Syndrome. In: Heinz DO (ed) *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. 2014;127:229-249. doi: 10.1016/B978-0-12-394625-6.00009-X.

3. Carson J. A, Manolagas S. C. Effects of sex steroids on bones and muscles: Similarities, parallels, and putative interactions in health and disease. *Bone*. 2015;80:67–78. doi:10.1016/j.bone.2015.04.015.
4. Psarra A-M. G, Sekeris C. E. Glucocorticoid receptors and other nuclear transcription factors in mitochondria and possible functions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 2009;1787:431–436. doi:10.1016/j.bbabi.2008.11.011.
5. Klinge C. M. Estrogens regulate life and death in mitochondria. *J Bioenerg Biomembr*. 2017;49(4):307-324. doi: 10.1007/s10863-017-9704-1.
6. Zhai P, Eurell T. E, Cooke P. S, Lubahn D. B, Gross D. R. Myocardial ischemia-reperfusion injury in estrogen receptor-alpha knockout and wild-type mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;278:1640–1647.
7. Kampaengsri T, Ponpuak M, Wattanapermpool J, Bupha-Intr T. Deficit of female sex hormones desensitizes rat cardiac mitophagy. *Chin J Physiol*. 2021;64(2):72-79. doi: 10.4103/cjp.cjp_102_20. PMID: 33938817.
8. Qunsheng Dai, Anish A. Shah, Rachana V. Garde, Bryan A. Yonish, Li Zhang, Neil A. Medvitz, Sara E. Miller, Elizabeth L. Hansen, Carrie N. Dunn, Thomas M. Price. A Truncated Progesterone Receptor (PR-M) Localizes to the Mitochondrion and Controls Cellular Respiration. *Molecular Endocrinology*. 2013;27(5):741–753, doi:10.1210/me.2012-1292.
9. Bianchi V. E. Testosterone, myocardial function, and mortality. *Heart Fail Rev*. 2018;23:773–788. doi:10.1007/s10741-018-9721-0.
10. Wang F, Yang J, Sun J, Dong Y, Zhao H, Shi H, Fu L. Testosterone replacement attenuates mitochondrial damage in a rat model of myocardial infarction. *J Endocrinol*. 2015;225(2):101–111. doi:10.1530/JOE-14-0638.
11. Ikeda Y, Aihara K, Akaike M, Sato T, Ishikawa K, Ise T, Yagi S, Iwase T, Ueda Y, Yoshida S, Azuma H, Walsh K, Tamaki T, Kato S, Matsumoto T. Androgen receptor counteracts doxorubicin-induced cardiotoxicity in male mice. *Mol Endocrinol*. 2010;24(7):1338–1348. doi:10.1210/me.2009-0402.
12. Sidorenko YU. S., Franciyanc E. M., Komarova E. F., Pogorelova YU. A., Shihlyarova A. I. Method for obtaining experimental malignant lung tumors. Patent for the invention RU 23758 C1, 10.12.2009. Application № 2008133091/14 dated 11.08.2008. (In Russ.).
13. Franciyanc E. M., Kaplieva I. V., Surikova E. I., Neskubina I. V., Bandovkina V. A., Trepitaki L. K., Lesovaya N. S., Cheryarina N. D., Pogorelova YU. A., Nemashkalova L. A. Effect of urokinase gene-knockout on growth of melanoma in experiment. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2019;39(4):62-70. (In Russ.).
14. Zhukova G. I., Shihlyarova A. I., Loginova L. N., Protasova T. P. The effects of combined action of low-intensity electromagnetic radiation of the millimeter range and complexes of essential amino acids in tumor-bearing rats of old age. *South Russian Journal of Cancer*. 2020;1(4):38-46. (In Russ.).
15. Kit O. I., Franciyanc E. M., Kaplieva I. V., Trepitaki L. K., Kotieva I. M. A method for modifying the malignant growth of melanoma B16 in mice by chronic pain. Patent for the invention RU 2650587 C1, 16.04.2018. Application № 2017114818 dated 26.04.2017. (In Russ.).
16. Egorova M.V., Afanas'ev S.A. isolation of mitochondria from cells and tissues of animals and human: modern methodical approaches. *Siberian Medical Journal*. 2011;26(1-1):22-28.. 2011;26(1-1):22-28. (In Russ.).
17. Peter Wolf, Yvonne Winhofer, Martin Krššák, Michael Krebs. Heart, lipids and hormones. *Endocr Connect*. 2017;6(4):59–69. doi:10.1530/EC-17-0031.
18. Martin Picard, Bruce S McEwen, Elissa S Epel, Carmen Sandi. An energetic view of stress: Focus on mitochondria. *Front Neuroendocrinol*. 2018;49:72–85. doi:10.1016/j.yfrne.2018.01.001.
19. Midzak A, Papadopoulos V. Adrenal mitochondria and steroidogenesis: from individual proteins to functional protein assemblies. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2016;7:106. doi: 10.3389/fendo.2016.00106.
20. Ventura-Clapier R, Moulin M, Piquereau J, Lemaire C, Mericskay M, Veksler V, Garnier A. Mitochondria: a central target for sex differences in pathologies. *Clin Sci (Lond)*. 2017;131:803–822. doi:10.1042/CS20160485.
21. Gaignard P, Liere P, Therond P, Schumacher M, Slama A, Guennoun R. Role of sex hormones on brain mitochondrial function, with special reference to aging and neurodegenerative diseases. *Front Aging Neurosci*. 2017;9:406. doi: 10.3389/fnagi.2017.00406.
22. Franciyanc E. M., Bandovkina V. A., Kaplieva I. V., Trepitaki L. K., Cheryarina N. D., Dimitriadi S. N., Przhedekij YU. V. Influence of transplantable B16/F10 melanoma growth on hypothalamic-pituitary-adrenal and thyroid axes in male and female mice. *News of higher educational institutions. Science journal bulletin of higher education institutes north caucasus region. Natural sciences*. 2017;3-2(195-2):118-124. (In Russ.).
23. Bandovkina V. A., Franciyanc E. M., Pogorelova YU. A., Cheryarina N. D. Characteristics of steroidogenesis in the tumor and surrounding tissue in experimental melanoma B16. *Molecular medicine*. 2015;5:47-51. (In Russ.).

