

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «РОСТОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Алхусейн-Кулягинова Маргарита Стефановна

**«ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ГИБРИДНЫХ
ОЛОВООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В МЕТРОНОМНОМ РЕЖИМЕ
ВВЕДЕНИЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ МЕЛАНОМЫ В16
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)»**

3.3.3. Патологическая физиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, доцент
Котиева Инга Мовлиевна

Ростов-на-Дону – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ: НЕОАНГИОГЕНЕЗ И МЕТРОНОМНЫЙ РЕЖИМ ВВЕДЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В КЛИНИЧЕСКОЙ И ЭСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ	14
1.1. Опухолевой неоангиогенез.....	17
1.2. Метрономная химиотерапия в клинической и экспериментальной терапии злокачественных новообразований.....	22
1.3. Метрономная химиотерапия в паллиативной химиотерапии злокачественных новообразований.....	28
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	36
2.1. Исследуемые соединения.....	36
2.2. Общая характеристика экспериментов на животных.....	38
2.3. Опухолевая модель.....	39
2.4. Оценка противоопухолевой и антиметастатической активности на моделях перевиваемых опухолей.....	42
2.5. Биохимическое исследование.....	43
2.6. Морфологическое исследования.....	43
2.7. Иммуногистохимическое исследование.....	44
2.8. Статистическая обработка.....	45
2.9. Дизайн исследования.....	46
ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ И АНТИМЕТАСТАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГИБРИДНЫХ ОЛОВООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ И ИХ КОМБИНАЦИИ С ЦИСПЛАТИНОМ В МЕТРОНОМНОМ РЕЖИМЕ ВВЕДЕНИЯ	47
3.1. Введение тестируемых соединений в метрономном индивидуальном режиме в максимально эффективных для каждого соединения суммарных дозах.....	48

3.2. Введение тестируемых соединений в метрономном комбинированном режиме53

ГЛАВА 4. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ И АНТИМЕТАСТАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГИБРИДНЫХ ОЛОВООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В МЕТРОНОМНОМ РЕЖИМЕ ВВЕДЕНИЯ.....57

4.1. Поисковое морфологическое и иммуногистохимическое исследование патогенетических механизмов реализации противоопухолевой и антиметастатической активности тестируемых соединений.....57

4.2. Углубленное биохимическое исследование патогенетических механизмов реализации противоопухолевой и антиметастатической активности тестируемых соединений.....74

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....79

5.1. Лидерные гибридные оловоорганические соединения (Me-3 и Me-5) в метрономном режиме введения проявляют умеренную противоопухолевую и высокую антиметастатическую активность на модели злокачественных новообразований меланоме B16 мышей.....79

5.2. При комбинированном введении цисплатина и лидерных гибридных оловоорганических соединений в метрономном режиме наблюдается косвенный синергический противоопухолевый и антиметастатический эффект на рост и развитие меланомы B16 мышей.....82

5.3. Максимально эффективная комбинация вводимой композиции (цисплатин и оловоорганические соединения) зависит от класса токсичности тестируемого органического соединения олова (IV): для IV класса токсичности по СГС наиболее эффективной является комбинация 1:15, для V-класса токсичности – 1:45.....85

5.4. Изменение маркеров неоангиогенеза в ткани первичного опухолевого узла животных-носителей меланомы B16 через 18 суток после перевивки опухолевых клеток характерно для метрономного режима введения ГОС-Sn (IV), более выражено для гемангиогенеза.....87

5.5. Реализация патогенетических механизмов противоопухолевой и антиметастатической эффективности гибридных оловоорганических соединений в метрономном режиме введения имеет особенности: ведущим механизмом фармакологической активности является подавление патологического опухолевого неоангиогенеза.....89

ВЫВОДЫ.....94

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....95

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....96

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....98

ПРИЛОЖЕНИЯ.....125

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. По данным экспертов ВОЗ, «рак является одной из главных причин заболеваемости и смертности во всем мире [Каприн А.Д. и др., 2021]. В 2022 г. в Российской Федерации впервые выявлено 624 835 случаев злокачественных новообразований. Прирост данного показателя по сравнению с 2021 г. составил 7,6%. В 2022 г. 34,4% злокачественных новообразований было диагностировано на этапе I стадии заболевания (в 2021 г. – 32,4%), 24,9% – на II стадии (в 2021 г. – 25,5%), 16,8% – на III стадии (в 2021 г. – 17,2%), 19,8% злокачественных новообразований в России было диагностировано на этапе IV стадии (в 2021 г. – 20,5%) [Каприн А.Д. и др., 2022].

Одной из сложных и все еще не решенных проблем является оказание медицинской помощи должного качества пациентам с распространенными формами злокачественных новообразований (ЗНО) в ситуации, когда исчерпаны возможности радикального лечения [Новиков Г.А. и др., 2022].

Доля пациентов, подлежащих преимущественно симптоматической терапии, из числа всех пациентов, состоящих под диспансерным наблюдением на конец отчетного года, по данным государственного ракового регистра, в 2022 году составила более 25% [Старинский В.В. и др., 2022].

Одним из основных методов лечения распространенных злокачественных новообразований остается химиотерапия [Безбородова О.А. и др., 2020], которая играет решающую роль в оказании высококачественной паллиативной помощи [Tjia J. et al., 2023]. Пациенты с диссеминированным опухолевым процессом имеют сниженный функциональный статус, что ограничивает возможности применения высокотоксичных режимов терапии и обуславливает разработку комбинированных и метронормных методик введения цитостатических лекарственных средств в реальной клинической практике и на этапах доклинической разработки субстанций с предполагаемым противоопухолевым действием [Каприн А.Д. и др., 2022].

Терапевтическая концепция непрерывного введения химиотерапевтических агентов в более низких дозах по сравнению с максимально переносимой дозой (MTD) без перерывов в приеме лекарств в течение длительных периодов времени, известная как «метрономная химиотерапия», является многообещающим подходом к антиангиогенной терапии рака. По сравнению со схемами химиотерапии MTD метрономная химиотерапия продемонстрировала меньшую токсичность.

В настоящее время в качестве перспективных кандидатов в противоопухолевые лекарственные средства активно изучаются металлсодержащие субстанции, и в этой связи особый интерес вызывают соединения олова [Fotopoulou E. et al., 2022]. За 2009-2018 гг было исследовано более 300 производных оловоорганических соединений (IV) с лигандами-донорами кислорода, такими как карбоновые кислоты, аминокислоты, нестероидные противовоспалительные препараты, биологически активные производные или натуральные продукты, оловоорганические соединения (IV) с серосодержащими лигандами, такими как тионы, тиосемикарбазоны, дитиокарбаматы, оловоорганические соединения (IV) с оксимами и оловоорганических соединений (IV) с аминами или семикарбазонами на предмет их антипролиферативного действия против различных линий раковых клеток. [Banti S.N. et al., 2019]. Оловоорганические соединения проявили разную степень фармакологической активности на модельных системах *in vitro* и *in vivo* [Mohammed•A. et al., 2020; Додохова М.А. и др., 2021].

Из широкой линейки оловоорганических соединений – аналогов, содержащих фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола, нами в предыдущих исследованиях были выявлены лидерные соединения бис-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)тиолат диметилолова (Me-3) и (3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)тиолат трифенилолова (Me-5), доказана их фармакологическая активность на моделях перевиваемых мышам опухолей меланомы B16 и эпидермоидной карциномы Lewis [Додохова М.А., 2023] и целесообразность их дальнейшего изучения.

Поиск новых стратегий введения цитостатических агентов применительно к паллиативной химиотерапии остается приоритетным направлением для исследований в области патологической физиологии, а также экспериментальной фармакологии и онкологии [Xu J.J. et al., 2022]. В этой связи разработка методов комбинированного и метрономного введения лидерных гибридных оловоорганических соединений для лечения диссеминированного опухолевого процесса является актуальной задачей.

Степень разработанности темы исследования. Низкомолекулярные оловоорганические соединения на протяжении долгого времени используются в качестве фунгицидов, стабилизаторов пластмасс, производственных и сельскохозяйственных биоцидов, консервантов древесины и противообрастающих средств – именно с этим связано появление исследований токсичности для этого типа соединений [Ronconi K. et al., 2018]. Большинство биохимических эффектов оловоорганических соединений, приводящих к токсичности, удивительно схожи у разных видов животных [Pagliarani A. et al., 2013]. Их высокая токсичность создает предпосылки для использования этого класса соединений как кандидатов в противоопухолевые лекарственные средства [Zhang S. et al., 2021] при условии модификации молекулы протекторными лигандами [Nikitin E.A. et al., 2022].

В мировой литературе описано крайне мало исследований гибридных оловоорганических соединений на животных модельных системах. Использование остатка салициловой кислоты с целью уменьшения неспецифической токсичности привело к потере фармакологической активности на модели карциномы толстой кишки [Gielen M. et al., 1995]. Введение в молекулу гибридных оловоорганических соединений группы 5-хлор-2-меркаптобензотиазол в ходе направленного синтеза не оказало желаемого эффекта по уменьшению общей токсичности [Metsios A. et al., 2012]. Использование в качестве протекторного фрагмента 2-меркаптоникотиновой кислоты является приемлемым для достижения соотношения «активность-токсичность» с сохранением влияния

на первичный очаг опухоли в виде снижения торможения роста опухоли (ТРО) по сравнению с контрольной группой [Verginadis I. I. et al., 2011].

Протекторный эффект 2,6-ди-трет-бутилфенола по снижению системной токсичности, доказанный нами в предыдущих работах [Додохова М.А. и др., 2021], позволил провести комплексное исследование на животных моделях в классическом режиме введения [Dodokhova M.A. et al., 2022].

Гибридные оловоорганические соединения, содержащие фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола, проявляют разнонаправленное действие на рост и развитие первичного очага и интенсивность метастазирования в легких на модели меланомы В16 в зависимости от введенной дозы. Наиболее выраженный противоопухолевый антиметастатический эффект достигнут при введении бис-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)тиолата диметилолова (Ме-3) в суммарной дозе 375 мг/кг и (3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилтиолат) трифенилолова (Ме-5) в суммарной дозе 250 мг/кг [Dodokhova M.A. et al., 2022].

Умеренная противоопухолевая и выраженная антиметастатическая активность при высоких показателях безопасности применения позволяет считать дальнейшую разработку гибридных оловоорганических соединений для использования в экспериментальной паллиативной химиотерапии целесообразной.

Цель исследования – оценить влияние гибридных оловоорганических соединений и их комбинации с цисплатином на рост и развитие меланомы В16 мышей линии С57В1/6 в метрономном режиме введения и установить ведущие патогенетические механизмы их противоопухолевого действия.

Для реализации поставленной цели сформулированы и запланированы к последовательному поэтапному решению следующие **задачи исследования**:

1. Оценить противоопухолевую и антиметастатическую активность лидерных гибридных оловоорганических соединений (Ме-3 и Ме-5) в метрономном режиме введения на модели меланомы В16 мышей линии С57В1/6.

2. Оценить противоопухолевую и антиметастатическую активность лидерных гибридных оловоорганических соединений (Me-3 и Me-5) и цисплатина в метрономном режиме введения на модели меланомы B16 мышей линии C57Bl/6.
3. Выявить оптимальное соотношение цисплатина и лидерных гибридных оловоорганических соединений (Me-3 и Me-5) для введения в комбинированном метрономном режиме меланомы B16 мышей линии C57Bl/6.
4. Оценить влияние лидерных гибридных оловоорганических соединений (Me-3 и Me-5) в метрономном режиме введения на модели меланомы B16 мышей линии C57Bl/6 на изменение маркеров неоангиогенеза.
5. Описать патогенетическую схему реализации противоопухолевой и антиметастатической активности лидерных гибридных оловоорганических соединений (Me-3 и Me-5) в метрономном режиме введения меланомы B16 мышей линии C57Bl/6.

Научная новизна исследования. В рамках выполнения данной работы впервые исследована новая стратегия введения лидерных гибридных оловоорганических соединений, содержащих фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола, в метрономном режиме применения на доклиническом этапе изучения; продемонстрирована целесообразность комбинированного введения цисплатина и лидерных гибридных оловоорганических соединений при химиотерапевтическом лечении меланомы B16; установлено оптимальное соотношение компонентов комбинированного введения в зависимости от класса токсичности элементорганического соединения; выявлено снижение интенсивности неоангиогенеза при введении лидерных гибридных оловоорганических соединений при химиотерапевтическом лечении меланомы B16 в метрономном режиме; описана патогенетическая схема реализации противоопухолевой и антиметастатической активности лидерных гибридных оловоорганических

соединений в метрономном режиме введения, которая показывает, что основными механизмами действия является подавление патологического опухолевого неангиогенеза и изменение про/антиоксидантного статуса опухолевой клетки.

Теоретическая и практическая значимость работы заключается в выявлении принципиально новых сведений о метрономном воздействии моно- и комбинированного с цисплатином введения лидерных гибридных оловоорганических соединений, содержащих фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола, на восприимчивые раковые клетки, ингибирование роста кровеносных сосудов опухоли, а также установлении патогенетических особенностей механизма действия низкодозированного и длительного введения тестируемых соединений на экспериментальной модели меланомы В16 мышей.

Практическая значимость данного исследования состоит в обосновании использования методики «Поискового иммуногистохимического анализа» и прогнозирования максимально эффективных доз для комбинированной терапии цисплатина и соединений с предполагаемым противоопухолевым действием разных фармакологических групп.

Методология и методы исследования. Методология и алгоритм действий при выполнении диссертационного исследования соответствуют общепринятой схеме проведения доклинического исследования [Хабриев Р.У., 2005]. Дизайн исследования одобрен локальным независимым этическим комитетом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 14/23 от 14 сентября 2023г).

Для достижения цели и поставленных задач исследования использовали две гибридные субстанции, относящиеся к классу оловоорганических соединений (Me-3 и Me-5), и один вид животных: мыши линии C57Bl/6 (самки, n=312), были использованы актуальные методы экспериментальной фармакологии и химиотерапии, биохимические и морфологические методы соответственно,

которые позволили интерпретировать полученные результаты и сделать экспериментально обоснованные выводы.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Лидерные гибридные оловоорганические соединения (Me-3 и Me-5) в метрономном режиме введения проявляют умеренную противоопухолевую и высокую антиметастатическую активность на модели злокачественных новообразований – меланоме B16 мышей.
2. При комбинированном введении цисплатина и лидерных гибридных оловоорганических соединений в метрономном режиме наблюдается косвенный синергический противоопухолевый и антиметастатический эффект на рост и развитие меланомы B16 мышей.
3. Максимально эффективная комбинация вводимой композиции (цисплатин и оловоорганические соединения) зависит от класса токсичности тестируемого органического соединения олова (IV): для IV класса токсичности по СГС наиболее эффективной является комбинация 1:15, V класса токсичности – 1:45.
4. Изменение маркеров неоангиогенеза в ткани первичного опухолевого узла животных-носителей меланомы B16 через 18 суток после перевивки опухолевых клеток характерно для метрономного режима введения ГОС-Sn (IV), более выражено для гемангиогенеза.
5. Реализация патогенетических механизмов противоопухолевой и антиметастатической эффективности гибридных оловоорганических соединений в метрономном режиме введения имеет особенности: ведущим механизмом фармакологической активности является подавление патологического опухолевого неоангиогенеза.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Основные научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Степень достоверности и апробация работы. Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом

проведенных экспериментальных исследований с использованием высокотехнологичного оборудования, современных фармакологических, биохимических и морфологических методов, соответствующих поставленным цели и задачам. Сформулированные выводы подкреплены фактическими данными, полученными при выполнении работы, и наглядно представлены в приведенных таблицах и рисунках.

Для статистической обработки полученных результатов применяли программу STATISTICA 6.0.

Материалы и основные положения диссертации представлены и обсуждены на VII Петербургском международном онкологическом форуме «Белые ночи 2021» (Санкт-Петербург, 2021); VI Всероссийской Конференции по молекулярной онкологии с международным участием (Москва, 2021). XVIII Международном научном конгрессе «Рациональная фармакотерапия» (Санкт-Петербург, 2023); IX Петербургском международном онкологическом форуме «Белые ночи – 2023» (Санкт-Петербург, 2023); VIII Всероссийской Конференции по молекулярной онкологии с международным участием (Москва, 2023).

Апробация диссертации проведена на заседании Проблемной комиссии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Протокол № 33 от 26 декабря 2023 г.).

Внедрение результатов исследования. Материалы диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедр патологической физиологии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, патологической анатомии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, общей и клинической биохимии №1 ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России.

Публикации результатов исследования. По теме диссертационной работы опубликовано 16 печатных работ, из них 3 – во включенных в Перечень рецензируемых или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования научных изданиях, 3 – в рекомендованных ВАК при

Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и изданиях, приравненных к ним; получено 3 патента на изобретение.

Личный вклад автора в исследование. Автору принадлежит решающая роль на всех этапах исследования. Личный вклад автора заключался в формулировании цели и задач диссертации, ведении научно-информационного поиска, анализа и обобщения данных для обзора литературы, в постановке экспериментальной части работы с животными, заборе биоматериала и его анализе с использованием актуальных фармакологических, токсикологических и биохимических методов, а также в выполнении статистической обработки полученных результатов исследования, подготовке текста диссертации и иллюстративного материала тезисов, статей и патентов на изобретения.

Структура и объем диссертационной работы. Диссертационная работа изложена на 130 страницах, содержит введение, обзор литературы, подробное изложение материалов и методов, две главы собственных результатов, отражающие полученные в процессе работы экспериментальные данные и их обсуждение, завершается выводами и практическими рекомендациями. В диссертации представлен список сокращений и условных обозначений. Библиография состоит из ссылок на 185 литературных источников (77 – отечественных и 108 – зарубежных авторов). Диссертационная работа проиллюстрирована 15 таблицами и 33 рисунками, содержит приложения.

Автор выражает искреннюю благодарность за неоценимую помощь сотрудникам Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова – д.х.н., профессору Е.Р. Милаевой и к.х.н. Д.Б. Шпаковскому – за методологическую помощь и осуществление направленного синтеза гибридных оловоорганических соединений, а также к.м.н., главному врачу государственного бюджетного учреждения Ростовской области «Патолого-анатомическое бюро» О.В. Вороновой за помощь в интерпретации результатов морфологического исследования.

ГЛАВА 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ: НЕОАНГИОГЕНЕЗ И МЕТРОНОМНЫЙ РЕЖИМ ВВЕДЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В КЛИНИЧЕСКОЙ И ЭСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Наряду с поиском новых противоопухолевых лекарственных средств одной из приоритетных задач междисциплинарных исследований в области экспериментальной патофизиологии опухолей является выбор рационального режима их введения для увеличения эффективности химиотерапии и снижения побочного действия тестируемых соединений [Kashkooli M. et al., 2021].

Согласно практическим рекомендациям [Трякин А.А. и др., 2022] по общим принципам проведения противоопухолевой лекарственной терапии, в зависимости от интенсивности дозы цитотоксического препарата выделяют:

1) низкодозная (низкоинтенсивная) ХТ: часто рекомендуется больным пожилого и старческого возраста, пациентам с серьезной сопутствующей патологией, при тяжелом и среднетяжелом общем состоянии, при проведении терапии с паллиативной целью;

2) химиотерапия стандартной дозовой интенсивности;

3) высокодозная (высокоинтенсивная) ХТ: как правило, характеризуется высокой миело- и иммуносупрессивностью, вплоть до полной миелоаблативности;

4) сверхвысокодозная ХТ, или ХТ сверхвысокой интенсивности: как правило, представляет собой модификации уже существующих режимов высокодозной ХТ с добавлением дополнительных химиотерапевтических агентов или с дополнительной эскалацией доз одного или нескольких химиотерапевтических агентов;

5) метрономная ХТ – регулярное назначение цитостатических препаратов в более низких, чем обычно, дозах (значительно меньше максимально

переносимых), с небольшими (намного меньшими, чем в стандартных режимах) интервалами времени.

Концепция применения метрономной терапии заключается в торможении роста злокачественных клеток, что теоретически снизит вероятность достижения «летального» объема опухоли и тем самым может повлиять на показатели выживаемости. Принцип назначения метрономной терапии показан на рисунке 1 [Чубенко В.А. и др., 2019; Чубенко В.А., 2020].

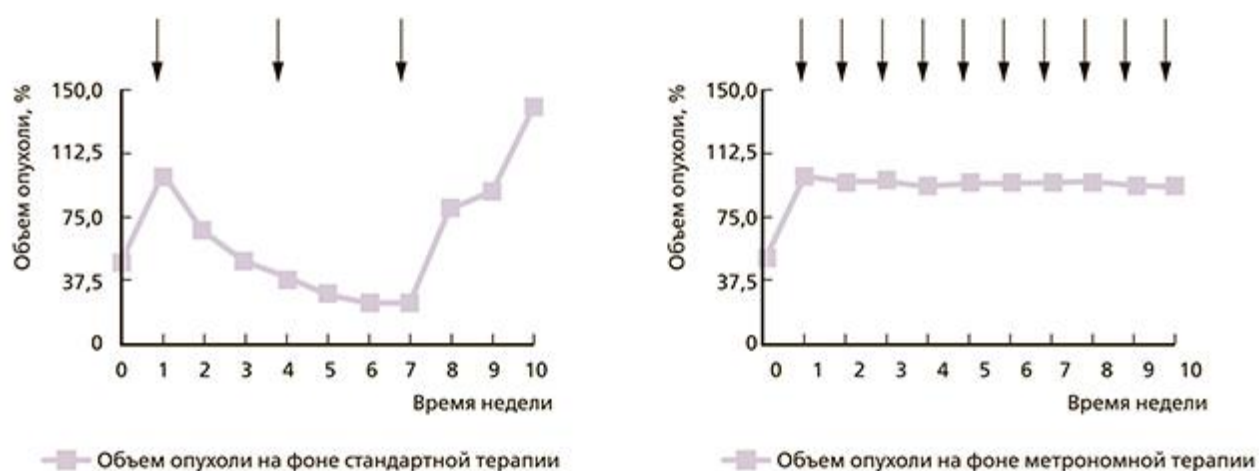


Рисунок 1 – Принцип назначения метрономной терапии.

Многие виды противоопухолевой лекарственной терапии (прежде всего, цитотоксической) обладают узким терапевтическим окном, в связи с чем важно придерживаться рекомендованных доз препаратов, а также интервалов между их введениями [Трякин А. А. и др., 2020].

Недостатками стандартной высокодозной ХТ, наряду с высокой системной токсичностью и развитием резистентности, может являться активация неоангиогенеза с ухудшением прогноза для пациента [Федянин М.Ю. и др., 2016]. Т. Browder с соавторами показал, что при терапии циклофосфаном в максимально переносимых дозах 1 раз в 2 недели происходит выраженный апоптоз эндотелиоцитов в трансплантированных мышам опухолях, но не в нормальных сосудах организма. При этом в течение 2-недельного перерыва происходило полное восстановление сосудистой опухолевой сети, т.е. антиангиогенный эффект был крайне непродолжительным по времени. Кроме того, известно, что при

воздействии химиопрепаратами в максимально переносимых дозах этот кратковременный антиангиогенный эффект сменяется усилением ангиогенеза за счет стимулирования мобилизации из костного мозга эндотелиальных клеток-прогениторов, которые мигрируют в опухоль и стимулируют построение новых сосудов. При уменьшении интервала времени между введениями циклофосфана, которое потребовало и снижения дозы препарата, в опухолевых сосудах развивался более выраженный апоптоз, приводящий к противоопухолевому эффекту. Данные явления были зарегистрированы даже при опухолях, резистентных к стандартным режимам введения циклофосфана [Федянин М.Ю. и др., 2016; Browder T. et al., 2000].

Обзор литературы посвящен применению инновационного режима введения противоопухолевых цитостатических лекарственных средств по метрономной методике.

Метрономная химиотерапия (МХ) представляет собой введение противоопухолевых и антиметастатических лекарственных препаратов в дозах, значительно меньше максимально переносимых. Введение проводят регулярно на протяжении длительного периода времени. [Ishikawa E. et al., 2021; Liu G. et al., 2021]. К преимуществам МХ относят минимальные побочные эффекты и редкую вероятность развития приобретенной лекарственной устойчивости [Zhang P.C. et al., 2020; Jeong J.H. et al., 2021]. Доказательств результативности использования метрономной химиотерапии для персонализированной медицины становится все больше, например, при применении у пожилых пациентов, а также для паллиативного лечения [Simsek C. et al., 2019].

Еще в 1991 г. R.S. Kerbel связал успешность применения метрономного режима со снижением неоваскулогенеза в опухолевой ткани [Oguntade A.S. et al., 2021]. Термин «метрономная химиотерапия» был впервые введен в 2000 г. D. Nanahan и соавторами, в основе противоопухолевого действия данного подхода рассматривалось прямое воздействие на эндотелий опухолевых сосудов [Федянин М.Ю. и др., 2016; Karami E. et al., 2020].

На современном этапе развития клинической и экспериментальной химиотерапии широко изучается эффективность введения в метронормальном режиме зарегистрированных противоопухолевых лекарственных средств в терапии злокачественных новообразований различной стадийности и локализации процесса, а также перспективных кандидатов в цитостатические средства на этапе доклинической разработки.

1.1. Опухолевый неангиогенез.

Ангиогенез – это процесс, при котором новые кровеносные сосуды развиваются из существующих капилляров и в конечном итоге создают полную, регулярную и зрелую сосудистую сеть [Jeong J.H. et al., 2021; Котиева И.М. и др., 2023]. Этот процесс включает деградацию базальной мембраны и активацию, пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток (ЭК) [Liu Z.L. et al., 2023] и является результатом постоянно сменяющегося равновесия между проангиогенными и анти-ангиогенными факторами [Кит О.И. и др., 2017].

Опухоль представляет собой биологическую ткань с быстрой пролиферацией, энергичным метаболизмом и устойчивой жизнеспособностью, которая нуждается в кислороде и питательных веществах гораздо больше, чем нормальные тканевые клетки [Кит О.И. и др., 2018]. Начальная стадия опухолевого роста представляет собой аваскулярное состояние, при котором опухоль не приобрела агрессивности и поглощает кислород и питательные вещества за счет диффузии в окружающие ткани [Liu Z.L. et al., 2023]. Когда солидная опухоль вырастает до объема более 1–2 мм [Teleanu R.I. et al., 2019], ресурсы окружающей ткани перестают поддерживать ее рост [Gasparini G. et al., 2005]. В опухолевой ткани постепенно развивается микроокружение с гипоксией, ишемией, ацидозом и высоким интерстициальным давлением, которое высвобождает обильные факторы роста и цитокины, стимулируя ангиогенез и лимфангиогенез для удовлетворения потребностей роста и метаболизма опухоли [Adams R.H. et al., 2007]. Из-за быстрой пролиферации опухолевых клеток в

организациях, удаленных от кровеносных сосудов опухолевой ткани, возникает микроокружение с более тяжелой гипоксией, ацидозом и высоким интерстициальным давлением, способствующее разрастанию опухолевой ткани и увеличению активности метастазирования [Кит О.И. и др., 2017].

Активность опухолевого роста в эксперименте зависит от многих факторов.

Установлено, что развитие злокачественного опухолевого процесса любой локализации провоцирует нарушения во всех типах обмена [Кит О.И. и др., 2021; Kit O.I. et al., 2022; Кит О.И. и др., 2019; Shikhlyarova A.I. et al., 2022], не только органа-мишени [Котиева И.М. и др., 2018], но и регуляторных систем [Кит О.И. и др., 2017; Котиева И.М. и др., 2018; Кит О.И. и др., 2018; Котиева И.М. и др., 2018].

Различные проангиогенные факторы постоянно высвобождаются или активируются опухолевыми клетками для активации эндотелиальных клеток (РИС), перицитов (РС), опухолеассоциированных фибробластов (САФ), эндотелиальных клеток-предшественников (ЕРС) и иммунных клеток (ICs) [Shiga K. et al., 2015], впоследствии приводя к телеангиэктазии, разрушению базальной мембраны, ремоделированию внеклеточного матрикса, отторжению перицитов, дифференцировке эндотелиальных клеток для поддержания высокоактивной стадии ангиогенеза, в конечном итоге вызывая пролиферацию, диффузию и метастазирование опухоли как показано на рисунке 2 [Parmar D. et al., 2021].

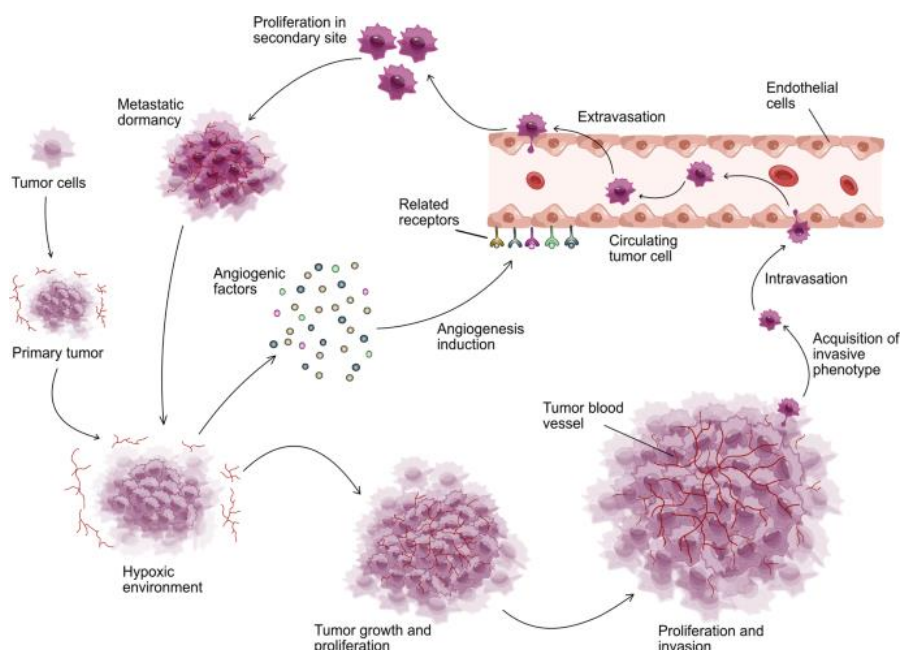


Рисунок 2 – Патогенетическая схема опухолевого неоангиогенеза по Liu Z.L. et al. [2023]

Аномальный ангиогенез, придающий микроокружению опухоли отличительные особенности, характеризуется извитыми, проницаемыми кровеносными сосудами разнообразной формы и высокой эффективностью перфузии [Vimalraj S. et al., 2022]. Для роста, инвазии и метастатического распространения опухоли необходим про-ангиогенный переключатель.

Фактор, индуцируемый гипоксией (HIF), высоко экспрессируется в микроокружении опухоли. Высокая экспрессия HIF индуцирует активацию ангиогенных факторов, таких как фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), ангиопоэтин (Ang1 и Ang2), рецептор VEGF (VEGFR) и рецептор Tie2, на уровне транскрипции, тем самым способствуя образованию новых кровеносных сосудов [Liao D. et al., 2007]. После неоваскуляризации опухоли адекватная сосудистая сеть и кровоснабжение продолжают снабжать раковые клетки кислородом и питательными веществами, что приводит к росту, прогрессированию и метастазированию опухоли [Editors A. et al., 2022; Rajabi M. et al., 2017].

Члены семейства VEGF связываются с тремя рецепторными тирозинкиназами (VEGFR1, VEGFR2 и VEGFR3) перекрывающимся образом. VEGFR1 и VEGFR2 в основном экспрессируются на ЭК сосудов; однако VEGFR3 особенно экспрессируется на лимфатических ЭК. VEGFR2 обладает

более сильной проангиогенной активностью и более высокой тирозинкиназной активностью, чем VEGFR1 [Melincovici C.S. et al., 2018]. VEGFA опосредует ангиогенные реакции *in vivo*, главным образом, посредством активации VEGFR2 [Melincovici C.S. et al., 2018]. Рецепторы VEGF можно разделить на три домена: внеклеточный VEGF-связывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен (домен активации тирозина) [Editors A. et al., 2022; Karaman S. et al., 2018]. VEGF в основном продуцируется клетками, окружающими кровеносные сосуды, и действует на эндотелиальные клетки по паракринному механизму [Lundkvist A. et al., 2007]. После того, как уровни VEGF-A достигают максимальных уровней концентрации на переднем крае сосудистого отростка, он связывается с VEGFR2 и индуцирует миграцию клеток кончика эндотелия. Как только VEGFR активируется, это приводит к ряду последующих путей, связанных с опухолевым ангиогенезом, включая пролиферацию эндотелиальных клеток, выживание, инвазию и метастазирование, цитоскелетную перестройку; и сосудистую проницаемость [Editors A. et al., 2022; Teleanu R.I. et al., 2019].

Таким образом, ингибирование опухолевого ангиогенеза может уменьшить кровоток, необходимый для развития опухоли [Li S. et al., 2019], и рост опухолевых клеток прекратится из-за недостатка питательных веществ и факторов роста, необходимых для образования вновь формирующихся кровеносных сосудов [Масляникова А.А. и др. 2023]. Наиболее широко изученными модуляторами ангиогенеза являются VEGF и соответствующие мембранные рецепторы, прежде всего VEGFR2. Они играют важную роль в регуляции физиологического и патологического ангиогенеза [Ebadi A. et al., 2014]. Первым лечением, нацеленным на ангиогенез опухоли, было моноклональное антитело бевацизумаб, которое действует путем взаимодействия и блокирования взаимодействия VEGF с его рецептором [Editors A. et al., 2022; Ribeiro A. et al., 2018].

Концепция антиангиогенной терапии рака кажется простой только на первый взгляд: разрушая сосудистую сеть опухоли и лишая ее питательных

веществ и кислорода, в конечном счете, можно вызвать регрессию раковых клеток. Однако выгода долгосрочного выживания у пациентов с прицеливанием на сигнальный путь VEGF не оказалась такой положительной, как первоначально надеялись. Комбинированная VEGF-A/VEGFR блокада с использованием бевацизумаба показала определенную клиническую эффективность, однако связь между уровнями и временем экспрессии VEGF в опухолевой прогрессии нуждается в дальнейшем изучении [Felcht M. et al., 2015]. Основным выводом в этом контексте является то, что блокирование VEGF-A/VEGFR приводит к транзиторному ремоделированию сосудов и нормализации сосудистого русла опухоли [Кит О.И. и др., 2017].

Ангиогенные пути развития опухоли, функционирующие в различных механизмах посредством прорастающего ангиогенеза, инвагинационного ангиогенеза, сосудистой кооптации, мимикрии сосудов и гломерулоидного ангиогенеза, обычно активируются различными ангиогенными стимуляторами, а их рецепторы взаимосвязаны, что приводит к возникновению специализированных сигнальных путей. Среди этих рецепторов VEGFR-2 является одним из ключевых медиаторов ангиогенеза опухоли и рассматривается как основная терапевтическая мишень для борьбы с ангиогенезом. Регуляция ангиогенеза изображена на рисунке 3. [Shah A.A. et al., 2021].

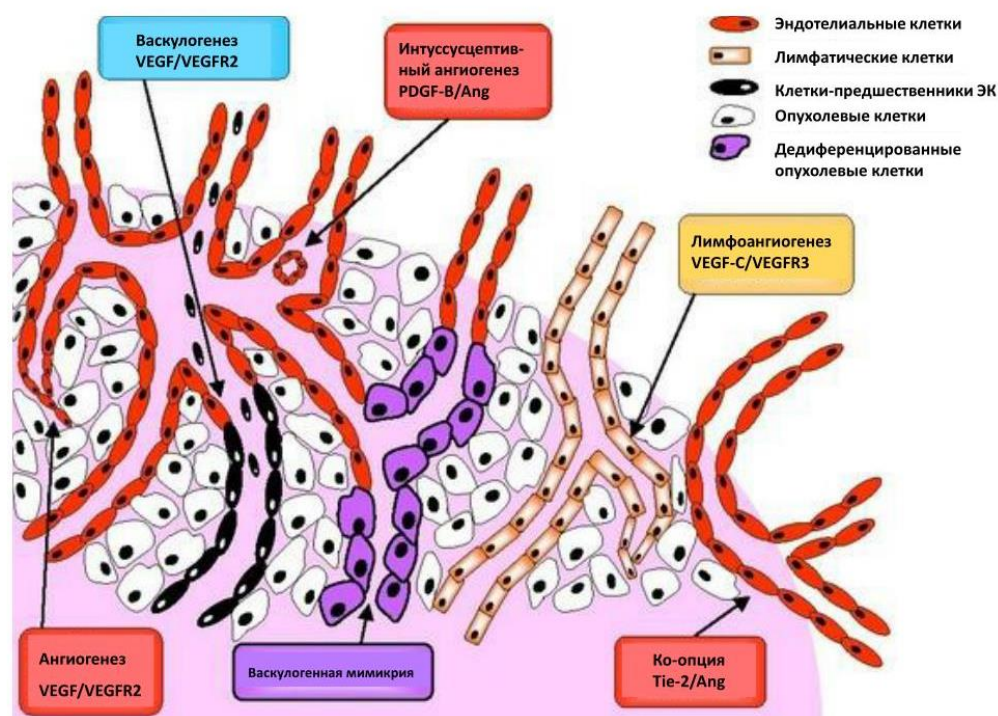


Рисунок 3 – Регуляция ангиогенеза

Растущее количество клинических и экспериментальных данных, касающихся неоангиогенеза, делает МХТ привлекательной альтернативой традиционной химиотерапии, требующей дальнейшей разработки [Kareva I. et al., 2015]. При этом показано, что перерывы в ХТ способствуют васкуляризации опухолей и появлению резистентных клонов, которые не успели подвергнуться воздействию цитостатиков. Доказано, что МХТ оказывает не только прямой эффект на опухолевые клетки, но также влияет на клеточное микроокружение, ингибируя опухолевый ангиогенез или стимулируя иммунный ответ, и по этим причинам сам по себе может рассматриваться как многоцелевая терапия [Cazzaniga M.E. et al., 2021].

1.2. Метронормальная химиотерапия в клинической и экспериментальной терапии злокачественных новообразований

Современные персонализированные методы лечения, новые схемы лекарственной терапии, а также попытки регуляции функции иммунной системы, безусловно, привели к увеличению продолжительности жизни, а в ряде случаев и

к излечению больных злокачественными новообразованиями. Однако в целом, несмотря на инновационные подходы и значительные успехи в лечении больных, показатели медианы общей выживаемости достигают 45 месяцев при раке молочной железы, 30 месяцев при колоректальном раке, 17 месяцев при раке легкого, 9 месяцев при раке желудка, а при некоторых других опухолях (например, рак поджелудочной железы) не превышают и одного года. Вероятно, это связано с гетерогенностью клеток и отсутствием комплексного подхода в лекарственном лечении злокачественных опухолей [Чубенко В.А. и др., 2019].

Выяснение экологических характеристик злокачественных новообразований показало, что ангиогенез и иммуносупрессивный статус в микроокружении опухоли важны для устранения резистентности к лечению и плохого прогноза.

Антиангиогенная эффективность классических цитотоксических агентов, таких как циклофосфomid, метотраксат, таксол и т.д., может быть повышена путем изменения схемы введения дозы; наиболее эффективными были признаны цитостатики, действующие на эндотелий сосудов в опухоли [Qiu H. et al., 2007; Хачатрян Л.А. и др., 2022; Norrby K. et al., 2014].

Основной показатель эффективности МХТ – это снижение уровня и жизнеспособности эндотелиоцитов (ЭКП) без компенсаторного восстановления, т.е. маркером МХТ является изменение кинетики роста опухоли и увеличение продолжительности жизни. Различные механизмы действия при МХТ предполагают и различные возможности комбинации цитостатиков, используемых при этом режиме с другими препаратами, в том числе и с хемосенсибилизаторами, что также может усилить противоопухолевый эффект и снизить токсичность [Богатыренко Т.Н., и др., 2022].

Ретроспективные серии и клинические испытания на ранней стадии показали многообещающие признаки активности и благоприятный профиль токсичности этого режима, что требует дальнейшего изучения в качестве варианта лечения пациентов с люминальным раком молочной железы [Cararica R. et al., 2020].

В рандомизированных исследованиях сообщалось, что добавление поддерживающей терапии метрономами (ММТ) с винорелбином и циклофосфамидом у детей с рабдомиосаркомой привело к значительному увеличению общей и безрецидивной выживаемости. Хотя механизм действия еще предстоит полностью выяснить, это исследование прокладывает путь для дальнейшей оценки ММТ как потенциальной терапевтической стратегии у педиатрических пациентов с заболеванием высокого риска [André N. et al., 2019].

Для описания клинической активности циклофосфамида, введенного в метрономном режиме, и определения предиктора клинического ответа был проведен ретроспективный обзор, в который попали все пациенты с рецидивирующим раком яичников, получавшие пероральный циклофосфамид в указанном режиме. В результате циклофосфамид в метрономном режиме показал клиническую пользу у 48% пациентов с рецидивирующим раком яичников. Статус gBRCA1/2 может быть независимым предиктором ответа [Spiliopoulou P. et al., 2021].

При исследовании влияния на выживаемость пациентов с метастатическим / рецидивирующим раком носоглотки (met/rec NPC) и токсичность поддерживающей метрономной химиотерапии 98 человек, больных met/rec NPC, были впервые спасены внутривенной химиотерапией на основе цисплатина; затем им была рекомендована поддерживающая метрономная химиотерапия в течение не менее 12 месяцев. После сопоставления результатов лечения между людьми, которые получали (n = 51) и не получали (n = 47) поддерживающую химиотерапию после внутривенной спасительной химиотерапии, выявлено, что поддерживающая пероральная метрономная химиотерапия значительно улучшила общую выживаемость и выживаемость без прогрессирования, продемонстрировав низкую токсичность у пациентов с метастатическим / рецидивирующим раком носоглотки [Twu C.W. et al., 2022].

За последние 20 лет несколько исследований подчеркнули влияние МХТ на микроокружение опухоли и ангиогенез и продемонстрировали ее потенциал в качестве переключения из проангиогенного в антиангиогенное состояние. Однако

механизмы действия данного процесса до конца до сих пор неясны [Kim J.Y. et al., 2019], это обуславливает актуальность углубленных исследований введения цитотоксических агентов и их комбинаций в области экспериментальной химиотерапии.

В мире введение противоопухолевых лекарственных средств длительно в минимальных дозах было подробно изучено при лечении местно-регионарно распространенной карциномы носоглотки [Chen Y.P. et al., 2021], метастатического трижды негативного рака молочной железы [Cazzaniga M.E. et al., 2021; Banys-Paluchowski M. et al., 2017; El Darsa H. et al., 2021], злокачественных новообразований рака желудочно-кишечного тракта [Zsiros E. et al., 2021], рецидивирующего рака яичников [Orlandia P. et al., 2018], немелкоклеточного рака легкого [Bondarenko M. et al., 2021], распространенного гепатоцеллюлярного рака [Peristeri D.V. et al., 2021], плоскоклеточного рака полости рта [Su N.W. et al., 2021], рецидивирующего рака шейки матки [Isono-Taniguchi R. et al., 2022], распространенной саркомы мягких тканей [Sharma A. et al., 2022], плоскоклеточного рака пищевода [Noronha V. et al., 2022], распространенного рака поджелудочной железы [Isacoff W.H. et al., 2022] и злокачественных новообразований других локализаций [Wysocki P.J. et al., 2022].

Метрономная химиотерапия, которую непрерывно вводят системно в дозах, близких к нетоксичным, нацелена на эндотелиальные клетки (ЭК), пролиферирующие во время ангиогенеза опухоли. Доклинические исследования особенностей роста ЭК, связанных с ангиогенезом, *in vitro*, а также антиангиогенных и противоопухолевых эффектов метрономной химиотерапии *in vivo*, дали ценную информацию, но клинические испытания этого типа терапии были менее успешными в отношении ингибирования роста опухоли [Shu Y. et al., 2020].

Низкие дозы ХТ также уменьшали количество миофибробластов, что сопровождалось повышенным уровнем Е-кадгерина и низким уровнем N-кадгерина как в первичной опухоли, так и в легких через путь TGF- β за счет подавления экспрессии рецептора TGF- β 2. Наши данные указывают на то, что

несколько других молекулярных механизмов СТХ для опухоли могут быть вовлечены в метрономную химиотерапию, помимо нацеливания на ангиогенез [Zhong H. et al., 2020].

Следующим этапом изучения нового режима введения явилось влияние на активность метастазирования. Результаты моделирования показывают различия между уменьшением первичной опухоли и количеством метастазов, но в целом признают рациональным использование метрономного протокола [Patil V. et al., 2020].

Согласно данным мировой литературы, наилучшие результаты и в реальной лечебной практике злокачественных новообразований, и в экспериментальных исследованиях показали комбинации химиотерапевтических агентов различных фармакологических групп.

По сравнению со схемами химиотерапии метрономный способ введения продемонстрировал меньшую токсичность, однако в качестве монотерапии метрономная химиотерапия не дала убедительных результатов в клинических испытаниях. Показано, что терапевтические подходы, включающие сочетание антиангиогенной «метрономной» терапии с традиционной радио-/химиотерапией и/или адресной доставкой химиотерапевтических агентов в опухолевые ткани потенцируют общие терапевтические результаты [Arrivi G. et al., 2022; Patil V. et al., 2020].

Согласно последним исследованиям, высокую эффективность в комбинированном введении в метрономном режиме показали практически все известные химиотерапевтические лекарственные препараты с различными механизмами действия, а не только те, которые проявляют антинеоваскулогенное и иммуномодулирующее действие, как было показано ранее [Caparica R. et al., 2020].

Схемы метрономной химиотерапии в значительной степени эмпиричны с точки зрения оптимальной дозы и порядка вводимых препаратов, поэтому более глубокое знание фармакокинетики метрономной химиотерапии имеет решающее значение для будущего успеха этой стратегии лечения. В традиционной

онкологии максимально переносимая доза считается основой для расчета терапевтических доз химиотерапии. Данные литературы о высоком курсовом дозировании могут быть базой математического и эмпирического подбора доз для метрономного режима.

Отмечено, что комбинация трастузумаба и метрономной пероральной химиотерапии обладает клинической активностью. Переносимость была превосходной и позволяла проводить длительное лечение [Orlando L. et al., 2020].

Метрономная химиотерапия продемонстрировала многообещающую противоопухолевую активность при ряде злокачественных новообразований. Клиническое исследование II фазы metronomic UFT (пролекарство 5-фторурацила; 100 мг/два раза в день перорально) и циклофосфамида (CTX; 500 мг/м² внутривенно болюсно в 1-й день, а затем 50 мг/сут перорально) плюс целекоксиб (200 мг/два раза в день перорально) у 38 пациентов с прогрессирующими рефрактерными опухолями желудочно-кишечного тракта продемонстрировало целесообразность применения описанной схемы у пациентов с раком желудочно-кишечного тракта для комбинированной метрономной химиотерапии UFT/CTX/celecoxib [Valenzuela P. et al., 2021].

У пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) с неоперабельным заболеванием III стадии достигнут незначительный прогресс и требуются новые схемы лечения. Во время сопутствующего лечения с торакальной лучевой терапией цисплатин вводили \описанным выше образом, но пероральный винорелбин был снижен до 30 мг/сут. Пероральное введение винорелбина и цисплатина в метрономном режиме дает аналогичные результаты эффективности при значительно меньшей токсичности, чем та же химиотерапия в стандартных дозах. ctDNA может идентифицировать популяции с особенно хорошим прогнозом [Provencio M. et al., 2021].

1.3. Метрономная химиотерапия в паллиативной химиотерапии злокачественных новообразований

В большинстве случаев ранняя химиотерапевтическая паллиативная помощь оказывается сразу после постановки диагноза запущенного рака [Bouleuc C. et al., 2019].

В отличие от традиционной или максимально переносимой химиотерапии, которая направлена на уничтожение всех злокачественных клеток, при метрономном дозировании цель часто заключается в долгосрочном лечении заболевания, когда эрадикация оказывается недостижимой [Ledzewicz U. et al., 2017].

Поддерживающая терапия, основанная на использовании метрономной химиотерапии (МХ); то есть непрерывном введении низкодозированной химиотерапии, десятилетиями успешно применялась у педиатрических пациентов с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), и недавние данные продемонстрировали улучшение результатов у пациентов с детской рабдомиосаркомой высокого риска (RMS) [André N. et al., 2020].

Покой опухоли – это способность раковых клеток выживать в непролиферирующем состоянии. Это состояние может зависеть от трех основных механизмов: остановки клеточного цикла (покой или клеточный покой), иммунологического надзора (иммунологический покой) или отсутствия функциональных кровеносных сосудов (ангиогенный покой). В частности, в условиях ангиогенного покоя пролиферация раковых клеток уравнивается апоптозом из-за плохой васкуляризации, препятствующей росту опухолевой массы за пределы микроскопических размеров, с бессимптомным и немета статическим состоянием. Васкулогенное или неангиогенное переключение опухоли необходимо для выхода из состояния покоя опухоли, что приводит к пролиферации опухолевых масс и метастазированию. С этой точки зрения метрономная химиотерапия может быть одним из доступных терапевтических подходов, способных благоприятно модулировать ангиогенный покой опухоли [Natale G. et al., 2018].

Было проведено исследование оценки возможности применения недорогой метрономной терапии в качестве альтернативного метода лечения у пациентов с раком полости рта. С июня 2018 года по май 2020 года 25 пациентам была начата метрономная терапия. Средний возраст больных составил 60 лет. Медиана общей выживаемости равняется 8,8 месяцев. Через восемь недель терапии у 11 пациентов (44%) был частичный ответ, у десяти пациентов заболевание было стабильным (40%), а у четырех человек прогрессировало (16%). Соблюдение терапии составило 100%, и у одного пациента (4%) развилась токсичность III степени. Таким образом, пероральная метрономная терапия в форме метотрексата и целекоксиба может рассматриваться как подходящий режим в паллиативном лечении пациентов с неоперабельными, метастатическими или запущенными формами рецидивирующего рака [Sultania M. et al., 2022].

Метастатическая меланома обычно связана с плохим прогнозом. Агрессивность заболевания усугубляется отсутствием эффективного лечения. В то время как терапия метастатической меланомы дакарбазином в максимально переносимой дозе не приводила к значительному повышению средней выживаемости, двойная комбинация низких доз метрономного винбластина и низких доз метрономного циклофосфамида вызывала значительное увеличение выживаемости при минимальной токсичности. Кроме того, мы показываем, что включение комбинации низких доз метрономного винбластина/низких доз метрономного циклофосфамида с режимом метрономного дакарбазина в низких дозах также приводит к значительному увеличению выживаемости, но не в сочетании с максимально переносимой дозой терапии дакарбазином [Cruz-Munoz W. et al., 2009].

Тройной негативный рак молочной железы (TNBC) является молекулярным подтипом рака молочной железы с плохим прогнозом и до сих пор не получил одобренной таргетной терапии. В последние годы проводилось исследование метрономной химиотерапии (mCTH) для улучшения результатов лечения у пациентов с TNBC как на ранних стадиях, так и при метастазировании из-за его антиангиогенных и иммуностимулирующих механизмов. Расширенное

адьювантное лечение метрономическим доцетакселом в течение 6 месяцев после того, как первичная стандартная терапия была переносимой, имело обнадеживающее преимущество в выживаемости у пациентов с операбельным TNBC, но эти результаты нуждаются в дальнейшей оценке рандомизированными контрольными исследованиями [Abdelmaksoud B.A. et al., 2020].

Моделирование комбинированного метрономного режима введения лекарственных средств целесообразно выполнять с цисплатином, поскольку данный препарат широко используется в лечении злокачественных новообразований различной локализации и его действие хорошо изучено.

Цисплатин, или (SP-4-2)-диамминдихлоридоплатина (II), является одним из наиболее потенциальных и широко используемых препаратов для лечения различных солидных видов рака, таких как рак яичек, яичников, головы и шеи, мочевого пузыря, легких, рак шейки матки, меланома, лимфомы и некоторые другие. Цисплатин проявляет противоопухолевую активность с помощью множества механизмов, но наиболее эффективным является образование повреждений ДНК путем взаимодействия с пуриновыми основаниями на ДНК с последующей активацией нескольких путей передачи сигнала, которые в конечном итоге приводят к апоптозу. Однако побочные эффекты и лекарственная устойчивость являются двумя неотъемлемыми проблемами цисплатина, которые ограничивают его применение и эффективность [Ghosh S. et al., 2019].

Препараты на основе платины цисплатин, карбоплатин и оксалиплатин регулярно назначаются при лечении рака, и, хотя они эффективны, их использование ограничено из-за их серьезных, ограничивающих дозу побочных эффектов. Дозолимитирующим побочным эффектом для цисплатина является нефротоксичность, для карбоплатина – миелосупрессия, а для оксалиплатина – нейротоксичность. Другие распространенные побочные эффекты включают анафилаксию, цитопению (включая лейкопению и нейтропению, тромбоцитопению и анемию), гепатотоксичность, ототоксичность, кардиотоксичность, тошноту и рвоту, диарею, мукозит, стоматит, боль, алопецию, анорексию, кахексию и астению. Побочные эффекты могут потребовать снижения

дозы препаратов платины на 25–100%. Кроме того, пациентам требуется тщательный мониторинг их биохимии, функции почек и печени и, в зависимости от препарата, проверка слуха. При этом для лечения побочных эффектов обычно одновременно назначают дополнительные препараты, не связанные с химиотерапией. Они могут включать противорвотные средства, антибиотики и миелоидные факторы роста, маннит, пропафенон, гипергидратацию солевого раствора, добавки магния, блокаторы цитокинов моноклональных антител и антиоксиданты [Oun R. et al., 2018].

Предполагается, что при использовании цисплатина в качестве монокимиотерапии минимальный уровень препарата в течение длительного периода времени окажется более важным, чем быстрое достижение очень высокой дозы в течение более короткого периода времени для сдерживания роста или прогрессирования опухоли [Koziol J.A. et al., 2020].

Для проверки ингибирующего эффекта химиотерапии МХТ с цисплатином на неоваскуляризацию *in vivo* использовалась модель хорио-аллантаической мембраны цыпленка (CAM). Низкие дозы цисплатина ингибировали пролиферацию HUVEC в зависимости от дозы и времени, но были неэффективны в ингибировании пролиферации клеток HerG(2). В опытах на мышах отмечено, что рост опухоли был задержан у особей, получавших цисплатин LDM, без видимой потери массы тела – по сравнению с мышами, получавшими цисплатин MTD. Плотность микрососудов и экспрессия VEGF и MMP-2 были значительно ниже у мышей, получавших цисплатин LDM, чем в контрольной группе и группах MTD. Непрерывные низкие дозы цисплатина подавляли ангиогенез CAM *in vivo*. Химиотерапия LDM с цисплатином может ингибировать рост эндотелиальных клеток кровеносных сосудов *in vitro* и проявлять антиангиогенную способность *in vivo* [Shen F.Z. et al., 2010].

Результаты, полученные китайскими коллегами, подтверждают сообщения о том, что метронормальная химиотерапия низкими дозами/плотным цисплатином является эффективным методом лечения эктопического рака шейки матки с экспрессией E7 в эксперименте [Tsai C.C. et al., 2016].

Разработка соединений металлов, нацеленных на белки, а не на ДНК, например, олова (IV), может преодолеть или, по крайней мере, уменьшить недостатки обычно используемых химиотерапевтических средств. Сообщалось о многих интересных новых комплексах металлов с новыми механизмами действия, и их противоопухолевая активность была связана с селективным взаимодействием белков, что может привести к улучшенному накоплению в опухоли, более высокой селективности и/или усиленной антипролиферативной эффективности [Sullivan M.P. et al., 2018].

Гибридные оловоорганические соединения (ГОС-Sn (IV)) – класс металлоорганических соединений, содержащих в молекуле по крайней мере одну связь С-Sn. Практически все соединения этого класса образованы четырёхвалентным оловом. К ним относятся соединения общей формулы R_3SnX , R_2SnX_2 , R_3SnX (где X – OH, Cl и др., R – алифатический радикал).

Важно отметить, что координационные возможности атома Sn в ГОС-Sn (IV), т.е. его способность образовывать связи с дополнительными лигандами, оказывают существенное влияние на степень, величину [Коляда М.Н., 2001] и селективность проявления терапевтической эффективности и токсического влияния на организм животных-опухоленосителей [Додохова М.А. и др., 2021].

Имея в своем составе липофильные органические группы, эти соединения легко проникают через биологические мембраны в клетки органов и тканей и накапливаются преимущественно в тканях с высоким уровнем обменных процессов и повышенным содержанием липидов. В первую очередь это печень, почки и клетки крови. [Коляда М.Н., 2001, Додохова М.А. и др., 2006; Milaeva E. и др., 2021].

ГОС-Sn (IV) представляют собой класс соединений, изучаемых в качестве альтернативы платиносодержащим химиотерапевтическим средствам благодаря благоприятным результатам *in vitro* и *in vivo*, а также различным механизмам действия [Алхусейн-Кулягинова М.С. и др., 2023].

Arakawa Y. с соавторами выделила основные патогенетические механизмы и процессы, через которые возможна реализация противоопухолевого и антиметастатического действия ГОС-Sn (IV) [Arakawa Y. et al., 2016]:

(1) их включение в клетки в форме пузырьков путем слияния или способом, аналогичным их включению в катионной форме;

(2) транспорт и накопление в областях аппарата Гольджи и эндоплазматического ретикулума (ЭР), но не в плазматической мембране или ядре из-за их гидрофобности;

(3) ингибирование внутриклеточного транспорта фосфолипидов между органеллами за счет нарушения структур и функций аппарата Гольджи и ЭР;

(4) ингибирование мембранно-опосредованной системы передачи сигнала, ведущей к синтезу ДНК посредством оборота фосфолипидов и мобилизации Ca^{2+} , как в системах клеточной пролиферации;

(5) нарушение микроэлементного баланса и локализации отдельных элементов;

(6) нарушения мембранно-опосредованного гомеостаза Ca^{2+} через различные функции каналов, включая модуляцию Zn на мембранах плазмы и органелл и фосфорилирование белков, как в системах передачи сигналов памяти и обоняния;

(7) некроз или апоптоз *in vivo* или токсическая гибель клеток *in vitro*.

Известно, что олово индуцирует апоптоз по разным механизмам, включая активацию каспаз [Kenny R.G. et al., 2019], нарушение веретена [Wang D. et al., 2005], увеличение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} [Kenny R.G. et al., 2019] и т.д. Одним из них является индукция окислительного стресса [Oun R. et al., 2018], включающего поколения огромного количества активных форм кислорода (АФК), высокореактивных форм, способных справиться с повреждением клеток, запуская разрушительные цепные радикальные реакции [Simpson P.V. et al., 2019].

Механизм оловоорганической токсичности представляет собой сложное и многомодальное явление. Как было показано [Johnstone T.C. et al., 2016], наиболее вероятные пути действия связаны с ингибированием полимеризации тубулина,

чему способствует сильное взаимодействие с SH-группами белков. Этот механизм действия был подтвержден как экспериментальными исследованиями с изолированным тубулином, так и молекулярным моделированием. Более того, имеется множество доказательств индукции окислительного стресса оловоорганическими соединениями и их участия в митохондриально-индуцированном апоптозе [Милаева Е.Р. 2021].

Введение фрагмента 2,6-ди-трет-бутилфенола в молекулу ГОС-Sn (IV) приводит к снижению токсичности исходного соединения. [Коляда М.Н. и др., 2017; Додохова М.А. и др., 2021]. Таким образом, полученные гибридные оловоорганические молекулы с помощью стратегии молекулярной гибридизации двух важных фармакофоров могут быть полезны для открытия новых антипролиферативных агентов [Mine A. et al., 2022].

Установлено, что соединения металлов с фенольными группами способны проявлять как прооксидантную, так и антиоксидантную активность, что является важным аспектом для создания противоопухолевых препаратов цитотоксического действия без нежелательных побочных эффектов на здоровые клетки [Антоненко Т.А., 2019].

Метрономный режим введения противоопухолевых и антиметастатических лекарственных препаратов, безусловно, является рациональным способом решения проблемы тяжести побочных эффектов и плохой переносимости лекарственной терапии злокачественных новообразований. Работы, посвященные взаимодействию метрономных схем, представляет огромный интерес для фундаментальных исследований, поскольку эффективный терапевтический режим должен представлять собой оптимальный набор препаратов, доз, схем или комбинаций [Liu H. et al., 2023].

Наибольшая эффективность в метрономном режиме достигается при комбинированном введении соединений с различным механизмом действия. При доклинических исследованиях соединений с предполагаемым противоопухолевым действием следует придерживаться основных принципов стратегии разработки метрономного режима введения.

На основании данных проанализированной литературы применительно к доклиническим исследованиям соединений с предполагаемым противоопухолевым действием можно сформулировать стратегию разработки метронормального режима введения:

1) на этапе тестирования новых соединений целесообразно проводить скрининговое введение в малых дозах длительно, вне зависимости от прогнозируемого действия данного химиотерапевтического агента, начиная с приемов комбинированной терапии с известным противоопухолевым лекарственным средством (цисплатин);

2) для скринингового этапа для расчета дозы можно отталкиваться от максимально переносимой дозы (МПД) тестируемого соединения;

3) эмпирический подбор разовой дозы следует заменить математическим;

4) первоначальные ориентировочные серии эксперимента можно проводить по следующей схеме: 1/10 МПД однократно в течение 10 дней.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

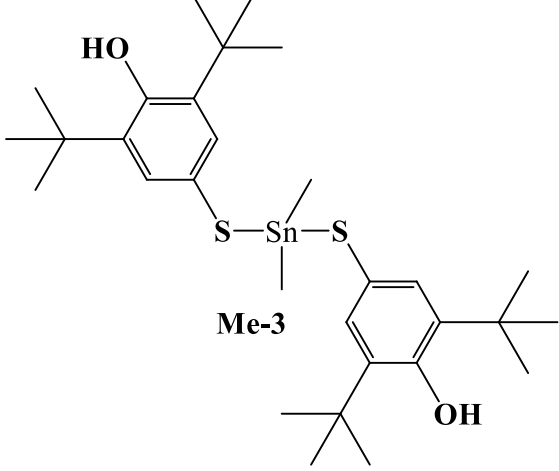
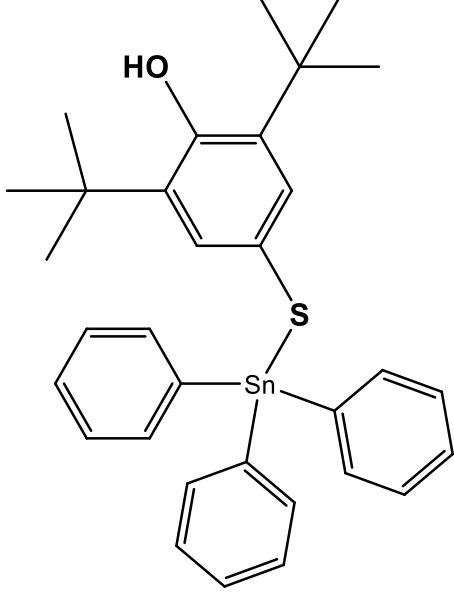
Для исследования соединений с предполагаемым противоопухолевым действием применяются такие стандартные методики доклинических исследований, как фармакологические, токсикологические, биохимические и морфологические.

2.1. Исследуемые соединения

В данной работе изучаются металлоорганические вещества, относящиеся к классу *ГОС-Sn (IV)*. Субстанции обладают противоопухолевым и антиметастатическим действиями. Кафедра органической химии и тонкого органического синтеза Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова под руководством заведующего кафедрой, д.х.н., профессора Милаевой Е.Р. предоставила объекты для изучения в количестве, достаточном для проведения экспериментальной части. Их синтез проводился по стандартным методикам [Shpakovsky D.V. et al., 2014].

Химические формулы тестируемых соединений представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Химические формулы объектов исследования

Лабораторный шифр исследуемых соединений / структурная формула	Химическое наименование
 <p style="text-align: center;">Me-3</p>	бис(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилтиолат) диметилолова
 <p style="text-align: center;">Me-5</p>	((3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилтиолат)трифенилолова

Примечание: Обозначение радикалов: ^tBu – трет-бутил, Ph – фенил.

Физические характеристики ГОС-Sn (IV):

- кристаллическая форма;
- устойчивы на воздухе;
- нерастворимы в воде.

Для подтверждения химического строения и чистоты ГОС-Sn (IV) мы воспользовались сравнением температур плавления исходных веществ, а также данными элементного анализа и ЯМР: ^1H , ^{13}C исследуемых соединений.

Для внутрижелудочного введения объектов исследования была выбрана лекарственная форма – суспензия [Гущина С.В. и др., 2015; Котиева Е.М. и др., 2022]. С учетом физических свойств, при проведении экспериментальной части исследования изготавливали 1% желатиновую суспензию ГОС-Sn (IV). Доза ГОС-Sn (IV) в суспензии рассчитывалась с учетом массы экспериментального животного (мг/кг). Животные, состоящие в группе контроля, во всех опытах получали носитель в эквивалентном объеме. В качестве противоопухолевого лекарственного средства при комбинировании был выбран цисплатин.

2.2. Общая характеристика экспериментов на животных

Для экспериментальной работы мыши (самки) линии С57Bl/6 были предоставлены НИЦ «Курчатовский институт» – «ПЛЖ «Рапполово».

Согласно положениям Хельсинской декларации нами были выполнены следующие условия:

- 1) эксперимент выполнялся в осенне-зимний период;
- 2) животные содержались по 6 особей в одной клетке;
- 3) животные имели доступ к необходимому количеству воды и сбалансированному питанию, удовлетворяющему их потребности;
- 4) температура в помещении была на уровне 20–25°C с относительной влажностью 60–65%;
- 5) подстил в клетке состоял из древесных опилок, подвергнутых предварительной УФ-стерилизации.
- 6) было проведено карантинное изолирование длительностью 14 суток. Его целью является исключение возможности выявления каких-либо заболеваний, а также разделение животных по полу, возрасту и весу. Особи, не прошедшие отбор по заявленным критериям, исключены из исследования.

На 15-е сутки животные были рандомизированы с помощью таблицы случайных чисел. Последовательность случайных чисел была сгенерирована программой, опубликованной в открытом доступе: <https://www.randomizer.org>.

Время выполнения контрольных опытов было варьировано и/или поделено: часть в начале опыта, часть в середине, часть в конце [Прозоровский В.Б., 2007].

В соответствии с методическими рекомендациями для доклинических исследований на животных [Авдеева О.И. и др., 2018], после введения субстанции экспериментальные особи осматриваются через 1, 3 и 24 часа в течение всего срока эксперимента. После этого производится ежедневный осмотр до момента естественной гибели животных или момента эвтаназии.

При проведении осмотра оцениваются следующие показатели:

1. общее состояние животных;
2. летальность.

2.3. Опухолевая модель

Для выявления специфической активности Me-3 и Me-5 нами была выбрана универсальная модель перевиваемых опухолей со спонтанным метастазированием – меланома B16. Указанный опухолевый штамм метастазирует в основном гематогенно в легкие (при подкожной перевивке) и характеризуется высокой интенсивностью процесса диссеминации злокачественных клеток, давая макроскопические метастазы, доступные для качественной и количественной оценки простыми способами [Мурин И.И., 2011; Додохова М.А. и др., 2023].

Штаммы опухолевых клеток получены из банка опухолевых материалов Научно-исследовательского института экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Поддержание и перевивку опухолевого штамма осуществляли в соответствии с общепринятыми методиками опытов на мышах линии C57Bl/6, подробно описанными в наших работах, опубликованных ранее [Додохова М.А. и др., 2021; Додохова М.А. и др., 2021]. Инокуляцию опухолевых клеток для поддержания штамма и опытной перевивки меланомы B16

проводили подкожно в правую подмышечную область каждой мыши по 50 мг опухолевой взвеси в физиологическом растворе в разведении 1:10.

Согласно рекомендациям, использовали второй, третий, четвертый, пятый пассаж опухолевого материала [Островская Л.А. и др., 2018].

Через 48 ч. после перевивки опухолевых клеток мышам-самкам линии С57В1/6 исследуемые соединения вводили внутривентриально 1 раз в сутки в течение 10 дней по метрономной методике, используемой для соединений с предполагаемым противоопухолевым действием, в группе сравнения – пятикратно, внутривентриально, по классическому протоколу [Софьина З.П. и др., 1980; Dodokhova M.A. et al., 2021; Додохова М.А. и др., 2021]. В контрольных группах животные получали носитель (1% желатин) в эквивалентных объемах и режимах.

При исследовании моноведения ГОС-Sn (IV) – в метрономном и классическом режимах исследований в максимально эффективной суммарной дозе 375 мг/кг (Ме-3) и 250 мг/кг (Ме-5).

При исследовании комбинированного введения цисплатина и ГОС-Sn (IV) (Ме-3 и Ме-5) – в метрономном режиме на протяжении 10 дней в различных соотношениях разовых доз для введения (таблица 10).

Оценка поведения животных произведена по модифицированной методике Лысенкова С.П. [Лысенков С.П. и др., 1982; Ряховский А.Е. и др., 2017]. Категории и критерии балльного оценивания общего состояния животных приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Шкала балльной оценки общего состояния экспериментальных животных.

п/п	Тесты	Баллы
1.	<i>Сохранение позы</i>	
	· Нормальное	0
	· Слабое	2
	· Отсутствует	4
2.	<i>Груминг</i>	
	· Есть	0
	· Нет	2
3.	<i>Внешний вид</i>	
	· Опрятный	0
	· Неопрятный	2
4.	<i>Отношение к еде</i>	
	· Ест	0
	· Не ест	2
5.	<i>Отношение к воде</i>	
	· Пьет	0
	· Не пьет	2

Суммарную оценку реакции всех животных считали отдельно по каждому параметру и группе через 8 суток после последнего введения тестируемого соединения.

Выраженность изменения общего состояния экспериментальных животных была оценена по следующей шкале (Табл. 3).

Таблица 3 – Шкала оценки общего состояния животных.

№№		Сумма баллов (n=12)
1.	Полное благополучие	0
2.	Нарушения легкой степени	1–50
3.	Нарушения средней степени	51–100
4.	Нарушения тяжелой степени	101–144

2.4. Оценка противоопухолевой и антиметастатической активности на моделях перевиваемых опухолей

Оценка противоопухолевой и антиметастатической активности на моделях перевиваемой опухоли проводилась по общепризнанным показателям [Трещалина Е.М. и др., 2012].

Изменение средней продолжительности жизни ($\Delta\varepsilon$, %) вычислялось по следующей формуле:

$$(1)\Delta\varepsilon, \% = (\varepsilon_M - \varepsilon_E) / \varepsilon_M ,$$

где ε_M и ε_E – средняя продолжительность жизни (СПЖ, дни) мышей в группах интактных (М) и пролеченных (Е) животных.

Увеличение продолжительности жизни (УПЖ) пролеченных особей по сравнению с контрольной группой вычисляли по формуле:

$$(2)УПЖ, \% = (СПЖ_e - СПЖ_m) / СПЖ_m \times 100,$$

где СПЖ_е и СПЖ_м – средняя продолжительность жизни (сутки) в опытных и контрольных группах животных.

При проведении основного этапа в день выполнения эвтаназии были определены следующие показатели:

- масса опухоли (М, г);
- процент торможения роста опухоли по массе (ТРО_м, %);
- количество метастазов в легких на 1 мышь (q, шт);
- частота метастазирования опухоли (ЧМ, %);
- индекс ингибирования метастазирования (ИИМ, %).

Количество метастазов в легких подсчитывали после фиксации их в растворе Боуэна (время экспозиции не менее 24 ч.) с помощью бинокулярной лупы МБС-9 (увеличение 8×2).

Коэффициент торможения роста опухоли (ТРО_м, %) по массе опухоли определялся из соотношения

$$(3)ТРО, \% = (\delta m_M - \delta m_E) / \delta m_M ,$$

где δm_M и δm_E – средняя масса опухоли мышей в группах контрольных (M) и пролеченных (E) животных.

Индекс ингибирования метастазирования (ИИМ, %) рассчитывали по следующей формуле:

$$(4) \text{ИИМ, \%} = \frac{((P_K \times C_K) - (P \times C)) \times 100\%}{P_K \times C_K},$$

где P_m , P – частота метастазирования в контрольной и опытной группах; C_m , C – среднее число метастазов у животных контрольной и опытной групп соответственно.

2.5. Биохимическое исследование

В гомогенатах первичного опухолевого узла животных-опухоленосителей определяли некоторые маркеры активности ПОЛ и антиоксидантной защиты (АОЗ) стандартными методами по следующим показателям: малоновый диальдегид (МДА), глутатион восстановленный (GSH), супероксиддисмутаза (СОД) (ЕС 1.15.1.1), каталаза (ЕС 1.11.1.6), глутатионпероксидаза (ГП) (ЕС 1.11.1.9) и глутатионредуктаза (ГР) (ЕС 1.8.1.7), фактор роста эндотелия сосудов А (VEGFA), фактор роста эндотелия сосудов С VEGFC, рецептор 1 васкулярного эндотелиального фактора роста VEGFR1, рецептор 2 васкулярного эндотелиального фактора роста VEGFR2 (ELISA).

2.6. Морфологическое исследование

Патологоанатомическое вскрытие производилось по известной методике [Коптяева К.Е. и др., 2018 (мышь)].

При подготовке гистологических препаратов производилась фиксация в 10% забуференном нейтральном формалине с заключением в парафин. Такая подготовка проводится для последующего проведения световой микроскопии и иммуногистохимического исследования. Из парафиновых блоков с образцами ткани была изготовлена серия срезов толщиной 3-5 мкм, нанесенная на предметные стекла. Для этого использовали ротационный микротом. Чтобы

отразить морфологические изменения, применили обзорный метод окраски гематоксилином и эозином по классическому протоколу. Для проведения микроскопического исследования и фотофиксации изготовленных образцов использовали световой микроскоп «LEICA DM4000 B».

Для оценки выбранных критериев образцов отмечались следующие типы изменений (Табл. 4).

Таблица 4 – Критерии образцов и типы их изменений.

Критерий	Тип изменения
Дегенеративные	Отек, кровоизлияния, некроз, фиброз, дистрофия и атрофия.
Воспалительные	Состав инфильтрата, степень выраженности процесса (минимальная, умеренная, выраженная), степень распространенности (очаговая, диффузная).
Компенсаторно-приспособительные	Ангиоматоз, гиперплазия и гипертрофия клеток, наличие двуядерных форм (печень).

Оценка реакции выставлялась полуколичественным методом.

2.7. Иммуногистохимическое исследование

Иммунофенотипирование образцов ткани проводили с помощью автоматической платформы для проведения ИHC и ISH исследований BOND-MAX (Leica, Germany) с применением первичных и вторичных антител: Melan A (Elabscience, dilution of 1:150), Bcl-2 (Elabscience, dilution of 1:100), Vascular Endothelial Growth Factor A (VEGF-A) (Elabscience, dilution of 1:200) и Polyclonal Antibody to Cluster Of Differentiation 34 (CD34) Elabscience, dilution of 1:200).

Для проведения исследования необходимо провести подготовку образцов. Используя парафиновые блоки с образцами ткани, делали срезы толщиной 2-3 мкм, которые помещали на предметные стекла с поли-L-лизиновым покрытием. Также необходимо было провести депарафинизацию и демаскировку антигенов.

Для температурной демаскировки придерживались инструкции. Это позволяет выбрать буфер с необходимым значением рН (6,0 или 9,0).

Для получения результатов микроскопического исследования и фотофиксации изготовленных опытных объектов использовался световой микроскоп «LEICA DM4000 В». Для оценки результатов экспрессии иммуногистохимических маркеров применили полуколичественных способ в баллах (Табл. 5):

- «0» – отсутствие реакции;
- «1» – слабая реакция;
- «2» – умеренная реакция;
- «3» – выраженная реакция маркер-позитивных элементов.

Таблица 5 – Оценка результатов экспрессии иммуногистохимических маркеров (полуколичественный способ).

Условное обозначение	Выраженность реакции
«-»	Отсутствие
«+-»	Слабая
«++»	Умеренно выраженная
«+++»	Выраженная

2.8. Статистическая обработка

Для оценки результатов проведенных исследований применили описательную статистику. Обработка полученного массива данных была выполнена с использованием пакета компьютерных программ версии «Statistica 6.0». Нормальность распределения анализировали, используя методику Андерсона-Дарлинга, которая является модифицированной версией метода Колмогорова-Смирнова. Для оценки достоверности различий между анализируемыми параметрами применялся t-критерий Стьюдента. В качестве количественной характеристики показателей в работе проанализированы среднее арифметическое (M) и среднеквадратическое отклонение ($M \pm m$). Различия

считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Сравнение групп производили попарно.

2.9. Дизайн исследования

Схема дизайна исследования представлена на рисунке 4.



Рисунок 4 – Дизайн исследования

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

ГЛАВА 3

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ И АНТИМЕТАСТАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГИБРИДНЫХ ОЛОВООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ И ИХ КОМБИНАЦИИ С ЦИСПЛАТИНОМ В МЕТРОНОМНОМ РЕЖИМЕ ВВЕДЕНИЯ

В проведенных и опубликованных ранее исследованиях при моем непосредственном участии было проведено комплексное изучение *in vivo* ГОС-Sn (IV) с использованием модифицированного протокола в классическом пятикратном введении [Додохова М.А. и др., 2021]. Оценку общей токсичности и токсикометрических характеристик тестируемых соединений [Додохова М.А. и др., 2021], а также выраженность гепато-, кардио- и нефротоксических побочных эффектов при введении максимально переносимых доз тестируемых соединений (Me-3 и Me-5) производили биохимическим (неспецифические маркеры) и морфологическим (специфические маркеры) методами [Додохова М.А. и др., 2022; Додохова М.А. и др., 2021].

На обширном фактическом материале была доказана умеренная противоопухолевая и высокая антиметастатическая активность Me-3 и Me-5 на двух моделях злокачественных новообразований *in vivo* [Dodokhova M.A. et al., 2021; Dodokhova M.A. et al., 2022], что позволило сделать выбор лидерных соединений для углубленного изучения в метрономном режиме введения.

Ведущим патогенетическим механизмом реализации противоопухолевой и антиметастатической активности при классическом пятикратном введении является изменение прооксидантного/антиоксидантного статуса злокачественной и условно здоровой клетки [Додохова М.А. и др., 2021; Додохова М.А. и др., 2021; Милаева Е.Р. и др., 2022].

Для успешного моделирования метрономного режима введения и доказательства целесообразности его оценки на моделях злокачественных

неоплазий была произведено исследование субхронической токсичности при пероральном введении и маркера кардиотоксичности при метрономном режиме введения на животных без опухолевого процесса [Алхусейн-Кулягинова М.С. и др., 2023; Алхусейн-Кулягинова М.С. и др., 2023].

На основе полученных ранее данных был сформулирован алгоритм и методология данного исследования, а также последовательное решение поставленных в работе задач.

Первым этапом реализации цели диссертационной работы явилась оценка фармакологической активности тестируемых соединений при моно- и комбинированном с цисплатином метрономном режиме введения.

3.1. Введение тестируемых соединений в метрономном индивидуальном режиме в максимально эффективных для каждого соединения суммарных дозах.

Группой сравнения для данной экспериментальной серии являются животные, которым введение осуществлялось в классическом пятикратном режиме (таблицы 6, 7). Дополнительно была произведена оценка изменения поведенческих реакций (сохранение позы, груминг, внешний вид, отношение к еде и воде) через 10, 16 суток после первого введения тестируемых соединений (таблицы 8, 9), то есть на 12 и 18 сутки от момента перевивки опухолевого материала соответственно.

Одним из результатов данной работы стало выявление чувствительности универсальной модели опухолевого роста со спонтанным метастазированием в легкие меланомы B16 к метрономной химиотерапии.

Следует обратить внимание на то, что в эксперименте применяли исследуемые вещества в малых (пороговых) дозах, но получили результаты специфической эффективности, сопоставимые с данными противоопухолевого и антиметастатического эффектов ГОС-Sn (IV) при классическом варианте введения (Табл. 6, 7) по Софьиной З.П. [Dodokhova M.A. et al., 2022].

Таблица 6 – Влияние соединений Me-3 и Me-5 на развитие меланомы B16 в классическом режиме введения по Софьиной З.П.

Экспериментальные группы	Вводимые дозы РД / СД, мг/кг	Средняя продолжительность жизни (СПЖ), дни	Торможение (+) или стимуляция (-) роста опухоли по массе, %	Индекс ингибирования (+) или стимуляции (-) метастазирования, %
Соединение Me-3				
Me-3 КХТ	75 / 375	30, 75±1,64 p≤0,05	27 p≤0,05	54 p≤0,05
Соединение Me-5				
Me-5 КХТ	50 / 250	25, 83±1,56 p≤0,05	22,9 p≤0,05	36 p≤0,05
Без соединения				
К КХТ	Контрольная группа	21,83±1,68	-	-

Таблица 7 – Влияние соединений Me-3 и Me-5 на развитие меланомы B16 в метрономном режиме введения.

Экспериментальные группы	Вводимые дозы РД / СД, мг/кг	Средняя продолжительность жизни (СПЖ), дни	Торможение (+) или стимуляция (-) роста опухоли по массе, %	Индекс ингибирования (+) или стимуляции (-) метастазирования, %
Соединение Me-3				
Me-3 МХТ	37,5 / 375	31,67±1,6 p≤0,05	30 p≤0,05	59,4 p≤0,05
Соединение Me-5				
Me-5 МХТ	25 / 250	26,6±1,9 p≤0,05	25 p≤0,05	37,4 p≤0,05
Без соединения				
К МХТ	контрольная группа	19,9±1,2 p≤0,05	-	-

Таблица 8 – Результаты балльной оценки общего состояния экспериментальных животных при классическом и метрономном введении ГОС-Sn (IV) (количество животных в каждой группе – 12 особей) через 10 суток от момента первого введения тестируемых соединений.

№№	Тесты/группы животных	Сумма баллов в группе по исследуемому параметру					
		Классический режим			Метрономный режим		
		А (Ме-3) КХТ	А (Ме-5) КХТ	А (К) КХТ	А (Ме-3) МХТ	А (Ме-5) МХТ	А (К) МХТ
1.	Рефлекс сохранения позы	0	0	0	0	0	0
2.	Груминг	2	6	10	0	0	0
3.	Внешний вид	4	6	8	0	0	0
4.	Отношение к еде	2	6	6	0	0	0
5.	Отношение к воде	2	4	4	0	0	0
Сумма баллов		10	22	28	0	0	0

Таблица 9 – Результаты балльной оценки общего состояния экспериментальных животных при классическом и метрономном введении ГОС-Sn (IV) (количество животных в каждой группе – 12 особей) через 16 суток от момента первого введения тестируемых соединений.

№№	Тесты/группы животных	Сумма баллов в группе по исследуемому параметру					
		Классический режим			Метрономный режим		
		В (Me-3) КХТ	В (Me-5) КХТ	В (К) КХТ	В (Me-3) МХТ	В (Me-5) МХТ	В (К) МХТ
1.	Рефлекс сохранения позы	26	38	42	12	16	20
2.	Груминг	18	20	24	12	18	20
3.	Внешний вид	16	16	24	6	8	20
4.	Отношение к еде	16	20	24	10	12	24
5.	Отношение к воде	14	16	20	8	8	20
Сумма баллов		90	110	134	48	62	104

По результатам балльной оценки общего состояния экспериментальных животных через 10 и 16 суток после введения тестируемых соединений при классическом введении ГОС-SN (IV) были отмечены более тяжелые нарушения поведенческих реакций и общего состояния во всех категориях оценивания (Табл. 8, 9).

Состояние животных и нарушение поведенческих реакций в группах классического введения (А (Ме-3) КХТ, А (Ме-5) КХТ, А (К) КХТ) было охарактеризовано как легкой степени, при введении в метрономном режиме состояние животных описывается как полное благополучие.

Через 18 суток после начала экспериментальной серии отличия в нарушениях общего состояния и поведенческих реакций у всех особей были выражены сильнее. При пятикратном введении изменения классифицированы как тяжелые, при десятикратном – как средней степени тяжести.

3.2. Введение тестируемых соединений в метрономном комбинированном режиме

Для комбинированного введения был выбран цисплатин – как хорошо изученный и широко применяемый в химиотерапевтических схемах лечения злокачественных новообразований различной локализации препарат.

Доза цисплатина и путь введения были выбраны на основании данных литературы [Du Sert N.P. et al., 2011; Кательникова А.Е. и др., 2019].

Распределение животных по группам было выполнено согласно таблице (Табл. 10).

Таблица 10 – Разовые дозы вводимых соединений в метрономном режиме комбинированного введения.

Группы животных	Описание группы
№1. Ме-3-1:5	Цисплатин в разовой дозе 1 мг/кг+Ме-3 в разовой дозе 5 мг/кг
№2. Ме-3-1:7	Цисплатин в разовой дозе 1 мг/кг+Ме-3 в разовой дозе 7 мг/кг
№3. Ме-3-1:9	Цисплатин в разовой дозе 1 мг/кг+Ме-3 в разовой дозе 9 мг/кг
№4. Ме-3-1:15	Цисплатин в разовой дозе 1 мг/кг+Ме-3 в разовой дозе 15 мг/кг
№5. Ме-3-1:30	Цисплатин в разовой дозе 1 мг/кг+Ме-3 в разовой дозе 30 мг/кг
№6. Ме-3-1:45	Цисплатин в разовой дозе 1 мг/кг+Ме-3 в разовой дозе 45 мг/кг
№7. Ме-5-1:5	Цисплатин в разовой дозе 1 мг/кг+Ме-5 в разовой дозе 5 мг/кг
№8. Ме-5-1:7	Цисплатин в разовой дозе 1 мг/кг+Ме-5 в разовой дозе 7 мг/кг
№9. Ме-5-1:9	Цисплатин в разовой дозе 1 мг/кг+Ме-5 в разовой дозе 9 мг/кг
№10. Ме-5-1:15	Цисплатин в разовой дозе 1 мг/кг+Ме-5 в разовой дозе 15 мг/кг
№11. Ме-5-1:30	Цисплатин в разовой дозе 1 мг/кг+Ме-5 в разовой дозе 30 мг/кг
№12. Ме-5-1:45	Цисплатин в разовой дозе 1 мг/кг+Ме-5 в разовой дозе 45 мг/кг
№13. Контроль	Носитель-1% раствор желатина
№14. Цисплатин	Цисплатин в разовой дозе 1 мг/кг

Через 6 суток после последнего введения субстанций была произведена эвтаназия путем декапитации на гильотине.

Результаты оценки противоопухолевой и антиметастатической активности тестируемых соединений представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Результаты оценки противоопухолевой и антиметастатической активности тестируемых соединений.

Группы животных	ТРО, %	ИИМ, %
№1. Цисплатин+Ме-3-1:5	16,8	13,1
№2. Цисплатин +Ме-3-1:7	17,2	15,3
№3. Цисплатин +Ме-3-1:9	17,9	14,8
№4. Цисплатин +Ме-3-1:15	19,1	32,3
№5. Цисплатин +Ме-3-1:30	24,1	39,7
№6. Цисплатин +Ме-3-1:45	24,5	47,8
№7. Цисплатин +Ме-5-1:5	14,7	16,6
№8. Цисплатин +Ме-5-1:7	16,5	15,8
№9. Цисплатин +Ме-5-1:9	16,0	18,6
№10. Цисплатин +Ме-5-1:15	21,8	26,5
№11. Цисплатин +Ме-5-1:30	17,4	22,1
№12. Цисплатин +Ме-5-1:45	16,9	20,1
№13.Контроль (носитель)	-	-
№14 Цисплатин	16,4	13,7

На модели экспериментальной меланомы В16 мышей самое эффективное антиметастатическое действие наблюдали в опытной группе, получающая в разовой дозе 1мг/кг цисплатина+ 45 мг/кг Ме-3. ИИМ, % в данной группе составил 47,8% ($p \leq 0,05$), в группе сравнения I (цисплатин) – 13,7%, в группе сравнения II (Ме-3) – 32,9%. Для соединения Ме-5 максимально эффективной была комбинация 1:15 (разовая доза 1мг/кг цисплатина+ 15 мг/кг Ме-5): ИИМ составил 26,5%, что в 1.9 раза больше, чем в группе сравнения I (цисплатин). По отношению к показателям в группе сравнения III (Ме-5) достоверных отличий выявлено не было [Алхусейн-Кулягинова М.С. и др., 2022].

При введении ГОС-Sn (IV) в комбинированном метрономном режиме с цисплатином на модели экспериментальной неоплазии меланоме В16 мышей показано потенцированное действие (синергизм). Me-3 проявил себя как более активный антиметастатический агент, что, вероятно, связано с особенностями метаболизма Me-3 в организме животного-носителя опухоли [Алхусейн-Кулягинова М.С. и др., 2022].

В результате проведенной экспериментальной работы выявлена максимально эффективная комбинация вводимой композиции в группах №6 (ЦП+Me-3-1:45) и №10 (ЦП+Me-5-1:15). При комбинировании соединения IV класса токсичности по СГС наиболее эффективной является комбинация 1:15, V-класса токсичности -1:45. В зависимости от класса токсичности тестируемого соединения авторами предложена максимально эффективная комбинация цисплатина и оловоорганического соединения с различными лигандными группировками [Патент, Котиева Е.М. и др., 2023].

ГЛАВА 4

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ И АНТИМЕТАСТАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГИБРИДНЫХ ОЛОВООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В МЕТРОНОМНОМ РЕЖИМЕ ВВЕДЕНИЯ

Данный раздел описывает исследования по выявлению механизма реализации противоопухолевого и антиметастатического действия тестируемых соединений с применением морфологических и биохимических методов.

4.1. Поисковое морфологическое и иммуногистохимическое исследование патогенетических механизмов реализации противоопухолевой и антиметастатической активности тестируемых соединений

Иммуногистохимический анализ на современном этапе развития медицины является неотъемлемым методом морфологической диагностики и обнаружения биомаркеров, получившим широкое распространение во всем мире. Иммуногистохимическая визуализация в клинической практике играет важную роль в структурной характеристике опухоли и ее микроокружения, включая сосудистую архитектуру, дистрофию и клеточную пролиферацию [J. Kalra et. al., 2017; J. Koh et. al., 2020], а также для подтверждения типа опухолевых клеток и возможного происхождения метастатического очага неизвестной первичной локализации [S. Magaki et al., 2019]. Правильно подобранные прогностические биомаркеры играют важную роль при диагностической иммуногистохимическом исследовании опухолей [Hans-Ulrich Schildhaus, 2020]. Использование аналитических возможностей данного морфологического метода при изучении новых соединений на доклиническом этапе исследования, на наш взгляд, является редко применяемым.

Авторский методологический прием «Поисковое иммуногистохимическое исследование механизма реализации фармакологической активности» подробно

описан в работах нашего коллектива [Масляникова А.А. и др., 2023; Додохова М.А. и др., 2023].

В данной работе нами анализируется использование иммуногистохимических маркеров для поисковых исследований возможных патогенетических механизмов реализации противоопухолевой и антиметастатической фармакологической активности, тестируемых ГОС-Sn (IV). Целью данного раздела явилось выявление наиболее целесообразных для углубленного изучения патогенетических механизмов реализации противоопухолевого и антиметастатического действия тестируемых гибридных оловоорганических соединений с помощью иммуногистохимического метода.

В ходе работы нами были выявлены следующие изменения в исследуемых образцах.

При микроскопическом исследовании первичного опухолевого узла без введения тестируемых ГОС-Sn (IV) меланома В16 имела смешанный вариант строения (эпителиоидно-клеточный в сочетании с веретенноклеточным) с умеренной нагруженностью меланоцитов пигментом, умеренной митотической активностью опухолевых клеток, полиморфизмом ядер, обилием ядрышек и наличием явлений клеточного каннибализма, десмоплазией стромы и фокусами некроза, слабовыраженной перифокальной воспалительной реакцией окружающих тканей, признаками лимфоваскулярной инвазии (Рис. 5).

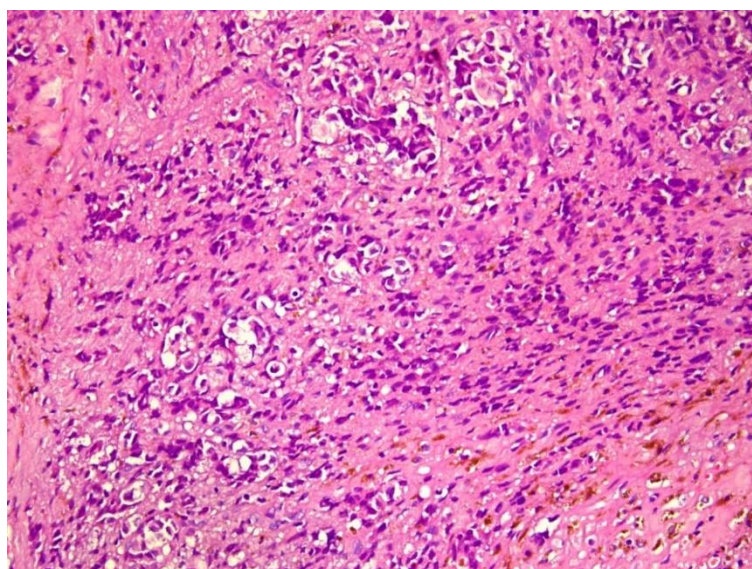


Рисунок 5 – Микроскопическая картина первичного опухолевого узла в контрольной группе.

Мыши линии C57Bl/6, носители меланомы B16. Окраска гематоксилином и эозином, x200

При микроскопии первичного опухолевого узла в классическом режиме введения первичный опухолевый узел отличался наличием незначительных дистрофических изменений в опухолевых клетках, более обширными полями отека и некроза, наличием свободно лежащего пигмента в строме опухоли. (Рис. 6А, 6Б).

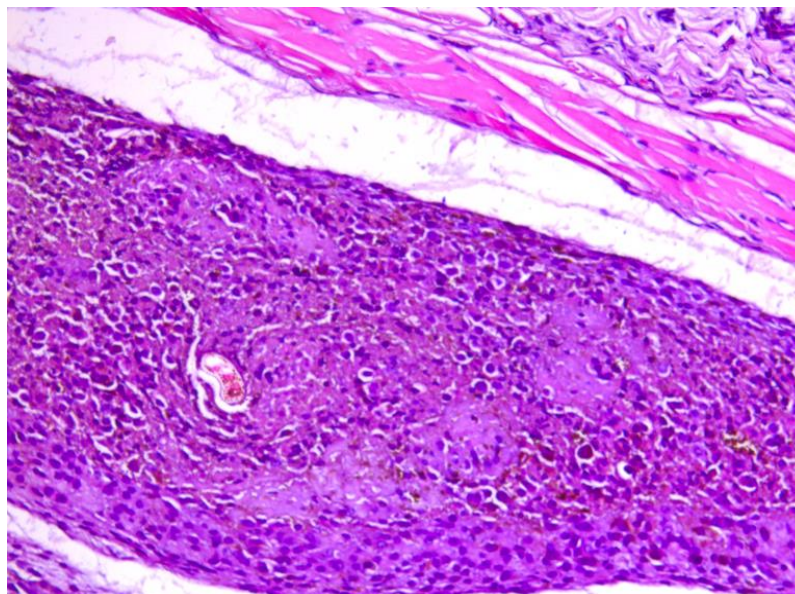


Рисунок 6А – Микроскопическая картина первичного опухолевого узла, классический режим введения Me-3.

Мыши линии C57Bl/6, носители меланомы B16. Окраска гематоксилином и эозином, x200

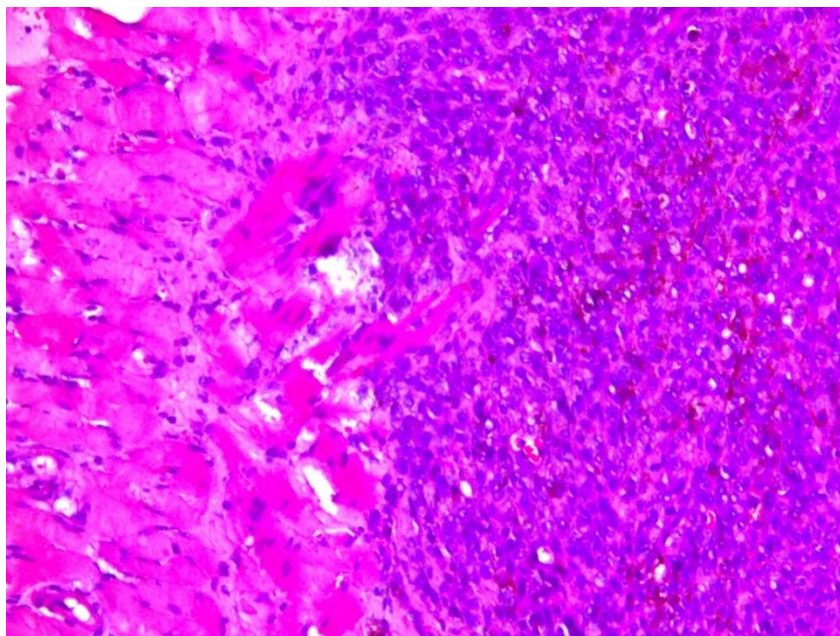


Рисунок 6Б – Микроскопическая картина первичного опухолевого узла, классический режим введения Me-5.

Мыши линии C57Bl/6, носители меланомы B16. Окраска гематоксилином и эозином, x200

При анализе гистологического препарата первичного опухолевого узла при введении Me-3 в метрономном режиме регистрировались выраженные дистрофические изменения, некроз, апоптоз опухолевых клеток, снижение митотической активности, активная перифокальная воспалительная реакция окружающих тканей, уменьшение количества визуализируемых при обычной световой микроскопии сосудов в опухолевом узле, большое количество свободно лежащего пигмента в строме опухоли, что можно расценивать как рексис опухолевых клеток (Рис.7).

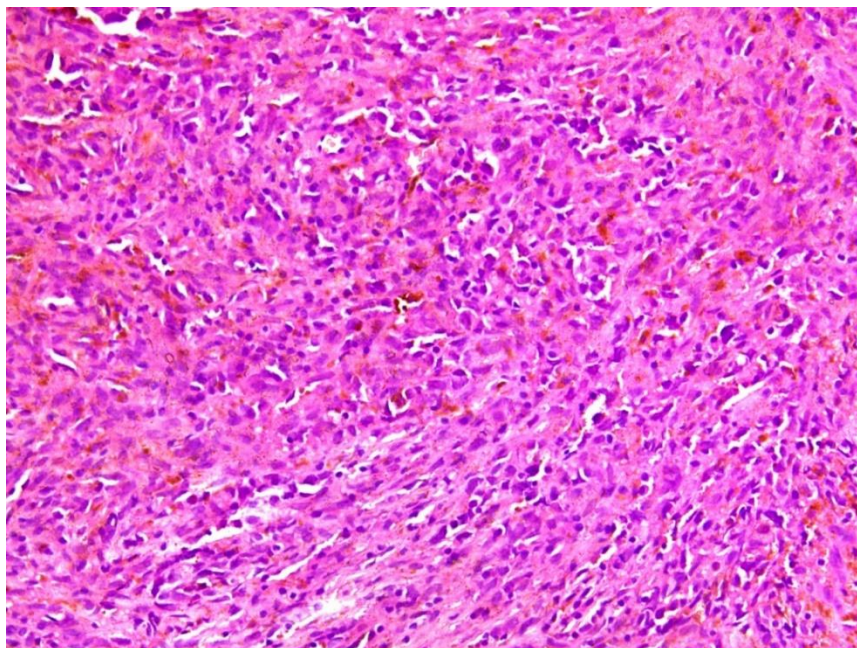


Рисунок 7 – Микроскопическая картина первичного опухолевого узла при метрономном введении Me-3.

Мыши линии C57Bl/6, носители меланомы B16. Окраска гематоксилином и эозином, x200

При микроскопическом исследовании первичного опухолевого узла в метрономном режиме с использованием Me-5 также отмечались выраженные дистрофические изменения в узле, регистрировались некрозы и кровоизлияния, глыбки пигмента, опухоль сохраняла высокий уровень митотической активности клеток, слабую перифокальную воспалительную инфильтрацию по сравнению с меланомой B16 при использовании Me-3, отмечались признаки лимфоваскулярной инвазии (Рис. 8).

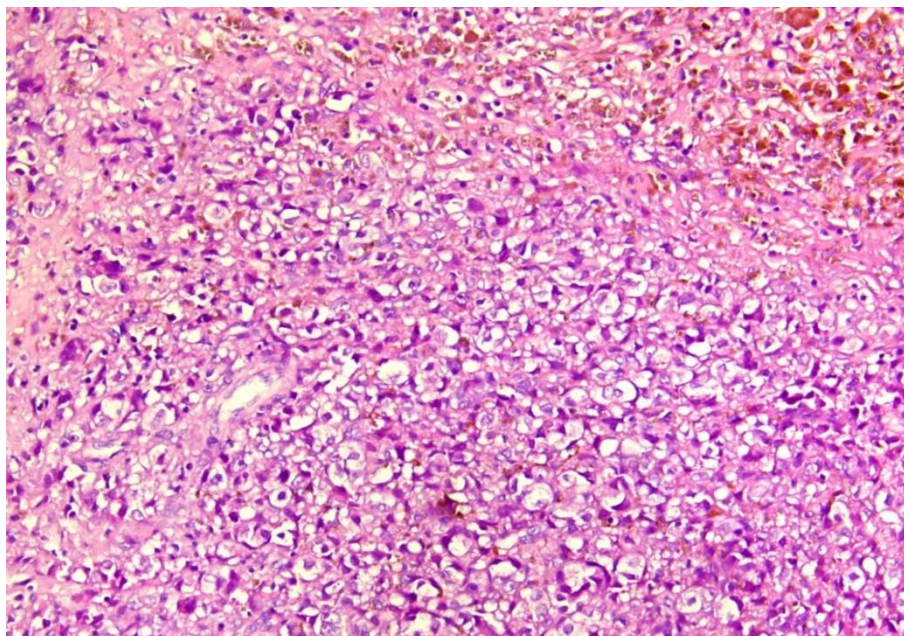


Рисунок 8 – Микроскопическая картина опухолевого узла при метрономном введении Me-5. Мыши линии C57Bl/6, носители меланомы B16. Окраска гематоксилином и эозином, x200

При иммуногистохимической реакции ткани опухолевого узла контрольных животных с маркером Melan A регистрируется выраженная диффузная экспрессия в опухолевых клетках (Рис. 9).

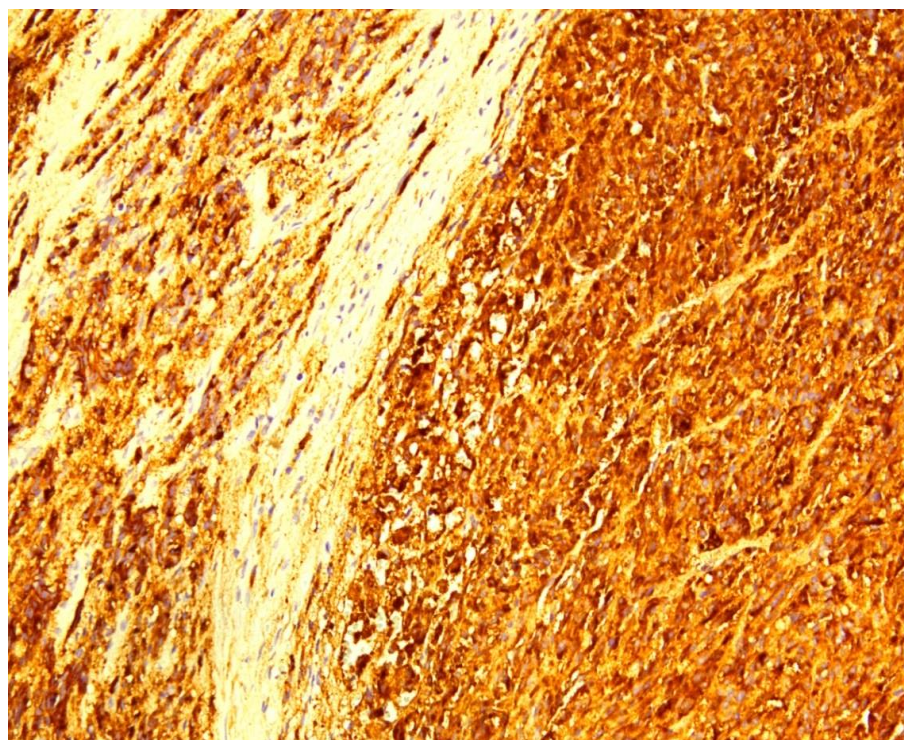


Рисунок 9 – Иммуновизуализация антитела Melan A в первичном опухолевом узле в контрольной группе животных. Мыши линии C57Bl/6, носители меланомы B16. x200

Анализ иммуногистохимической реакции субстрата опухолевого узла при лечении в классическом режиме показал снижение интенсивности экспрессии маркера Melan A, экспрессия при использовании Me-5 была слабее, интенсивность ниже, чем при использовании Me-3 (Рис. 10А, 10Б).

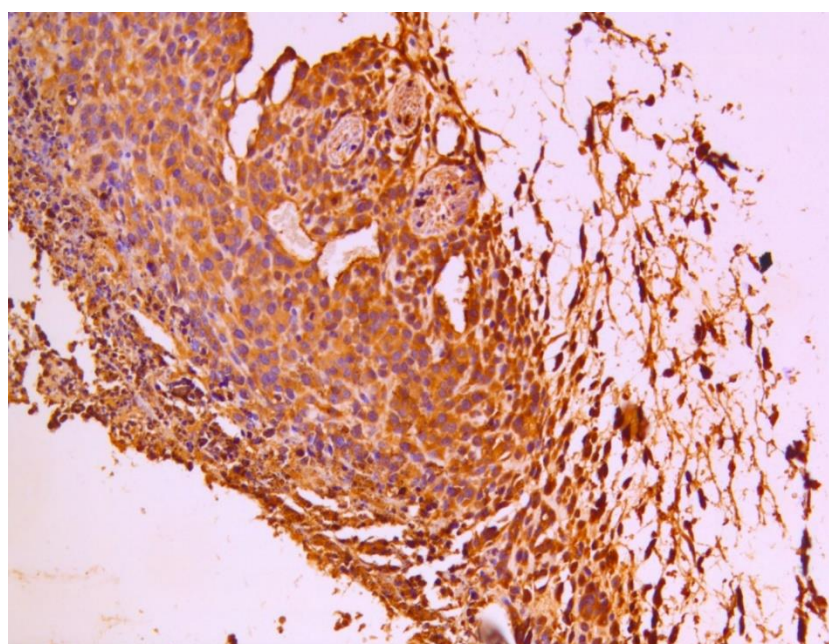


Рисунок 10А – Иммуновизуализация антитела Melan A в первичном опухолевом узле, классический режим введения Me-3. Мыши линии C57Bl/6, носители меланомы B16. x200

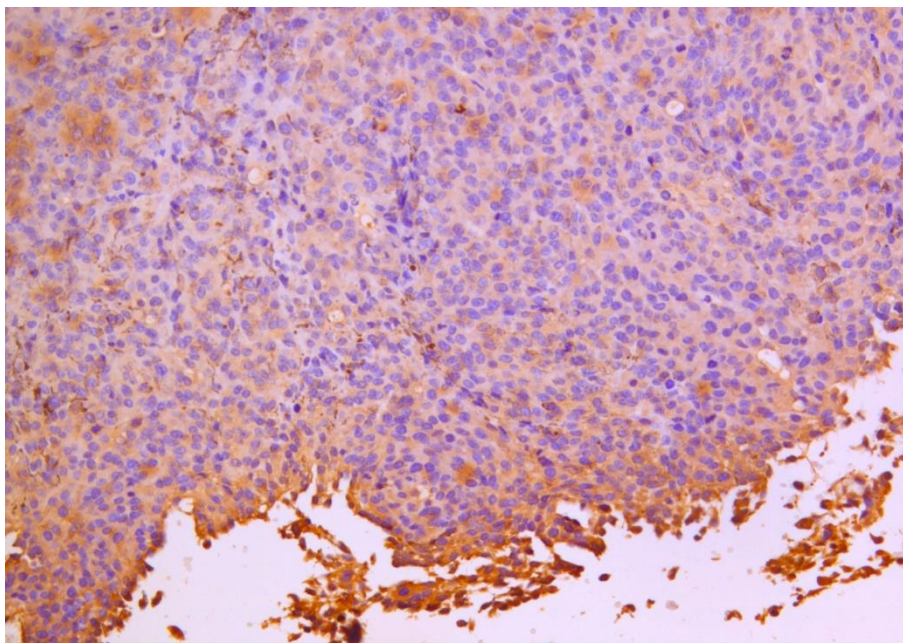


Рисунок 10Б – Иммуновизуализация антитела Melan A в первичном опухолевом узле, классический режим введения Me-5. Мыши линии C57Bl/6, носители меланомы B16. x200

При иммуногистохимической реакции в ткани меланомы B16 в метрономном режиме с использованием Me-3 с маркером Melan A регистрируется неравномерная слабо выраженная экспрессия его в опухолевых клетках (Рис. 11).

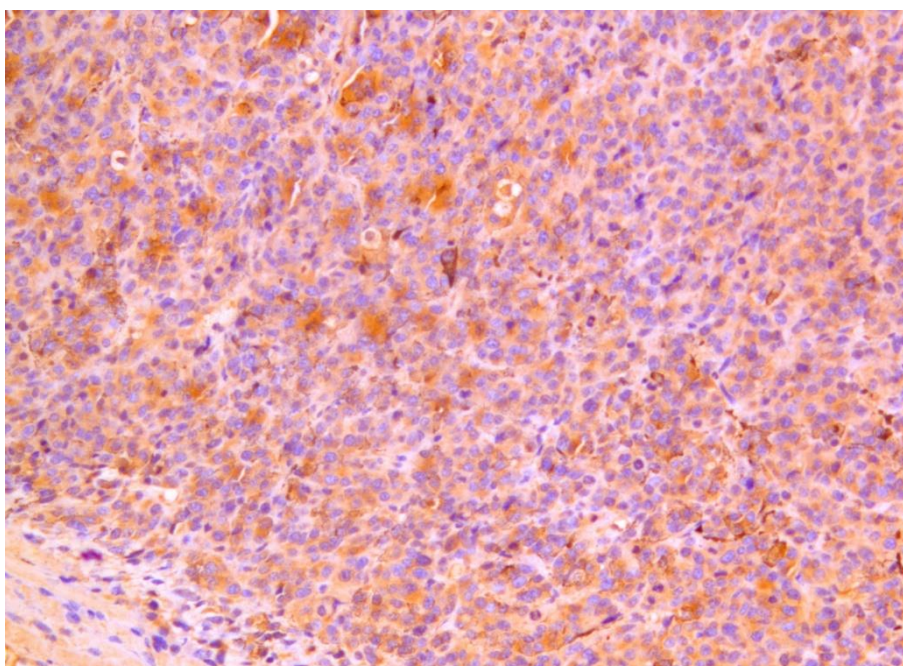


Рисунок 11 – Иммуновизуализация антитела Melan A в первичном опухолевом узле, метрономный режим введения Me-3. Мыши линии C57Bl/6, носители меланомы B16. x200

При иммуногистохимической реакции ткани первичного опухолевого узла в метрономном режиме с использованием Me-5 с маркером Melan A регистрируется диффузная умеренно выраженная экспрессия его в опухолевых клетках, четко визуализируются фрагменты разрушенных клеток опухоли (Рис. 12).

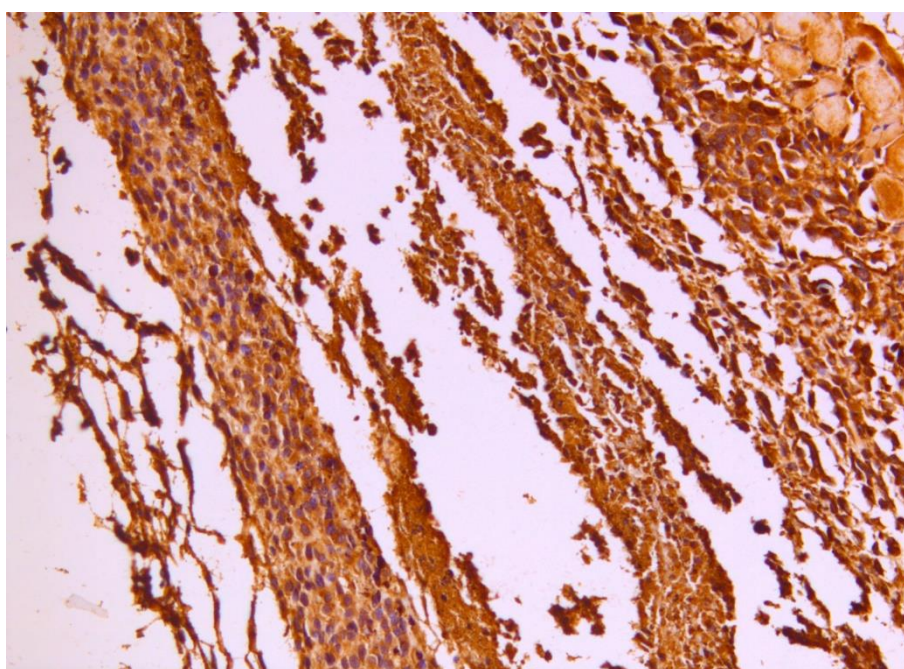


Рисунок 12 – Иммуновизуализация антитела Melan A в первичном опухолевом узле, метрономный режим введения Me-5. Мыши линии C57Bl/6, носители меланомы B16. x200

При анализе антитела Bcl2, отвечающего за регуляцию апоптоза в организме, отмечено снижение его экспрессии при использовании соединений с предполагаемым противоопухолевым эффектом (Me-3) в сравнении с группой без применения данных соединений, где сверхэкспрессия белков Bcl2 свидетельствует об уклонении клеток от гибели и прогрессировании метастазирования опухолевого процесса (Рис. 13, 14).

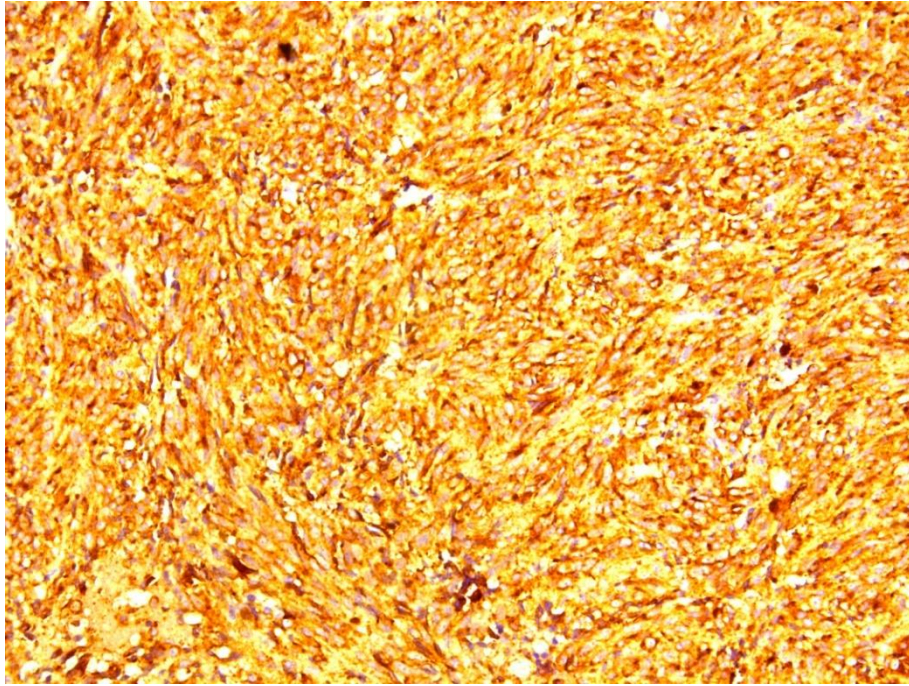


Рисунок 13 – Иммуновизуализация антитела Bcl2, выраженная экспрессия в опухолевых клетках меланомы B16 мышей без применения соединений с предполагаемым противоопухолевым эффектом, x200

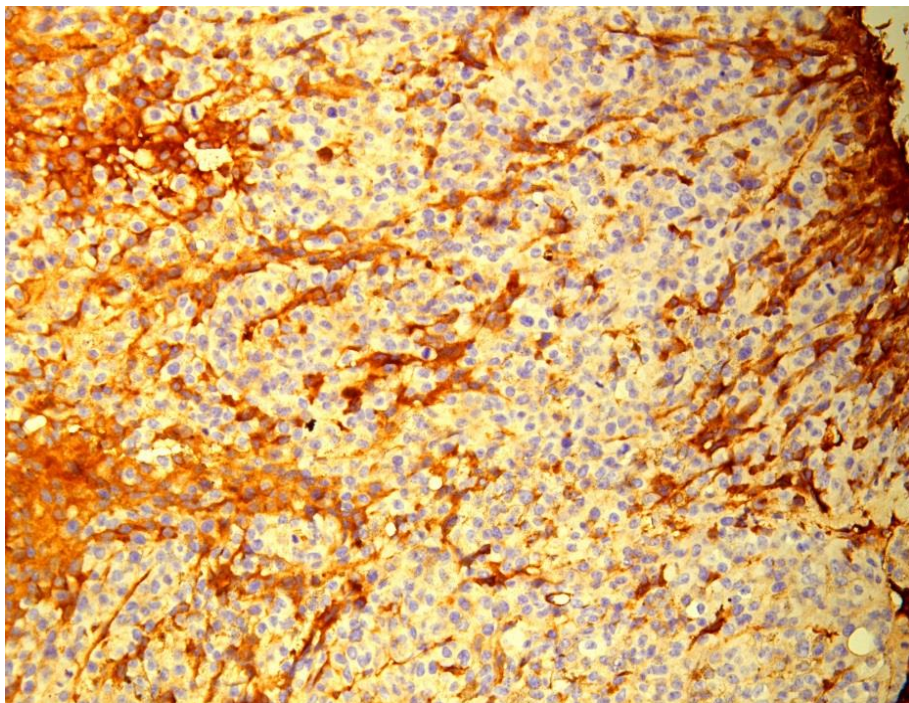


Рисунок 14 – Иммуновизуализация антитела Bcl2, выраженная экспрессия в опухолевых клетках меланомы B16 мышей при классическом режиме с Me-3, x200

Анализируя классический режим использования ГОС-Sn (IV) при лечении меланомы В16 в эксперименте на опытных животных, отметили неравномерную выраженную экспрессию Bcl2, причем при введении Me-3 интенсивность экспрессии выше, чем при введении Me-5.

При использовании Me-3 в метрономном режиме выявлено равномерное снижение интенсивности экспрессии Bcl2 в опухолевых клетках меланомы В16 мышей, снижение митотической активности опухолевых клеток (Рис. 15).

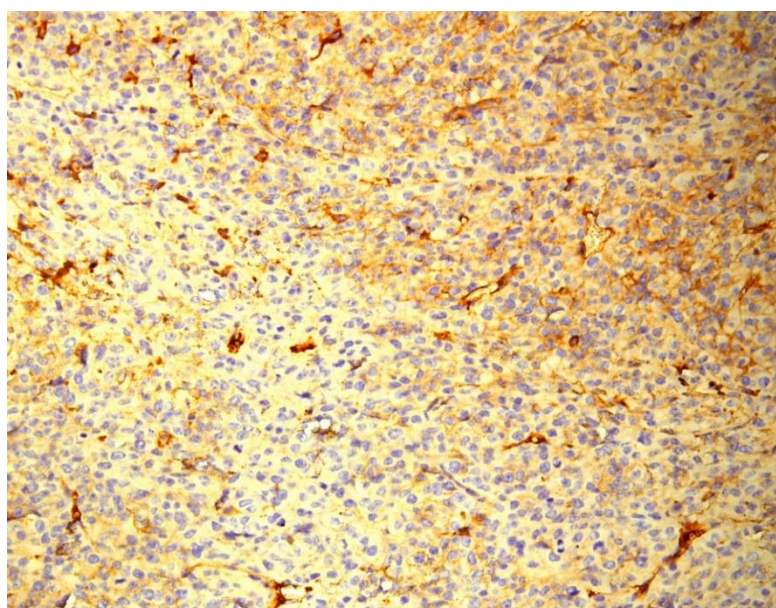


Рисунок 15 – Иммуновизуализация антитела Bcl2, в первичном опухолевом узле, снижение экспрессии в опухолевых клетках меланомы В16 мышей, метрономный режим введения Me-3, x200

При использовании Me-5 также регистрируется снижение экспрессии Bcl2 в опухолевых клетках меланомы В16 мышей, но при этом отмечается неравномерный характер экспрессии маркера в опухолевой массе, что, возможно, связано с вероятно с более высокой токсической нагрузкой и попыткой опухолевых клеток компенсировать работу соседних локусов опухоли (Рис. 16).

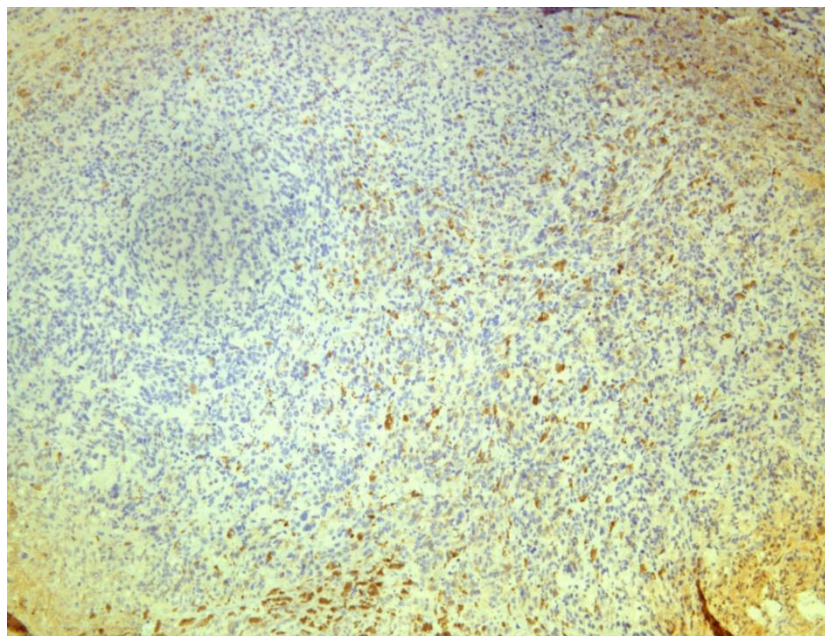


Рисунок 16 – Иммуновизуализация антитела Vc12, снижение экспрессии в опухолевых клетках меланомы B16 мышей, метрономный режим введения Me-5, x100

При анализе экспрессии VEGF-A, важного антитела при оценке ангиогенеза в опухолевой ткани, через 18 дней регистрировалось снижение экспрессии маркера при использовании Me-3 по сравнению с контрольной группой животных (Рис. 17, 18). При использовании Me-5 также выявлено снижение экспрессии в опухолевом узле, но в меньшей степени, чем при использовании соединения Me-3 (Рис. 19).

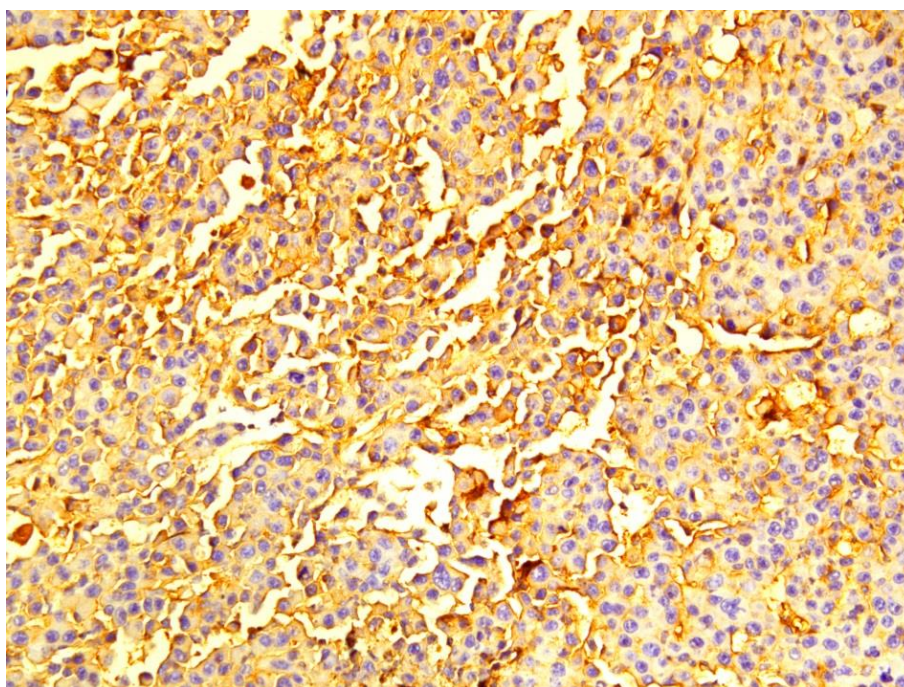


Рисунок 17 – Иммуновизуализация антитела VEGF-A: умеренно выраженная экспрессия в опухолевых клетках меланомы В16 мышей без применения соединений с предполагаемым противоопухолевым эффектом, x200

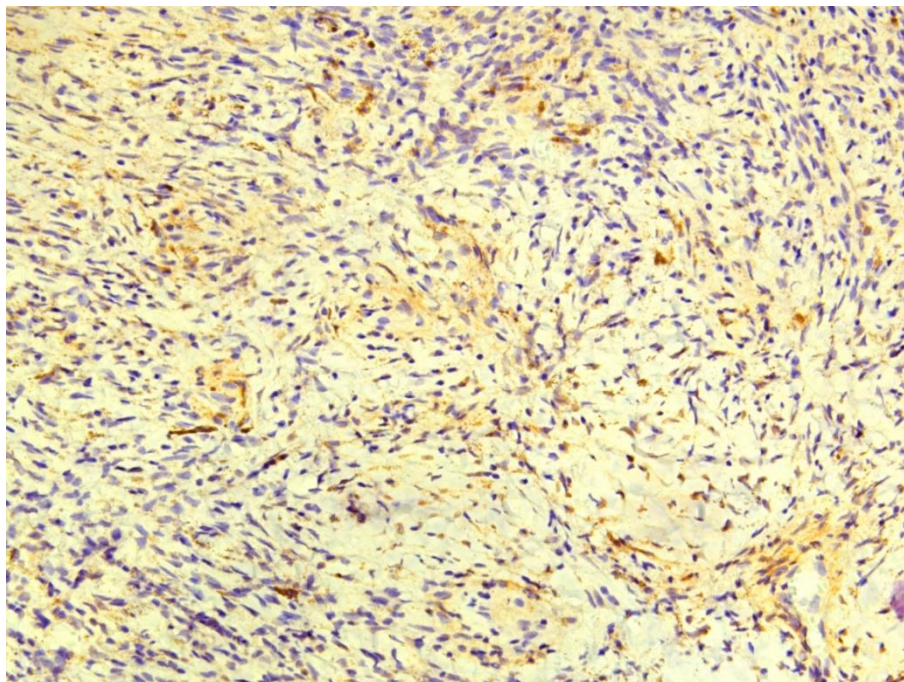


Рисунок 18 – Иммуновизуализация антитела VEGF-A: снижение экспрессии в опухолевых клетках меланомы В16 мышей, метрономный режим введения Me-3, x200

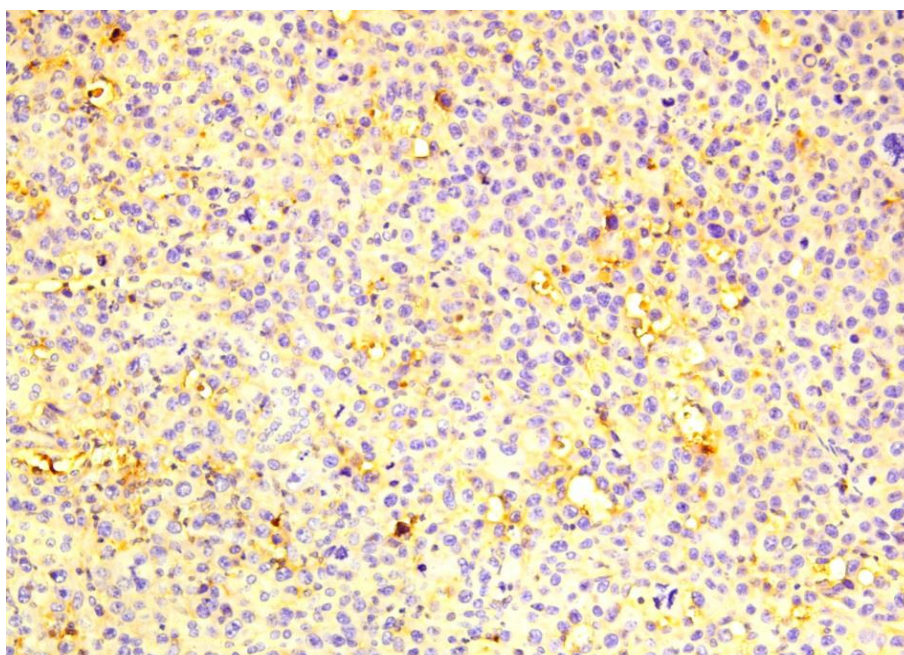


Рисунок 19 – Иммуновизуализация антитела VEGF-A: снижение экспрессии в опухолевых клетках меланомы B16 мышей, метрономный режим с Me-5, x200

При переходе от эндотелий-зависимых сосудов к имитированным формам мозаичные сосуды встречаются как переходный тип между эндотелий-зависимыми сосудами и каналами васкулогенной мимикрии, при этом в васкуляризации опухоли участвуют как эндотелий, так и опухолевые клетки (Рис. 20). Модификация процесса образования патологических новых кровеносных сосудов и сосудоподобных структур из опухолевых клеток (феномен васкулогенной мимикрии), играющих важную роль в молекулярном патогенезе опухолевого роста, отмечалась только в метрономном режиме введения Me-3 (Рис. 21). При введении Me-5 анализ иммуногистохимической реакции с CD34 показал наличие большого количества сосудов переходного типа (Рис. 22). На наш взгляд, иммуногистохимическая реакция с использованием маркера CD34 является «золотым стандартом» диагностики васкулогенной мимикрии при злокачественных опухолях, так как позволяет четко визуализировать этот компонент в опухоли (Рис. 23, 24).

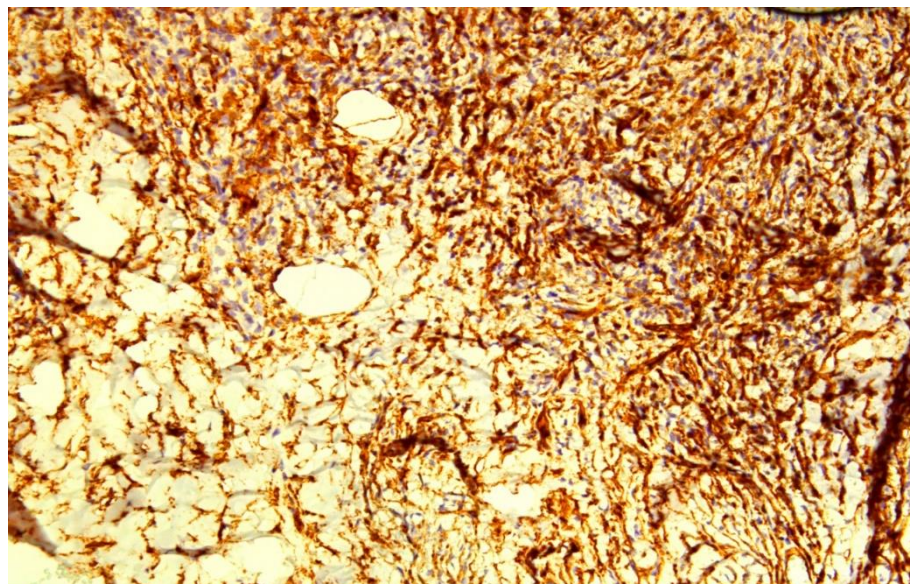


Рисунок 20 – Иммуновизуализация антитела CD34: выраженная экспрессия в микроциркуляторном русле опухоли меланомы В16 мышей, контрольная группа, x200

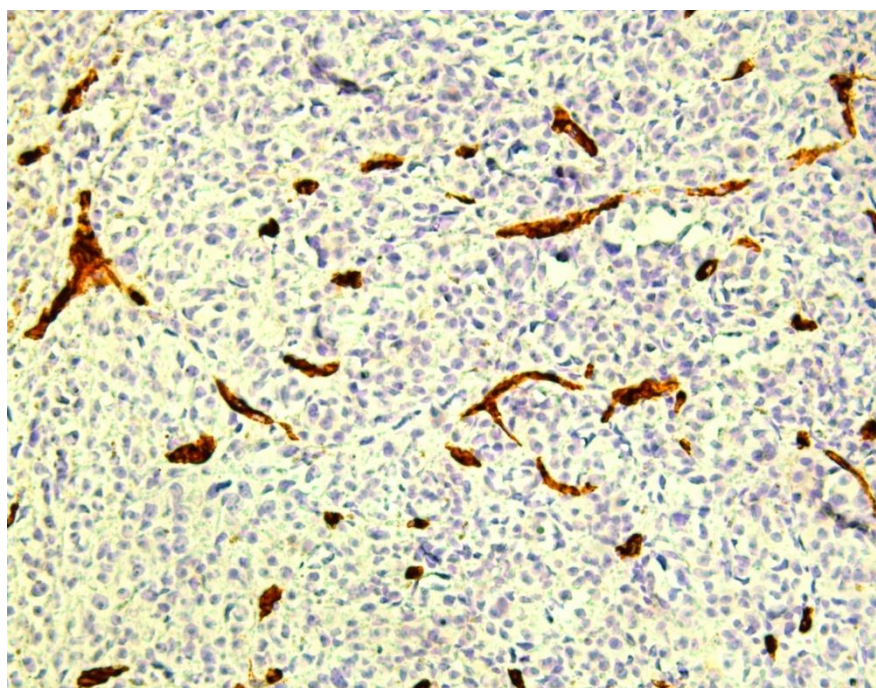


Рисунок 21 – Иммуновизуализация антитела CD34: умеренная экспрессия в микроциркуляторном русле опухоли меланомы В16 при метрономном режиме введения Me-3 в, x200

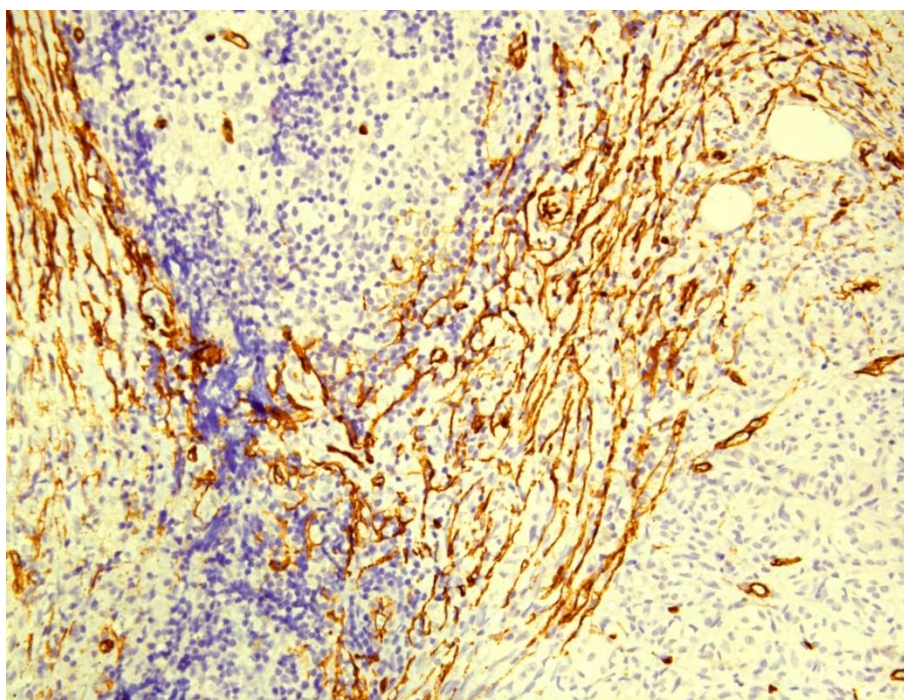


Рисунок 22 – Иммуновизуализация антитела CD34: умеренная экспрессия в микроциркуляторном русле опухоли меланомы В16 мышей при метрономном режиме введения Me-5 в, x200

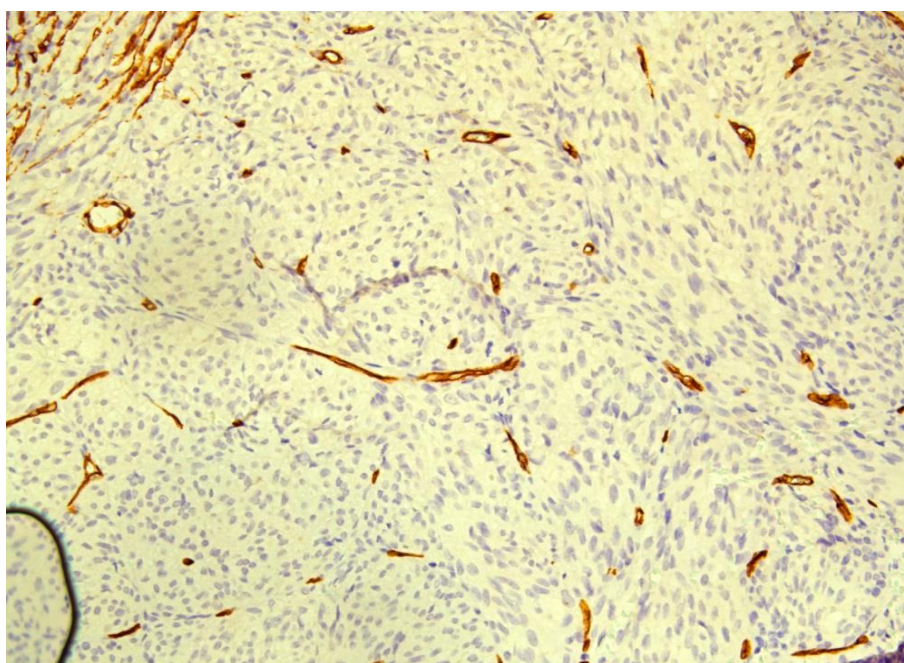


Рисунок 23 – Иммуновизуализация антитела CD34: выраженная экспрессия в микроциркуляторном русле опухоли меланомы В16 мышей с применением в классическом режиме Me-3, x200

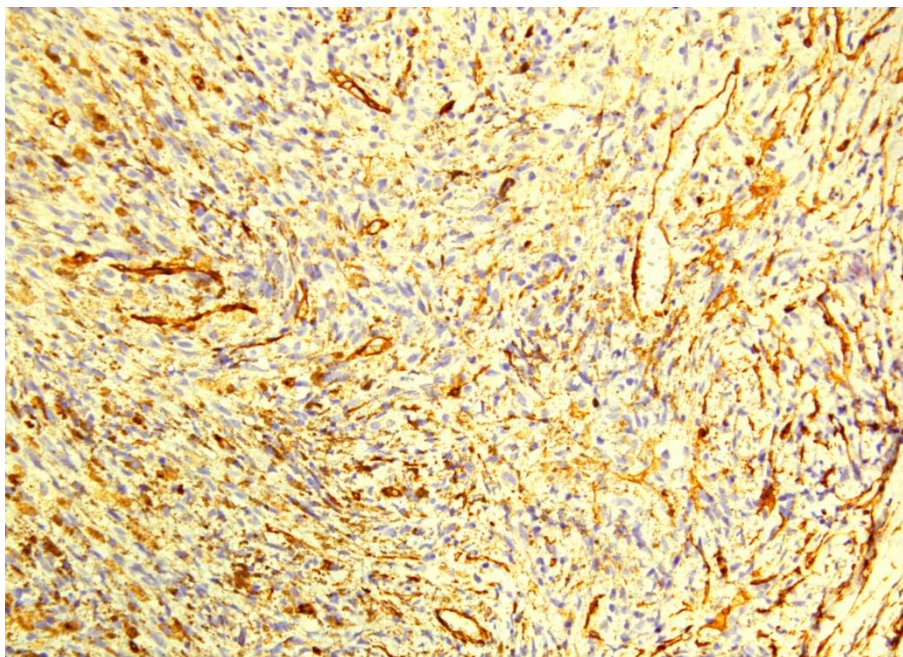


Рисунок 24 – Иммуновизуализация антитела CD34: умеренная экспрессия в микроциркуляторном русле опухоли меланомы В16 мышей с применением в классическом режиме Me-5, x200

Анализ результатов морфологического и иммуногистохимического исследования показал, что использование адекватно подобранных иммуногистохимических маркеров выявляет два основных пути реализации борьбы со злокачественным процессом и его метастазированием в организме экспериментальных животных, которые сопряжены между собой: это пути регуляции апоптоза и ангиогенеза. Проведенная работа позволяет сделать вывод, что в метрономном режиме через 18 дней исследования воздействие соединений с предполагаемым противоопухолевым эффектом Me-3 в подобранной дозе более эффективно, чем Me-5, что подтверждается уровнем экспрессии используемых маркерных антител.

Для наиболее эффективного доклинического отбора новых перспективных соединений с предполагаемым противоопухолевым действием необходимо расширять границы применения специфических морфологических методов, в том числе и иммуногистохимических.

4.2. Углубленное биохимическое исследование патогенетических механизмов реализации противоопухолевой и антиметастатической активности тестируемых соединений

В метрономном режиме введения ГОС-Sn (IV) на модельных системах *in vivo* исследуются впервые.

Для углубленного изучения было выбрано два направления уточнения механизма действия и патогенетической схемы реализации противоопухолевого и антиметастатического влияния ГОС-Sn (IV) на клетки первичного опухолевого узла меланомы В16 мышей: изменение про/антиоксидантного баланса в клетке с последующим запуском митохондриального пути апоптоза и активности неоангиогенеза.

Механизм про/антиоксидантного действия тестируемых соединений обусловлен строением молекулы – наличием в ней защитного протекторного фрагмента 2,6-дитретбутилфенола (Рис. 25) – и широко изучен.

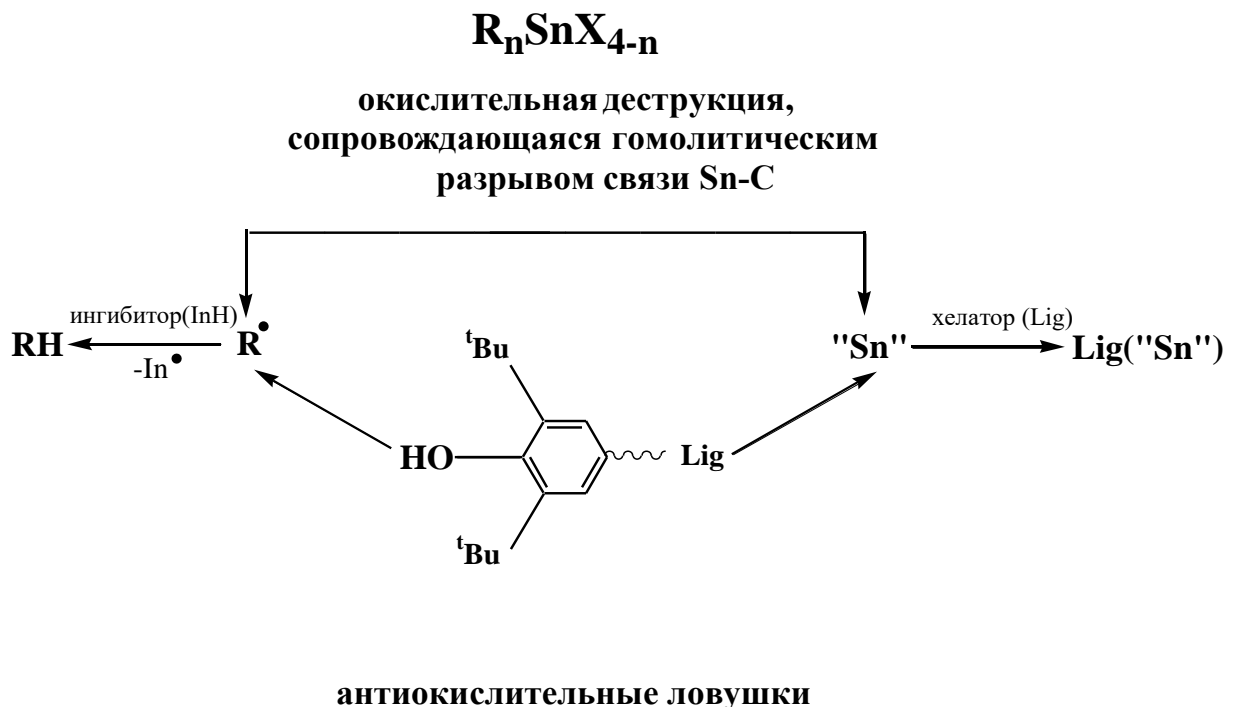


Рисунок 25 – Механизм про/антиоксидантного действия гибридных оловоорганических соединений при биотрансформации в клетке

В предыдущих исследованиях было установлено, что при классическом пятикратном введении в максимально эффективной дозе соединение Me-3 на 7-е сутки после введения ведёт себя как типичный антиоксидант (суммарная доза 375 мг/кг, уменьшение МДА на 64% по сравнению с группой без лечения), а Me-5 не проявляет своего антиоксидантного потенциала [Додохова М.А. и др., 2021].

Обнаруженная в ходе «поискового иммуногистохимического исследования» (Рис. 22) модификация процесса образования патологических новых кровеносных сосудов и сосудоподобных структур из опухолевых клеток (феномен васкулогенной мимикрии) при введении ГОС-Sn (IV) обуславливает целесообразность изучения неоангиогенеза на этапе углубленного исследования механизма реализации фармакологической активности тестируемых соединений.

Для этой серии данных специальной постановки эксперимента не производилось. Результаты приведены в таблицах 12, 13 и 14.

При анализе данных зафиксированы изменения маркеров перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты первичного опухолевого узла животных-носителей меланомы В16 через 18 суток после перевивки опухолевых клеток (Табл. 12).

При введении Me-3 в метрономном режиме отмечается снижение интенсификации ПОЛ (снижение МДА, как интегрального показателя процесса), при сохранении уровня ПОЛ в группе введения Me-5, что подтверждается данными о высокой активности ферментов антиоксидантной защиты – СОД и КАТ. При классическом пятикратном введении высокий уровень МДА сопровождается снижением активности ферментов СОД и КАТ.

Система обмена глутатиона как ключевого звена про/антиоксидантного метаболизма реагирует более активно при введении в классическом режиме. Мы склонны полагать, что изменения в метрономном режиме введения связаны со снижением потребления глутатиона опухолевыми клетками и не являются ключевым патогенетическим звеном реализации фармакологической активности тестируемых соединений.

Таблица 12 – Итоговые значения маркеров перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты первичного опухолевого узла животных-носителей меланомы В16 к 18 суткам после перевивки опухолевых клеток.

Маркеры	МДА, мкмоль/л,	СОД, активность/г белка	КАТ, активность/г белка	GSH, мкмоль/г белка	ГП, нг/г белка	ГР, нг/г белка
В (К) МХТ	12,3±2,11	0,91±0,19	0,65±0,14	17,24±3,51	2,68±0,11	6,15±0,65
В (Ме-3) КХТ	15,85±2,45	1,28±0,11	0,95±0,21*	8,91±1,41*	3,18±0,24*	5,42±0,95
В (Ме-3) МХТ	8,91±2,12*	1,12±0,05	0,52±0,12	16,43±2,8	1,89±0,25*	5,92±0,9
В (Ме-5) КХТ	21,1±3,15*	0,31±0,05*	0,25±0,05*	10,7±2,15*	2,15±0,24	4,32±0,85*
В (Ме-5) МХТ	16,41±2,17	1,46±0,05*	0,71±0,18	21,6±3,4	1,91±0,16*	5,05±0,26

Примечание: * – $p \leq 0,05$, сравнение приведено с показателем в группе контроля (В (К) МХТ).

Таблица 13 – Конечные значения молекулярных маркеров апоптотических процессов и МДА митохондриальной фракции первичного опухолевого узла мышей-носителей меланомы В16 к 18 суткам после перевивки опухолевых клеток.

Исследуемые маркеры	В (К) МХТ	В (Ме-3) КХТ	В (Ме-3) МХТ	В (Ме-5) КХТ	В (Ме-5) МХТ
МДА, нМ/г белка	12,9±1,6	15,36±2,5*	13,64±2,12	19,2±1,8*	16,27±2,07*
8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин, нг/г белка	4,18±1,14	6,22±0,6	4,87±0,36	8,73±0,64*	5,16±0,54
Цитохром С, нг/г белка	4,82±0,63	5,22±0,44	4,26±0,12*	7,14±1,5*	5,46±1,0
Каспаза-9, нг/г белка	0,78±0,1	0,32±0,08*	0,62±0,08	0,27±0,07*	1,26±0,12*

Примечание: * – $p \leq 0,05$, сравнение приведено с показателем в группе контроля.

Таблица 14 – Изменение маркеров неангиогенеза в ткани первичного опухолевого узла животных-носителей меланомы В16 через 18 суток после перевивки опухолевых клеток.

Маркеры	VEGF-A, пг/г тк	VEGFR1, пг/г тк	VEGF-C, пг/г тк	VEGFR2, пг/г тк
В (К) МХТ	8 655,3±712,0	169,4±16,8	124,6±17,8	61,8±11,6
В (Ме-3) КХТ	7 325,8±631,0	158,1±18,7	118,0±18,7*	58,9±13,8
В (Ме-3) МХТ	3 021±38,6*	51,8±9,6*	109,8±19,6	48,7±6,9
В (Ме-5) КХТ	9 341,3±807,0	176,1±28,1	131,3±16,4*	72,1±12,9
В (Ме-5) МХТ	5 721±278,5*	93,4±28,5*	125,5±21,3	65,3±7,7

Примечание: * – $p \leq 0,05$, сравнение приведено с показателем в группе контроля.

При анализе изменений молекулярных маркеров апоптотических процессов и МДА митохондриальной фракции первичного опухолевого узла мышечных-носителей меланомы В16 через 18 суток после перевивки опухолевых клеток (Табл. 14) выявлены следующие изменения.

Интенсивное повреждение мембран митохондрий происходит при классическом режиме введения ГОС-Sn (IV), оно более выражено при введении Me-5, что сопровождается повышением маркеров повреждения липидов (МДА, цитохрома С), ДНК (8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин).

При метрономном режиме введения уровни МДА, 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина и цитохрома С не имеют статистически значимых различий, что позволяет предположить отсутствие высокой цитотоксической активности за счет изменения про/антиоксидантного соотношения, и этот механизм не может быть ведущим в реализации противоопухолевой и антиметастатической активности в метрономном режиме введения ГОС-Sn (IV).

Значительное изменение маркеров неангиогенеза в ткани первичного опухолевого узла животных-носителей меланомы В16 через 18 суток после перевивки опухолевых клеток (Табл. 18) наблюдалось только в группах с метрономным режимом введения ГОС-Sn (IV), и было более выраженным для гемангиогенеза. Следует отметить, что преимущественное снижение уровня VEGF-A и его рецептора было выявлено при введении Me-3.

ГЛАВА 5

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Данная глава диссертационной работы построена по принципу обсуждения каждого положения, выносимого на защиту.

5.1. Лидерные гибридные оловоорганические соединения (Me-3 и Me-5) в метромном режиме введения проявляют умеренную противоопухолевую и высокую антиметастатическую активность на модели злокачественных новообразований меланоме B16 мышей

Применение перевиваемых опухолей для проведения доклинических исследований является наиболее рациональным. Во-первых, они делают возможной постановку массовых экспериментов, так как легко и быстро могут быть получены в большом количестве. Другим преимуществом перевиваемых опухолей является относительное постоянство их строения и биологических свойств [Модели и методы экспериментальной онкологии, Под редакцией и с предисловием действительного члена АМН СССР А. Д. Тимофеевского Гос. изд-во мед. лит-ры «Медгиз», М., 1960 г; Акименко М.А. и др., 2023]. В настоящее время в список обязательных моделей для тестирования новых соединений с предполагаемым противоопухолевым действием входят 5 видов перевиваемых опухолей мышей: лимфолейкоз P388, лимфолейкоз L1210, меланома B16, эпидермоидная карцинома легкого Lewis (LLC), аденокарцинома молочной железы Ca755 [Трещалина Е.М. и др., 2012; Козлов А.М. и др., 1978].

При изучении патогенетических особенностей метастазирования под действием соединений с предполагаемым противоопухолевым действием за счет возможностей контрастного иммуногистохимического окрашивания опухолевых клеток неоспоримым преимуществом обладает модель меланомы B16 [Додохова М.А. и др., 2023].

При анализе влияния соединений Me-3 и Me-5 на развитие меланомы B16 в классическом и метрономном режиме введения получены следующие результаты (Рис. 26, 27):

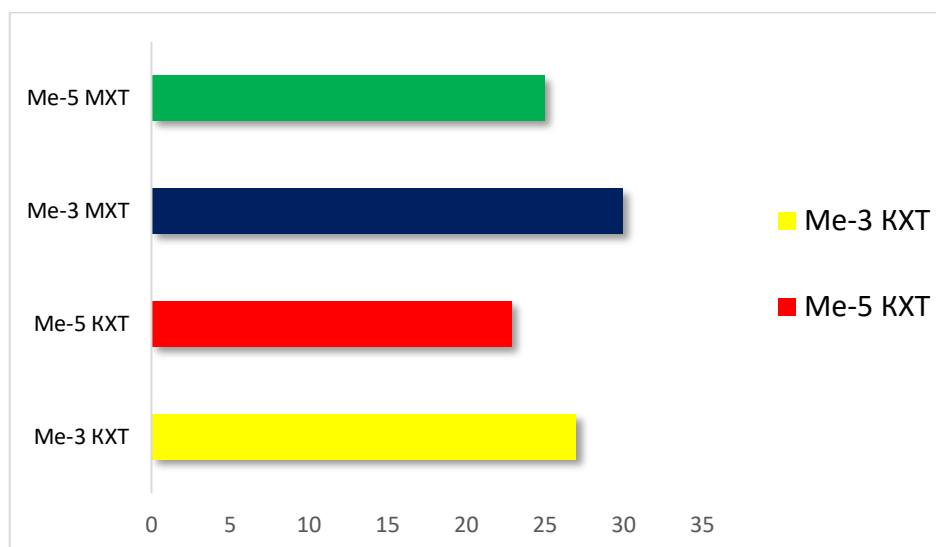


Рисунок 26 – Изменение ТРО, % при классическом и метрономном режиме введения ГОС-Sn (IV) через 16 суток от момента первого введения тестируемых соединений

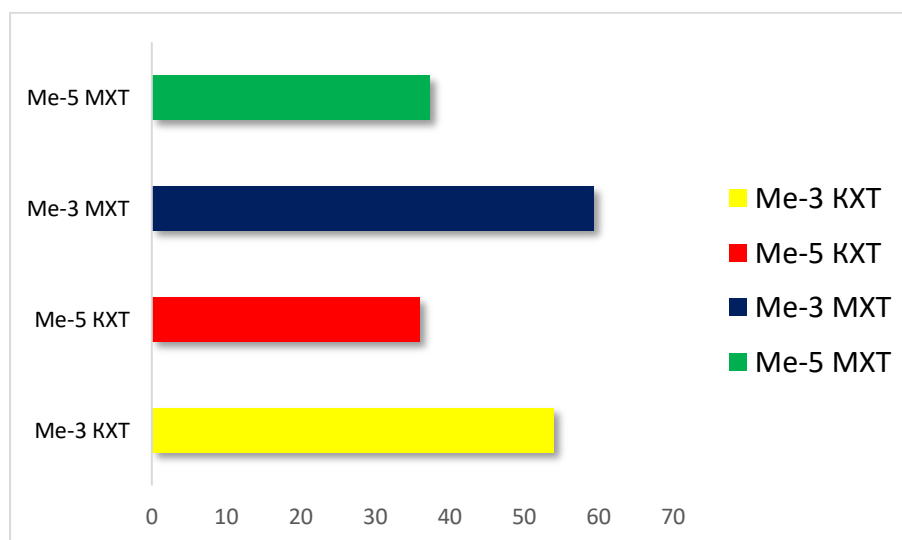


Рисунок 27 – Изменение ИИМ, % при классическом и метрономном режиме введения ГОС-Sn (IV) через 16 суток от момента первого введения тестируемых соединений

Одним из результатов данной работы стало выявление чувствительности к метрономной химиотерапии универсальной модели опухолевого роста со спонтанным метастазированием в легкие меланомы B16.

Следует обратить внимание на то, что в эксперименте исследуемые вещества применяли в малых (пороговых) дозах, но получили результаты специфической эффективности, сопоставимые с данными противоопухолевого и антиметастатического эффектов гибридных ООС при классическом варианте введения по Софьиной З.П.

Результаты сравнительной балльной оценки общего состояния экспериментальных животных при классическом и метрономном введении ГОС-Sn (IV) через 16 суток от момента первого введения тестируемых соединений приведены на рисунках (рисунок 28).

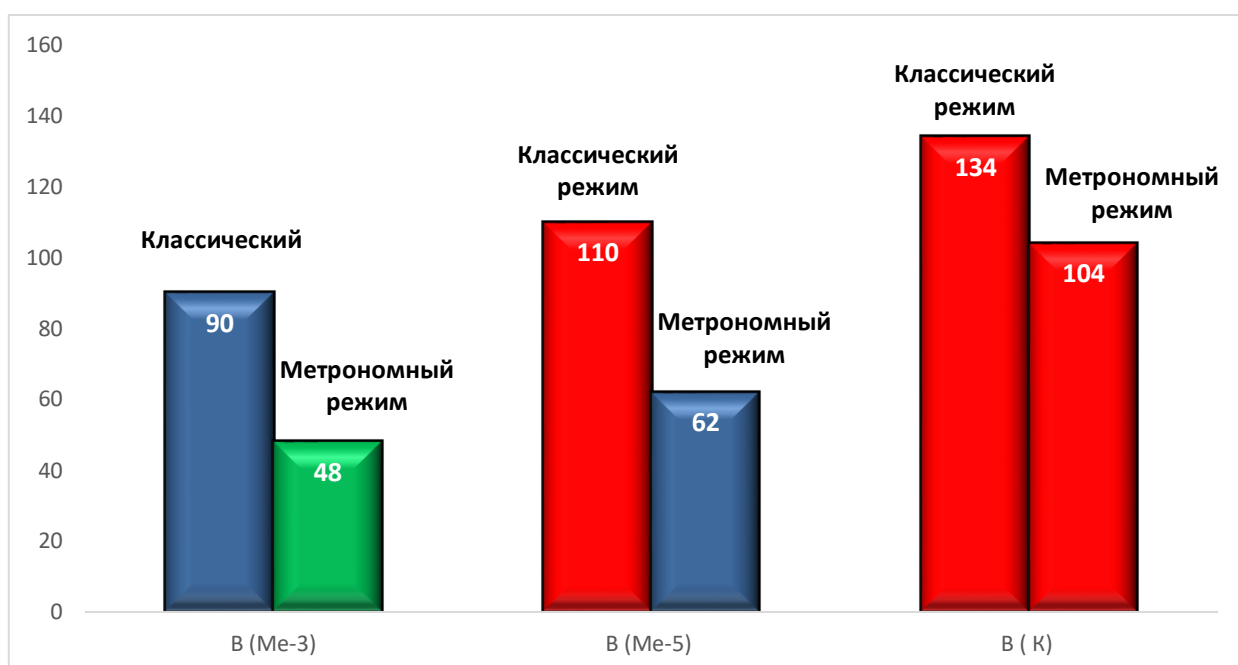


Рисунок 28 – Результаты сравнительной балльной оценки общего состояния экспериментальных животных при классическом и метрономном введении ГОС-Sn (IV) через 16 суток от момента первого введения тестируемых соединений

При сопоставимой фармакологической эффективности общее состояние животных в метрономном режиме введения оценивалось как умеренной тяжести, что особенно важно при терапии диссеминированного опухолевого процесса с паллиативной целью.

Последние научные исследования демонстрируют роль химиотерапии не только в обеспечении контроля за симптомами, предотвращении осложнений,

продлении жизни, но и улучшении качества жизни у пациентов с неизлечимыми злокачественными новообразованиями. Такое понимание задач химиотерапевтического лечения полностью соответствует паллиативной терапии в онкологии [Решеткина Д.А. и др., 2020].

В связи с полученными результатами считаем целесообразным продолжить изучение ГООС применительно к лечению диссеминированного опухолевого процесса в метронормном моно- и комбинированном режиме введения.

5.2. При комбинированном введении цисплатина и лидерных гибридных оловоорганических соединений в метронормном режиме наблюдается косвенный синергический противоопухолевый и антиметастатический эффект на рост и развитие меланомы В16 мышей

Успехи современной онкологии позволили повысить эффективность химиотерапевтического лечения злокачественных новообразований путем изменения традиционных методик введения известных противоопухолевых лекарственных средств, их комбинирования и внедрения новых противоопухолевых и антиметастатических агентов, в том числе с иными механизмами действия [Переводчикова Н.И. и др., 2018].

Цисплатин (цис-диамминдихлорплатина (II)) — старейший известный химиотерапевтический агент. С момента выявления его противоопухолевой активности он занял замечательное место в качестве метода выбора для лечения нескольких типов рака. Он остается эффективным против рака яичек, мочевого пузыря, легких, головы и шеи, яичников и других видов рака. Лечение цисплатином вызывает различные клеточные реакции. Однако он оказывает свое цитотоксическое действие путем создания межцепочечных и внутрицепочечных поперечных связей в ДНК.

Однако, побочные эффекты и лекарственная устойчивость являются двумя присущими цисплатину проблемами, которые ограничивают его применение и эффективность. Основными проявлениями токсичности, возникающей при терапии цисплатином, являются нефротоксичность, ототоксичность,

гепатотоксичность, желудочно-кишечная токсичность, нейротоксичность [C. Marotta et al., 2023]. Более того, рецидивы также являются очень важным недостатком цисплатина [S. Ghosh et al., 2019]. За резистентность к цисплатину ответственны уменьшение накопления лекарства внутри раковых клеток, инактивация препарата за счет реакции с глутатионом и металлотионеинами и более быстрое восстановление повреждений ДНК.

Клинические ограничения цисплатина побуждают исследователей создавать тысячи его аналогов [G. Ho et al., 2016]. Лишь некоторые из них прошли клинические испытания, но только два препарата (карбоплатин и оксалиплатин) были одобрены во всем мире. Однако большинство соединений платины не обладают существенным преимуществом перед цисплатином.

Чтобы свести к минимуму побочные эффекты и резистентность к цисплатину, используются комбинированные методы лечения, которые оказались более эффективны в борьбе с раком [X. Meng et al., 2024].

Комбинированная терапия – это терапия, при которой используются два или более препаратов с различным механизмом действия.

За последнее десятилетие (2009-2018) было выпущено более 300 производных оловоорганических соединений (IV) с лигандами-донорами кислорода, такими как карбоновые кислоты, аминокислоты, нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), биологически активные производные или натуральные продукты, оловоорганические соединения (IV) с серосодержащими лигандами, такими как тионы, тиосемикарбазоны, дитиокарбаматы, оловоорганические соединения (IV). Соединения оксимов и оловоорганических соединений (IV) с аминами или семикарбазонами были подвергнуты скринингу на предмет их антипролиферативного действия против различных линий раковых клеток, и его результаты включены в многочисленные отчеты за этот период [Banti C.N. et al., 2019].

Различные исследования демонстрируют, что ГОС-Sn (IV) влияют на макромолекулы клетки (ДНК или белки), а также на энергетику клетки и функции митохондрий, взаимодействуют с клеточными мембранами, увеличивают

концентрацию Ca^{2+} в цитоплазме [Alama A. et. al., 2009]. Для большинства ГОС-Sn (IV) показано, что они вызывают апоптотическую гибель клетки. Апоптоз вызывается либо за счет влияния ГОС-Sn (IV) на редокс-сигнальные пути клеток (накопление активных метаболитов кислорода (АМК)), либо нарушением проницаемости мембран митохондрий, активации каспаз или ввиду взаимодействия с ДНК, уменьшения выработки антиапоптотического белка Bcl-2 [Antonenko T.A. et al., 2020; Antonenko T.A. et al., 2018]. Кроме того, ингибирование ферментов, вызванное ГОС-Sn (IV), также обусловлено их антипролиферативной активностью. Известно, что один из механизмов действия ГОС-Sn (IV) определяется их способностью связываться с сульфгидрильными группами белка тубулина, играющего ключевую роль в формировании микротрубочек и клеточной пролиферации. В результате нарушаются репликация и транскрипция ДНК, что приводит к задержке клеточного цикла и, в конечном итоге, – к апоптозу [Милаева Е.Р. и др., 2021].

Вышеизложенное позволило предположить возможность комбинированного введения в метрономном режиме цисплатина и ГОС-Sn (IV) с получением наиболее эффективной схемы введения (Рис. 29, 30).

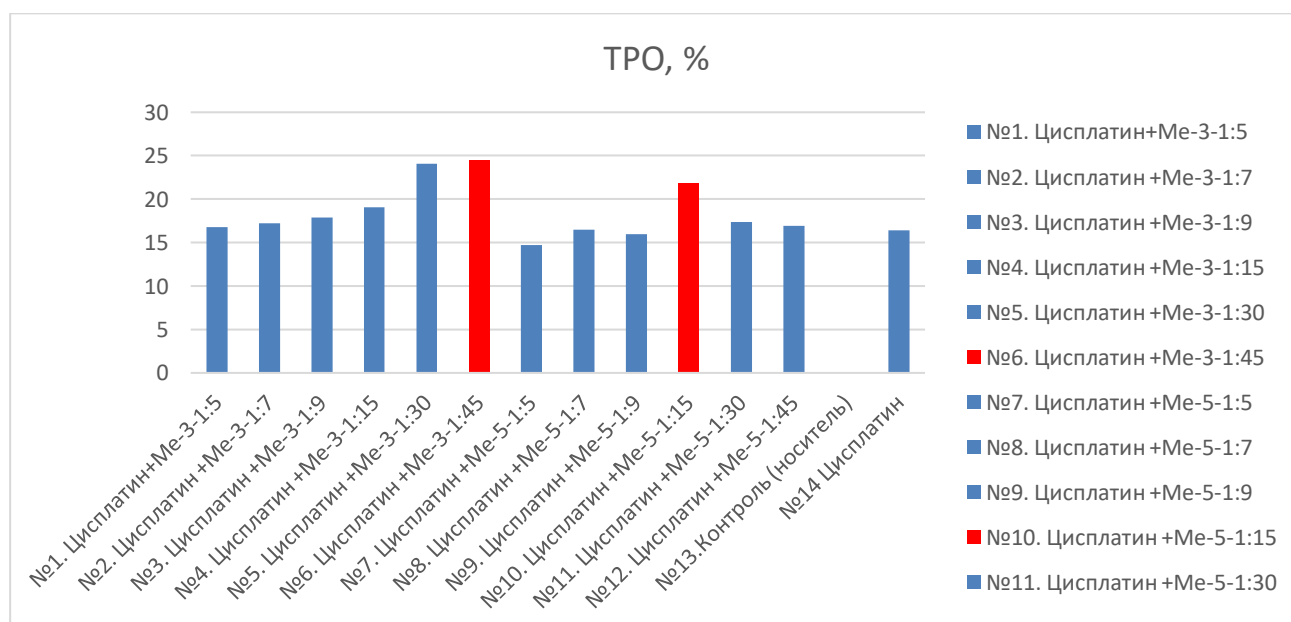


Рисунок 29 – Определение наиболее эффективных схем введения цисплатина и ГОС-Sn (IV) в зависимости от изменения ТРО, %

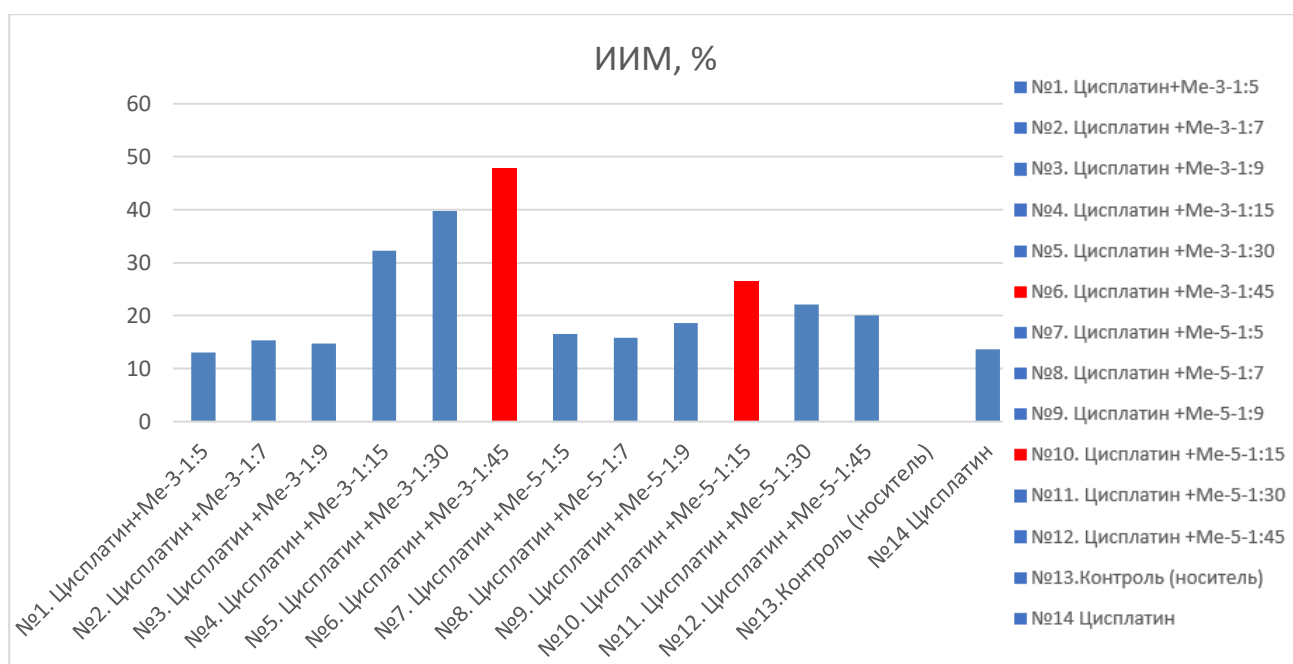


Рисунок 30 – Определение наиболее эффективных схем введения цисплатина и ГОС-Sn (IV) в зависимости от изменения ИИМ, %

В результате проведенной экспериментальной работы выявлена максимально эффективная комбинация вводимой композиции – в группе №6 (ЦП+Ме-3-1:45) и №10 (ЦП+Ме-5-1:15).

5.3. Максимально эффективная комбинация вводимой композиции (цисплатин и оловоорганические соединения) зависит от класса токсичности тестируемого органического соединения олова (IV): для IV класса токсичности по СГС наиболее эффективной является комбинация 1:15, для V-класса токсичности – 1:45

Одним из основных направлений деятельности в области безопасного обращения химических веществ в мире является классификация и маркировка химической продукции в соответствии с требованиями Согласованной на глобальном уровне системы классификации опасности и маркировки химической продукции (СГС/ GHS) [OECD, 2001].

Токсичность органических производных металлов определяется несколькими химическими структурными факторами: природой заместителей R,

образующего ковалентные связи «металл-углерод»; координационной доступностью атома металла для формирования связи с мишенью; относительно стабильной связью L–Me (например, S–Sn); медленной гидролитической деструкцией.

В зависимости от класса токсичности тестируемого соединения по СГС возможно скорректировать разовые дозы, необходимые для определения фармакологической активности элементоорганических субстанций для исследования на перевиваемых моделях солидных опухолей мышей (меланома В16).

Результаты экспериментальной работы по определению токсикометрических показателей получены нами ранее [Додохова М.А. и др., 2021; Додохова М.А., 2023] и представлены в таблице 15. Для оценки токсичности при однократном внутрижелудочном введении нами были использованы протоколы OECD 420 и 425 [OECD (2001), OECD (2008)], изучение проведено на крысах линии Wistar (самки).

Таблица 15 – Токсикометрические характеристики исследуемых соединений при однократном внутрижелудочном введении крысам Wistar (самки).

Исследуемый объект	Класс токсичности по СГС	LD ₅₀ , мг/кг	МПД, мг/кг
Me-3	V	>>> 2000	2000
Me-5	IV	954,0±58,3	750

Примечания: МПД – максимально переносимая доза.

Средняя доза вещества, вызывающая гибель половины животных испытываемой группы (LD₅₀), для Me-3 – значительно более 2000 мг/кг, что позволяет отнести это соединение к V классу токсичности; для Me-5, классифицированного как соединение IV класса токсичности, LD₅₀ составило от 300 до 2000 мг/кг

Определение класса токсичности предусматривает интервалы достоверности, ранжирования и классификации субстанции, в связи с чем может быть использовано в характеристике тестируемого соединения как базовая характеристика [Каркищенко Н.Н., 2006]. В настоящем исследовании доказано, что при комбинировании ГОС-Sn (IV) для IV класса токсичности по СГС наиболее эффективной является комбинация 1:15, для V-класса токсичности – 1:45. В зависимости от класса токсичности тестируемого соединения авторами предложена максимально эффективная комбинация цисплатина и оловоорганического соединения с различными лигандными группировками и получен патент на изобретение.

Технико-экономическая эффективность способа заключается в том, что его использование позволяет применять эффективные разовые дозы для комбинированной терапии в метрономном режиме цисплатином и оловоорганическими соединениями с известным классом токсичности как перспективных кандидатов в противоопухолевые лекарственные средства.

5.4. Изменение маркеров неоангиогенеза в ткани первичного опухолевого узла животных-носителей меланомы В16 через 18 суток после перевивки опухолевых клеток характерно для метрономного режима введения ГОС-Sn (IV), более выражено для гемангиогенеза.

В основе формирования новой сосудистой сети лежат различные механизмы, такие как васкулогенез, прорастание, инвагинационный и коалесцентный ангиогенез, а также коопция сосудов, васкулогенная мимикрия и лимфангиогенез.

Сосудистый гомеостаз регулируется большим количеством про- и антиангиогенных факторов. Когда они находятся в равновесии, сосудистая сеть находится в состоянии покоя, а эндотелиальные клетки непролиферативны. Инициация образования кровеносных сосудов индуцируется, когда доминирует проангиогенная передача сигналов, процесс, который в опухолях был назван «ангиогенным переключателем». Ангиогенный переключатель выводит опухоли

из состояния покоя и вызывает быстрый рост злокачественных клеток в сочетании с образованием новых кровеносных сосудов. Эндотелиальные клетки обычно находятся в состоянии покоя, но их можно стимулировать к прорастанию и иницированию ангиогенеза под действием проангиогенных факторов, включая фактор роста эндотелия сосудов (VEGF).

VEGF, первоначально известный как фактор проницаемости сосудов (VPF), является одним из наиболее мощных индукторов ангиогенеза [Ferrara N. et al., 2003]. При раке VEGF продуцируется и секретируется опухолевыми клетками и окружающей стромой и связан с прогрессированием опухоли, увеличением плотности сосудов, инвазивностью, метастазированием и рецидивом опухоли.

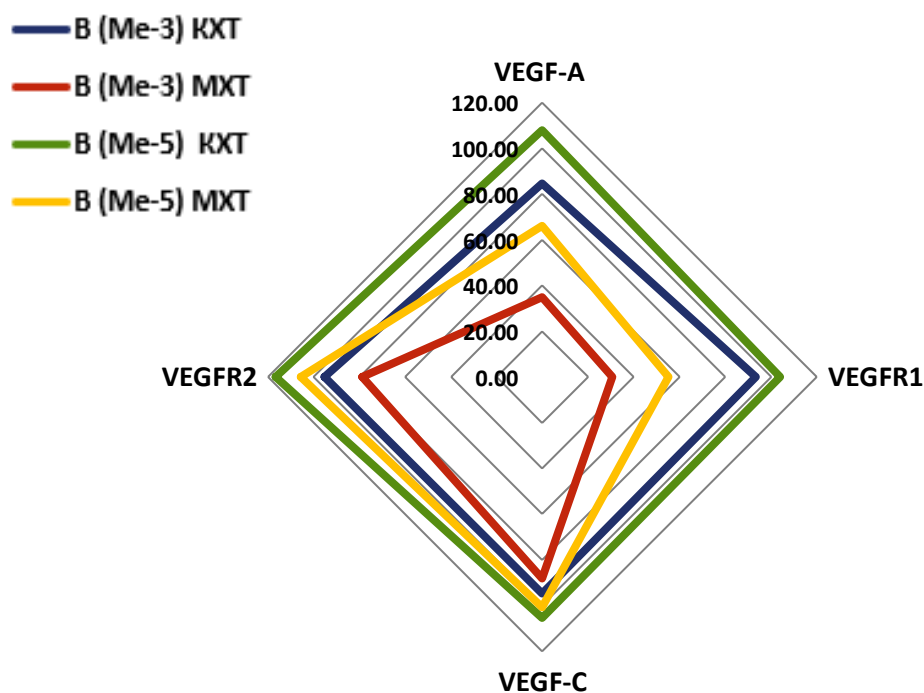


Рисунок 31 – Сравнительный анализ изменения факторов ангиогенеза при введении тестируемых соединений в классическом и метрономном режиме введения.

При метрономной химиотерапии тестируемыми соединениями выявлено изменение количества VEGF –А и его рецептора VEGFR2 (Рис. 31), что может

внести дополнительный компонент в реализацию как противоопухолевого, так и антиметастатического действия.

5.5. Реализация патогенетических механизмов противоопухолевой и антиметастатической эффективности гибридных оловоорганических соединений в метрономном режиме введения имеет особенности: ведущим механизмом фармакологической активности является подавление патологического опухолевого неангиогенеза

Установлено, что соединения металлов с фенольными группами способны проявлять как прооксидантную, так и антиоксидантную активность (Рис.32), что является важным аспектом для создания противоопухолевых препаратов цитотоксического действия без нежелательных побочных эффектов на здоровые клетки [Антоненко Т.А., 2019].

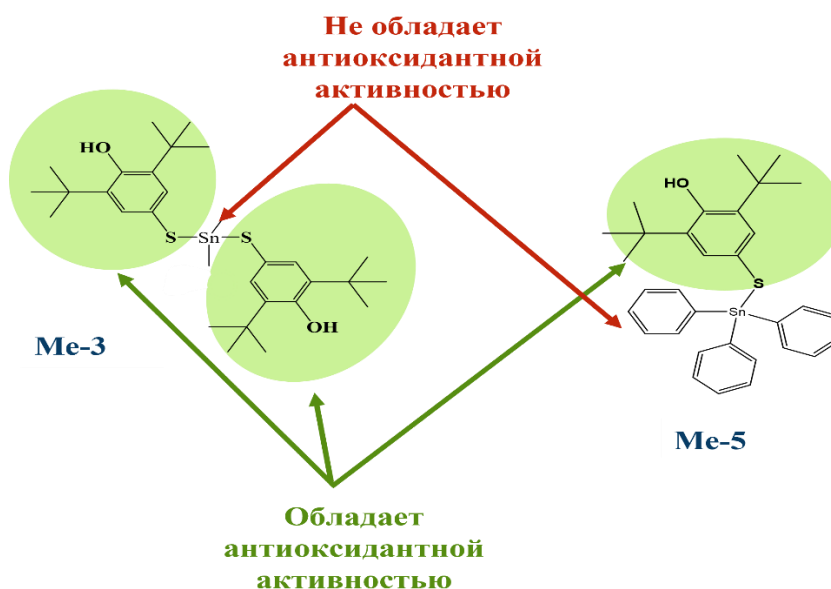


Рисунок 32 – Сравнительный анализ молекулярного строения тестируемых соединений

АФК представляют собой свободно радикальные частицы (супероксидный анионрадикал, перекисные радикалы, гидроксильный радикал) или нейтральные

молекулы (перекись водорода или синглетный кислород). АКМ важны для регуляции клеточной пролиферации, дифференцировки и апоптоза в норме [Меньшикова Е.Б. и др., 2021; Зенков Н.К. и др., 2020].

Гиперпродукция АКМ является причиной развития окислительного стресса и может индуцировать гибель клеток посредством апоптоза или некроза [Зенков Н.К. и др., 2019; Костина Ю.А. и др., 2014; Сипров А.В. и др., 2014].

Сегодня нет единой точки зрения на роль АКМ при злокачественных новообразованиях [38]. Если на начальной стадии антиоксиданты тормозят опухолевую трансформацию клеток, то на более поздней могут провоцировать метастазирование и развитие химиорезистентности опухолевых клеток [Зенков Н.К. и др., 2019].

Отмечено также, что оксидативное повреждение сопровождается усилением процессов окислительной деструкции липидов, белков, нуклеиновых кислот, нарушением мобилизации антиокислительной защиты, активацией апоптоза и некроза [Гайнутдинов П.И. и др., 2018].

Основное положение о начальных этапах индукции апоптоза вследствие нарушения митохондриального дыхания и возникновения окислительного стресса остается пока неизменным [Сипров А.В. и др., 2012; Слизов П.А. и др., 2020].

В соответствии с вышеизложенным, а также результатами работ соавторов [Додохова М.А., 2023], была описана патогенетическая схема влияния ГООС в максимально эффективной дозе при пятикратном внутрибрюшинном введении на опухолевую клетку (Рис. 33а).

При проведении «поискового иммуногистохимического анализа» в метрономном режиме введения тестируемых соединений был выявлен еще один возможный механизм реализации противоопухолевого и антиметастатического действия через изменение активности неоангиогенеза, более выраженный для соединения Me-3, что потребовало его дальнейшего изучения [Roweth HG. et. al., 2023].

Me-3 блокировал образование сосудов, в большей мере подавлял экспрессию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF A) и маркера

эндотелиальных клеток CD34 в клетках меланомы B16, но при этом с меньшей интенсивностью влиял на экспрессию рецептора VEGF A.

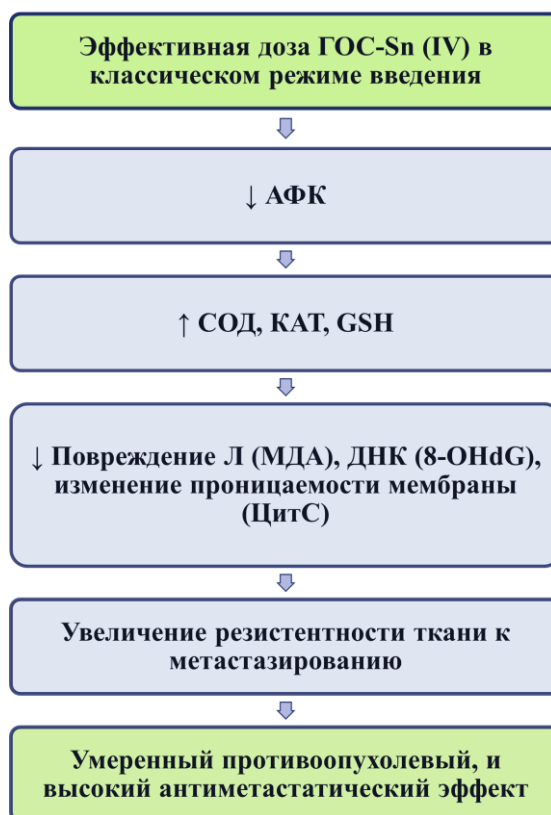


Рисунок 33а – Патогенетическая схема реализации противоопухолевого и антиметастатического действия гибридных оловоорганических соединений в максимально эффективной дозе при классическом режиме введения

В совокупности наши результаты показывают, что антиангиогенная активность Me-3 способствует его противоопухолевому и антиметастатическому действию, и этот механизм является ключевым в реализации фармакологической активности тестируемых соединений (Рис. 33б).

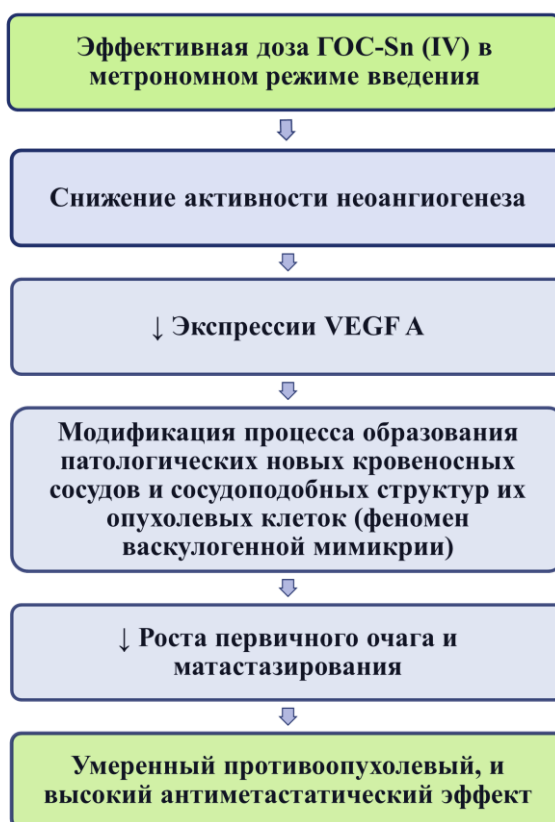


Рисунок 33б – Патогенетическая схема реализации противоопухолевого и антимастастатического действия гибридных оловоорганических соединений в максимально эффективной дозе при метрономном режиме введения.

Метрономная химиотерапия — это введение минимальной биологически эффективной дозы химиотерапевтического агента, назначаемая в виде непрерывного режима дозирования без длительных перерывов в приеме лекарств, что приводит к противоопухолевой активности. Эта методика оказывает не только прямую цитотоксичность на раковые клетки, но также влияет на микроокружение опухоли путем ингибирования опухолевого ангиогенеза. Метрономная химиотерапия имеет низкий профиль токсичности, что делает ее перспективной стратегией для применения в случаях диссеминированного опухолевого процесса для паллиативной химиотерапии в моно- и комбинированном режиме.

Антиангиогенная терапия может оказаться более эффективной при комбинированной терапии; которые прямо или косвенно воздействуют на отдельные пути или разные компоненты сосудистой сети опухоли.

Результаты исследования позволили разработать и обосновать фундаментальные патогенетические основы применения инновационного класса оловоорганических соединений в метрономном режиме введения в качестве перспективных кандидатов в противоопухолевые лекарственные средства для использования в паллиативной тактике химиотерапии в эксперименте.

ВЫВОДЫ

1. Применение лидерных гибридных оловоорганических соединений в малых (пороговых) дозах вызывает результаты специфической эффективности, сопоставимые с данными противоопухолевого и антиметастатического эффектов ГОС-Sn (IV) при классическом варианте введения.

2. Состояние животных и нарушение поведенческих реакций в группах классического введения (А (Me-3) КХТ, А (Me-5) КХТ, А (К) КХТ) было охарактеризовано как легкой степени, при введении в метрономном режиме состояние животных описывается как полное благополучие.

3. При введении ГОС-Sn (IV) в комбинированном метрономном режиме с цисплатином на модели экспериментальной неоплазии меланоме В16 мышей показано потенцированное действие (синергизм).

4. Максимально эффективная комбинация вводимой композиции в группах №6 (ЦП+Me-3-1:45) и №10 (ЦП+Me-5-1:15). При комбинировании соединения IV класса токсичности по СГС наиболее эффективной является комбинация 1:15, V-класса токсичности -1:45.

5. Значительное изменение маркеров неоангиогенеза в ткани первичного опухолевого узла животных-носителей меланомы В16 через 18 суток после перевивки опухолевых клеток наблюдалось только в группах с метрономным режимом введения ГОС-Sn (IV), и было более выраженным для гемангиогенеза.

6. Реализация фармакологической активности лидерных гибридных оловоорганических соединений в метрономном режиме введения на модели меланомы В16 мышей происходит посредством двух основных механизмов, которые сопряжены между собой: апоптоз и ангиогенез.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Методика «Поискового иммуногистохимического анализа» позволяет произвести предварительную оценку реализации противоопухолевого и антиметастатического действия соединений с предполагаемым противоопухолевым действием.

2. Определение класса токсичности может быть использовано в характеристике тестируемого соединения как базовая величина для прогнозирования максимально эффективных доз для комбинированной терапии цисплатина и соединений с предполагаемым противоопухолевым действием разных фармакологических групп.

3. Полученные данные следует принимать во внимание при последующем доклиническом исследовании органических производных олова с различными лигандными группировками.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

8-OHdG	– 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина
GSH	– восстановленный глутатион
HCT-15	– клетки колоректальной аденокарциномы, типа C
HeLa	– рак шейки матки
HepG2	– гепатоцеллюлярная карцинома
K-562	– миелогенный лейкоз
KB	– клеточная линия рака носоглотки
LMS	– клетки леймиосаркомы
MCF-7	– аденокарцинома молочной железы
MDA-MB-231	– инвазивный протоковый рак молочной железы
MRC-5	– клетки нормальных фибробластов легких плода человека
NAC	– ацетилцистеин
OECD	– Organisation for Economic Co-operation and Development (Организация экономического сотрудничества и развития)
SK-LMS-1	– клетки лейомиосаркомы
SKLU-1	– аденокарцинома легкого человека
SnCMB	– оловоорганический комплекс
SnMNA	– комплекс олова с 2-меркаптотоникотиновой кислотой
U-251	– глиобластома человека
АОЗ	– антиоксидантная защита
АОС	– антиоксидантная система
АФК	– активные формы кислорода
ВВ	– вспомогательные вещества
ГП	– глутатионпероксидаза
ГР	– глутатионредуктаза
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ЗН	– злокачественные новообразования
ИГХ	– иммуногистохимическое исследование
ИИМ	– индекс ингибирования метастазирования
ИК	– инфракрасная спектроскопия
ЛП	– лекарственные препараты
ЛС	– лекарственные средства
ЛФ	– лекарственная форма
МДА	– малоновый диальдегид
МПД	– максимально переносимая доза
ООС	– оловоорганические соединения
РД	– разовая доза

СГС	– согласованная на глобальном уровне система классификации и маркировки химических веществ
СД	– суммарная доза
СОД	– супероксидредуктаза
СРО	– свободно-радикальное окисление
ТБК	– тиобарбитуровая кислота
ТРОм	– торможение роста опухоли по массе
УПЖ	– показатель увеличения продолжительности жизни
ЧМ	– частота метастазирования опухоли
ЯМР	– ядерный магнитный резонанс

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Abdelmaksoud B.A. A Pilot Study of Extended Adjuvant Therapy with Metronomic Docetaxel for Patients with Operable Triple-Negative Breast Cancer / Abdelmaksoud B.A., Mohammed A., Toam M.M. // *Asian Pac. J. Cancer. Prev.* 2020 Mar. 1; 21(3): 749-754. doi: 10.31557/APJCP.2020.21.3.749.
2. Adams R.H. Molecular regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis / Adams R.H., Alitalo K. // *Nat Rev Mol. Cell. Biol.* 2007 Jun; 8(6): 464-78. doi: 10.1038/nrm2183.
3. Alama A. Organometallic compounds in oncology: Implications of novel organotin compounds as antitumor agents. / Alama A., Tasso B., Novelli F., Sparatore F. // *Drug. Discov. Today.* 2009; 14:500–508. DOI: 10.1016/j.drudis.2009.02.002.
4. André N. Metronomic Maintenance for High-Risk Pediatric Malignancies: One Size Will Not Fit All / André N, Orbach D, Pasquier E. // *Trends Cancer.* 2020 Oct.; 6(10): 819-828. doi: 10.1016/j.trecan.2020.05.007.
5. André N. Metronomic Maintenance Therapy for Rhabdomyosarcoma / André N., Corradini N., Shaked Y. // *Trends Cancer.* 2019. Dec.; 5(12): 756-759. doi: 10.1016/j.trecan.2019.10.004.
6. Antonenko T.A. Antioxidative vs cytotoxic activities of organotin complexes bearing 2,6-di-tert-butylphenol moieties. / Antonenko T.A., Shpakovsky D.B., Vorobyov M.A., Gracheva Yu A., Kharitonashvili E.V., Dubova L.G., Shevtsova E.F., Tafeenko V.A., Aslanov L.A., Iksanova A.G., Shtyrlin Yu.G., Milaeva E.R // *Appl. Organomet. Chem.* 2018; 32(7): e4381. DOI: 10.1002/aoc.4381.
7. Antonenko T.A. Cytotoxic activity of organotin carboxylates based on synthetic phenolic antioxidants and polycyclic bile acids. / Antonenko T.A., Shpakovsky D.B., Berseneva D.A., Gracheva Yu A., Dubova L.G., Shevtsov P.N., Redkozubova O.M., Shevtsova E.F., Tafeenko V.A., Aslanov L.A., Milaeva E.R. // *J. Organomet. Chem.* 2020; 909: 121089. DOI: 10.1016/j.jorganchem.2019.121089.

8. Arakawa Y. Biological functions of tin and disease. / Arakawa Y., Tomiyama K. // *Nihon Rinsho*. – 2016; – №74(7). – С. 1199-1206.

9. Arrivi G. Metronomic chemotherapy in patients with advanced neuroendocrine tumors: A single-center retrospective analysis / Arrivi G., Spada F., Frassoni S., Bagnardi V., Laffi A., Rubino M., Gervaso L., Fazio N. // *J. Neuroendocrinol.* 2022 Oct.; 34(10): e13189. doi: 10.1111/jne.13189.

10. Антоненко Т.А. Биологическая активность новых комплексов металлов с куркумином / Т.А. Антоненко, Д.Б. Шпаковский, М.Б. Лукьянчук [и др.] // XXI Менделеевский съезд по общей и прикладной химии: Тезисы докладов. В 6-ти томах, Санкт-Петербург, 09–13 сентября 2019 года. Том 5. – Санкт-Петербург, 2019. – С. 133. – EDN ZXТТВК.

11. Banti C.N. Anti-proliferative and antitumor activity of organotin (IV) compounds. An overview of the last decade and future perspectives. / Banti C.N., Hadjidakou S.K., Sismanoglu T., Hadjiliadis N. // *J. Inorg. Biochem.* 2019 May; 194: 114-152. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2019.02.003.

12. Banys-Paluchowski M. Metronomic Chemotherapy for Primary Non-Metastatic Breast Cancer – a Systematic Review of the Literature / Banys-Paluchowski M., Ruckhäberle E., Schütz F., Krawczyk N., Fehm T. // *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2017; Vol. 77; № 2; P. 142–148. DOI: 10.1055/s-0043-100388.

13. Bondarenko M. Metronomic Chemotherapy Modulates Clonal Interactions to Prevent Drug Resistance in Non-Small Cell Lung Cancer / Bondarenko M., Le Grand M., Shaked Y., Raviv Z., Chapuisat G., Carrère C., Montero M.P., Rossi M., Pasquier E., Carré M., André N. // *Cancers (Basel)*. 2021. Vol. 13, № 9. Art. № 2239. DOI: 10.3390/cancers13092239.

14. Bouleuc C. Les soins palliatifs précoces et intégrés en oncologie [Early palliative care in oncology] / Bouleuc C., Burnod A., Angellier E., Massiani M.A., Robin M.L., Copel L., Chvetzoff G., Frasier V., Fogliarini A., Vinant P. // *Bull. Cancer.* 2019 Sep.; 106(9): 796-804. French. doi: 10.1016/j.bulcan.2019.04.006. Epub 2019 Jun 4. PMID: 31174856.

15. Browder T. Antiangiogenic scheduling of chemotherapy improves efficacy against experimental drug-resistant cancer / Browder T., Butterfield C.E., Kräling B.M. et al. // *Cancer. Res.* 2000; 60(7): 1878–86.
16. Caparica R. Metronomic chemotherapy combined with endocrine therapy: are we challenging some dogmas? / Caparica R., De Angelis C., Fêde Â., Werutsky G., de Azambuja E. // *Expert. Rev. Anticancer. Ther.* 2020 Jul.; 20(7): 563-573. doi: 10.1080/14737140.2020.1782200.
17. Cazzaniga M.E. Metronomic Chemotherapy / Cazzaniga M.E., Cordani N., Capici S., Cogliati V., Riva F., Cerrito M.G. // *Cancers (Basel)*. 2021 May 6;13(9):2236. doi: 10.3390/cancers13092236.
18. Chen Y.P. Metronomic Capecitabine as Adjuvant Therapy in Locoregionally Advanced Nasopharyngeal Carcinoma: A Multicentre, Open-Label, Parallel-Group, Randomised, Controlled, Phase 3 Trial / Chen Y.P., Liu X., Zhou Q., Yang K.Y., Jin F., Zhu X.D., Shi M., Hu G.Q., Hu W.H., Sun Y., Wu H.F., Wu H., Lin Q., Wang H., Tian Y., Zhang N., Wang X.C., Shen L.F., Liu Z.Z., Huang J., Luo X.L., Li L., Zang J., Mei Q., Zheng B.M., Yue D., Xu J., Wu S.G., Shi Y.X., Mao Y.P., Chen L., Li W.F., Zhou G.Q., Sun R., Guo R., Zhang Y., Xu C., Lv J.W., Guo Y., Feng H.X., Tang L.L., Xie F.Y., Sun Y., Ma J. // *Lancet*. 2021. Vol. 398, № 10297. P. 303–313. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)01123-5.
19. Cruz-Munoz W. Effective treatment of advanced human melanoma metastasis in immunodeficient mice using combination metronomic chemotherapy regimens / Cruz-Munoz W., Man S., Kerbel R.S. // *Clin. Cancer. Res.* 2009 Aug. 1; 15(15): 4867-74. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-3275.
20. Dodokhova M.A., Safronenko A.V., Kotieva I.M., Alkhuseyn-Kulyaginova M.S., Shpakovsky D.B., Milaeva E.R. Impact of organotin compounds on the growth of epidermoid lewis carcinoma / Dodokhova M.A., Safronenko A.V., Kotieva I.M., Alkhuseyn-Kulyaginova M.S., Shpakovsky D.B., Milaeva E.R. // *Research Results in Pharmacology*. – 2021. – T. 7. – №4. – С. 81-88.
21. Dodokhova, M.A. Evaluation of the pharmacological activity of hybrid organotin compounds in a B16 melanoma model in the classical and metronomic

administration modes / M.A. Dodokhova, A.V. Safronenko, I.M. Kotieva, M.S. Alkhuseyn-Kulyaginova, D.B. Shpakovsky, E.R. Milaeva // *Research Results in Pharmacology*. – 2022. – Vol. 8. – № 1. – P. 85-94.

22. Du Sert N.P. Cisplatin-induced emesis: systematic review and meta-analysis of the ferret model and the effects of 5-HT₃ receptor antagonists. / Du Sert N.P., Rudd J.A., Apfel C.C., Andrews P.L.R. // *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2011. Vol. 67(3): 667–86. DOI: 10.1007/s00280-010-1339-4.

23. Ebadi A. Ab-initio and Conformational Analysis of a Potent VEGFR-2 Inhibitor: A Case Study on Motesanib / Ebadi A.; Razzaghi-Asl N.; Shahabipour S.; Miri R. // *Iran. J. Pharm. Res.* 2014; 13; 405–415.

24. Editors A. Novel Drugs with High Efficacy against Tumor Angiogenesis. / Editors, A.; Chiodelli, P. // *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23, 6934. <https://doi.org/10.3390/ijms23136934>

25. El Darsa H. What Is the Real Value of Metronomic Chemotherapy in the Treatment of Gastrointestinal Cancer? / El Darsa H., El Sayed R., Abdel-Rahman O. // *Expert Opin. Pharmacother.* 2021. Vol. 22, № 17. P. 2297–2302. DOI: 10.1080/14656566.2021.1940953.

26. Felcht M. Angiogenesis in malignant melanoma / Felcht M., Thomas M. // *J. Dtsch.Dermatol. Ges.* 2015; 13 (2): 125–36. DOI: 10.1111 / ddg.12580.

27. Fotopoulou E. Metallodrugs as Anticancer Chemotherapeutics and Diagnostic Agents: A Critical Patent Review (2010-2020) / E. Fotopoulou, I. Titilas, L. Ronconi // *Recent. Pat. Anticancer. Drug. Discov.* – 2022. – Vol. 17 (1). – P. 42-54.

28. Gasparini G. Angiogenic inhibitors: a new therapeutic strategy in oncology / Gasparini G., Longo R., Toi M. et al. // *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 562–577 (2005). <https://doi.org/10.1038/nrponc0342>.

29. Ghosh S. Cisplatin The first metal based anticancer drug / Ghosh S. // *Bioorg. Chem.* 2019 Jul.; 88: 102925. doi: 10.1016/j.bioorg.2019.102925. Epub. 2019 Apr. 11. PMID: 31003078.

30. Gielen, M. In vitro antiproliferative effects, toxicity profiles in vivo in mice and antitumour activity in tumour-bearing mice of five organotin compounds / M.

Gielen, R. Willem, A. Bouhdid [et al.] // *In vivo* (Athens, Greece). – 1995. – Vol. 9. – № 1. – P. 59-63.

31. Ho G.Y. Cisplatin versus carboplatin: comparative review of therapeutic management in solid malignancies / G.Y. Ho, N. Woodward, J.I.G. Coward // *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, Volume 102, 2016, Pages 37-46, <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2016.03.014>.

32. Isacoff W.H. ChemoSensitivity Assay Guided Metronomic Chemotherapy Is Safe and Effective for Treating Advanced Pancreatic Cancer / Isacoff W.H., Cooper B., Bartlett A., McCarthy B., Yu K.H. // *Cancers* (Basel). 2022. Vol. 14. Art. № 2906. DOI: 10.3390/cancers14122906.

33. Ishikawa E. Benefits and Prospects of VEGF-targeted Anti-angiogenic Therapy and Immunotherapy for High-grade Glioma / Ishikawa E., Miyazaki T. // *No Shinkei Geka*. 2021 May;49(3):597-607. Japanese. doi: 10.11477/mf.1436204433.

34. Isono-Taniguchi R. Metronomic Chemotherapy Using Oral Cyclophosphamide and Bevacizumab for Recurrent Cervical Cancer: A Multi-Institutional Retrospective Study / Isono-Taniguchi R., Goto M., Takimoto Y., Ueda T., Wakimoto Y., Inoue K., Hori K., Ito K., Tsubamoto H. // *Gynecol. Oncol. Rep*. 2022. Vol. 42. DOI: 10.1016/j.gore.2022.101013.

35. Jeong J.H. Pathological angiogenesis and inflammation in tissues./ Jeong J.H., Ojha U., Lee Y.M. // *Arch. Pharm. Res*. 2021 Jan; 44(1): 1-15. doi: 10.1007/s12272-020-01287-2.

36. Johnstone T.C. The next generation of platinum drugs: Targeted Pt (II) agents, nanoparticle delivery, and Pt (IV) prodrugs./ Johnstone T.C., Suntharalingam K., Lippard S.J. // *Chem. Rev*. 2016, 116, 3436–3486.

37. Kalra J.. Multiplex Immunohistochemistry for Mapping the Tumor Microenvironment / J. Kalra, J. Baker. // *Methods Mol. Biol*. 2017; 1554: 237-251. doi: 10.1007/978-1-4939-6759-9_17.

38. Karaman S. Vascular endothelial growth factor signaling in development and disease / Karaman S.; Leppanen V.M.; Alitalo K. // *Development* 2018, 145, dev151019.

39. Karami E. A nanobody-derived mimotope against VEGF inhibits cancer angiogenesis / Karami E., Sabatier J.M., Behdani M., Irani S., Kazemi-Lomedasht F. // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2020 Dec.; 35(1): 1233-1239. doi: 10.1080/14756366.2020.1758690.
40. Kareva I. Metronomic chemotherapy: an attractive alternative to maximum tolerated dose therapy that can activate anti-tumor immunity and minimize therapeutic resistance / Kareva I., Waxman D.J., Lakka Klement G.// *Cancer Lett.* 2015 Mar. 28; 358(2): 100-106. doi: 10.1016/j.canlet.2014.12.039.
41. Kashkooli M.F. Evaluation of solid tumor response to sequential treatment cycles via a new computational hybrid approach. / Moradi Kashkooli, F., Soltani, M. // *Sci Rep* 11, 21475 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00989-x>.
42. Kenny R.G. Toward multi-targeted platinum and ruthenium drugs – A new paradigm in cancer drug treatment regimens? / Kenny R.G.; Marmion C.J. // *Chem. Rev.* – 2019 – №119. – P.1058–1137.
43. Kim J.Y. Tumor endothelial cells as a potential target of metronomic chemotherapy / Kim J.Y., Kim Y.M. // *Arch. Pharm. Res.* 2019 Jan; 42(1): 1-13. doi: 10.1007/s12272-018-01102-z.
44. Kit O.I., Frantsiyants E.M., Shikhlyarova A.I., Neskubina I.V., Kaplieva I.V., Cheryarina N.D., Vereskunova A.A., Trepitaki L.K., Pogorelova Y.A., Bandovkina V.A., Surikova E.I., Kachesova P.S., Sheiko E.A., Kotieva I.M., Gusareva M.A., Luganskaya R.G., Bosenko E.S. Biological effects of mitochondrial therapy: preventing development of myocardial infarction and blocking metastatic aggression of B16/F10 melanoma. / *Cardiometry.* – 2022. – № 22. – P. 50-55.
45. Koh J.. High-Throughput Multiplex Immunohistochemical Imaging of the Tumor and Its Microenvironment. / J. Koh, Y. Kwak, J. Kim, W.H. Kim. // *Cancer. Res. Treat.* 2020; 52(1): 98-108. doi: 10.4143/crt.2019.195.
46. Koziol J.A. Impact of Cisplatin Dosing Regimens on Mammary Tumor Growth in an Animal Model. / Koziol J.A., Falls T.J., Schnitzer J.E.// *Arch. Cancer. Biol. Ther.* 2020; 1(1): 18-21. doi: 10.33696/cancerbiology.1.004.

47. Ledzewicz U. Application of mathematical models to metronomic chemotherapy: What can be inferred from minimal parameterized models? / Ledzewicz U., Schättler H. // *Cancer. Lett.* 2017. №. 10; C.74-80. DOI: 10.1016/j.canlet.2017.03.021.
48. Li S. Angiogenesis in pancreatic cancer: current research status and clinical implications / Li S., Xu H.X., Wu C.T., Wang W.Q., Jin W., Gao H.L., Li H., Zhang S.R., Xu J.Z., Qi Z.H., Ni Q.X., Yu X.J., Liu L. // *Angiogenesis.* 2019 Feb.; 22(1): 15-36. doi: 10.1007/s10456-018-9645-2.
49. Liao D. Hypoxia: A key regulator of angiogenesis in cancer / Liao D.; Johnson R.S. // *Cancer Metastasis Rev.* 2007; 26; 281–290.
50. Liu G. Inhibition of FGF-FGFR and VEGF-VEGFR signalling in cancer treatment / Liu G., Chen T., Ding Z., Wang Y., Wei Y., Wei X. // *Cell. Prolif.* 2021 Apr.; 54(4): e13009. doi: 10.1111/cpr.13009.
51. Liu H. Dose-dependent bidirectional pharmacological effects of vinorelbine-based metronomic combination chemotherapy on tumor growth and metastasis and mechanisms in melanoma mouse model. / Liu H., Zheng Q., Li M., Kou J., Wei J., Feng W. // *Fundam Clin Pharmacol.* 2023 Jul. 17. doi: 10.1111/fcp.12939.
52. Liu Z.L. Angiogenic signaling pathways and anti-angiogenic therapy for cancer. / Liu Z.L., Chen H.H., Zheng L.L., Sun L.P., Shi L. // *Signal Transduct. Target Ther.* 2023 May 11; 8(1): 198. doi: 10.1038/s41392-023-01460-1.
53. Lundkvist A. Growth factor gradients in vascular patterning. / Lundkvist A., Lee S., Iruela-Arispe L., Betsholtz C., Gerhardt H. // *In Vascular Development: Novartis Foundation Symposium*; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, 2007; Volume 283, pp. 194–201.
54. Magaki S.. An Introduction to the Performance of Immunohistochemistry. / S. Magaki, S.A. Hojat, B. Wei, A. So, W.H. Yong. // *Methods Mol. Biol.* 2019; 1897: 289-298. doi: 10.1007/978-1-4939-8935-5_25.
55. Marotta C. An overview of recent advancements in anticancer Pt(IV) prodrugs: New smart drug combinations, activation and delivery strategies / C. Marotta,

E. Giorgi, F. Binacchi, D. Cirri, C. Gabbiani, A. Pratesi // *Inorganica Chimica Acta*, Volume 548, 2023, 121388, <https://doi.org/10.1016/j.ica.2023.121388>.

56. Melincovici C.S. Vascular endothelial growth factor (VEGF)—Key factor in normal and pathological angiogenesis / Melincovici C.S.; Bosca A.B.; Susman S.; Marginean M.; Miha C.; Istrate M.; Moldovan I.M.; Roman A.L.; Miha C.M. // *Rom. J. Morphol. Embryo* 2018; 59; 455–467.

57. Meng X. The diverse effects of cisplatin on tumor microenvironment: Insights and challenges for the delivery of cisplatin by nanoparticles / X. Meng, F. Ma., D. Yu. // *Environmental Research*, Volume 240, Part 1, 2024, 117362, <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117362>.

58. Metsios, A. Cytotoxic and Anticancer Effects of the Triorganotin Compound [(C₆H₅)₃Sn(Cmbzt)]: An in Vitro, Ex Vivo and in Vivo Study / Synthesis, antiradical activity and in vitro cytotoxicity of novel organotin complexes based on 2,6-di-tert-butyl-4-mercaptophenol / A. Metsios, I. Verginadis, Y. Simos, [et al.] // *Eur. J. Pharm. Sci.* – 2012. – Vol. 47. – № 2. – P. 490-496.

59. Milaeva E. State-of-the-art approaches to creating metal-based drugs / Milaeva E., 16–19 мая 2022 года, 2021. – P. 112. – DOI 10.19163/MedChemRussia2021-2021-112.

60. Mine A. In Vitro and In Silico Study to Assess Toxic Mechanisms of Hybrid Molecules of Quinone-Benzocaine as Plastoquinone Analogues in Breast Cancer Cells / M. Ayse, A. Jannuzzi, N. Bayrak, M. Yıldız, H. Yildirim, M. Otsuka, M. Fujita, M. Radwan, A. Tuyun // *ACS Omega*. – 2022. – Vol. 34. – №7. – P. 30250-30264.

61. Mohammed, Alaa. Cytotoxic Effects of Valsartan Organotin (IV) Complexes on Human Lung. Cancer. Cells./ Mohammed, Alaa & Makia, Raghda & Al-Agele, Muataz & Raheem, Rasha & Yousif, Emad. // *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 11. 8156-8164. [10.33263/BRIAC111.81568164](https://doi.org/10.33263/BRIAC111.81568164).

62. Natale G. Does metronomic chemotherapy induce tumor angiogenic dormancy? A review of available preclinical and clinical data / Natale G., Bocci G. // *Cancer. Lett.* 2018 Sep. 28; 432: 28-37. doi: [10.1016/j.canlet.2018.06.002](https://doi.org/10.1016/j.canlet.2018.06.002).

63. Nikitin, E.A. Novel organotin complexes with phenol and imidazole moieties for optimized antitumor properties [Электронный ресурс] / E.A. Nikitin, D.B. Shpakovsky, V.Yu. Tyurin, A.A. Kazak, Yu. A. Gracheva, V.A. Vasilichin, M.S. Pavlyukov, E.M. Mironova, V.E. Gontcharenko, K.A. Lyssenko, A.A. Antonets, L.G. Dubova, P.N. Shevtsov, E.F. Shevtsova, M.A. Shamraeva, A.A. Shtil, E.R. Milaeva // *J. Organomet. Chem.* – 2022. – Vol. 959: 122212. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2021.122212>.

64. Noronha V. Oral Metronomic Chemotherapy After Definitive Chemoradiation in Esophageal Squamous Cell Carcinoma: A Randomized Clinical Trial / Noronha V., Patil V.M., Menon N.S., Joshi A., Goud S., More S., Kannan S., Pawar A., Nakti D., Yadav A., Shah S., Mahajan A., Janu A., Kumar R., Tibdewal A., Mummudi N., Agarwal J.P., Banavali S.D., Prabhash K. // *Esophagus*. 2022. Vol. 19. P. 670–682. DOI: 10.1007/s10388-022-00923-8.

65. Norrby K. Metronomic chemotherapy and anti-angiogenesis: can upgraded pre-clinical assays improve clinical trials aimed at controlling tumor growth? / Norrby K. // *APMIS*. – 2014. – T. 122. – № 7. С. – 565-579. DOI:10.1111/apm.12201.

66. OECD Guideline for testing of chemicals. Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure № 420. OECD Publishing. Paris, 2001.

67. Oguntade A.S. Anti-angiogenesis in cancer therapeutics: the magic bullet / Oguntade A.S., Al-Amodi F., Alrumayh A., Alobaida M., Bwalya M. // *J. Egypt. Natl. Canc. Inst.* 2021 Jul 2; 33(1): 15. doi: 10.1186/s43046-021-00072-6.

68. Orlandia P. Metronomic Vinorelbine Is Directly Active on Non Small Cell Lung Cancer Cells and Sensitizes the EGFR L858R/T790M Cells to Reversible EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors / Orlandia P., Desidero T.D., Salvia G., Muscatello B., Franciab G., Bocci G. // *Biochem. Pharmacol.* 2018. Vol. 152. P. 327–337. DOI: 10.1016/j.bcp.2018.04.011.

69. Orlando L. Metronomic oral chemotherapy with cyclophosphamide plus capecitabine combined with trastuzumab (HEX) as first line therapy of HER-2 positive advanced breast cancer: A phase II trial of the Gruppo Oncologico Italia Meridionale (GOIM). / Orlando L., Lorusso V., Giotta F., Di Maio M., Schiavone P., Fedele P.,

Quaranta A., Caliollo C., Ciccarese M., Cinefra M., Romito S., Pisconti S., Prete S.D., Aieta M., Rizzi D., Maiello E., Colucci G., Cinieri S. // *Breast*. 2020 Oct.; 53: 18-22. doi: 10.1016/j.breast.2020.06.002.

70. Oun R. The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: a review for chemists / Oun R., Moussa Y.E., Wheate N.J.// *Dalton Trans*. 2018 May 15; 47(19): 6645-6653. doi: 10.1039/c8dt00838h.

71. Pagliarani A. Toxicity of organotin compounds: shared and unshared biochemical targets and mechanisms in animal cells. / Pagliarani A., Nesci S., Ventrella V. // *Toxicol. In Vitro*. 2013;27(2):978-90. doi: 10.1016/j.tiv.2012.12.002.

72. Parmar D. Angiopoietin inhibitors: A review on targeting tumor angiogenesis / Parmar D., Apte M. // *Eur. J. Pharmacol*. 2021 May 15; 899: 174021. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174021.

73. Patil V. Low-cost oral metronomic chemotherapy versus intravenous cisplatin in patients with recurrent, metastatic, inoperable head and neck carcinoma: an open-label, parallel-group, non-inferiority, randomised, phase 3 trial. / Patil V., Noronha V., Dhumal S.B., Joshi A., Menon N., Bhattacharjee A., Kulkarni S., Ankathi S.K., Mahajan A., Sable N., Nawale K., Bhelekar A., Mukadam S., Chandrasekharan A., Das S., Vallathol D., D'Souza H., Kumar A., Agrawal A., Khaddar S, Rathnasamy N., Shenoy R., Kashyap L., Rai R.K., Abraham G., Saha S., Majumdar S, Karuvandan N., Simha V., Babu V., Elamarthi P., Rajpurohit A., Kumar K.A.P., Srikanth A., Ravind R., Banavali S., Prabhash K. // *Lancet Glob. Health*. 2020; 8(9): e1213-e1222. DOI: 10.1016/S2214-109X(20)30275-8.

74. Peristeri D.V. Metronomic Chemotherapy with Cyclophosphamide for the Treatment of Advanced Hepatocellular Cancer: A Case Report / Peristeri D.V., Tepelenis K., Karampa A., Kapodistrias N., Goussia A.C., Pappas-Gogos G., Glantzounis G.K. // *Ann. Med. Surg. (Lond.)*. 2021. Vol. 72. DOI: 10.1016/j.amsu.2021.103043.

75. Provencio M. Phase II clinical trial with metronomic oral vinorelbine and tri-weekly cisplatin as induction therapy, subsequently concomitant with radiotherapy (RT) in patients with locally advanced, unresectable, non-small cell lung cancer

(NSCLC). Analysis of survival and value of ctDNA for patient selection / Provencio M., Majem M., Guirado M., Massuti B., de Las Peñas R., Ortega A.L., Dómine M., Marsé R., Sala M.Á., Paredes A., Morán T., Vázquez S., Coves J., Larriba J.L.G., Sánchez J.M., Vicente D., Farré N., Fornos L.F., Zapata I., Franco F., Serna-Blasco R., Romero A., Isla D. // *Lung. Cancer.* 2021 Mar.; 153: 25-34. doi: 10.1016/j.lungcan.2021.01.005.

76. Qiu H. A new treatment protocol targeting tumor vasculature---metronomic chemotherapy combined radiotherapy./ Qiu H., Wang G.M. // *Ai Zheng.* 2007 Dec; 26(12):1392-6.

77. Rajabi M. The Role of Angiogenesis in Cancer Treatment / Rajabi M, Mousa S.A. // *Biomedicines.* 2017 Jun 21; 5(2):34. doi: 10.3390/biomedicines5020034.

78. Ribeiro A. Antiangiogenic compounds: Well-established drugs versus emerging natural molecules / Ribeiro A., Abreu R.M.V., Dias M.M., Barreiro M.F., Ferreira I. // *Cancer Lett.* 2018; 415; 86–105.

79. Ronconi K.S. Tributyltin and Vascular Dysfunction: The Role of Oxidative Stress. / Ronconi K.S., Stefanon I., Ribeiro Junior R.F. // *Front. Endocrinol (Lausanne).* 2018. 12; 9: 354. doi: 10.3389/fendo.2018.00354.

80. Roweth H.G. Platelets and (Lymph)angiogenesis. / Roweth H.G., Battinelli E.M. // *Cold Spring. Harb. Perspect. Med.* 2023 Jan. 3; 13(1): a041174. doi: 10.1101/cshperspect.a041174.

81. Schildhaus H.-U.. Immunohistochemistry-based predictive biomarkers for lung cancer. / H.-U. Schildhaus. // *Pathologe.* 2020; 41(1): 21-31. doi: 10.1007/s00292-020-00750-7.

82. Shah A.A. Tumor Angiogenesis and VEGFR-2: Mechanism, Pathways and Current Biological Therapeutic Interventions / Shah A.A., Kamal M.A., Akhtar S. // *Curr. Drug. Metab.* 2021; 22(1): 50-59. doi: 10.2174/1389200221666201019143252.

83. Sharma A. Oral Metronomic Chemotherapy Is a Cost Effective Alternative to Pazopanib in Advanced Soft Tissue Sarcoma / Sharma A., Kataria B., Biswas B., Bakhshi S., Pushpam D. // *J. Oncol. Pharm. Pract.* 2022. Vol. 28, № 13. P. 560–568. DOI: 10.1177/10781552211000113.

84. Shen F.Z. Low-dose metronomic chemotherapy with cisplatin: can it suppress angiogenesis in H22 hepatocarcinoma cells? / Shen F.Z., Wang J., Liang J., Mu K., Hou J.Y., Wang Y.T. // *Int. J. Exp. Pathol.* 2010 Feb;91(1):10-6. doi: 10.1111/j.1365-2613.2009.00684.x.
85. Shiga K. Cancer-Associated Fibroblasts: Their Characteristics and Their Roles in Tumor Growth. / Shiga K., Hara M., Nagasaki T., Sato T., Takahashi H., Takeyama H. // *Cancers (Basel)*. 2015 Dec. 11;7(4):2443-58. doi: 10.3390/cancers7040902.
86. Shikhlyarova A.I. Relationship between comorbid pathology and tumor progression. morphological portrayal of internal organs in modeling the growth of guerin's carcinoma under diabetic conditions / Shikhlyarova A.I., Kit O.I., Frantsiyants E.M., Kaplieva I.V., Zhukova G.V., Neskubina I.V., Trepitaki L.K., Przhedetskiy Y.V., Pozdnyakova V.V., Kozel Yu.Yu., Atmachidi D.P., Vereskunova A.A., Babieva S.M., Kotieva I.M., Morozova M.I. // *Cardiometry*. – 2022. – №21. – С. 18-26.
87. Shpakovsky D.B. Synthesis, antiradical activity and in vitro cytotoxicity of novel organotin complexes based on 2,6-di-tert-butyl-4-mercaptophenol / D.B. Shpakovsky, C.N. Banti, E.M. Mukhatova [et al.] // *Dalton Transactions: An International Journal of Inorganic Chemistry* – 2014. – Vol. 43. – № 18. – P. 6880-6890.
88. Shu Y. Metronomic chemotherapy in non-small cell lung cancer / Shu Y., Weng S., Zheng S.// *Oncol. Lett.* 2020; 20(6): 307. DOI:10.3892/ol.2020.12170.
89. Simpson P.V. Metal-based antitumor compounds: Beyond cisplatin. / Simpson P.V., Desai N.M., Casari I., Massi M., Falasca M.// *Future Med. Chem.* 2019, 11, 119–135.
90. Simsek C.. Metronomic Chemotherapy: A Systematic Review of the Literature and Clinical Experience / Simsek C., Esin E., Yalcin S.// *J. Oncol.* 2019 Mar. 20; 2019: 5483791. doi: 10.1155/2019/5483791.
91. Spiliopoulou P. Metronomic oral cyclophosphamide in relapsed ovarian cancer / Spiliopoulou P., Hinsley S., McNeish I.A., Roxburgh P., Glasspool R. // *Int. J. Gynecol. Cancer.* 2021 Jul; 31(7): 1037-1044. doi: 10.1136/ijgc-2021-002467.

92. Su N.W. Metronomic Therapy in Oral Squamous Cell Carcinoma / Su N.W., Chen Y.J. // *J. Clin. Med.* 2021. Vol. 10, № 13. Art. № 2818. DOI: 10.3390/jcm10132818.
93. Sullivan M.P. Antitumor metallodrugs that target proteins / Sullivan M.P., Holtkamp H.U., Hartinger C.G. // *Metal ions in life sciences.* 2018. №18. doi: 10.1515/9783110470734-019.
94. Sultania M. Metronomic Therapy in Palliation of Oral Cancer Patients-A Home Based Approach at the End of Life / Sultania M., Imaduddin M., Muduly D.K., Majumdar S.K.D., Adhya A.K., Parida D.K., Kar M. // *Gulf. J. Oncolog.* 2022 Sep; 1(40): 24-28.
95. Teleanu R.I. Tumor Angiogenesis and Anti-Angiogenic Strategies for Cancer Treatment / Teleanu R.I., Chircov C., Grumezescu A.M., Teleanu D.M.// *J. Clin. Med.* 2019 Dec. 29; 9(1): 84. doi: 10.3390/jcm9010084.
96. Tjia J. Perspectives on deprescribing in palliative care./ Tjia J., Karakida M., Alcusky M., Furuno J.P. // *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* 2023 May; 16(5): 411-421. doi: 10.1080/17512433.2023.2197592.
97. Tsai C.C. Low-dose metronomic chemotherapy with cisplatin enhanced immunity in a murine model of ectopic cervical cancer / Tsai C.C., Qiu J.T., Tseng C.W., Hsu Y.C. // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2016 Feb;43(2):251-8. doi: 10.1111/1440-1681.12515.
98. Twu C.W. Maintenance metronomic chemotherapy for metastatic/recurrent nasopharyngeal carcinoma / Twu C.W., Lin P.J., Tsou H.H., Liu Y.C., Jiang R.S., Liang K.L., Lin T.Y., Wang W.Y., Lin J.C. // *Head. Neck.* 2022 Jun.; 44(6): 1453-1461. doi: 10.1002/hed.27044.
99. Valenzuela P. Pharmacodynamic biomarkers in metronomic chemotherapy: multiplex cytokine measurements in gastrointestinal cancer patients / Valenzuela P., Oaxaca D., Di Desidero T., Parra K., Rodriguez G., Manciu M., Allegrini G., Falcone A., Bocci G., Kirken R.A., Francia G. // *Clin. Exp. Med.* 2021 Feb.; 21(1): 149-159. doi: 10.1007/s10238-020-00666-9.

100. Verginadis, I.I. Anticancer and cytotoxic effects of a triorganotin compound with 2-mercapto-nicotinic acid in malignant cell lines and tumor bearing Wistar rats / I.I. Verginadis, S. Karkabounas, Y. Simos [et al.] // *Eur. J. Pharm. Sci.* – 2011. – Vol. 42. – № 3. – P. 253-261..
101. Vimalraj S. A concise review of VEGF, PDGF, FGF, Notch, angiopoietin, and HGF signalling in tumor angiogenesis with a focus on alternative approaches and future directions / Vimalraj S. // *Int. J. Biol. Macromol.* 2022 Nov. 30; 221: 1428-1438. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.09.129.
102. Wang D. Cellular processing of platinum anticancer drugs. / Wang D., Lippard S.J. // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2005, 4, 307–320.
103. Wysocki P.J. Metronomic Chemotherapy in Prostate Cancer. / Wysocki P.J., Lubas M.T., Wysocka M.L. // *J. Clin. Med.* 2022 May 18; 11(10): 2853. doi: 10.3390/jcm11102853.
104. Xu J.J. Metal nanoparticles as a promising technology in targeted cancer treatment / J.J. Xu, W.C. Zhang, Y.W. Guo, X.Y. Chen, Y.N. Zhang // *Drug. Deliv.* – 2022. – Vol. 29. – № 1.– P. 664-678.
105. Zhang P.C. AT-533, a novel Hsp90 inhibitor, inhibits breast cancer growth and HIF-1 α /VEGF/VEGFR-2-mediated angiogenesis in vitro and in vivo / Zhang P.C., Liu X., Li M.M., Ma Y.Y., Sun H.T., Tian X.Y., Wang Y., Liu M., Fu L.S., Wang Y.F., Chen H.Y., Liu Z. // *Biochem Pharmacol.* 2020 Feb.; 172: 113771. doi: 10.1016/j.bcp.2019.113771.
106. Zhang S. Toxicity of organotin compounds and the ecological risk of organic tin with co-existing contaminants in aquatic organisms [Электронный ресурс] / Zhang S., Li P., Li Z.H.// *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* – 2021. – Vol. 246: 109054. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2021.109054>.
107. Zhong H. Dose Cyclophosphamide Modulates Tumor Microenvironment by TGF- β Signaling Pathway / Zhong H., Lai Y., Zhang R., Daoud A., Feng Q., Zhou J., Shang J. // *Int. J. Mol. Sci.* 2020 Jan. 31; 21(3): 957. doi: 10.3390/ijms21030957.
108. Zsiros E. Efficacy and Safety of Pembrolizumab in Combination with Bevacizumab and Oral Metronomic Cyclophosphamide in the Treatment of Recurrent

Ovarian Cancer: A Phase 2 Nonrandomized Clinical Trial / Zsiros E., Lynam S., Attwood K.M., Wang C., Chilakapati S., Gomez E.C., Liu S., Akers S., Lele S., Frederick P.J., Odunsi K. // JAMA Oncol. 2021. Vol. 7, № 1. P. 78–85. DOI: 10.1001/jamaoncol.2020.5945.

109. Авдеева О.И. Биоэтические и экономические аспекты в основе выбора метода изучения токсичности лекарственных средств при однократном введении / О.И. Авдеева, М.Н. Макарова, А.В. Калатанова, М.А. Ковалева // Лабораторные животные для научных исследований. – 2018. – № 1. – С. 4-11.

110. Акименко М.А. Общая патология. Том Часть I. Основы патогистологической техники. / Акименко М.А., Воронова О.В., Додохова М.А., Котиева И.М., Бадалянц Д.А. // Ростов-на-Дону, 2023.

111. Алхусейн-Кулягинова М.С. Исследование субхронической токсичности при пероральном введении оловоорганических соединений, содержащих фрагмент 2,6-ДИ-ТРЕТ-бутилфенола / Алхусейн-Кулягинова М.С., Аркания И.И., Трепель В.В., Могушкова С.А., Киртанасова Е.Я., Додохова М.А., Гулян М.В., Шпаковский Д.Б., Милаева Е.Р., Котиева И.М. // Южно-Российский журнал терапевтической практики. – 2023. – Т. 4. – №2. – С. 109-114.

112. Алхусейн-Кулягинова М.С. Оценка маркера кардиотоксичности при метрономном режиме введения гибридных оловоорганических соединений на доклиническом этапе исследования / Алхусейн-Кулягинова М.С., Котиева В.М., Шпаковский Д.Б., Милаева Е.Р., Котиева Е.М., Гулян М.В., Додохова М.А., Котиева И.М. // Вопросы онкологии. 2023. – Т. 69. – №3S. – С. 302-303.

113. Алхусейн-Кулягинова М.С. Разработка лекарственных препаратов на основе соединений олова (обзор). / Алхусейн-Кулягинова М.С., Николаенко А.М., Котиева В.М., Гулян М.В., Додохова М.А., Котиева И.М. // Микроэлементы в медицине. – 2023. – Т. 24. – №1. – С. 3-9.

114. Антоненко Т.А. Координационные соединения олова, золота и редкоземельных элементов с антиоксидантными фенольными группами в лигандах. Синтез, структура и биологическая активность: дис. ... канд. хим. наук: 02.00.01, 02.00.12 / Антоненко Таисия Алексеевна. – М., 2019. – 144 с.

115. Безбородова О.А. Противоопухолевые лекарственные препараты: планирование доклинических исследований по оценке эффективности и безопасности / О.А. Безбородова, А.А. Панкратов, Е.Р. Немцова [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2020. – Т.10. – №2. – С. 96-110.

116. Болотина Л.В. Лекарственная противоопухолевая терапия у паллиативных пациентов с генерализованными опухолевыми процессами. Национальное руководство по паллиативной медицинской помощи в онкологии / Л.В. Болотина, Г.Р. Абузарова; под ред. академика РАН, проф. А.Д. Каприна. // М.: Молодая гвардия, 2022 – С. 62-78.

117. Гайнутдинов П.И. Обратная зависимость между антиоксидантной активностью синтетических монофенолов структурно взаимосвязанного ряда и их токсичностью в отношении опухолевых клеток / Гайнутдинов П.И., Кожин П.М., Чечушков А.В., Мартинович Г.Г., Хольшин С.В., Кандалинцева Н.В., Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. // Сибирский научный медицинский журнал. – 2018. – Т. 38. – № 1. – С. 22-31.

118. Гущина С.В. Сравнительное токсикологическое изучение носителей для лекарственных средств, применяемых в доклинических исследованиях / С.В. Гущина, М.Н. Макарова, О.Н. Пожарицкая // Международный вестник ветеринарии. – 2015. – № 3. – С. 92-98.

119. Додохова М.А. Влияние гибридного оловоорганического соединения на активность перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты тканей печени животных-опухоленосителей меланомы В16 / Додохова М.А., Котиева И.М., Сафроненко А.В., Алхусейн-Кулягинова М.С., Сухорукова Н.В., Котиева В.М., Котиева Е.М., Шпаковский Д.Б., Никитин Е.А., Милаева Е.Р. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2021. – Т. 172. – №12. – С. 756-759.

120. Додохова М.А. Влияние гибридных оловоорганических соединений в максимально эффективной дозе на рост и активность метастазирования меланомы В16 у мышей линии С57BL/6 / Додохова М.А., Котиева И.М., Сафроненко А.В., Алхусейн-Кулягинова М.С., Милаева Е.Р., Шпаковский Д.Б., Терехов А.Ю.,

Сергеева Е.О. // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. –2021. – Т. 11. – №3. – С. 12-17.

121. Додохова М.А. Влияние хлорида триметилолова на функционально-метаболическое состояние печени, почек и оценка корригирующего действия порфирина с антиоксидантными группами: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.00.04 / Додохова Маргарита Авдеевна. – Ростов-на-Д., 2006. – 21 с.

122. Додохова М.А. Влияние цисплатина и гибридного оловоорганического соединения в малых дозах на рост и метастазирование эпидермоидной карциномы LEWIS в эксперименте / Додохова М.А., Алхусейн-Кулягинова М.С., Сафроненко А.В., Котиева И.М., Шпаковский Д.Б., Милаева Е.Р. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2021. – Т. 84. – №8. – С. 32-35.

123. Додохова М.А. Вторичная митохондриальная дисфункция как механизм противоопухолевого и антиметастатического действия гибридных оловоорганических соединений / Додохова М.А., Сафроненко А.В., Котиева И.М., Милаева Е.Р., Шпаковский Д.Б., Трепель В.Г., Алхусейн-Кулягинова М.С., Котиева В.М. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2021. – Т. 24. – №11. – С. 28-33.

124. Додохова М.А. Гибридные оловоорганические соединения - модуляторы апоптотических процессов в печени при однократном и многократном введении крысам линии WISTAR / Додохова М.А., Котиева И.М., Сафроненко А.В., Трепель В.Г., Алхусейн-Кулягинова М.С., Шпаковский Д.Б., Милаева Е.Р. // Уральский медицинский журнал. – 2021. – Т. 20. – №4. – С. 18-23.

125. Додохова М.А. Новый способ снижения неспецифической токсичности соединений олова - кандидатов в противоопухолевые лекарственные средства / М.А. Додохова, А.В. Сафроненко, И.М. Котиева, М.С. Алхусейн-Кулягинова. // III объединенный научный форум физиологов, биохимиков и молекулярных биологов: Материалы: VII съезд биохимиков России. X российский симпозиум «Белки и пептиды». VII съезд физиологов СНГ, Сочи, Дагомыс, 03–08 октября 2021 года. Том 2. – М.: Перо, 2021. – С. 254. – EDN EXXXEN.

126. Додохова М.А. Оценка влияния гибридных оловоорганических соединений на интенсивность метастазирования / М.А. Додохова, И.М. Котиева, А.В. Сафроненко // MedChem-Russia 2021: материалы конференции 5-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием, Волгоград, 16–19 мая 2022 года. – Волгоград: Волгоградский государственный медицинский университет, 2021. – С. 125. – DOI 10.19163/MedChemRussia2021-2021-125. – EDN DFTZIA.

127. Додохова М.А. Оценка гепатотоксического потенциала оловоорганических соединений, содержащих фрагмент 2,6-ДИ-ТРЕТ-бутилфенола / Додохова М.А., Сафроненко А.В., Котиева И.М., Милаева Е.Р., Шпаковский Д.Б., Макаренко Ю.М., Тrepель В.Г., Алхусейн-Кулягинова М.С. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2021. – Т. 24. – №8. – С. 21-27.

128. Додохова М.А. Оценка кардиотоксических побочных явлений при введении оловоорганических соединений на доклиническом этапе исследования / М.А. Додохова, И.М. Котиева, А.В. Сафроненко [и др.] // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2021. – Т. 11. – № 2. – С. 11-18. – DOI 10.37279/2224-6444-2021-11-2-11-18. – EDN INONGM.

129. Додохова М.А. Оценка фармакотерапевтического потенциала оловоорганических соединений *in vivo* / Додохова М.А., А.В. Сафроненко, И.М. Котиева, Н.В. Сухорукова, Е.В. Ганцгорн, М.С. Алхусейн-Кулягинова, Е.Ф. Комарова, Д.Б. Шпаковский, Е.Р. Милаева // Биофармацевтический журнал. – 2021. – Т. 13. – № 3. – С. 30-34.

130. Додохова М.А. Патогенетические механизмы влияния гибридных оловоорганических соединений на рост и развитие злокачественных новообразований. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Ростовский государственный медицинский университет. Ростов-на-Дону, 2023.

131. Додохова М.А. Сравнительный анализ использования моделей меланомы В16 и эпидермоидной карциномы легкого Льюис для проведения

доклинических исследований соединений с предполагаемым противоопухолевым действием / Додохова М.А., Акименко М.А., Воронова О.В., Алхусейн-Кулягинова М.С., Котиева Е.М., Трепель В.В., Котиева В.М., Альникин А.Б., Котиева И.М. // Уральский медицинский журнал. – 2023. – Т. 22. – №5. – С. 66-76.

132. Додохова М.А. Сравнительный анализ морфологических и биохимических изменений при однократном внутривенном введении гибридных оловоорганических соединений / М.А. Додохова, О.В. Воронова, И.М. Котиева // Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины. – 2023. – Т. 38, № 1. – С. 167-174. – DOI 10.29001/2073-8552-2023-38-1-167-174. – EDN WVBQKZ.

133. Додохова М.А. Сравнительный анализ фармакологической активности бис(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилтиолат) диметилолова при различных режимах введения на модели опухолевого роста мышей меланомы В16 / Додохова М.А., Котиева И.М., Сафроненко А.В., Алхусейн-Кулягинова М.С., Сухорукова Н.В., Котиева В.М., Котиева Е.М., Старостин С.И., Шпаковский Д.Б., Никитин Е.А., Милаева Е.Р. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2022. – Т. 173. – №5. – С. 588-591.

134. Додохова М.А. Упрощенная методика скринингового исследования оловоорганических соединений с предполагаемым противоопухолевым действием. / Додохова М.А., Сафроненко А.В., Котиева И.М., Алхусейн-Кулягинова М.С., Шпаковский Д.Б., Милаева Е.Р. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2021. – Т. 84. – №11. – С. 20-24.

135. Додохова, М.А. Исследование острой пероральной токсичности оловоорганических соединений, содержащих фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола / М.А. Додохова, А.В. Сафроненко, И.М. Котиева, Е.Ф. Комарова, В.Г. Трепель, М.С. Алхусейн-Кулягинова, Д.Б. Шпаковский, Е.Р. Милаева // Уральский медицинский журнал. – 2021. – Т. 20. – № 3. – С. 73-77.

136. Зенков Н.К. Окислительный стресс при старении / Зенков Н.К., Кожин П.М., Чечушков А.В., Кандалинцева Н.В., Мартинович Г.Г., Меньщикова Е.Б. // Успехи геронтологии. – 2020. – Т. 33. – № 1. – С. 10-22.

137. Зенков Н.К. Особенности редокс-регуляции в опухолевых клетках / Зенков Н.К., Кожин П.М., Вчерашняя А.В., Мартинович Г.Г., Кандалинцева Н.В., Меньщикова Е.Б. // Сибирский научный медицинский журнал. – 2019. – Т. 39. № 2. – С. 11-26.

138. Каприн А.Д. Новые клинические рекомендации Всемирной организации здравоохранения по терапии онкологической боли у взрослых и подростков / [Каприн А.Д., Абузарова Г.Р., Невзорова Д.В и др.] // Исследования и практика в медицине. – 2021. – Т. 8. – № 2. – С. 90-108. – DOI 10.17709/2410-1893-2021-8-2-9].

139. Каприн А.Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2022 году / А.Д. Каприя, В.В. Старинский, А.О. Шахзадова. // М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022. – 239 с.

140. Каркищенко Н.Н. Классические и альтернативные модели в лекарственной токсикологии / Каркищенко Н.Н. // Биомедицина. – 2006. – № 4. – С. 1-23.

141. Кательникова А.Е. Апробация модели цисплатин-индуцированной острой рвоты у хорьков и выбор референтного препарата / Кательникова А.Е., Зуева А.А., Матичин А.А., Каргопольцева Д.Р., Гайдай Д.С. // Лабораторные животные для научных исследований. 2019; 3. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-03-10>.

142. Кит О.И. Влияние хронической нейрогенной боли на динамику функционирования по-системы в процессе роста меланомы B16/F10 у самцов мышей / Кит О.И., Котиева И.М., Франциянц Е.М., Сурикова Е.И., Каплиева И.В., Бандовкина В.А., Трепитаки Л.К., Нескубина И.В., Погорелова Ю.А. // Сибирский онкологический журнал. – 2021. – Т. 20. – №3. С. – 67-75.

143. Кит О.И. Динамика тканевой системы регуляторов плазминогена при меланоме кожи на фоне хронической боли у самок мышей / Кит О.И., Франциянц Е.М., Котиева И.М., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Бандовкина В.А., Козлова Л.С., Погорелова Ю.А., Розенко Л.Я., Черярина Н.Д. // Трансляционная медицина. – 2018. – Т. 5. – №2. – С. 38-46.

144. Кит О.И. Нейромедиаторные системы головного мозга самок мышей в динамике роста злокачественной меланомы, воспроизведенной на фоне хронической боли. / Кит О.И., Котиева И.М., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Бандовкина В.А., Черярина Н.Д., Погорелова Ю.А., Бликян М.В. // Патогенез. – 2017. – Т. 15. – №4. – С. 49-55.

145. Кит О.И. Регуляция ангиогенеза факторами роста в интактной и патологически измененной коже самок мышей при злокачественной меланоме, развивающейся на фоне хронической боли. / О.И. Кит, И.М. Котиева, Е.М.Франциянц [и др.] // Российский журнал боли. – 2017. – № 3-4 (54). – С. 17-25.

146. Кит, О.И. Влияние хронической боли на динамику некоторых ростовых факторов в интактной и патологически измененной коже самок мышей с меланомой B16/F10 / О.И. Кит, Е.М. Франциянц, И.М. Котиева [и др.] // Российский журнал боли. – 2017. – Т. 54. – № 3-4. – С. 37-44.

147. Кит, О.И. Динамика концентрации компонентов NO-системы в процессе роста меланомы b16/f10 на фоне хронической нейрогенной боли у самок мышей / О.И. Кит, Е.М. Франциянц, И.М. Котиева [и др.] // Вопросы онкологии. – 2019. – Т. 65. – № 6. – С. 898-903.

148. Кит, О.И. Способ модификации хронической болью злокачественного роста меланомы B16 у мышей / Кит О.И., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Котиева И.М. // Патент на изобретение RU 2650587 С1, 16.04.2018. Заявка № 2017114818 от 26.04.2017.

149. Козлов А.М. Частота, время и тип метастазирования различных трансплантируемых опухолей у мышей / Козлов А.М., Софьина З.П. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1978; 86 (12): 715-718.

150. Коляда М.Н. Действие оловоорганических соединений на коферменты и ферменты печени русского осетра (*Acipenser gueldenstaedti brandt*): диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук 03.00.32 / Коляда М.Н. – Астрахань, 2001 . – 23 с.

151. Коляда М.Н. Снижение прооксидантной активности бутильных и фенильных производных олова в присутствии мезо-тетраakis(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)порфирина / М.Н. Коляда, В.П. Осипова, Н.Т. Берберова [и др.] // Макрогетероциклы. – 2017. – Т. 10. – № 1. – С. 57-61.

152. Коптяева К.Е. Методика вскрытия и извлечения органов лабораторных животных. Сообщение 2: мышь / К.Е. Коптяева, А.А. Мужикян, 280 Я.А. Гушин [и др.] // Лабораторные животные для научных исследований. – 2018. – № 4. – С. 50-73.

153. Костина Ю.А. Изменения показателей перекисного окисления липидов и системы глутатиона в тканях сердца крыс с карциномой walker-256 при использовании производных пиримидина и 3-гидроксипиридина в сочетании с доксорубицином и паклитакселом / Костина Ю.А., Сипров А.В., Кузнецова В.А., Волкова Н.Д., Макарова М.Ю., Вашуркина И.М. // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 4-1. – С. 86-90.

154. Котиева Е.М. Выбор носителя для введения органических соединений олова на этапе доклинической оценки их противоопухолевой активности на экспериментальных моделях злокачественных новообразований / Котиева Е.М., Котиева В.М., Алхусейн-Кулягинова М.С., Старостин С.И. // Санкт-Петербургские научные чтения-2022. Сборник тезисов IX Международного Молодежного Медицинского Конгресса. – Санкт-Петербург, 2022. С. 344.

155. Котиева Е.М. Способ комбинированной терапии меланомы B16 в метронормальном режиме в эксперименте / Котиева Е.М., Милаева Е.Р., Шпаковский Д.Б., Додохова М.А., Котиева И.М., Сафроненко А.В., Шлык С.В., Дроботя Н.В., Алхусейн-Кулягинова М.С., Котиева В.М // Патент на изобретение RU2792561C1, 22.03.2023. Заявка № 2022121549 от 05.08.2022.

156. Котиева И.М. Влияние хронической боли на некоторые метаболические процессы в коже самок мышей. / И.М. Котиева, Е.М. Франциянц, И.В. Каплиева [и др.] // Российский журнал боли. 2018. – № 4 (58). – С. 46-54.

157. Котиева И.М. Влияние хронической боли на уровень половых гормонов, пролактина и гонадотропных гормонов в сыворотке крови и патологически измененной коже у самок мышей в динамике роста злокачественной меланомы / Котиева И.М., Кит О.И., Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Черярина Н.Д., Погорелова Ю.А., Бликян М.В. // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. – 2018. – №2(198). – С. 106-116.

158. Котиева И.М. Влияние экспериментальной хронической боли на уровень биогенных аминов в коже у мышей в динамике роста меланомы B16/F10. / И.М. Котиева, О.И. Кит, Е.М.Франциянц [и др.] // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. – 2018. – № 1 (197). – С. 130-139.

159. Котиева, И.М. Изменение соотношения свободных факторов неогемангио- и неолимфангиогенеза как патогенетический механизм суперагрессии меланомы B16/F10 при моделировании хронической нейропатической боли / Котиева И.М., Франциянц Е.М., Гулян М.В., Шлык С.В., Дроботя Н.В., Котиева Е.М., Антонян Б.Г., Додохова М.А.// Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2023. – Т. 67. – №2. – С. 65-70.

160. Лысенков С.П. Балльная оценка общего состояния крыс, перенесших клиническую смерть / С.П. Лысенков, В.Г. Карпачев, Л.З. Тель // Всесоюзная 281 конференция «Клиника, патогенез и лечение неотложных состояний». – Новосибирск, 1982. – С. 8-13.

161. Масляникова А.А. Возможности оценки васкулогенной мимикрии на доклиническом этапе исследований соединений с предполагаемым противоопухолевым действием/ Масляникова А.А., Старостин С.И., Ермоленко М.Д., Тrepель В.В., Гулян М.В., Додохова М.А., Котиева И.М. // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2023. – № 3 (93). – С. 27-31.

162. Меньшикова Е.Б. Регуляторная роль активированных кислородных метаболитов и антиоксидантов в живых организмах / Меньшикова Е.Б., Ахметгареева А.Р., Кандалинцева Н.В. // Свидетельство о регистрации базы данных RU 2021622269, 25.10.2021. Заявка № 2021622212 от 19.10.2021.

163. Милаева Е.Р. Механизмы цитотоксического действия оловоорганических соединений / Милаева Е.Р., Додохова М.А., Шпаковский Д.Б., Антоненко Т.А., Сафроненко А.В., Котиева И.М., Комарова Е.Ф., Ганцгорн Е.В., Алхусейн-Кулягинова М.С. // Биомедицина. – 2021. – Т. 17. – №2. – С. 88-99.

164. Милаева Е.Р. Оловоорганическое соединение - ингибитор образования оксида азота (II) / Милаева Е.Р., Шпаковский Д.Б., Радченко Е.В., Палюлин В.А., Бабков Д.А., Борисов А.В., Додохова М.А., Сафроненко А.В., Котиева И.М., Спасов А.А. // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2022. – Т. 71. – №12. – С. 2605-2611.

165. Милаева Е.Р. Средство для ингибирования метастазирования в легких / Милаева Е.Р., Шпаковский Д.Б., Додохова М.А., Котиева И.М., Сафроненко А.В., Алхусейн-Кулягинова М.С. // Патент на изобретение RU 2762730 С1, 22.12.2021. Заявка № 2021108737 от 30.03.2021.

166. Милаева Е.Р. Средство для ингибирования метастазирования в легких / ., Шпаковский Д.Б., Додохова М.А., Котиева И.М., Сафроненко А.В., Алхусейн-Кулягинова М.С. // Патент на изобретение RU 2765955 С1, 07.02.2022. Заявка № 2021108740 от 30.03.2021.

167. Мурин И.И. Фитохимическое и фармакологическое изучение травы манжетки: дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.02, 14.03.06 / Мурин Илья Игоревич. – М., 2011. – 174 с.

168. Новиков Г.А., Зеленова О.В., Вайсман М.А., Введенская Е.С., Рудой С.В., Подкопаев Д.В.. Оценка потребности в паллиативной медицинской помощи онкологических пациентов в Российской Федерации // Национальное руководство по паллиативной медицинской помощи в онкологии / Г.Р. Абузарова; под ред. академика РАН, профессора А.Д. Каприна. – М.: Молодая гвардия, 2022. – С. 23-34.

169. Островская Л.А. Экспериментальное изучение фармакокинетики противоопухолевого препарата аурумакрил / Л.А. Островская, Д.Б. Корман, Ж.П. Бурмий [и др.] // Биофизика. – 2018. – Т. 63. – № 3. – С. 606-614.

170. Переводчикова Н.И. «Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний». / Н.И. Переводчикова, В.А. Горбунова. А.А., Бесова Н.С., Волков Н.М., Гладков О.А., Карасева В.В., Сакаева Д.Д. // Под редакцией Практические рекомендации по общим принципам проведения противоопухолевой лекарственной терапии. Злокачественные опухоли. Практические рекомендации RUSSCO #3s2, 2020 (том 10).01.

171. Прозоровский В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / В.Б. Прозоровский // Психофармакология и биологическая наркология. – 2007. – Т. 7. – № 3–4. – С. 2090–2120.

172. Решеткина Д.А. Влияние синтетических андрогенов на показатели выживаемости лабораторных животных с экспериментальной опухолевой кахексией / Решеткина Д.А., Соколова М.О., Полосков А.И., Глушаков Р.И. // Известия Российской военно-медицинской академии. – 2020. – Т. 39. – № S3-5. – С. 131-134.

173. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под. ред. Р.У. Хабриева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.

174. Ряховский А.Е. Экспериментальное моделирование различных степеней алкогольного опьянения у крыс / А.Е. Ряховский, Д.А. Еникеев, Д.Э. Байков, К.В. Фаткуллин // Медицинский вестник Башкортостана. – 2017. – Т. 12. – № 1(67). – С. 76-81.

175. Сипров А.В. Сравнительная оценка влияния средств с антиоксидантным действием на терапевтическую эффективность химиолучевой терапии и оксидантный статус у мышей / Сипров А.В., Вашуркина И.М., Масыгин В.А. // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2012. – Т. 8. – № 4. – С. 906-910.

176. Сипров А.В. Сравнительная оценка изменения показателей перекисного окисления липидов и системы глутатиона в тканях печени крыс с карциномой Walker-256 при использовании производных пиримидина и 3-гидроксипиридина в сочетании с доксорубицином и паклитакселом / Сипров А.В., Костина Ю.А. // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2014. – № 3 (31). – С. 30-38.

177. Слизов П.А. Митохондриальные сети при синдроме коккейна под действием препаратов, замедляющих старение / Слизов П.А., Ныров В.А., Панферов Е.В., Плескач Н.М., Спивак И.М., Глушаков Р.И. // Известия Российской военно-медицинской академии. – 2020. – Т. 39, № S3-1. – С. 163-170. – EDN FDYYJV.

178. Софьина З.П. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США / З.П. Софьина, А.Б. Сыркин, А.А. Голдин и др. – М.: Медицина, 1980. – 296 с.

179. Старинский В.В., Шахзадова А.О., Грецова О.П.. Статистические данные о контингенте паллиативных онкологических пациентов в России. Национальное руководство по паллиативной медицинской помощи в онкологии / Старинский В.В., Шахзадова А.О., Грецова О.П., Г.Р. Абузарова; под ред. академика РАН, профессора А.Д. Каприна. // М.: Молодая гвардия, 2022. – С. 12-22.

180. Трещалина Е.М. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств / Е.М. Трещалина, О.С. Жукова, Г.К. Герасимова, Н.В. Андропова, А.М. Гарин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – №4– С. 642.

181. Трякин, А.А. Практические рекомендации по общим принципам проведения противоопухолевой лекарственной терапии. Злокачественные опухоли [Электронный ресурс] / А.А. Трякин, Н.С. Бесова, Н.М. Волков, О.А. Гладков, В.В. Карасева, Д.Д. Сакаева // Практические рекомендации RUSSCO. – 2020. – Т. 10. – № 3s2-1. – Режим доступа: <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2020-10-3s2-01>.

182. Федянин, М.Ю. Метрономные режимы химиотерапии в онкологии / М.Ю. Федянин, И.А. Покатаев, С.А. Тюляндин // Онкологическая колопроктология. – 2016. – Т. 6. – № 1. – С. 27-35. – DOI 10.17650/2220-3478-2016-6-1-27-35. – EDN WANUYUL.

183. Хачатрян Л.А. Новые подходы к решению старой проблемы. / Хачатрян Л.А., Щербаков А.П., Чиквина И.И., Николаева Д.М. // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2022. – Т. 21. – № 1. – С. 122-135. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-1-122-135.

184. Чубенко, В.А. Метрономная терапия: место в лечении злокачественных опухолей / В.А. Чубенко, Л.А. Загорская, В.С. Чубенко, Ф.В. Моисеенко, Н.Х. Абдулоева, А.С. Жабина, М.М. Крамчанинов, К.В. Шелехова, А.А. Мелдо, Е.М. Зыков, А.А. Кудрявцев, Е.В. Напольская, В.М. Моисеенко // Практическая онкологияю. – 2019. – Т. 20(4). – С. 289-298.

185. Чубенко, В.А. Метрономная терапия: новый ритм -новые возможности / В.А. Чубенко // Фарматека. – 2020. – Т. 27. – № 7. – С. 81-84.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1



ПРИЛОЖЕНИЕ 2

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2765955

**СРЕДСТВО ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ
МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ В ЛЕГКИХ**

Патентообладатели: *Милаева Елена Рудольфовна (RU), Додохова
Маргарита Авдеевна (RU)*

Авторы: *Милаева Елена Рудольфовна (RU), Шпаковский
Дмитрий Борисович (RU), Додохова Маргарита Авдеевна
(RU), Котиева Инга Мовлиевна (RU), Сафроненко Андрей
Владимирович (RU), Алхусейн-Кулягинова Маргарита
Стефановна (RU)*

Заявка № 2021108740

Приоритет изобретения 30 марта 2021 г.

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации 07 февраля 2022 г.

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает 30 марта 2041 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев



ПРИЛОЖЕНИЕ 3

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2792561

**СПОСОБ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ
МЕЛАНОМЫ В16 В МЕТРОНОМНОМ РЕЖИМЕ В
ЭКСПЕРИМЕНТЕ**Патентообладатель: *Котиева Елизавета Михайловна (RU)*Авторы: *Котиева Елизавета Михайловна (RU), Милаева Елена
Рудольфовна (RU), Шпаковский Дмитрий Борисович (RU),
Додохова Маргарита Авдеевна (RU), Котиева Инга Мовлиевна
(RU), Сафроненко Андрей Владимирович (RU), Шлык Сергей
Владимирович (RU), Дроботя Наталья Викторовна (RU),
Алхусейн-Кулягинова Маргарита Стефановна (RU), Котиева
Виолетта Михайловна (RU)*

Заявка № 2022121549

Приоритет изобретения 05 августа 2022 г.

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации 22 марта 2023 г.Срок действия исключительного права
на изобретение истекает 05 августа 2042 г.Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности
Ю.С. Зубов

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор
Дроботя Н.В.

«11» октября 2023г.



АКТ О ВНЕДРЕНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ

Наименование предложения для внедрения: «Патогенетические особенности влияния гибридных оловоорганических соединений в метрономном режиме введения на рост и развитие меланомы В16 (Экспериментальное исследование)». Результаты представлены в диссертационной работе на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Автор разработки: Алхусейн-Кулягинова Маргарита Стефановна, ассистент кафедры патологической физиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Куда и где внедрено: использовано в учебной деятельности кафедры патологической физиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации в рамках изучения злокачественных опухолей как типового патологического процесса.

Результаты внедрения: данная методология и результаты проведенных исследований позволят оптимизировать методику проведения патофизиологического эксперимента применительно к экспериментальной онкологии.

Заведующий кафедрой
патологической физиологии
ФГБОУ ВО «РостГМУ»
Минздрава России,
заслуженный работник
высшей школы Российской Федерации,
доктор медицинских наук,
профессор

В.Г. Овсянников

Начальник учебной части кафедры
патологической физиологии
ФГБОУ ВО «РостГМУ»
Минздрава России,
кандидат медицинских наук, доцент

А.Е. Шумарин

Личную подпись Овсянникова В.Г., Шумарина А.Е.
удостоверяю
Начальник отдела кадров
управления по работе с
персоналом А.Е. Шумарин



ПРИЛОЖЕНИЕ 5

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор
Дроботя Н.В.
«20» ноября 2023г.

АКТ О ВНЕДРЕНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ

Наименование предложения для внедрения: «Патогенетические особенности влияния гибридных оловоорганических соединений в метрономном режиме введения на рост и развитие меланомы B16 (Экспериментальное исследование)». Результаты представлены в диссертационной работе на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Автор разработки: Алхусейн-Кулягинова Маргарита Стефановна, ассистент кафедры патологической физиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Куда и где внедрено: использовано в учебной деятельности кафедры патологической анатомии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации в рамках применения новых методологических подходов при проведении доклинических исследований соединений с предполагаемым противоопухолевым действием.

Результаты внедрения: данная методология и результаты проведенных исследований позволят оптимизировать методику отбора соединений для углубленного доклинического исследования.

Заведующий кафедрой патологической анатомии
ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России,
доктор медицинских наук, доцент

С.С. Тодоров

Начальник учебной части кафедры патологической анатомии
ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России,
кандидат медицинских наук, доцент

В.В. Волошин

Личную подпись Тодорова С.С.
удостоверяю
Начальник отдела кадров
управления по работе с
персоналом Али



ПРИЛОЖЕНИЕ 6

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор
Дроботя Н.В.
« » 2023г.



АКТ О ВНЕДРЕНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ

Наименование предложения для внедрения: «Патогенетические особенности влияния гибридных оловоорганических соединений в метрономном режиме введения на рост и развитие меланомы B16 (Экспериментальное исследование)». Результаты представлены в диссертационной работе на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Автор разработки: Алхусейн-Кулягинова Маргарита Стефановна, ассистент кафедры патологической физиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Куда и где внедрено: использовано в учебной деятельности кафедры общей и клинической биохимии №1 федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации в рамках изучения роли свободно-радикального окисления в модификации роста и развития злокачественных опухолей.

Результаты внедрения: результаты проведенных исследований позволят расширить представления о роли активных форм кислорода и окислительного стресса в механизме реализации опухолевой прогрессии.

Заведующий кафедрой
общей и клинической биохимии №1
ФГБОУ ВО «РостГМУ»
Минздрава России,
доктор медицинских наук,
доцент

Личную подпись
удостоверяю
Начальник отдела кадров
управления по работе с
персоналом

О.Г. Саркисян