

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

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Ростов-на-Дону – 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Котиева Инга Мовлиевна**

Официальные оппоненты:

Глушаков Руслан Иванович – доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, подполковник медицинской службы, начальник научно-исследовательского отдела (медико-биологических исследований).

Сипров Александр Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии с курсом фармацевтической технологии.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «___» _____ 2024 г. в _____ ч. на заседании диссертационного совета 24.2.318.01 при Ордена Трудового Красного Знамени Медицинском институте имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» по адресу: 295051, г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института имени С.И. Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «КФУ имени В.И. Вернадского» по адресу: 295051, г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7 и на сайте <http://cfuv.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 2024 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета 24.2.318.01

доктор медицинских наук, доцент

Зяблицкая Евгения Юрьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности.

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 выявлено 624 835 первичных случаев злокачественных новообразований. Прирост данного показателя по сравнению с 2021 г. составил 7,6%. В 2022 г. 34,4% злокачественных новообразований было диагностировано в I стадии заболевания (2021 г. – 32,4%), 24,9% – во II стадии (2021 г. – 25,5%), 16,8% – в III стадии (2021 г. – 17,2%), 19,8% злокачественных новообразований в России было диагностировано в IV стадии (2021 г. – 20,5%) [Каприн А.Д. и др., 2022].

Одной из сложных и все еще нерешенных 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].

Пациенты с диссеминированным опухолевым процессом имеют сниженный функциональный статус, что ограничивает возможности применения высокотоксичных режимов терапии и обуславливает разработку комбинированных и метрономных методик введения цитостатических лекарственных средств/соединений в реальной клинической практике и на этапах доклинической разработки соединений 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 в 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 металлосодержащие субстанции, и в этой связи особый интерес вызывают соединения олова [Fotopoulou E. et al., 2022]. За 2009-2018 г.г. 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), соединения оксимов и оловоорганических соединений (IV) с аминами или семикарбазонами на предмет их антипролиферативного действия против различных линий раковых клеток. [Banti CN. 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), доказаны

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.

Цель исследования – оценить влияние гибридных оловоорганических соединений и их комбинации с цисплатином на рост и развитие меланомы B16 мышей линии C57Bl/6 в метрономном режиме введения и установить ведущие патогенетические механизмы их противоопухолевого действия.

Задачи исследования:

1. Оценить противоопухолевую и антиметастатическую активность лидерных гибридных оловоорганических соединений (Me-3 и Me-5) в метрономном режиме введения на модели меланомы B16 мышей линии C57Bl/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 элементоорганического 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 неоангиогенеза и изменение про/антиоксидантного статуса опухолевой клетки.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая 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-дигидро-3,4-дибутилфенола, 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 B16 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, для 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) и 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.

Степень достоверности и апробация результатов. 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.

Материалы и основные положения диссертации представлены 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 № 16 от 27 декабря 2023 г.).

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 16 печатных работ, из них 3 – в научных изданиях, включенных в Перечень рецензируемых или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования Scopus, Web of Science, 4 – 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.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 130 страницах, содержит введение, обзор литературы, материалы и методы проведенного исследования, две главы собственных результатов, отражающие полученные в работе данные и их обсуждение, завершается выводами и практическими рекомендациями. Представлены список сокращений, список литературы, приложения. Диссертация проиллюстрирована 15 таблицами и 33 рисунками. Библиография представлена ссылками на 185 литературных источника (77 отечественных и 108 зарубежных).

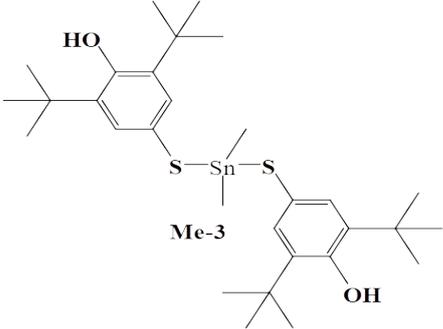
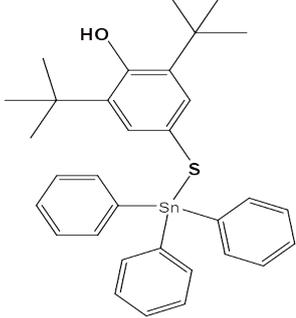
ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы.

Характеристика экспериментальных животных. Исследование было выполнено на мышах линии С57В1/6 (самки). Экспериментальная часть работы проводилась в соответствии с принципами Хельсинкской декларации, дизайн исследования одобрен локальным независимым этическим комитетом Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 15/22 от 06 октября 2022).

Тестируемые соединения. В ходе направленного химического синтеза были получены гибридные оловоорганические соединения (Таблица 1). Все соединения получены по известным методикам [Shpakovsky D.V. et al., 2014] и наработаны в количествах, необходимых для проведения всего цикла экспериментальной работы. Строение всех соединений подтверждено сравнением температур плавления исходных веществ и данными элементного анализа и ЯМР: ^1H , ^{13}C исследуемых соединений для доказательства их чистоты.

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

Опухолевые модели. Для выявления специфической активности Me-3 и Me-5 нами была выбрана универсальная модель перевиваемых опухолей со спонтанным метастазированием – меланома В16. 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 С57В1/6, подробно описанными в ранее опубликованных работах соавторов [Додохова М.А. и др., 2021; Додохова М.А. и др., 2021]. Инокуляцию опухолевых клеток для поддержания штамма и опытной перевивки меланомы В16 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 1 раз в сутки внутрибрюшинно в течение 10 дней по метрономной методике, используемой для соединений с предполагаемым противоопухолевым действием, в группе сравнения – пятикратно, внутрибрюшинно, 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 моновведения ГОС-Sn (IV) в метрономном и классическом режимах исследований введение осуществляли 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) в метрономном режиме - на протяжении 10 дней в различных соотношениях разовых доз для введения Таблица 6).

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 животных

п/п	Тесты	Баллы
1.	<i>Сохранение позы</i> <ul style="list-style-type: none"> • Нормальное • Слабое • Отсутствует 	0 2 4
2.	<i>Грумминг</i> <ul style="list-style-type: none"> • Есть • Нет 	0 2
3.	<i>Внешний вид</i> <ul style="list-style-type: none"> • Опрятный • Неопрятный 	0 2
4.	<i>Отношение к еде</i> <ul style="list-style-type: none"> • Ест • Не ест 	0 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 18 суток после первого введения тестируемого соединения.

Выраженность изменения общего состояния экспериментальных животных была оценена по следующей шкале (Таблица 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

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

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

$$(1) \Delta\varepsilon, \% = (\varepsilon M - \varepsilon E) / \varepsilon M,$$

где εM и εE – 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:

$$(2) \text{УПЖ, \%} = (\text{СПЖе} - \text{СПЖм}) / \text{СПЖм} \times 100,$$

где СПЖе и СПЖм – 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 (ТРОм, %);
- 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 (ТРОм, %) по массе опухоли определялся из соотношения

$$(3) \text{ТРО, \%} = (\delta m M - \delta m E) / \delta m M,$$

где $\delta m M$ и $\delta m E$ – средняя масса опухоли мышей в группах контрольных (М) и пролеченных (Е) животных.

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

$$(4)_{ИИМ, \%} = \frac{((P_{к \times C_{к}}) - (P \times C)) \times 100 \%}{P_{к \times C_{к}}},$$

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

Морфологическое и иммуногистохимическое исследование.

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

При подготовке гистологических препаратов печени, сердца, почек, первичного опухолевого узла 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. Оценка реакции выставлялась полуколичественным методом.

Для проведения микроскопического исследования и фотофиксации изготовленных образцов использовали световой микроскоп «LEICA DM4000 B».

Для оценки выбранных критериев образцов отмечались следующие типы изменений (Таблица 4) и их выраженность (Таблица 5):

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 двухъядерных форм (печень).

Таблица 5 – Оценка результатов экспрессии иммуногистохимических маркеров полуколичественных способ

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

Иммунофенотипирование образцов ткани органов, полученных в эксперименте, проводили с помощью автоматической платформы для проведения ИHC и ISH исследований BOND-MAX (Leica, Germany) с применением первичных 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).

Биохимическое исследование. В гомогенатах печени и 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), трансформирующего фактора роста бета 1 (TGFb1), 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).

Методы статистической обработки результатов. 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 использовался 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.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Исследование противоопухолевой и антиметастатической активности гибридных оловоорганических соединений и их комбинации с цисплатином в метронном режиме введения.

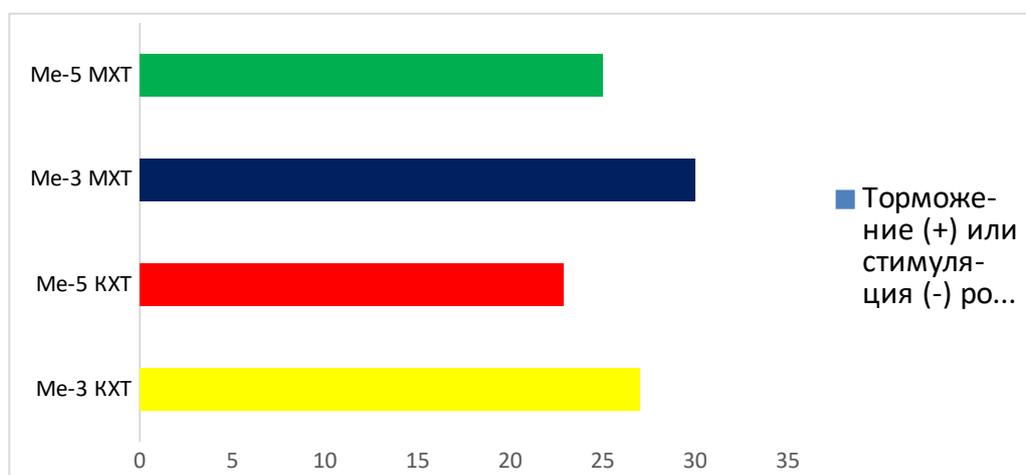


Рисунок 1 - Торможение роста опухоли по массе, %

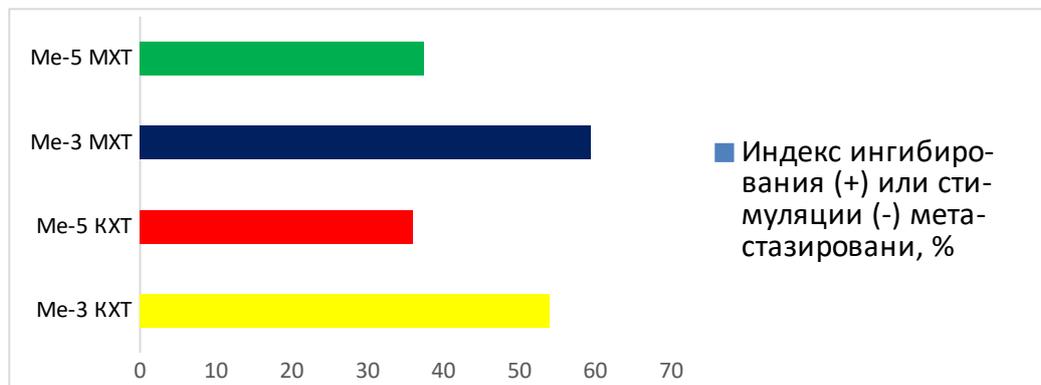


Рисунок 2- Индекс ингибирования метастазирования, %

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 (Рисунок 1, 2) по Софьиной З.П. [Dodokhova o M.A. et al., 2022].

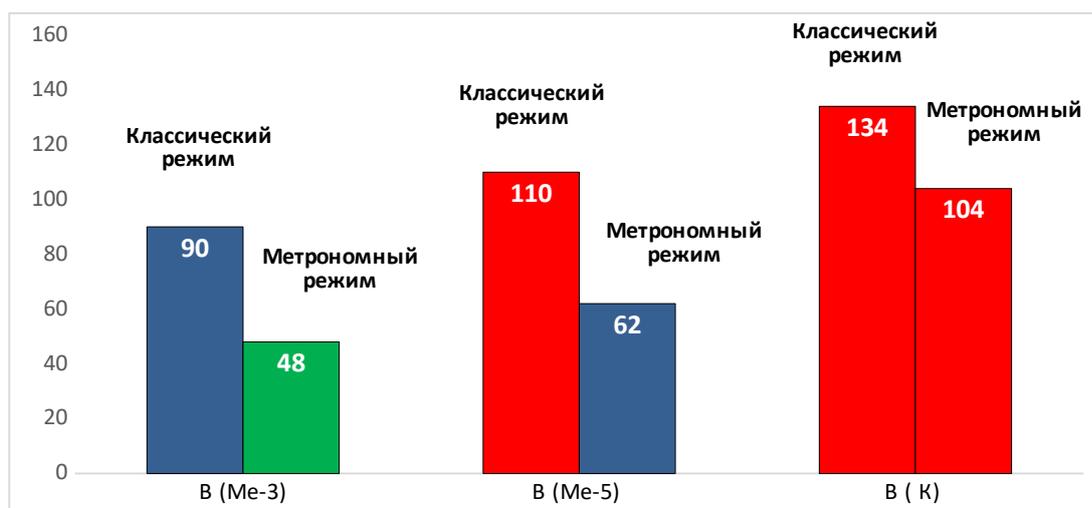


Рисунок 3 – Оценка общего состояния экспериментальных животных

Примечание: цветами обозначены степени развития нарушений общего состояния животных (зеленый – легкая, синий – средняя, красный – тяжелая).

По результатам балльной оценки общего состояния экспериментальных животных через 10 и 18 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 (Рисунок 3).

2. Введение исследуемых соединений в метрономном индивидуальном режиме в максимально эффективных для каждого соединения дозах.

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

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 (Таблица 6):

Таблица 6 – Разовые дозы вводимых соединений в метрономном режиме комбинированного введения

Группы животных	Описание группы
№1. Ме-3-1:5	Цисплатин в РД 1 мг/кг+Ме3 в РД 5 мг/кг
№2. Ме-3-1:7	Цисплатин в РД 1 мг/кг+Ме3 в РД 7 мг/кг
№3. Ме-3-1:9	Цисплатин в РД 1 мг/кг+Ме3 в РД 9 мг/кг
№4. Ме-3-1:15	Цисплатин в РД 1 мг/кг+Ме3 в РД 15 мг/кг
№5. Ме-3-1:30	Цисплатин в РД 1 мг/кг+Ме3 в РД 30 мг/кг
№6. Ме-3-1:45	Цисплатин в РД 1 мг/кг+Ме3 в РД 45 мг/кг
№7. Ме-5-1:5	Цисплатин в РД 1 мг/кг+Ме5 в РД 5 мг/кг
№8. Ме-5-1:7	Цисплатин в РД 1 мг/кг+Ме5 в РД 7 мг/кг
№9. Ме-5-1:9	Цисплатин в РД 1 мг/кг+Ме5 в РД 9 мг/кг
№10. Ме-5-1:15	Цисплатин в РД 1 мг/кг+Ме5 в РД 15 мг/кг
№11. Ме-5-1:30	Цисплатин в РД 1 мг/кг+Ме5 в РД 30 мг/кг
№12. Ме-5-1:45	Цисплатин в РД 1 мг/кг+Ме5 в РД 45 мг/кг
№13. Контроль	Носитель – 1% раствор желатина
№14. Цисплатин	Цисплатин в РД 1 мг/кг

Через 8 суток после последнего введения субстанций была произведена эвтаназия путем декапитации на гильотине.

На модели экспериментальной меланомы В16 мышей самым эффективным антиметастатическим действием обладала опытная группа, получающая в РД 1мг/кг цисплатина+ 45 мг/кг Ме-3. ИИМ, % в данной группе составила 47,8% ($p \leq 0,05$), в группе сравнения I (цисплатин) – 13,7%, в группе сравнения II (Ме3) – 32,9%. Для соединения Ме-5 максимально эффективной была комбинация 1:15 (разовая доза 1мг/кг цисплатина + 15 мг/кг Ме5): 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.

При введении ГОС-Sn (IV) в комбинированном метрономном режиме с цисплатином на модели экспериментальной неоплазии мышей меланоме В16 показано потенцированное действие (синергизм). Ме-3 проявил себя как более активный антиметастатический агент, что, вероятно, связано с особенностями метаболизма МеЗ в организме животного-носителя опухоли.

Результаты оценки противоопухолевой и антиметастатической активности тестируемых соединений представлены в таблице 7.

Таблица 7 – 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

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). 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 [Котиева Е.М. и др., 2023].

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

Приведем морфологическую структуру органов-мишеней повреждения (Me-3 и Me-5, через 18 суток после перевивки опухолевого материала, рисунки 4 – 8).

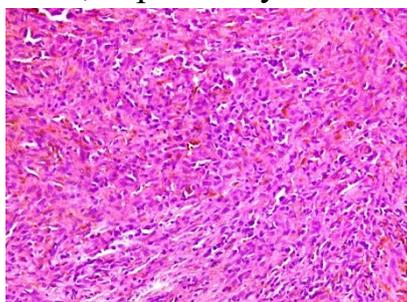


Рисунок 4 –
Микроскопическая картина первичного опухолевого узла при метрономном введении Me-3. Животные-мыши линии C57Bl/6 (самки) носители меланомы B16. Окраска гематоксилином и эозином, x200

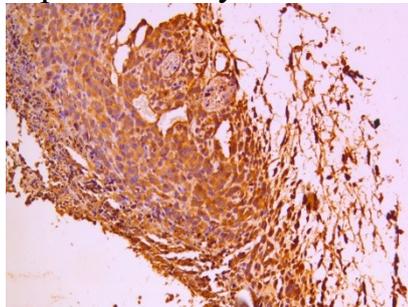


Рисунок 5 –
Иммуновизуализация антитела Melan A в первичном опухолевом узле, классический режим введения Me-3. Животные-мыши линии C57Bl/6 (самки) носители меланомы B16. x200

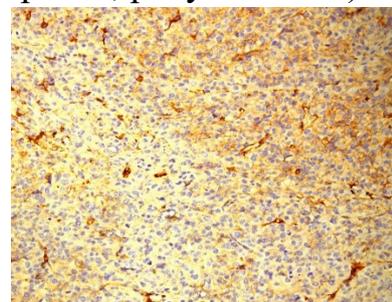


Рисунок 6 –
Иммуновизуализация антитела Bcl2, в первичном опухолевом узле, снижение экспрессии в опухолевых клетках меланомы B16 мышей, метрономный режим введения Me-3, x200

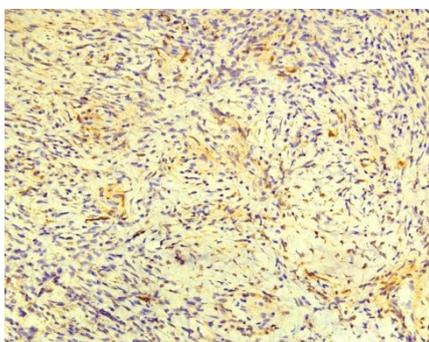


Рисунок 7 –
Иммуновизуализация антитела VEGF-A: снижение экспрессии в опухолевых клетках меланомы B16 мышей, метрономный режим введения Me-3, x200

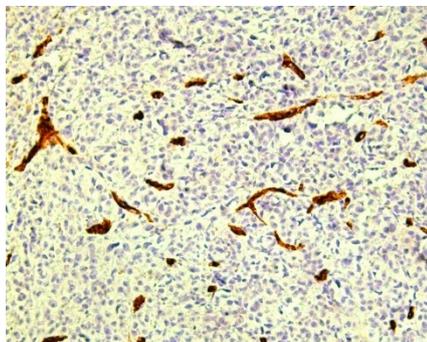


Рисунок 8 –
Иммуновизуализация антитела CD34: умеренная экспрессия в микроциркуляторном русле опухоли меланомы B16 при метрономном режиме введения Me-3, x200

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

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.

При анализе данных изменения маркеров перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты первичного опухолевого узла животных-носителей меланомы В16 через 18 суток после перевивки опухолевых клеток (Таблица 8, 9) выявлены следующие изменения.

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 8 – Изменения маркеров перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты первичного опухолевого узла животных-носителей меланомы В16 через 18 суток 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, мкмоль/л,	12,3±2,11	15,85±2,45	8,91±2,12*	21,1±3,15*	16,41±2,17
СОД, активность/г белка	0,91±0,19	1,28±0,11	1,12±0,05	0,31±0,05*	1,46±0,05*
КАТ, активность/г белка	0,65±0,14	0,95±0,21*	0,52±0,12	0,25±0,05*	0,71±0,18
GSH, мкмоль/г белка	17,24±3,51	8,91±1,41*	16,43±2,8	10,7±2,15*	21,6±3,4
ГП, нг/г белка	2,68±0,11	3,18±0,24*	1,89±0,25*	2,15±0,24	1,91±0,16*
ГР, нг/г белка	6,15±0,65	5,42±0,95	5,92±0,9	4,32±0,85*	5,05±0,26

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

Таблица 9 – Изменение молекулярных маркеров апоптотических процессов и МДА митохондриальной фракции первичного опухолевого узла мышей-носителей меланомы В16 через 18 суток 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.

При анализе изменений молекулярных маркеров апоптотических процессов и МДА митохондриальной фракции первичного опухолевого узла мышей-носителей меланомы В16 через 18 суток после перевивки опухолевых клеток (Таблица 8, 9) выявлены следующие изменения.

Интенсивное повреждение мембран митохондрий происходит при классическом режиме введения ГОС-Sn (IV), более выраженное 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 неоангиогенеза в ткани первичного опухолевого узла животных-носителей меланомы В16 через 18 суток после перевивки опухолевых клеток (Таблица 10) наблюдалось только в группах с метрономным режимом введения ГОС-Sn (IV), более выраженным для гемангиогенеза. Следует отметить, что преимущественное снижение уровня VEGF-A и его рецептора было выявлено при введении Me-3.

Таблица 10 – Изменение маркеров неоангиогенеза в ткани первичного опухолевого узла животных-носителей меланомы В16 через 18 суток после перевивки опухолевых клеток

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

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

Me-3 блокировал образование сосудов, в большой мере подавлял экспрессию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF A) и маркера эндотелиальных клеток CD34 в клетках меланомы В16, но при этом с меньшей интенсивностью влиял на экспрессию рецептора VEGF A.

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.



Рисунок 9 – Патогенетическая схема реализации противоопухолевого и антиметастатического действия гибридных оловоорганических соединений в максимально эффективной дозе при классическом и метроническом 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. 9).

Заключение. Результаты исследования позволили разработать и обосновать фундаментальные патогенетические основы применения инновационного класса оловоорганических соединений в метроническом режиме введения в качестве перспективных кандидатов в противоопухолевые лекарственные средства.

Полученные результаты легли в основу выводов и практических рекомендаций.

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 эффективна 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Сравнительный анализ использования моделей меланомы B16 и эпидермоидной карциномы легкого Льюис для проведения доклинических исследований соединений с предполагаемым противоопухолевым действием / М.А. Додохова, М.А. Акименко, О.В. Воронова, **М.С. Алхусейн-Кулягинова**, Е.М. Котиева, В.В. Трепель, В.М. Котиева, А.Б. Альникин, И.М. Котиева // Уральский медицинский журнал. – 2023. – Т. 22., № 5. – С. 66-76.
2. Разработка лекарственных препаратов на основе соединений олова (обзор) / **М.С. Алхусейн-Кулягинова**, А.М. Николаенко, В.М. Котиева, М.В. Гулян, М.А. Додохова, И.М. Котиева // Микроэлементы в медицине. – 2023. – Т. 24., № 1. – С. 3-9.
3. Патогенетические аспекты введения соединений с предполагаемым противоопухолевым действием в метрономном режиме (обзор) / **М.С. Алхусейн-Кулягинова**, Е.М. Котиева, В.М. Котиева, М.Ш. Абоу Алоу, М.А. Додохова, И.М. Котиева // Журнал медико-биологических исследований. – 2023. – Т. 11., № 3. – С. 341-350.
4. Сравнительный анализ фармакологической активности бис(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилтиолат) диметилолова при различных режимах введения на модели опухолевого роста мышей меланомы B16 / М.А. Додохова, И.М. Котиева, А.В. Сафроненко, **М.С. Алхусейн-Кулягинова**, Н.В. Сухорукова, В.М. Котиева, Е.М. Котиева, С.И. Старостин, Д.Б. Шпаковский, Е.А. Никитин, Е.Р. Милаева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2022. – Т. 173, № 5. – С. 588-591.
5. Evaluation of the pharmacological activity of hybrid organotin compounds in a B16 melanoma model in the classical and metronomic administration modes / М.А. Dodokhova, А.В. Safronenko, I.M. Kotieva, **M.S. Alkhuseyn-Kulyaginova**, D.B. Shpakovsky, E.R. Milaeva // Research Results in Pharmacology. – 2022. – Т. 8., № 1. – С. 85-94.
6. Оценка влияния гибридных оловоорганических соединений на интенсивность метастазирования / М.А. Додохова, И.М. Котиева, А.В. Сафроненко, **М.С. Алхусейн-Кулягинова**, Д.Б. Шпаковский, Е.Р. Милаева // В сборнике: MedChem-Russia 2021. материалы конференции 5-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием. Волгоград. – 2021. – С. 125.
7. Вторичная митохондриальная дисфункция как механизм противоопухолевого и антиметастатического действия гибридных оловоорганических соединений / М.А. Додохова, А.В. Сафроненко, И.М. Котиева, Е.Р. Милаева, Д.Б. Шпаковский, В.Г. Трепель, **М.С. Алхусейн-Кулягинова**, В.М. Котиева // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2021. – Т. 24., № 11 – С. 28-33.
8. Antimetastatic effect of organotin compounds on the model of melanoma B16 in the experiment / М.А. Dodokhova, I.M. Kotieva, D.B. Shpakovsky, А.В. Safronenko, E.F. Komarova, **M.S. Alkhuseyn-Kulyaginova**, L.R. Milaeva, А.А. Shtil // Journal of Clinical Oncology. – 2021. – Vol. 39., № S15. – P. e21564.
9. Оценка фармакотерапевтического потенциала оловоорганических соединений in vivo / М.А. Додохова, 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.

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

11. Оценка безопасности применения оловоорганических соединений как перспективных кандидатов в противоопухолевые лекарственные средства / М.А. Додохова, А.В. Сафроненко, И.М. Котиева, Е.Ф. Комарова, Е.Р. Милаева, Д.Б. Шпаковский, **М.С. Алхусейн-Кулягинова** // Евразийский онкологический журнал. – 2021. – Т. 9., № S1. – С. 525-526.

12. Влияние гибридных оловоорганических соединений в максимально эффективной дозе на рост и активность метастазирования меланомы В16 у мышей линии С57BL/6 / М.А. Додохова, И.М. Котиева, А.В. Сафроненко, **М.С. Алхусейн-Кулягинова**, Е.Р. Милаева, Д.Б. Шпаковский, А.Ю. Терехов, Е.О. Сергеева // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2021. – Т. 11., № 3. – С. 12-17.

13. Антиметастатическая эффективность органического соединения олова в классическом и метрономном режиме введения на модели меланомы В16 / М.А. Додохова, А.В. Сафроненко, И.М. Котиева, **М.С. Алхусейн-Кулягинова**, Д.Б. Шпаковский, Е.Р. Милаева // Успехи молекулярной онкологии. – 2021. – Т. 8., № S4. – С. 127.

Методические рекомендации и авторские свидетельства

1. Патент № 2762730 С1, Российская Федерация, МПК Средство для ингибирования метастазирования в легких: заявл. № 2021108737 от 30.03.2021, опубл. 22.12.2021 / Милаева Е.Р., Шпаковский Д.Б., Додохова М.А., Котиева И.М., Сафроненко А.В., **Алхусейн-Кулягинова М.С.**; заявитель Милаева Е.Р., Додохова М.А.

2. Патент № 2765955 С1, Российская Федерация, МПК Средство для ингибирования метастазирования в легких: :заявл. №2021108740 от 30.03.2021, опубл. 07.02.2022 / Милаева Е.Р., Шпаковский Д.Б., Додохова М.А., Котиева И.М., Сафроненко А.В., **Алхусейн-Кулягинова М.С.**; заявитель Милаева Е.Р., Додохова М.А.

3. Способ комбинированной терапии меланомы В16 в метрономном режиме в эксперименте / Е.М. Котиев, Е.Р. Милаева, Д.Б. Шпаковский, М.А. Додохова, И.М. Котиева, А.В. Сафроненко, С.В. Шлык, Н.В. Дроботя, **М.С. Алхусейн-Кулягинова**, В.М. Котиева // Патент на изобретение RU 2792561 С1, 22.03.2023. Заявка № 2022121549 от 05.08.2022.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

8-OHdG	– 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина
GSH	– восстановленный глутатион
OECD	– Organisation for Economic Co-operation and Development (Организация экономического сотрудничества и развития)
АО	–антиоксиданты
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	– супероксиддисмутаза
СРО	– свободно-радикальное окисление
ТРОм	– торможения роста опухоли по массе
УПЖ	–увеличение продолжительности жизни
ЧМ	– частота метастазирования опухоли
ЯМР	– ядерный магнитный резонанс