

Исследование экспрессии цитокинов при подкожной имплантации онкогенных и неонкогенных миллипоровых фильтров

Е. Ю. Рыбалкина, О. Ю. Сусова, Т. Г. Мойжесс

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Екатерина Юрьевна Рыбалкина Kate_Rybalкина@mail.ru

Введение. Выяснение механизмов канцерогенеза, индуцируемого инородными телами, — одна из актуальных проблем современной онкологии. Это обусловлено тем, что есть взаимосвязь между процессами воспаления и канцерогенеза. Сегодня уже не вызывает сомнений факт, что цитокины и сигнальные молекулы в очаге воспаления (продукты воспаления) могут способствовать инициации канцерогенеза, а также стимулировать опухолевую прогрессию. В случае канцерогенеза, индуцированного инородными телами, ключевым вопросом является понимание различий в реакции организма на имплантацию инородных тел, способных вызывать образование опухоли и не обладающих этой способностью. Феномен данного вида канцерогенеза заключается в возникновении сарком при подкожной имплантации мышам гидрофильных миллипоровых фильтров с диаметром пор, не превышающим 0,1 мкм, и неспособности индуцировать опухоли фильтров с диаметром пор, превышающим или равным 0,22 мкм.

Цель исследования — изучение различий между опухолеродными и неопухолеродными фильтрами на молекулярном уровне.

Материалы и методы. Методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени оценивали экспрессию генов различных цитокинов — продуктов клеток макрофагального происхождения, обитающих на поверхности имплантированных фильтров и в окружающей их капсуле. Сравнивали фильтры с диаметрами пор 0,025 мкм (канцерогенные) и 0,45 мкм (неканцерогенные) на сроках 8, 35 и 160 сут (5,5 мес) с момента имплантации.

Результаты и заключение. Через 8 сут мы получили достоверное ($p < 0,01$) превышение экспрессии гена цитокина интерлейкина 1 β (IL-1 β) клетками вокруг канцерогенных фильтров с порами 0,025 мкм по сравнению с неканцерогенными фильтрами с порами 0,45 мкм.

Через 35 дней показано достоверное ($p < 0,01$) превышение экспрессии IL-1 β , Tnf- α (фактора некроза опухоли α), iNOS (индуцируемой синтазы оксида азота) и IL-6 клетками вокруг фильтров 0,025 мкм по сравнению с 0,45 мкм. Количественной разницы в экспрессии Nf- κ B1 и Nf- κ B2 (транскрипционного фактора κ -B1 и κ -B2), Tgf- β (трансформирующего фактора роста β) и IL-10 не обнаружено.

Через 5,5 мес превышение экспрессии IL-1 β клетками на 0,025-фильтрах по-прежнему значимо. Для генов Tnf- α , iNOS, IL-6 и IL-10 разницы в экспрессии практически нет; для генов Nf- κ B1 и Nf- κ B2 и Tgf- β и COX-2 (циклооксигеназы 2) разница значима, при этом экспрессия этих генов была в клетках на неонкогенных фильтрах (0,45 мкм) выше, чем на онкогенных (0,025 мкм).

Ключевые слова: имплантированный миллипоровый фильтр, цитокин, саркома

Для цитирования: Рыбалкина Е. Ю., Сусова О. Ю., Мойжесс Т. Г. Исследование экспрессии цитокинов при подкожной имплантации онкогенных и неонкогенных миллипоровых фильтров. Успехи молекулярной онкологии 2019;6(3):57–62.

DOI: 10.17650/2313-805X-2019-6-3-57-62

Differences in the profile of cytokine expression induced by implantation of oncogenic and non-oncogenic millipore filters

E. Yu. Rybalkina, O. Yu. Susova, T. G. Moizhess

N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Background. Clarification of the mechanisms of carcinogenesis induced by foreign bodies is one of the urgent problems of modern oncology. This is due to the fact that there is a relationship between the processes of inflammation and carcinogenesis. Today, there is no doubt the fact that cytokines and signal molecules in the focus of inflammation (products of inflammation) can contribute to the initiation of carcinogenesis, as well as stimulate tumor progression. In the case of carcinogenesis induced by foreign bodies, the key issue is understanding the differences in the body's response to the implantation of foreign bodies that can cause tumor formation and do not have this ability. One of the phenomena of this type of carcinogenesis is the occurrence of sarcoma after the subcutaneous implantation in mice of hydrophilic millipore filters with a pore diameter not exceeding 0.1 μ m and the inability to induce tumors of one's with a pore diameter greater than or equal to 0.22 μ m.

The objective of our work was to study the differences between oncogenic and non-oncogenic filters at the molecular level.

Materials and methods. Reverse transcription polymerase chain reaction method was used to study the expression of a number of cytokines that are products of macrophage cells that live on the surface of implanted filters and in the surrounding capsule. Filters with pore diameters of 0.025 μ m (carcinogenic) and 0.45 μ m (non-carcinogenic) were compared in 8, 35 days and 5.5 months after implantation.

Results and conclusion. After 8 days we observed significant ($p < 0.01$) excess of expression of two cytokines interleukin 1β ($IL-1\beta$) by cells around oncogenic filters (with pore of $0.025 \mu\text{m}$) compared to non-oncogenic one's (with pore of $0.45 \mu\text{m}$) After 35 days, significant ($p < 0.01$) excess of expression of $IL-1\beta$, $Tnf-\alpha$, iNOS (induced nitric oxide synthase), and $IL-6$ by cells around the oncogenic filters ($0.025 \mu\text{m}$) compared to non-oncogenic one's ($0.45 \mu\text{m}$) was observed. There was no quantitative difference in the expression of $Nf-\kappa B1$ and $Nf-\kappa B2$ (nuclear factor $\kappa-B1$, $\kappa-B2$), $Tgf-\beta$ (transforming growth factor β), $IL-10$. After 5.5 months the expression of $IL-1\beta$ by cells on oncogenic filters was still significant; for $Tnf-\alpha$, iNOS, $IL-6$ and $IL-10$ there was no practically difference in expression. For $Nf-\kappa B1$ and $Nf-\kappa B2$, $Tgf-\beta$ and $COX-2$ (cyclooxygenase 2) the difference was significant, cells on non-oncogenic filters are expressed more then on oncogenic one's.

Key words: implantation of millipore filter, cytokine, sarcoma

For citation: Rybalkina E. Yu., Susova O. Yu., Moizhess T. G. Differences in the profile of cytokine expression induced by implantation of oncogenic and non-oncogenic millipore filters. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2019;6(3):57–62.

Введение

Старая, но не решенная до конца проблема канцерогенеза, индуцируемого имплантацией инородных тел, вновь приобретает актуальность, а внимание исследователей все более привлекают вопросы воспаления, являющегося причиной индукции злокачественных опухолей. Моделью канцерогенеза, индуцированного инородным телом, служит обычно подкожная имплантация пластинок из различных пластмасс мышам или крысам. Длительный срок (>12 мес) пребывания пластинки под кожей животного часто приводит к образованию сарком, берущих начало из клеток соединительно-тканной капсулы вокруг импланта [1].

Одним из феноменов данного вида канцерогенеза является возникновение сарком при подкожной имплантации мышам гидрофильных нитроцеллюлозных миллипоровых фильтров. При имплантации таких фильтров мышам было обнаружено, что их канцерогенность сильно зависит от размера пор [2]. В частности, имплантация фильтров с порами $\geq 0,22 \mu\text{m}$ не вызывала опухолей (неканцерогенные фильтры), а при размере пор $\leq 0,1 \mu\text{m}$ опухоли всегда возникали в большом количестве (канцерогенные фильтры). В той же работе было показано, что основным типом клеток на поверхности и вокруг всех видов фильтров были клетки макрофагального типа. Кроме этого, отмечено, что поры неканцерогенных фильтров в отличие от канцерогенных были пронизаны тонкими цитоплазматическими отростками. Преобладание макрофагов вокруг имплантатов заставило заподозрить, что именно эти клетки играют ключевую роль в данном виде канцерогенеза. В настоящее время много внимания уделяется взаимосвязи реакции воспаления (где ведущая роль принадлежит макрофагам) с канцерогенезом, а также роли провоспалительных цитокинов в инициации опухолевых клеток [3–5].

Цель исследования — выяснить, имеются ли различия в экспрессии цитокинов клетками, заселившимися опухолеродные и неопухолеродные фильтры.

Материалы и методы

Имплантация фильтров. Трехмесячным мышам, самкам линии BALb/c, под кожу спины имплантировали под эфирным наркозом гидрофильные целлюлозные

миллипоровые фильтры (Millipore corporation, США) диаметром 2 см с порами 0,45 и 0,025 мкм на срок 8, 35 и 160 сут. По достижении срока планируемого забоя мышей умерщвляли с применением цервикальной дислокации. Подрежая со всех сторон соединительную ткань, фильтры извлекали вместе с капсулой. Методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени исследовали экспрессию ряда цитокинов в клетках на поверхности фильтров.

Выделение РНК из ткани. Извлеченный из мыши фильтр вместе с окружающей капсулой быстро измельчали и помещали в 2–3 мл Trizol-Reagent (Invitrogen, США). Тотальную РНК выделяли по протоколу производителя. Качество выделенной РНК проверяли с помощью электрофореза в 1 % агарозном геле, содержащем 0,01 % бромистого этидия. Концентрацию РНК определяли с помощью спектрофотометра NanoVue Plus (GE Healthcare, США).

Полимеразная цепная реакция в реальном времени. Обратную транскрипцию проводили с помощью набора реагентов ОТ-1 (Синтол, Россия) в соответствии с протоколом производителя. Полимеразную цепную реакцию в реальном времени проводили с помощью набора реагентов компании «Синтол» (Кат. № R412) с интеркалирующим флуоресцентным агентом EvaGreen (Синтол, Россия) в соответствии с протоколом производителя. На 1 реакцию брали 50 нг комплементарной ДНК. Реакцию ставили в амплификаторе CFX96 Touch (Bio-Rad, США). Шаги амплификации: $95^\circ\text{C} - 5$ мин; $(95^\circ\text{C} - 13$ с, $60^\circ\text{C} - 20$ с, $72^\circ\text{C} - 15$ с) $\times 39$.

Нормализацию результатов проводили по экспрессии гена β -actin. Уровень экспрессии генов оценивался по значению $R = 2^{\Delta Ct}$. Последовательности пар праймеров представлены в табл. 1.

Статистический анализ. Для определения достоверности различий экспрессии цитокинов клетками на фильтрах с разными порами пользовались критерием Манна–Уитни. Брали 8–12 мышей на каждую точку.

Результаты и обсуждение

Через 8 сут после имплантации мы получили достоверное ($p < 0,01$) превышение экспрессии цитокина интерлейкина 1β ($IL-1\beta$) клетками вокруг опухолеродных фильтров (рис. 1).

Таблица 1. Праймеры, использованные для оценки экспрессии генов

Table 1. Primers used for evaluation of gene expression

Название гена Gene name	Последовательность Sequence	Длина фрагмента Fragment length	Статьи, в которых опубликованы праймеры Reference to publication on the primer
<i>β-actin</i>	For: 5'-GGCTGTATTCCCCTCCATCG-3' Rev: 5'-CCAGTTGGTAACAATGCCATGT-3'	154	[6]
<i>iNOS</i>	For: 5'-GTTCTCAGCCCAACAATACAAGA-3' Rev: 5'-GTGGACGGTTCGATGTAC-3'	127	[6]
<i>COX-2</i>	For: 5'-TTCCAATCCATGTCAAAACCGT-3' Rev: 5'-AGTCCGGGTACAGTCACACTT-3'	75	[6]
<i>IL-1β</i>	For: 5'-GAAATGCCACCTTTTGACAGTG-3' Rev: 5'-TGGATGCTCTCATCAGGACAG-3'	116	[6]
<i>Nf-κB1</i>	For: 5'-TTTTCGACTACGCAGTGACG-3' Rev: 5'-GTCCAGAAGGCTCAGGTCAG-3'	290	[7]
<i>Nf-κB2</i>	For: 5'-GCAGATAGCCCACGTCATTT-3' Rev: 5'-CAGGCATGTGCAATATTTGG-3'	275	[7]
<i>Tnf-α</i>	For: 5'-GGCCAACGGCATGGATCTCAA-3' Rev: 5'-TGTGGGTGAGGAGCACGTAGT-3'	121	[8]
<i>Tgf-β</i>	For: 5'-GCTGGTGAAACGGAAGCGCA-3' Rev: 5'-AGATGGCGTTGTTGCGGTCCA-3'	244	[8]
<i>IL-6</i>	For: 5'-TGATGCTGGTGACAACCAGGC-3' Rev: 5'-AGCCTCCGACTTGTGAAGTGGTA-3'	131	[8]
<i>IL-10</i>	For: 5'-TGCTCCTAGAGCTGCGGACT-3' Rev: 5'-TTCTGGGCCATGCTTCTCTGCC-3'	193	[8]

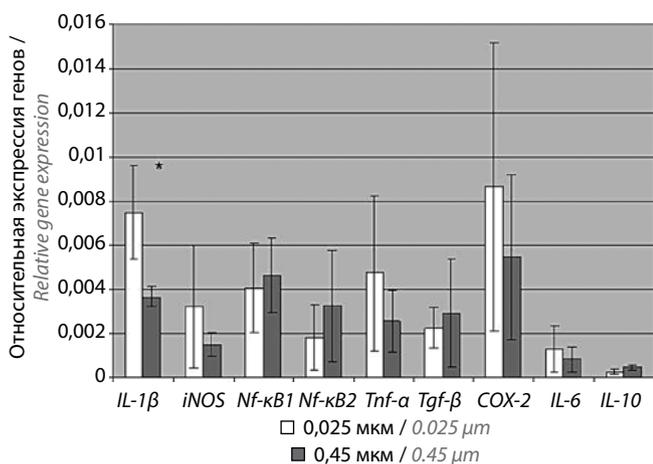


Рис. 1. Экспрессия цитокинов клетками комплекса «фильтр–капсула» через 8 суток после имплантации миллипорных фильтров с разными размерами пор (по 8 фильтров для каждого размера пор). Здесь и на рис. 2, 3 звездочкой помечены значения, для которых показаны достоверные различия по критерию Манна–Уитни ($p < 0,01$)

Fig. 1. Cytokine expression by cells of the “filter–capsule” complex 8 days after implantation of millipore filters with varying pore sizes (8 filters per every pore size). *Here and in Fig. 2, 3: values with significant differences per the Mann–Whitney test ($p < 0.01$)

Через 35 суток нахождения имплантатов под кожей мышей наблюдали значимое превышение экспрессии

генов нескольких цитокинов клетками, заселившими опухолеродные фильтры, по сравнению с неопухолеродными: превышение экспрессии касается 4 провоспалительных цитокинов – *Tnf-α* (фактора некроза опухоли α) в 2,2 раза, *IL-1β* в 9 раз, *IL-6* в 3 раза, а также *iNOS* (индуцируемой синтазы оксида азота) в 3 раза.

На сроке 160 суток превышение уровня экспрессии *IL-1β* клетками на фильтрах 0,025 мкм по-прежнему значимо, для остальных провоспалительных цитокинов – утрачено (рис. 3).

Полученные в наших опытах результаты согласуются с гипотезой, по которой саркомы в месте имплантации инородного тела могут быть инициированы воздействием продуктов, образующихся в очаге воспаления в острой фазе, когда при участии макрофагов происходит активное образование свободных радикалов кислорода и оксида азота (NO), которые оказывают цитотоксическое и мутагенное действие на клетки, вызывая их инициацию и в дальнейшем развитие опухолей [9–11]. Основным источником активных форм кислорода при воспалении является НАДФН-оксидаза (NOX). Имеются исследования, в которых показана взаимная регуляция активности ключевых ферментов НАДФН-оксидазы и *IL-1β* в макрофагах и хондроцитах [12, 13].

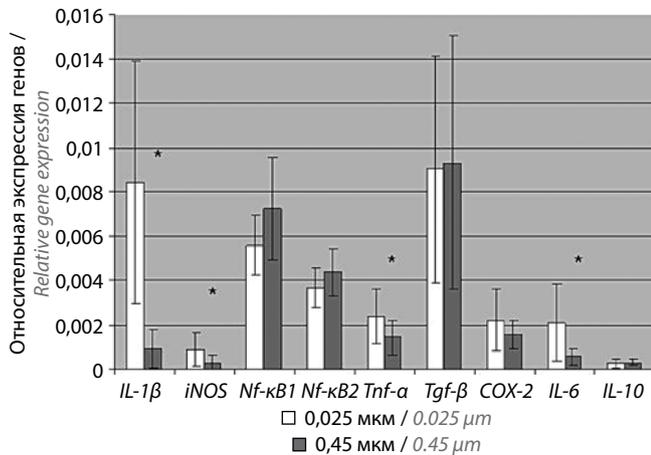


Рис. 2. Экспрессия цитокинов клетками комплекса «фильтр–капсула» через 35 сут после имплантации миллипоровых фильтров с разными размерами пор (11 фильтров 0,45 мкм и 12 фильтров 0,025 мкм)
Fig. 2. Cytokine expression by cells of the “filter–capsule” complex 35 days after implantation of millipore filters with varying pore sizes (11 filters with 0.45 μm pores and 12 filters with 0.025 μm pores)

Аналогичного образования активного кислорода можно ожидать и в случае превышения экспрессии iNOS клетками вокруг фильтров 0,025 мкм на сроке 35 сут.

Цитокины IL-1β и IL-6 считаются главными медиаторами воспаления, влияющими на ключевые параметры онкогенного процесса [3]. Эти цитокины участвуют в регуляции многих сигнальных путей, в том числе JAK/STAT3, CREB и C/EBPβ, и индуцируют экспрессию c-Мус [14–16].

Таким образом, в наших опытах онкогенные фильтры с диаметром пор 0,025 мкм показали достоверное превышение экспрессии *IL-1β* по сравнению с фильтрами неонкогенными во всех временных точках эксперимента. Предшествующие опыты показали, что уже через 1,5–3,5 мес после имплантации инициированные клетки присутствуют в капсуле вокруг инородного тела и развиваются в опухоли спустя определенный латентный период при замене канцерогенного инородного тела на неканцерогенное (в том числе это может быть миллипоровый фильтр 0,45 мкм), которое оказывается промотором [17]. Из этого следует, что для инициации опухоли не требуется длительного временного периода. Определение значения разницы в экспрессии других цитокинов в наших экспериментах требует дополнительного изучения.

В 1997 г. М.М. Iomhair и S.M. Lavelle показали, что увеличение площади имплантируемых миллипоровых неканцерогенных фильтров с порами 0,45 мкм в 2 и 3 раза (имплантировались двойные и тройные фильтры) приводит к образованию опухолей в достаточно большом количестве (7/30 и 16/30 соответственно) [18]. С учетом наших данных возможна следующая интерпретация этой работы. Можно допустить, что при увеличении площади имплантированных фильтров соответственно увеличивается количество заселяющих их макрофагов. Это, по-видимому, означает соответствующее увеличение дозы экспрессируемых этими клет-

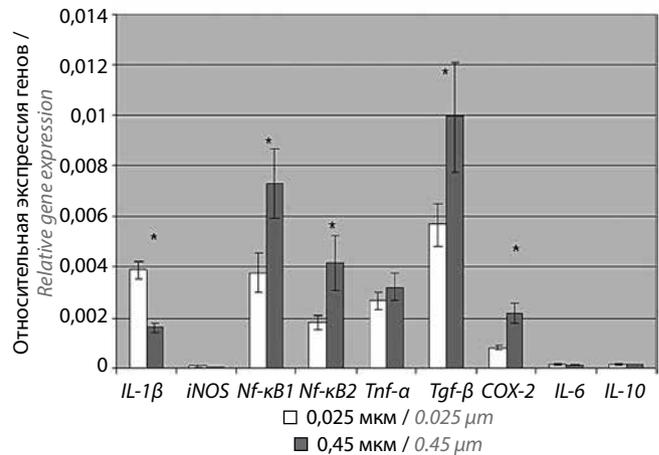


Рис. 3. Экспрессия цитокинов клетками комплекса «фильтр–капсула» через 160 сут после имплантации миллипоровых фильтров с разными размерами пор (7 фильтров 0,45 мкм и 8 фильтров 0,025 мкм)
Fig. 3. Cytokine expression by cells of the “filter–capsule” complex 160 days after implantation of millipore filters with varying pore sizes (7 filters with 0.45 μm pores and 8 filters with 0.025 μm pores)

ками цитокинов по крайней мере до уровня одинарных канцерогенных фильтров с порами 0,025 мкм в наших опытах. В связи с этим можно предположить важность уровня экспрессии цитокинов для развития опухолей.

Относительно неканцерогенных фильтров с порами 0,45 мкм интересно отметить, что для генов *Nf-κB1*, *Nf-κB2*, *Tgf-β*, *COX-2* (циклооксигеназа 2) на сроке 160 дней наблюдается обратная зависимость: эти молекулы экспрессируются значительно сильнее клетками вокруг фильтров с порами 0,45 мкм по сравнению с 0,025 мкм (табл. 2, см. рис. 3). Этот факт, возможно, имеет отношение к промоторным свойствам неканцерогенного фильтра.

Nf-κB играет важную роль в патогенезе и прогрессии злокачественных опухолей. Другие белки этого семейства могут иметь отличные свойства. Nf-κB2 принимает участие в развитии колита, который потенциально, вероятно, может переродиться в колитассоциированный рак. Мыши Nf-κB2^{-/-} устойчивы к раку, связанному с колитом; развитие колита сопровождается меньшим числом полипов по сравнению с мышами дикого типа [19]. Есть данные, которые показывают, что отдельные белки этого семейства имеют супрессорные свойства, — так, Nf-κB1 прямо супрессирует воспаление и рак. Показано, что мыши Nf-κB1^{-/-} *in vivo* проявляют повышенную степень воспаления и чувствительность к некоторым формам повреждения ДНК, приводящим к раку [20]. Возможно, что повышенная экспрессия этого гена клетками на неонкогенных фильтрах защищает клетки от трансформации.

Tgf-β — многофункциональный регуляторный полипептид. Известно, что он может служить как опухолевым супрессором, так и проонкогенным фактором [21, 22].

COX-2 — фермент, участвующий в образовании простагландинов из арахидоновой кислоты. К настоящему времени накоплено достаточно данных о вовлеченности его в процесс канцерогенеза [23]. Показано

Таблица 2. Различия в экспрессии цитокинов на канцерогенных и неканцерогенных фильтрах при имплантации под кожу мышам**Table 2.** Differences in cytokine expression on cancerogenic and non-cancerogenic filters after subcutaneous implantation in mice

Время нахождения фильтров под кожей, сут Time of filters being under skin, days	<i>IL-1β</i>	<i>iNOS</i>	<i>Tnf-α</i>	<i>Nf-κB1</i>	<i>Nf-κB2</i>	<i>Tgf-β</i>	<i>COX-2</i>	<i>IL-6</i>	<i>IL-10</i>
8	+	–	+ / –	–	–	–	–	–	–
35	+	+	+	–	–	–	–	+	–
160	+	–	–	*	*	*	*	–	–

*Значимая разница, где экспрессия на фильтре 0,45 мкм превышает экспрессию на фильтре 0,025 мкм; (+) – значимая разница, где экспрессия на фильтре 0,025 мкм превышает экспрессию на фильтрах 0,45 мкм; (–) – нет значимых различий.

*Significant difference with expression on the 0.45 μ m filter being higher than on the 0.025 μ m filter; (+) – significant difference with expression on the 0.025 μ m filter is higher than on the 0.45 μ m filter; (–) – no significant difference.

Примечание. Для определения достоверности различий экспрессии цитокинов между клетками на фильтрах пользовались автоматическим расчетом U-критерия Манна–Уитни.

Note. Significance of differences in cytokine expression in cells on filters was determined using automatic calculation of the Mann–Whitney U test.

защитное действие ингибиторов COX-2 в колитассоциированном опухолегенезе и при ряде других локализаций [24].

Заключение

Мы полагаем, что эффект различной экспрессии цитокинов, индуцированной разными фильтрами, связан в наших экспериментах с размерами пор имплантированных нитроцеллюлозных фильтров, с которыми взаимодействуют и на которые реагируют макрофагальные клетки. От свойств имплантированного материала зависит уровень экспрессии продуктов. Сходная картина наблюдалась в работе W.G. Brodbeck и соавт.,

где показаны различия в уровнях экспрессии ряда цитокинов лейкоцитами на поверхности имплантов различного качества [25]. Импланты из одного и того же биоматериала различались только модифицированными поверхностями (гидрофильные, гидрофобные, анионные и катионные). В нашем случае возможность или невозможность образования клетками отростков, инвазирующих поры фильтра, может влиять на уровень экспрессии цитокинов.

Таким образом, мы имеем дело с 2 видами хронического воспаления разного свойства: злокачественного и доброкачественного, механизмы которых нуждаются в дальнейшем изучении.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Мойжесс Т.Г. О канцерогенезе, индуцируемом инородными телами. Биохимия 2008;73(7):949–63. [Moizhess T.G. Carcinogenesis induced by foreign bodies. Biokhimiya = Biochemistry 2008;73(7): 949–63. (In Russ.)].
2. Karp R.D., Johnson K.H., Buoen L.C. et al. Tumorigenesis by Millipore filters in mice: histology and ultrastructure of tissue reactions as related to pore size. J Natl Cancer Ins 1973;51(4):1275–85. DOI: 10.1093/jnci/51.4.1275.
3. Дмитриева О.С., Шиловский И.П., Хайтов М.Р., Гривенников С.И. Интерлейкин 1 и интерлейкин 6 как главные медиаторы воспаления при развитии рака. Биохимия 2016;2:166–78. [Dmitrieva O.S., Shilovskiy I.P., Khaitov M.R. et al. Interleukins 1 and 6 as main mediators of inflammation and cancer. Biokhimiya = Biochemistry 2016;2:166–78. (In Russ.)].
4. Grivennikov S., Karin M. Inflammation and oncogenesis: a vicious connection. Curr Opin Genet Dev 2010;20(1):65–71. DOI: 10.1016/j.gde.2009.11.004.
5. Korneev R.V., Atretkhany K.N., Drutskaya M.S. et al. TLR-signaling and proinflammatory cytokines as drivers of tumorigenesis. Cytokine 2017;89:127–35. DOI: 10.1016/j.cyto.2016.01.021.
6. Wei J., Zhang X., Bi Y. et al. Anti-inflammatory effects of cumin essential oil by blocking JNK, ERK, and NF- κ B signaling pathways in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. Evid Based Complement Alternat Med 2015;2015:474509. DOI: 10.1155/2015/474509.
7. Dvorianchikova G., Ivanov D. Tumor necrosis factor- α mediates activation of NF- κ B and JNK signaling cascades in retinal ganglion cells and astrocytes in opposite ways. Eur J Neurosci 2014;40:3171–8. DOI: 10.1111/ejn.12710.
8. Cao W., Chen W., Liang X. et al. All-trans-retinoic acid ameliorates the inflammation by inducing transforming growth factor beta 1 and interleukin 10 in mouse epidermitis. Am J Reprod Immunol 2014;(4): 312–21. DOI: 10.1111/aji.12197.
9. Grisham M.B., Jourdeuil D., Wink D.A. Review article: chronic inflammation and reactive oxygen and nitrogen metabolism – implications in DNA damage and mutagenesis. Aliment Pharmacol Ther 2000;14(Suppl 1):3–9. DOI: 10.1046/j.1365-2036.2000.014s1003.x.
10. Kawanishi S., Ohnishi S., Ma N. et al. Crosstalk between DNA damage and inflammation in the multiple steps of carcinogenesis. Int J Mol Sci 2017;18(8). DOI: 10.3390/ijms18081808.
11. Ohnishi S., Ma N., Thanan R. et al. DNA damage in inflammation-related carcinogenesis and cancer stem cells. Oxid Med Cell Longev 2013;2013:387014. DOI: 10.1155/2013/387014.
12. Hsieh L.T., Frey H., Nastase M.V. et al. Bimodal role of NADPH oxidases in the regulation of biglycan-triggered IL-1 β synthesis. Matrix Biol 2016;49:61–81. DOI: 10.1016/j.matbio.2015.12.005.

13. Rousset F, Hazane-Puch F, Pinoso C. et al. IL-1beta mediates MMP secretion and IL-1beta neosynthesis via upregulation of p22(phox) and NOX4 activity in human articular chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage* 2015;23(11):1972–80. DOI: 10.1016/j.joca.2015.02.167.
14. Resende C., Regalo G., Durães C., et al. Interleukin-1B signalling leads to increased survival of gastric carcinoma cells through a CREB-C/EBPβ-associated mechanism. *Gastric Cancer* 2016;19(1):74–84. DOI: 10.1007/s10120-014-0448-x.
15. Lemos D.R., McMurdo M., Karaca G. et al. Interleukin-1β activates a myc-dependent metabolic switch in kidney stromal cells necessary for progressive tubulointerstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2018;29(6):1690–705. DOI: 10.1681/ASN.2017121283.
16. Subramaniam K.S., Omar I.S., Kwong S.C. et al. Cancer-associated fibroblasts promote endometrial cancer growth via activation of interleukin-6/STAT-3/c-Myc pathway. *Am J Cancer Res* 2016;6(2):200–13.
17. Moizhess T.G., Vasiliev J.M. Early and late stages of foreign-body carcinogenesis can be induced by implants of different shapes. *Int J Cancer* 1989;44(3):449–53. DOI: 10.1002/ijc.2910440312.
18. Iomhair M.M., Lavelle S.M. Effect of film size on production of foreign body sarcoma by perforated film implants. *Technol Health Care* 1997;5(4):331–4.
19. Burkitt M.D., Hanedi A.F., Duckworth C.A. et al. NF-κB1, NF-κB2 and c-Rel differentially regulate susceptibility to colitis-associated adenoma development in C57BL/6 mice. *J Pathol* 2015;236(3):326–36. DOI: 10.1002/path.4527.
20. Cartwright T., Perkins N.D., Wilson C.L. NFκB1: a suppressor of inflammation, ageing and cancer. *FEBS J* 2016;283(10):1812–22. DOI: 10.1111/febs.13627.
21. Hong S., Lee H.J., Kim S.J., Hahm K.B. Connection between inflammation and carcinogenesis in gastrointestinal tract: focus on TGF-beta signaling. *World J Gastroenterol* 2010;16(17):2080–93.
22. Huang J.J., Blobe G.C. Dichotomous roles of TGF-β in human cancer. *Biochem Soc Trans* 2016;44(5):1441–54. DOI: 10.1042/BST20160065.
23. Telliez A., Furman C., Pommery N., Hénichart J.P. Mechanisms leading to COX-2 expression and COX-2 induced tumorigenesis: topical therapeutic strategies targeting COX-2 expression and activity. *Anticancer Agents Med Chem* 2006;6(3):187–208.
24. Carullo G., Galligano F., Aiello F. Structure-activity relationships for the synthesis of selective cyclooxygenase 2 inhibitors: an overview (2009–2016). *Medchemcomm* 2016;8(3):492–500. DOI: 10.1039/c6md00569a.
25. Brodbeck W.G., Voskerician G., Ziats N. et al. *In vivo* leukocyte cytokine mRNA responses to biomaterials are dependent on surface chemistry. *J Biomed Mater Res A* 2003;64(2):320–9. DOI: 10.1002/jbm.a.10425.

Вклад авторов

Е.Ю. Рыбалкина: получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста рукописи;
 О.Ю. Сусова: получение данных для анализа;
 Т.Г. Мойжесс: разработка дизайна исследования, проведение подкожной имплантации на мышах, написание текста рукописи.

Authors' contributions

E.Yu. Rybalkina: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data, article writing;
 O.Yu. Susova: obtaining data for analysis;
 T.G. Moizhess: developing the research design, subcutaneous implantation in mice, article writing.

ORCID авторов/ORCID of authors

Е.Ю. Рыбалкина/E.Yu. Rybalkina: <https://orcid.org/0000-0002-3068-0233>
 О.Ю. Сусова/O.Yu. Susova: <https://orcid.org/0000-0001-8192-7913>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-54-16006).
 Financing. The reported research was funded by Russian Foundation for Basic Research (grant No. 18-54-16006).

Соблюдение правил биоэтики. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей.

Compliance with principles of bioethics. The study was performed in accordance with ethical principles adopted by the European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes.

Статья поступила: 10.06.2019. Принята к публикации: 17.09.2019.

Article received: 10.06.2019. Accepted for publication: 17.09.2019.