

Для цитирования: Александров В.А., Стуков А.Н., Змитриченко Ю.Г., Точильников Г.В. Противоопухолевое действие 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиола (хлонизола) на рост спонтанных опухолей молочной железы у HER-2/neu трансгенных мышей. Сибирский онкологический журнал. 2023; 22(3): 76–82. – doi: 10.21294/1814-4861-2023-22-3-76-82

For citation: Alexandrov V.A., Stukov A.N., Zmitrichenko Y.G., Tochilnikov G.V. The antitumor effect of 2-[3-(2-chloroethyl)-3-nitrosoureido]-1,3-propanediol (chlomisol) on the growth of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice. Siberian Journal of Oncology. 2023; 22(3): 76–82. – doi: 10.21294/1814-4861-2023-22-3-76-82

ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ 2-[3-(2-ХЛОРЭТИЛ)-3-НИТРОЗОУРЕИДО]-1,3-ПРОПАНДИОЛА (ХЛОНИЗОЛА) НА РОСТ СПОНТАННЫХ ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У HER-2/NEU ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ

В.А. Александров, А.Н. Стуков, Ю.Г. Змитриченко, Г.В. Точильников

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова»
Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия
Россия, 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68.
E-mail: alexandrov.valeri@yandex.ru

Аннотация

Введение. Современное лечение HER2-положительного метастатического рака молочной железы (PMЖ) основано на использовании анти-HER2-блокаторов как патогенетических препаратов, а также поиске оптимальной комбинации противоопухолевых препаратов с различным механизмом действия. Интересно выяснить потенциальную активность хлонизола при HER2+ PMЖ. **Цель исследования** – оценить противоопухолевую активность отечественного соединения 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиола (хлонизола) на рост спонтанных опухолей молочной железы у HER2/neu трансгенных мышей линии FVB/N. **Материал и методы.** В проспективном исследовании использовали 5-месячных мышей-самок с развившимися HER2-позитивными опухолями молочной железы. Из этих животных были сформированы десять пар с практически одинаковыми размерами новообразований (соответственно, для контрольной группы и группы лечения хлонизолом). Хлонизол вводили в дозе 20 мг/кг внутривенно однократно. За животными наблюдали в течение 30 дней. **Результаты.** Во всех десяти парах мышей хлонизол проявил выраженный противоопухолевый эффект, вплоть до полной временной регрессии опухоли. При суммировании сравнительных результатов всех десяти пар животных торможение роста опухолей (ТРО) при применении хлонизола по сравнению с контролем составило 90–97 % ($p < 0,0001$), а площадь под кинетической кривой роста опухоли у мышей, получивших хлонизол, была в 13,6 раза меньше, чем в контроле ($p < 0,0001$), свидетельствуя о выраженном эффекте. **Заключение.** Хлонизол обладает высокой терапевтической активностью, ингибируя рост спонтанного HER2+ PMЖ у мышей линии FVB/N.

Ключевые слова: 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3пропандиол, хлонизол, трансгенные мыши, HER2+ рак молочной железы, спонтанные опухоли.

THE ANTITUMOR EFFECT OF 2-[3-(2-CHLOROETHYL)-3-NITROSUREIDO]-1,3-PROPANEDIOL (CHLONISOL) ON THE GROWTH OF SPONTANEOUS MAMMARY TUMORS IN HER-2/NEU TRANSGENIC MICE

V.A. Alexandrov, A.N. Stukov, Y.G. Zmitrichenko, G.V. Tochilnikov

N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia,
St. Petersburg, Russia
68, Leningradskaya St., 197758, St. Petersburg, Pesochny village, Russia.
E-mail: alexandrov.valeri@yandex.ru

Abstract

Background. Current treatment of HER2-positive metastatic breast cancer (BC) is based on the use of anti-HER2 blockers as pathogenic drugs, as well as the search for the optimal combination of anticancer drugs with different mechanisms of action. The potential activity of chlonisol in HER2+ BC is of great interest. **The aim of the study** was to evaluate the antitumor effect of 2-[3-(2-chloroethyl)-3-nitrosourea]-1,3-propanediol (chlonisol) on the growth of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic FVB/N mice. **Material and Methods.** A prospective study used 5-month-old female mice with HER2-positive mammary tumors. Of these animals, ten pairs with almost the same size of tumors were formed (respectively, for the control group and the chlonisol treatment group). Chlonisol was administered at a dose of 20 mg/kg intraperitoneally, once. The animals were followed up for 30 days. **Results.** In all ten pairs of mice, chlonisol showed a significant antitumor effect, up to a complete temporary regression of the tumor. When summing the comparative results of all ten pairs of animals, the inhibition of tumor growth (ITG) in the chlonisol treatment group was 90-97 % ($p < 0.0001$), and the area under the kinetic curve of tumor growth was 13.6 times less than in the control group ($p < 0.0001$), thus indicating a significant effect. **Conclusion.** Chlonisol has a high therapeutic activity by inhibiting the growth of spontaneous HER2-positive breast tumors in FVB/N mice.

Key words: 2-[3-(2-chloroethyl)-3-nitrosourea]-1,3-propanediol, chlonisol, transgenic mice, HER2+ breast cancer, spontaneous tumors.

Введение

В ФБГУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» (Санкт-Петербург) Минздрава России было создано новое активное противоопухолевое соединение 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3пропандиол (хлонизол). Хлонизол принадлежит к классу нитрозоалкилмочевин из группы алкилнитрозоуреидопропандиолов, которые являются препаратами алкилирующего механизма действия. До сих пор хлонизол тестировался и был активен на стандартных перевиваемых опухолях у животных [1, 2]. Для более полной характеристики спектра активности этого соединения принципиально важно изучить на опухолях у генетически модифицированных животных, в частности с амплификацией гена HER2/neu рака молочной железы (РМЖ).

У человека HER2-положительный РМЖ представляет собой агрессивный подтип опухоли, которая трудно поддается химио- и гормонотерапии. Современная стратегия лечения HER2-положительного метастатического РМЖ основана на использовании, прежде всего, таргетных анти-HER2-блокаторов [3, 4] и поиске оптимальной комбинации препаратов с различным механизмом действия [5] для преодоления терапевтической резистентности, а также лечения метастазов в головной мозг, которые часто развиваются в процессе лечения [6]. В качестве дополнительной химиотерапии нередко применяют антрациклины и таксаны и также некоторые алкилирующие препараты: цисплатин, циклофосфамид, ломустин [5]. Возможно, хлонизол может быть интересен в качестве дополнительного препарата при химиотерапии HER2+ РМЖ.

Цель исследования – оценка противоопухолевой активности отечественного соединения 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиола (хлонизола) на рост спонтанных опухолей молочной железы у HER2/neu трансгенных мышей линии FVB/N.

Материал и методы

В работе использованы мыши-самки линии FVB/N, трансгенные по гену рецептора эпидермального фактора роста 2-го типа (HER2), которые были получены из Национального института старения Италии (INRCA) и несколько лет поддерживаются в виде разводки в виварии ФБГУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» (Санкт-Петербург) Минздрава России. Эти мыши характеризуются высокой частотой (выше 90 %) развития спонтанных опухолей молочных желез у самок, иногда они возникают и у самцов [7]. В течение эксперимента все животные находились в виварии при стандартных условиях содержания (12:12-часовой искусственный режим освещения, проточно-вытяжная вентиляция и температура 20–25 °С), получали стандартный комбинированный корм (ООО «Лабораторкорм», Москва) и питьевую водопроводную воду *ad libitum*.

Эксперименты на животных выполнялись с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», а также под контролем этического комитета «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова», Санкт-Петербург, Минздрава России.

В исследовании использовали 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиол (хлонизол), разработанный в ФБГУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России и синтезированный при участии ООО КемКонсалт (Россия). Схема синтеза, некоторые физико-химические свойства хлонизола, а также сведения о его токсичности были приведены в наших публикациях [1, 2]. 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиол представляет собой мелкокристаллическое твердое вещество бледно-желтого цвета с

температурой плавления 91–92 °С. Идентичность этого химического соединения была подтверждена с помощью ВЭЖХ. Его структура была охарактеризована с помощью ПМР и масс-спектров.

В экспериментах были использованы 20 самок трансгенных мышей HER2/neu линии FVB/N в возрасте 5 мес с визуально и пальпаторно определяемыми спонтанными опухолями молочной железы различного размера (от 6 до 144 мм³). Гистологически эти опухоли характеризовались как инвазивный РМЖ (рис. 1). Подтверждение повышенной экспрессии транскрипта HER2+ в опухолях молочной железы у HER2/neu трансгенных мышей из разведения нашего института проводится систематически (ПЦР исследование мРНК в реальном времени методом дельта-Ст).

В проспективном исследовании 20 мышей со спонтанными HER2+ опухолями молочных желез подразделены на 10 пар таким образом, чтобы каждая мышь, получавшая хлонизол, соответствовала контрольной мыши с практически таким же объемом опухоли. Хлонизол растворяли в 0,9 % растворе натрия хлорида и вводили внутривенно (в/в), однократно в максимально переносимой дозе 20 мг/кг в объеме 10 мл/кг. Соответствующим контрольным мышам вводили в/в однократно 0,9 % раствор натрия хлорида из расчета 10 мл/кг. После этого в течение 30 дней ежедневно контролировали состояние животных и определяли объем опухолей по общепринятым линейным замерам. На 31-й день всех мышей эвтаназировали; после их вскрытия опухоли и другие органы с видимой патологией фиксировали в 10 % формалине для последующей стандартной обработки и гистологического изучения.

Противоопухолевую активность хлонизола рассчитывали по общепринятым показателям – торможению роста опухоли (ТРО) и индексу роста опухоли (ИРО). ТРО определяли в процентах по формуле

$$\text{ТРО} = (V_{\text{к}} - V_{\text{э}}) / V_{\text{к}} \times 100,$$

где $V_{\text{к}}$ – средний объем опухоли в контрольной группе, мм³; $V_{\text{э}}$ – в экспериментальной группе (введение хлонизола), мм³.

ИРО определяли в процентах по формуле

$$\text{ИРО} = S_{\text{э}} / S_{\text{к}} \times 100,$$

где $S_{\text{э}}$ – площадь под кинетической кривой роста опухоли в экспериментальной группе (введение хлонизола) животных; $S_{\text{к}}$ – в контрольной группе.

Для измерения площади под кинетической кривой роста опухоли использовали метод трапеций [8]. ИРО % является интегральным критерием активности препарата, учитывающим не только выраженность, но и устойчивость проявления противоопухолевого эффекта во времени.

Результаты экспериментов обрабатывали статистически с использованием программ Statgraph (GraphPad Prism, версия 8,0). Суммированные данные в сравниваемых парах животных рассчитывали как среднее и стандартную ошибку среднего (SEM). Различия в группах оценивали с помощью теста Уилкоксона–Манна–Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

У всех контрольных мышей (в каждой паре) объем опухолей молочной железы значительно увеличивался, прогрессируя с ростом продолжительности наблюдения – с 1-го по 31-й день (табл. 1). Напротив, у большинства мышей, получивших хлонизол, размер опухоли либо не изменился по сравнению с исходным уровнем в 1-е сут, либо уменьшился и только у некоторых незначительно увеличился. При учете средних значений ингибирование опухолевого роста (ТРО), вызванное хлонизолом, достигало в разные сроки наблюдения 90–97 % ($p < 0,0001$).

Площадь (S) под кинетической кривой роста опухоли у всех мышей, получивших хлонизол, была значительно меньше, чем у контрольных животных (в среднем в 13,6 раза, $p < 0,0001$). Общий показатель ИРО при применении хлонизола составил 9,0 % по сравнению со 100,0 % в контроле ($p < 0,0001$), что свидетельствует о выраженном противоопухолевом действии этого соединения в отношении спонтанных HER2-положительных опухолей молочных желез (табл. 2).

Обсуждение

В работе использована проспективная схема экспериментов с подбором сопоставимых пар животных-опухоленосителей для установления терапевтической активности хлонизола. Полученные результаты свидетельствуют о выраженном противоопухолевом действии хлонизола на рост спонтанного HER2-положительного РМЖ у мышей. Ранее нами было показано, что хлонизол может ингибировать рост различных перевиваемых опухолей: лейкемию Р388, меланому В16, эпидермоидный рак легкого Льюис, карциносаркому Уокера [1, 2].

Целесообразно сравнить терапевтическую активность хлонизола с известным препаратом ломустин, который был изучен нами на HER2-позитивных опухолях молочной железы у мышей, но после их трансплантации [9]. Ломустин является одним из препаратов, применяемых у больных с метастазами в головной мозг [10, 11]. Важно, что ломустин (CCNU; N-(2-хлорэтил)-N'-циклогексил-N-нитрозомочевина), как и хлонизол, относится к соединениям из класса нитроалкилзомочевин с алкилирующим механизмом действия [12].

В наших экспериментах [9] ломустин (50 мг/кг) тормозил рост трансплантированных в/м HER2+

Таблица 1/Table 1

Влияние хлонизола на рост спонтанных опухолей молочной железы у HER-2/neu трансгенных мышей

Effect of chlonisol on the growth of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice

Групповые пары мышей (№/воздействие)/ Group pairs of mice (No/exposure)		Объем опухолей, мм ³ /Volume of tumors, mm ³			
		Дни от начала лечения/Days from the start of treatment			
		1*	11	21	31
1	Контроль (n=1)/Control (n=1)	6	287	1208	2773
	Хлонизол (n=1)/Chlonisol (n=1)	6	0	6	18
2	Контроль (n=1)/Control (n=1)	6	98	259	1377
	Хлонизол (n=1)/Chlonisol (n=1)	6	0	18	166
3	Контроль (n=1)/Control (n=1)	18	285	675	726
	Хлонизол (n=1)/Chlonisol (n=1)	18	0	0	6
4	Контроль (n=1)/Control (n=1)	40	664	1340	1974
	Хлонизол (n=1)/Chlonisol (n=1)	40	0	0	6
5	Контроль (n=1)/Control (n=1)	40	93	680	583
	Хлонизол (n=1)/Chlonisol (n=1)	40	0	0	18
6	Контроль (n=1)/Control (n=1)	40	121	434	824
	Хлонизол (n=1)/Chlonisol (n=1)	40	6	6	40
7	Контроль (n=1)/Control (n=1)	75	166	510	1223
	Хлонизол (n=1)/Chlonisol (n=1)	75	8	40	405
8	Контроль (n=1)/Control (n=1)	126	416	1210	1690
	Хлонизол (n=1)/Chlonisol (n=1)	126	0	6	115
9	Контроль (n=1)/Control (n=1)	121	434	824	2248
	Хлонизол (n=1)/Chlonisol (n=1)	126	0	6	48
10	Контроль (n=1)/Control (n=1)	139	308	538	1179
	Хлонизол (n=1)/Chlonisol (n=1)	144	75	144	600
Контроль (n=10)/ Control (n=10)		61,1 ± 16,1**	287,2 ± 57,4**	767,8 ± 116,7**	1459,7 ± 224,0**
Хлонизол, 20 mg/kg (n=10)/ Chlonisol, 20 mg/kg (n=10)		62,1 ± 15,6** – p=0,9279	8,9 ± 7,4** 97%*** p<0,0001	22,6 ± 14,0** 97%*** p<0,0001	142,2 ± 63,9** 90%*** p<0,0001

Примечания: * – день введения хлонизола (20 мг/кг); ** – суммированные результаты в группах; *** – ТРО % (торможение роста опухоли в %); p – достоверность к контролю.

Note: * – day of administration of chlonisol (20 mg/kg); ** – summarized results in groups; *** – ITG % (inhibition of tumor growth in %); p-value – statistical significance.

РМЖ: ТРО составляло 52–96 % (p<0,0001), а ИРО не превышал 33 % (при 100 % в контроле). После интракраниальной трансплантации HER2+ РМЖ применение ломустина увеличивало медиану продолжительности жизни животных на 43 % (p<0,001) [9]. Таким образом, противоопухолевая активность ломустина в экспериментах с трансплантируемым HER2-позитивным РМЖ у мышей была сопоставима с таковой при испытании хлонизола на рост спонтанных опухолей этого типа.

Мы не встретили данных по изучению других противоопухолевых препаратов на рост HER2+ РМЖ у трансгенных мышей. Однако известны препараты (ресвератрол, пептид эпиталон, метформин, мелатонин и другие) с различным механизмом действия (антиоксидантным, противовоспалительным и иммуномодулирующим эффектом, нормализующим гомеостаз и др.), которые способны тормозить риск возникновения и развития опухолей, т.е.

влиять на спонтанный канцерогенез [7, 13–15]. Однако они относятся к химиопрофилактике рака [16]. Формально они не могут сравниваться, поскольку химиотерапия рака – это ингибирующее действие противоопухолевых препаратов на рост уже развившихся опухолей, в большинстве случаев в результате цитостатического и цитотоксического эффекта на опухолевые клетки.

Заключение

Хлонизол проявляет высокую ингибирующую активность на рост спонтанного HER2+ РМЖ у трансгенных мышей, хотя это соединение не является таргетным препаратом. Возможно, он окажется эффективным в качестве дополнительного препарата (например, для терапии ЦНС метастазов), но не может рассматриваться альтернативой в сравнении с современными таргетными анти-HER2-блокаторами, в частности, с создан-

Таблица 2/Table 2

Влияние хлонизола на рост спонтанных опухолей молочных желез у HER2/neu трансгенных мышей при оценке эффекта по площади под кинетической кривой роста опухолей (S) и индексу роста опухолей (ИПО)

Effect of chlonisol on the growth of spontaneous mammary tumors in HER2/neu transgenic mice as evaluated by the area under the tumor growth kinetic curve (S) and tumor growth index (TGI)

Групповые пары мышей (№/воздействие)/ Group couples mice (No/impact)		S	S _к /S _э	ИПО (S _э /S _к)/ TGI (S _э /S _к)
1	Контроль/Control (n=1)	28845	160,2	100,0 %
	Хлонизол/Chlonisol (n=1)	180180	–	0,60 %
2	Контроль/Control (n=1)	10485	–	100,0 %
	Хлонизол/Chlonisol (n=1)	1040	10,4	9,9 %
3	Контроль/Control (n=1)	13320	–	100,0 %
	Хлонизол/Chlonisol (n=1)	120	111,0	0,9 %
4	Контроль/Control (n=1)	30110	–	100,0 %
	Хлонизол/Chlonisol (n=1)	230	130,9	0,8 %
5	Контроль/Control (n=1)	10845	–	100,0 %
	Хлонизол/Chlonisol (n=1)	290	37,4	2,7 %
6	Контроль/Control (n=1)	9970	–	100,0 %
	Хлонизол/Chlonisol (n=1)	520	19,2	5,3 %
7	Контроль/Control (n=1)	13250	–	100,0 %
	Хлонизол/Chlonisol (n=1)	2880	4,6	21,7 %
8	Контроль/Control (n=1)	25340	–	100,0 %
	Хлонизол/Chlonisol (n=1)	1265	20,0	5,0 %
9	Контроль/Control (n=1)	24425	–	100,0 %
	Хлонизол/Chlonisol (n=1)	930	26,3	3,8 %
10	Контроль/Control (n=1)	15050	–	100,0 %
	Хлонизол/Chlonisol (n=1)	5910	2,6	39,3 %
Контроль (n=10)/ Control (n=10)		18164 ± 2548*	–	100,0 %
Хлонизол, 20 mg/kg (n=10)/ Chlonisol, 20 mg/kg (n=10)		1337 ± 571* p<0,0001	13,6	9,0 %

Примечания: S_к и S_э – площадь под кинетической кривой роста опухолей в контрольной и экспериментальной (введение хлонизола) группах; * – суммированные средние значения S; p – достоверность к контролю.

Note: S_c and S_e – the area under the kinetic curve of tumor growth in the control and experimental (Chlonisol administration) groups; * – the summarized average values of S; p-value – statistical significance.

ными с использованием моноклональных антител (трастузумаб и пертузумаб), а также конъюгатов антитело-лекарственное средство (трастузумаб эмтанзин) и ингибиторов тирозинкиназы (лапатиниб). Хлонизол обладает широким спектром противоопухолевой активности с учетом ранее

полученных результатов на других стандартных перевиваемых опухолях. Целесообразно проведение дальнейших доклинических испытаний для его продвижения в качестве потенциального противоракового препарата.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Островская Л.А., Филов В.А., Ивин Б.А., Стуков А.Н., Фомина М.М., Блохтерова Н.В., Рыкова В.А., Конрадов А.А.* Хлонизол – новый эффективный противоопухолевый препарат из класса нитрозоалкилмочевин. *Российский биотерапевтический журнал.* 2004; 3(1): 37–48. [*Ostrovskaya L.A., Filov V.A., Ivin B.A., Stukov A.N., Fomina M.M., Blukhterova N.V., Rykova V.A., Konradov A.A.* Chlonisol – the new alkylnitrosourea drug with antitumor activity. *Russian Journal of Biotherapy.* 2004; 3(1): 37–48. (in Russian)].

2. *Стуков А.Н., Есиков К.А., Усманова Л.М., Харитоновна Н.Н., Вершинина С.Ф., Змитриченко Ю.Г., Филатова Л.В., Латипова Д.Х., Семенов А.Л., Беспалов В.Г., Семиглазова Т.Ю.* Синтез и противоопухолевая активность 2-[3-(2-хлорэтил)-3- нитрозоуреидо]-1,3-пропандиола (хлонизола). *Химико-фармацевтический журнал.* 2020; 54(6) 35–8. [*Stukov A.N., Esikov K.A., Usmanova L.M., Kharitonova N.N., Verшинina S.F., Zmitrichenko Yu.G., Filatova L.V., Latipova D.Kh., Se-*

menov A.L., Bepalov V.G., Semiglazova T.Yu. Synthesis and antitumor activity of 2-[3-(2-chloroethyl)-3-nitrosoureido]-1,3-propanediol (chlonisol). *Pharmaceutical Chemistry Journal* 2020; 54(6): 35–8. (in Russian)]. doi: 10.1007/s11094-020-02242-7.

3. *Семиглазов В.Ф., Семиглазов В.В., Николаев К.С., Дашиян Г.А., Палтуев Р.М.* Комплексная терапия HER2-позитивного рака молочной железы. *Фарматека. Онкология.* 2015; 8: 21–30. [*Semiglazov V.F., Semiglazov V.V., Nikolaev K.S., Dashyan G.A., Paltuev R.M.* Complex therapy of HER2-positive breast cancer. *Pharmateka. Oncology.* 2015; 8: 21–30. (in Russian)].

4. *Moasser M.M., Krop I.E.* The Evolving Landscape of HER2 Targeting in Breast Cancer. *JAMA Oncol.* 2015; 1(8): 1154–61. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.2286.

5. *Bredin P., Walshe J.M., Denduluri N.* Systemic therapy for metastatic HER2-positive breast cancer. *Semin Oncol.* 2020; 47(5): 259–69. doi: 10.1053/j.seminoncol.2020.07.008.

6. Pernas S., Tolaney S.M. HER2-positive breast cancer: new therapeutic frontiers and overcoming resistance. *Ther Adv Med Oncol.* 2019; 11. doi: 10.1177/1758835919833519.
7. Anisimov V.N., Berstein L.M., Egormin P.A., Piskunova T.S., Popovich I.G., Zabezhinski M.A., Kovalenko I.G., Poroshina T.E., Semenchenko A.V., Provinciali M., Re F., Franceschi C. Effect of metformin on life span and on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice. *Exp Gerontol.* 2005; 40(8-9): 685-93. doi: 10.1016/j.exger.2005.07.007.
8. Holder D.J., Hsuan F., Dixit R., Soper K. A method for estimating and testing area under the curve in serial sacrifice, batch, and complete data designs. *J Biopharm Stat.* 1999; 9(3): 451-64. doi: 10.1081/BIP-100101187.
9. Стуков А.Н., Вершинина С.Ф., Козьявин Н.А., Семиглазова Т.Ю., Филатова Л.В., Латипова Д.Х., Иванцов А.О., Беспалов В.Г., Семенов А.Л., Беляева О.А., Киреева Г.С., Александров В.А., Точильников Г.В., Васильева И.Н., Майдин М.А., Тындык М.Л., Круглов С.С., Янус Г.А., Юрова М.Н. Изучение активности ломустина при переносимом HER2-положительном раке молочной железы у мышей линии FVB/N, трансгенных по HER2. *Сибирский онкологический журнал.* 2019; 18(5): 54-60. [Stukov A.N., Vershinina S.F., Kozjavin N.A., Semiglazova T.Yu., Filatova L.V., Latipova D.Kh., Ivantsov A.O., Bespalov V.G., Semenov A.L., Belyaeva O.A., Kireeva G.S., Alexandrov V.A., Tochilnikov G.V., Vasilyeva I.N., Maydin M.A., Tyndyk M.L., Kruglov S.S., Yanus G.A., Yurova M.N. Study of the effect of lomustin on HER2-positive breast cancer in FVB/N HER-2 transgenic mice. *Siberian Journal of Oncology.* 2019; 18(5): 54-60. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-5-54-60.
10. Ajaz M., Jefferies S., Brazil L., Watts C., Chalmers A. Current and investigational drug strategies for glioblastoma. *Clin Oncol (R Coll Radiol).* 2014; 26(7): 419-30. doi: 10.1016/j.clon.2014.03.012.
11. Conte P.F., Giaccone G., Musella R., Calciati A. Combination chemotherapy for metastatic brain tumors. *Tumori.* 1981; 67(6): 559-62. doi: 10.1177/030089168106700608.
12. Nikolova T., Roos W.P., Krämer O.H., Strik H.M., Kaina B. Chloroethylating nitrosoureas in cancer therapy: DNA damage, repair and cell death signaling. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2017; 1868(1): 29-39. doi: 10.1016/j.bbcan.2017.01.004.
13. Provinciali M., Re F., Donnini A., Orlando F., Bartozzi B., Di Stasio G., Smorlesi A. Effect of resveratrol on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice. *Int J Cancer.* 2005; 115(1): 36-45. doi: 10.1002/ijc.20874.
14. Anisimov V.N., Khavinson V.K., Provinciali M., Alimova I.N., Baturin D.A., Popovich I.G., Zabezhinski M.A., Imyanitov E.N., Mancini R., Franceschi C. Inhibitory effect of the peptide epitalon on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice. *Int J Cancer.* 2002; 101(1): 7-10. doi: 10.1002/ijc.10570.
15. Anisimov V.N., Alimova I.N., Baturin D.A., Popovich I.G., Zabezhinski M.A., Manton K.G., Semenchenko A.V., Yashin A.I. The effect of melatonin treatment regimen on mammary adenocarcinoma development in HER-2/neu transgenic mice. *Int J Cancer.* 2003; 103(3): 300-5. doi: 10.1002/ijc.10827.
16. Al Rabadi L., Bergan R. A Way Forward for Cancer Chemoprevention: Think Local. *Cancer Prev Res (Phila).* 2017; 10(1): 14-35. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-16-0194.

Поступила/Received 21.07.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 12.05.2023

Принята к публикации/Accepted 29.05.2023

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Александров Валерий Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник научной лаборатории химиопрофилактики рака и онкофармакологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). E-mail: alexandrov.valeri@yandex.ru. Researcher ID (WOS): AAB-1780-2020. Author ID (Scopus): 7006723656. ORCID: 0000-0002-0019-2685.

Стуков Александр Николаевич, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник научного отдела инновационных методов терапевтической онкологии и реабилитации, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 4652-8674. Researcher ID (WOS): AAA-8606-2020. Author ID (Scopus): 7004016508. ORCID: 0000-0002-1741-6630.

Змитриченко Юлия Геннадьевна, младший научный сотрудник научной лаборатории химиопрофилактики рака и онкофармакологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 6122-3450. Author ID (Scopus): 57224965741. ORCID: 0000-0002-9137-9532.

Точильников Григорий Викторович, кандидат медицинских наук, заведующий научной лабораторией химиопрофилактики рака и онкофармакологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 4366-6930. Researcher ID (WOS): ABD-7003-2020. Author ID (Scopus): 57194493773. ORCID: 0000-0003-4232-8170.

ВКЛАД АВТОРОВ

Александров Валерий Анатольевич: разработка концепции данного исследования, анализ полученных результатов, написание статьи.

Стуков Александр Николаевич: разработка концепции данного исследования, проведение экспериментов, статистическая обработка результатов.

Змитриченко Юлия Геннадьевна: проведение экспериментов, сбор и интерпретация данных.

Точильников Григорий Викторович: анализ и интерпретация результатов, обсуждение и утверждение окончательного варианта рукописи статьи.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Благодарности

Авторы выражают благодарность руководителю научного отдела канцерогенеза и онкогеронтологии «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, (г. Санкт-Петербург, Россия), д.м.н., профессору, члену-корреспонденту РАН Владимиру Николаевичу Анисимову за предоставление HER-2 трансгенных мышей для проведения экспериментов.

ABOUT THE AUTHORS

Valeriy A. Alexandrov, MD, Professor, Leading Researcher, Scientific Laboratory of Cancer Chemoprevention and Oncopharmacology, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia). E-mail: alexandrov.valeri@yandex.ru. Researcher ID (WOS): AAB-1780-2020. Author ID (Scopus): 7006723656. ORCID: 0000-0002-0019-2685.

Alexander N. Stukov, MD, DSc, Senior Research Scientist, Department of Innovative Methods of Therapeutic Oncology and Rehabilitation, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): AAA-8606-2020. Author ID (Scopus): 7004016508. ORCID: 0000-0002-1741-6630.

Yuliya G. Zmitrichenko, Junior Research Scientist, Scientific Laboratory of Cancer Chemoprevention and Oncopharmacology, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 57224965741. ORCID: 0000-0002-9137-9532.

Grigory V. Tochilnikov, PhD, Head of the Scientific Laboratory of Cancer Chemoprevention and Oncopharmacology, N.N. Petrov National Medical Oncology Research Center of the Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): ABD-7003-2020. Author ID (Scopus): 57194493773. ORCID: 0000-0003-4232-8170.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Valeriy A. Alexandrov: development of the concept of the study, analysis of the results, writing of the manuscript.

Alexander N. Stukov: development of the concept of the study, performing experiments, statistical processing of the results.

Yuliya G. Zmitrichenko: performing experiments, data collection and interpretation.

Grigory V. Tochilnikov: data analysis and interpretation, discussion and approval of the final version of the manuscript.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgment

The authors express their gratitude to Prof. Anisimov, Head of the Scientific Department of Carcinogenesis and Oncogerontology of the N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia for providing HER-2 transgenic mice for experiments.