

УДК 615.277.3



Противоопухолевая активность трех новых производных азолоазинов на модели ортотопической трансплантации клеток рака молочной железы человека мышам

А.Х. Хумаири^{1,2}, Д.Л. Сперанский¹, В.В. Новочадов³,
С.В. Поройский¹, Н.В. Чердынцева⁴, В.В. Удут²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1

² Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга» федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634028 Россия, г. Томск, пр-т Ленина, д. 3

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный университет», 400062, Россия, г. Волгоград, пр-т Университетский, д. 100

⁴ Научно-исследовательский институт онкологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», 634009, Россия, г. Томск, пер. Кооперативный, д. 5

E-mail: ahmed.h.mneahil@gmail.com

Получена 18.07.2023

После рецензирования 25.09.2023

Принята к печати 10.10.2023

Рак молочной железы (РМЖ) относится к наиболее распространенным видам злокачественных опухолей, что делает чрезвычайно актуальными научные исследования в этой области. Трудности химиотерапии РМЖ стимулируют поиск новых препаратов для лечения этой нозологии. Одними из перспективных в этом плане могут быть производные имидазотриазина и имидазотетразина, которые являются аналогами противоопухолевого препарата темозоламида. **Цель.** Оценить противоопухолевую активность трех новых производных азолоазинов в ксенотенной модели рака молочной железы на мышах *in vivo*.

Материалы и методы. Проведено исследование на ксенотенной модели РМЖ. После иммуносупрессии азатиоприном 48 белым мышам BALB/c вводили в основание соска молочной железы клетки линии MCF-7, тестируемые производные и препарат сравнения эпирубицин в дозах $1/2 IC_{50}$ и $1/10 IC_{50}$ однократно. Проводили мониторинг массы тела мышей, по завершении эксперимента на 15-е сут оценивали относительный объем опухолевой ткани и проводили гистологическое исследование.

Результаты и обсуждение. Среди трех исследуемых соединений имидазотетразин 1 продемонстрировал наиболее обнадеживающие результаты: прекращение потери массы тела мышей, вызванное введением опухолевых клеток, и сокращение объема опухоли на 15-е сут эксперимента до 50,6% от аналогичного в контроле при использовании дозы $1/10 IC_{50}$, до 39,2% – при использовании дозы $1/2 IC_{50}$, что значительно превышало значения препарата сравнения эпирубина и значения в контрольной группе. При гистологическом исследовании признаки распространения и сохранения жизнеспособности опухолевых клеток линии MCF-7 после его введения были минимальными, величина гистологического индекса злокачественности снижалась на 9,3% от значения в контроле.

Заключение. Среди тестируемых производных азолоазинов, 3-циклогексил-4-оксоимидазо[5,1-d][1,2,3,5]тетразин-8-N-пиперидинилкарбоксамид является безусловным лидером, вызывающим торможение роста опухоли в ксенотенной модели *in vivo*.

Ключевые слова: имидазотриазин; имидазотетразин; рак молочной железы; клеточная линия MCF-7; мышинные модели

Список сокращений: РМЖ – рак молочной железы; ЯМР – ядерно-магнитный резонанс; MCF-7 – клеточная линия РМЖ человека; BALB/c – генетическая линия белых лабораторных мышей; IC_{50} – концентрация полумаксимального ингибирования; G1-G3 – система морфологических критериев определения степени злокачественности.

Для цитирования: А.Х. Хумаири, Д.Л. Сперанский, В.В. Новочадов, С.В. Поройский, Н.В. Чердынцева, В.В. Удут. Противоопухолевая активность трех новых производных азолоазинов на модели ортотопической трансплантации клеток рака молочной железы человека мышам. *Фармация и фармакология*. 2023;11(4):291-300. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-4-291-300

© А.Х. Хумаири, Д.Л. Сперанский, В.В. Новочадов, С.В. Поройский, Н.В. Чердынцева, В.В. Удут, 2023

For citation: A.H. Al-Humairi, D.L. Speransky, V.V. Novochadov, S.V. Poroisky, N.V. Cherdynseva, V.V. Udut. Antitumor activity of three new azoloazine derivatives in orthotopic transplantation model of human breast cancer cells into mice. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(4):291-300. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-4-291-300

Antitumor activity of three new azoloazine derivatives in orthotopic transplantation model of human breast cancer cells into mice

A.H. Al-Humairi^{1,2}, D.L. Speransky¹, V.V. Novochadov³,
S.V. Poroisky¹, N.V. Cherdyntseva⁴, V.V. Udut²

¹ Volgograd State Medical University,

1, Pavshih Borcov Sq., Volgograd, Russia, 400131

² Research institute of Pharmacology and Regenerative Medicine named after E.D. Goldberg,

Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences,

3, Lenin Ave., Tomsk, Russia, 634028

³ Volgograd State University,

100, Universitetskiy Ave., Russia, 400062

⁴ Research Institute of Oncology, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences,

5, Kooperativnyj Lnu, Tomsk, Russia, 634009

E-mail: ahmed.h.mneahil@gmail.com

Received 18 July 2023

After peer review 25 Sep 2023

Accepted 10 Oct 2023

Breast cancer (BC) is one of the most common types of malignant tumors, which makes scientific research in this area extremely relevant. The difficulties of breast cancer chemotherapy stimulate the search for new drugs to treat this nosology. Derivatives of imidazotriazine and imidazotetrazine, which are analogues of the antitumor drug temozolamide, can be ones of the promising drugs in this regard.

The aim of the work was to evaluate the antitumor activity of three new azoloazine derivatives in a xenogeneic breast cancer model in mice *in vivo*.

Materials and methods. A study was conducted on a xenogeneic model of BC. After the immunosuppression with azathioprine, 48 white BALB/c mice were injected with MCF-7 cells, test derivatives, and the reference drug epirubicin at doses of 1/2 IC_{50} and 1/10 IC_{50} , into the base of the mammary gland once. The body weight of the mice was monitored; on the 15th day, at the end of the experiment, the relative volume was assessed.

Results and discussion. Among the three compounds studied, imidazotetrazine 1 showed the most encouraging results: stopping the loss of body weight in the mice caused by the administration of tumor cells, and reducing the tumor volume on the 15th day of the experiment to 50.6% of that in the control when using a dose of 1/10 IC_{50} , up to 39.2% – when using a dose of 1/2 IC_{50} , which significantly exceeded the values of the reference drug epirubicin and the values in the control group. In the histological examination, the signs of spread and preservation of tumor cells viability of the MCF-7 line after its administration were minimal, the value of the histological malignancy index decreased by 9.3% of the control value.

Conclusion. Among the tested azoloazine derivatives, 3-cyclohexyl-4-oxoimidazo[5,1-d][1,2,3,5]tetrazine-8-N-piperidinylcarboxamide is the undisputed leader, causing inhibition of the tumor growth in a xenogeneic model *in vivo*.

Keywords: imidazotriazine; imidazotetrazine; breast cancer; MCF-7 cell line; mouse models

Abbreviations: BC – breast cancer; NMR – nuclear magnetic resonance; MCF-7 (Michigan Cancer Foundation-7) – human breast cancer cell line; BALB/c – genetic line of white laboratory mice; IC_{50} – concentration of half-maximal inhibition; G1-G3 – system of morphological criteria for determining the degree of malignancy.

ВВЕДЕНИЕ

Злокачественные новообразования на настоящий момент являются не только одной из основных причин смертности в мире, но и тревожат специалистов непрерывным ростом заболеваемости, крайней изменчивостью и резистентностью к различным видам лечения. Среди них рак молочной железы (РМЖ) относится к самому распространенному виду злокачественных опухолей у женщин [1–3]. Он выявляется в 1/8 всех вновь выявляемых случаев опухолей и определяет у женщин 14% онкологической смертности [4]. По глобальной статистике 2020 года РМЖ был выявлен у 2,3 млн. человек, а 685 тыс. от него скончались [5]. Генетическое и морфологическое многообразие

РМЖ, трудности его первичной диагностики и высокая резистентность ряда разновидностей к химиотерапии в итоге не может удовлетворять клинических онкологов в современном арсенале химиотерапевтических средств для его лечения. Особенно пессимистическими являются результаты противоопухолевой терапии метастатического РМЖ [6–9].

Все перечисленные моменты определяют настоятельную необходимость и делают чрезвычайно актуальными исследования в области разработки новых химиотерапевтических средств, которые справлялись бы с РМЖ [10, 11].

Исходя из вышеизложенных позиций, мы сосредоточили наше внимание на изучении

производных имидазотетразина и имидазотриазина, которые обладают алкилирующим действием и используются в качестве противоопухолевых средств, в том числе РМЖ, уже более 40 лет. Наиболее известным из них является темозоломид, который доказал свою клиническую эффективность при лечении лимфом, опухолей головного мозга и метастатической меланомы. К сожалению, на современном этапе, многие опухоли резистентны к этому препарату или к нему очень быстро развивается химиорезистентность [12, 13]. На сегодняшний день синтезировано более 30 новых производных имидазотетразина и имидазотриазина, перспективных для использования в качестве противоопухолевых средств [14–16].

В исследовании выдвигается гипотеза о возможной противоопухолевой активности новых производных азолазинов в ксеногенной модели РМЖ на мышах.

Данный этап *in vivo* является обязательным для всех доклинических исследований потенциальных противоопухолевых соединений, поскольку именно моделирование рака у лабораторных животных позволяет в деталях изучить биологию злокачественного роста, в доказательном формате внести предложения по совершенствованию диагностических и терапевтических стратегий. Среди существующих моделей ортотопическая мышь характеризуется трансплантацией опухолевых клеток или фрагментов в том же анатомическом участке, где обычно развивается опухоль. Эта модель рака широко используется на практике [17, 18], поскольку позволяет весьма точно воспроизводить взаимоотношения со стромальными и сосудистыми клетками, обеспечивать микроокружение, которое играет решающую роль в развитии опухолевых клеток.

ЦЕЛЬ. Оценить противоопухолевую активность трех новых производных азолазинов на ксеногенной модели рака молочной железы у мышей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Тестируемые соединения

Для оценки потенциальных противоопухолевых свойств были проанализированы три производных азолазинового ряда – 3-циклогексил-4-оксоимидазо[5,1-*d*][1,2,3,5]тетразин-8-*N*-пиперидинилкарбоксамид (имидазотетразин **1**), диэтиловый эфир 4-аминоимидазо[5,1-*c*][1,2,4]триазин-3,8-дикарбоновой кислоты (имидазотриазин **2**) и 4-амино-8-этокси-карбониламидазо[5,1-*c*][1,2,4]триазин-3-*N*-(*p*-толуил)карбоксамид (имидазотриазин **3**), синтезированные в Уральском федеральном университете имени первого Президента России Б.Н. Ельцина в соответствии с описанными методиками [19, 20]. Проведенный ЯМР анализ подтвердил высокую химическую чистоту полученных соединений. В качестве препарата

сравнения использовали эпирубицин, как препарат, для которого хорошо известны токсикологические эффекты и активность в мышинных моделях [21]. Соединения 1–3 были выбраны для исследования из 11 кандидатов по результатам ранее проведенного определения минимальной половинной ингибирующей концентрации IC_{50} в тесте на цитотоксичность *in vitro* в культуре клеток MCF-7 [22].

Этическая экспертиза

Исследование проведено в соответствии с биоэтическими нормами, изложенными в «Правилах проведения работ с использованием экспериментальных животных» и Директиве 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. Дизайн экспериментального исследования после экспертизы был одобрен Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 2021/049 от 27 мая 2021 года). Все манипуляции с лабораторными животными осуществляли исключительно лица, имеющие высшее биологическое или медицинское образование.

Лабораторные животные и их содержание

Работа выполнена на 48 мышах-самках BALB/c, полученных из питомника лабораторных животных Федерального исследовательского центра «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук». Перед моделированием метастатического РМЖ животные прошли необходимые сертификационные процедуры и вводный карантин. Содержание животных осуществляли в стандартных условиях вивария Центра инновационных лекарственных средств Волгоградского государственного медицинского университета (Россия) в соответствии с постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 29.08.2014 № 51 «Об утверждении СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)»¹. Животных содержали в пластиковых клетках по 5 особей на подстиле из опилок при свободном доступе к воде и корму с заменой того и другого ежедневно. Температуру воздуха в виварии поддерживали в пределах 20–26°C, относительную влажность находилась в пределах 30–70%, реализовывали

¹ Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 29.08.2014 № 51 «Об утверждении СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» (вместе с «СП 2.2.1.3218-14. Санитарно-эпидемиологические правила...»); зарегистрировано в Минюсте России 31.10.2014 № 34547). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_155631/

12-часовой световой цикл при совмещенном (естественное+люминесцентное) типе освещения. Бактерицидную обработку воздуха производили стационарными бактерицидными установками непрерывно.

Дизайн экспериментального исследования

Основная экспериментальная модель настоящего исследования – ортотопическая имплантация раковых клеток подкожно под сосок в жировую подушечку молочной железы, которая имитирует метастатические стадии и распадающийся РМЖ в клинике. Место и техника инъекции вместе со специфическими свойствами выбранной линии клеток РМЖ в значительной степени определяет динамику поведения трансплантированных клеток в тканях мышей [18].

Чтобы вызвать временную иммуносупрессию белым мышам линии BALB/c вводили внутривентриально азатиоприн из расчета 1 мг/кг массы тела трехкратно: за 3 ч до инъекции опухолевых клеток, через 24 и 48 ч после нее. На основном этапе проводили ортотопическую трансплантацию опухоли, для чего 48 мышам (по 6 животных в каждой группе) вводили в основание соска молочной железы по 10^6 клеток РМЖ человека линии MCF-7 в 0,2 мл стерильного физиологического раствора. Для уменьшения прививочной дозы использовали в качестве носителя Матригель (Corning, США) [23]. Всех животных с привитыми клетками линии MCF-7 делили на 8 групп (табл. 1).

Для изучения спектра противоопухолевой активности использовали две дозы вещества ($1/2 C_{50}$ и $1/10 IC_{50}$). Выбор доз тестируемых производных был обоснован нашими предыдущими исследованиями их цитотоксической и генотоксической активностью. Вещества вводили однократно внутривентриально в 0,2 мл физиологического раствора через 72 ч после инъекции опухолевых клеток, в контрольной группе использовали только стерильный физиологический раствор.

Каждые трое суток мышей взвешивали, визуально контролировали область инъекции.

Выведение животных из эксперимента проводили на 15-е сут передозировкой тилетамина в дозе 200 мг/кг массы внутривентриально. Эвтаназия мышей осуществлялась в помещении, где не содержались другие животные, утилизация трупов производилась ответственным лицом.

После эвтаназии забирали участки подкожной клетчатки брюшной стенки, куда были инъектированы опухолевые клетки, а также аналогичные участки с противоположной стороны. При вырезке материала рассчитывали общий объем сосочка и его основания ($мм^3$). За относительный объем опухолевой ткани принимали разницу между описанной величиной для интактных и инъектированных молочных желез.

Материал помещали в забуференный 10%-ный раствор формалина для последующего гистологического исследования с помощью аппарата

для проводки Microm STP 420 (Microm, Германия), модульную систему заливки Leica EG 1160 (Leica, Германия), ротационного микротом Leica RM 2255 (Leica, Германия), коверстейнера Dako (Dako, Дания), иммуногистостейнера Dako Link 48 (Dako, Дания), микроскопа Leica DM 6000B с цифровой камерой Leica DFC50C (Leica, Германия). Для визуализации и морфометрического исследования клеток и тканей использовали возможности классической световой и флуоресцентной микроскопии. Имидж-анализ проводили с помощью программы «ImageJ» (США).

Для доказательства присутствия клеток MCF-7 человека в тканях мышей использовали иммуногистохимическое выявление маркерного цитокератина 8/18, клон EP 17+EP30 с помощью наборов Dako Cytomation (Дания). Визуализацию проводили с помощью непрямого иммунопероксидазного метода, использовали позитивные контроли антигенов, негативные контроли антигенов и антител².

В качестве показателей, определяющих противоопухолевые эффекты тестируемых соединений, были выбраны динамика массы тела животных, расчетный объем опухолевой ткани, гистологическая характеристика места инъекции.

Для общего заключения о состоянии опухоли рассчитывали гистологический индекс, основанный на градации РМЖ от 0 (для нормальной неопухолевой ткани) до 10 (для недифференцированной опухоли³) с небольшим отклонением; в связи с относительно малым количеством опухолевой ткани максимальные значения митотического индекса уменьшены до 4 (табл.2).

Статистический анализ

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программы Statistica 10.0 (Dell, США). После проверки выборок по критерию Шапиро-Уилка на предмет соответствия нормальному распределению и установления его отсутствия результаты представляли как медиана, границы первого и третьего квартилей – Me [Q1÷Q3]. Внутригрупповой сравнительный анализ проводили по критерию Краскела-Уоллиса, сравнение между несвязанными выборками – по критерию Манна-Уитни. Различия считали значимыми при уровне доверительной вероятности $p < 0,05$.

Результаты

Динамика массы тела и объема опухолевой ткани

Введение опухолевых клеток мышам сопровождалось прекращением их роста и потерей массы тела, которое составило во всех экспериментальных группах за период от инъекции MCF-7 до введения противоопухолевого препарата от 6 до 11% от исходной величины (табл. 3).

² Франк Г.А. Рак молочной железы. Практическое руководство для врачей. Под ред. Г.А. Франка, Л.Э. Завалишиной и К.М. Пожарисского. М.: РМАПО, 2014. 197 с.

³ Там же.

Таблица 1 – Характеристика групп экспериментальных животных

Группа	Вещество	Доза	Число голов
Контрольная	Физиологический раствор	–	6
1а	Имидазотетразин 1	1/10 IC ₅₀	6
1б		1/2 IC ₅₀	6
2а	Имидазотриазин 2	1/10 IC ₅₀	6
2б		1/2 IC ₅₀	6
3а	Имидазотриазин 3	1/10 IC ₅₀	6
3б		1/2 IC ₅₀	6
Сравнения	Эпирубицин	1/2 IC ₅₀	6

Таблица 2 – Гистологическая градация рака молочной железы для определения гистологического индекса в экспериментах на иммунодефицитных мышах

Критерии	Оценка в баллах
Структурообразование:	
Железистые/тубулярные структуры занимают:	
– более 75% площади опухоли	1
– от 10 до 75% площади опухоли	2
– менее 10% площади опухоли	3
Ядерный полиморфизм:	
Мономорфные мелкие ядра с четким контуром, равномерным хроматином, сходные с ядрами нормального эпителия	1
Укрупненные умеренно полиморфные везикулярные ядра с заметными ядрышками	2
Полиморфные вариабельные по размеру везикулярные ядра с заметными ядрышками, нередко атипичной формы	3
Митозы и инвазии:	
Единичные митозы	1
Множественные митозы	2
Множественные митозы и инвазия G1	2
Множественные митозы и инвазия G2-G3	4

Таблица 3 – Противоопухолевые эффекты азолазинов 1–3 и эпирубина при ортотопической трансплантации иммунодефицитным мышам клеток МСF-7

Группа (все n=6)	Масса мышей, г		Объем опухоли на 15-е сут, мм ²
	Начальная	Конечная	
Контроль	48,8 [46,9÷50,7]	40,7 [37,9÷43,1]	24,5 [19,9÷27,8]
Эпирубицин 1/2 IC ₅₀	48,3 [46,2÷50,0]	43,1 [40,5÷46,2]*	18,5 [15,6÷20,9]*
Имидазотетразин 1			
	1/10 IC ₅₀	47,5 [46,1÷48,8]*	12,4 [9,9÷15,1]*#
	1/2 IC ₅₀	48,6 [46,5÷50,5]*#	9,6 [7,7÷11,8]*#
Имидазотриазин 2			
	1/10 IC ₅₀	45,1 [43,4÷46,9]*	18,7 [15,1÷20,4]*
	1/2 IC ₅₀	46,3 [44,5÷47,4]*	16,5 [13,3÷19,0]*
Имидазотриазин 3			
	1/10 IC ₅₀	45,6 [43,3÷48,0]*	17,3 [14,8÷20,5]*
	1/2 IC ₅₀	46,9 [43,7÷48,2]*	15,0 [12,9÷18,1]*#

Примечание: статистически значимые различия * – между применением производного азолазина и контролем; # – между применением производного азолазина и применением эпирубина ($p < 0,05$).

Таблица 4 – Гистологический индекс при введении азолазинов 1–3 и эпирубина в модели ортотопической трансплантации мышам клеток РМЖ человека МСF-7

Тестируемое соединение	Доза	
	1/10 IC ₅₀	1/2 IC ₅₀
Контроль	8,8 [7,7÷9,6]	
Эпирубицин	–	8,5 [7,2÷9,4]
Имидазотетразин 1	8,9 [7,7÷9,7]	8,2 [7,3÷9,1]
Имидазотриазин 2	8,5 [7,4÷9,3]	9,1 [7,9÷9,8]
Имидазотриазин 3	8,4 [7,5÷9,2]	8,8 [7,7÷9,6]

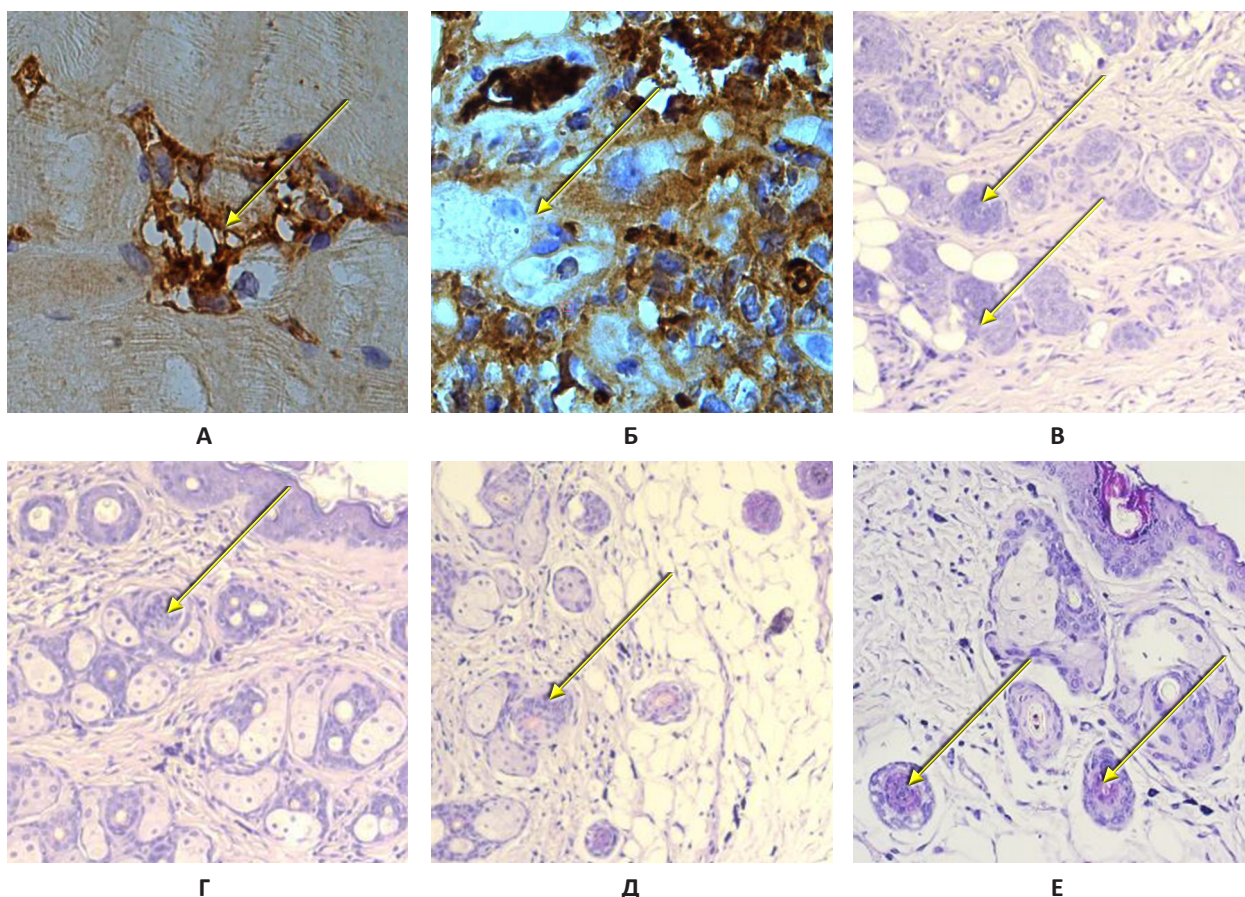


Рисунок 1 – Область трансплантации клеток MCF-7 мышам в ксеногенной модели рака молочной железы человека

Примечание: А – контрольная серия без применения противоопухолевых препаратов. Отмечено скопление иммунопозитивного материала в области сосудисто-нервного пучка прилегающей мышцы; Б – применение имидазотриазина 2. Отмечено скопление опухолевых клеток с инвазией в просвет протока молочной железы; В – применение эпирубина. Отмечены пери- и интрадуктальные скопления опухолевых клеток; Г – применение имидазотетразина 1. Отмечены единичные скопления опухолевых клеток вокруг протоков молочной железы и в прилегающей жировой клетчатке; Д – применение имидазотриазина 2. Отмечено скопление опухолевых клеток с инвазией в просвет протока молочной железы; Е – применение имидазотриазина 3. Гистологическая картина, аналогична применению имидазотриазина 2. А, Б – иммуногистохимическое выявление цитокератина 8/18 человека; В–Е – окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$.

За этот же период времени масса тела intactных мышей увеличилась в среднем на 2%. Введение тестируемых соединений в определенной степени изменяло динамику массы тела животных, но эти изменения были различны в зависимости от соединения и его дозы.

Введение препарата сравнения эпирубина сопровождалось замедлением снижения массы тела мышей, которая в итоге составляла 89,2% от первоначальной против 83,4% в контроле. Объем опухоли, рассчитанный на 15-е сут эксперимента при аутопсии, составил 75,5% от аналогичного без введения противоопухолевого препарата.

Имидазотетразин 1 вызывал прекращение потери массы тела мышей и ее прирост за 15 суток приводил к восстановлению этого показателя до первоначального (при использовании дозы $1/10 IC_{50}$ – 98,8%, при использовании дозы $1/2 IC_{50}$ – 101,6%). Особенно интенсивным было восстановление массы в первые 3-е сут после инъекции производного: за это время масса увеличилась более чем на 10%. Объем опухоли, рассчитанный на 15-е сут эксперимента

при аутопсии, составил при использовании дозы $1/10 IC_{50}$ – 50,6% от аналогичного в контроле, при использовании дозы $1/2 IC_{50}$ – 39,2% ($p < 0,05$).

При введении подопытным мышам с трансплантированными опухолевыми клетками MCF-7 имидазотриазина 2 прослеживали динамику массы тела, сходную с таковой при введении эпирубина. Стабилизация массы и ее небольшое увеличение к 15-м сут эксперимента приводило к конечной массе при использовании дозы $1/10 IC_{50}$ в 92,0% от первоначальной, при использовании дозы $1/2 IC_{50}$ – 94,5%. Объем опухоли, рассчитанный на 15-е сут эксперимента при аутопсии, составил при использовании дозы $1/10 IC_{50}$ – 76,3% от аналогичного в контроле, при использовании дозы $1/2 IC_{50}$ – 67,3%, что соответствовало торможению роста опухоли на 23, и 32,7% соответственно ($p < 0,05$).

Введение имидазотриазина 3 вызывало прекращение потери массы тела и ее прирост в первые 3-е сут на 11,5%. В последующем динамика массы тела стабилизировалась, и к 15-м сут эксперимента она составила 94,2% от первоначально

при использовании дозы $1/10 IC_{50}$ и 96,9% – при использовании дозы $1/2 IC_{50}$. Объем опухоли, рассчитанный на 15-е сут эксперимента при аутопсии, составил при использовании дозы $1/10 IC_{50}$ 70,6% от аналогичного без введения противоопухолевого препарата и 61,2% – при использовании дозы $1/2 IC_{50}$. Это соответствовало торможению роста опухоли на 29,4 и 38,8% соответственно ($p < 0,05$).

Результаты гистологического исследования

При гистологическом исследовании выявлены изменения в зоне трансплантации, а также прилегающей жировой клетчатке и лимфатических узлах (Рис. 1).

Окраска на цитокератин 8/18 человека выявила присутствие этого белка в тканях мыши, что свидетельствовало о валидности примененной методики. В случаях, когда клетки MCF-7 подвергались лизису, маркерный белок выявлялся в межклеточном веществе, поскольку он достаточно трудно поддается протеолизу (Рис. 1А и 1Б).

Морфологическая картина в месте ксенотрансплантации клеток MCF-7 на 15-е сут эксперимента во всех опытных группах характеризовалась наличием единичных опухолевых клеток, а также их скоплений в виде небольших кластеров или трабекул. Количество стромы между опухолевыми клетками в случае формирования кластеров было минимальным. Вокруг сосудов среднего калибра и протоков молочной железы в ряде случаев наблюдали образование цепочки и структур наподобие мишени или «совиного глаза». В протоках иногда выявляли полную обтурацию просвета инвазивными клетками MCF-7, но чаще такие клетки были единичными, а часть просвета была заполнена слизеподобным секретом. В случае гибели опухолевые клетки теряли ядро и были окружены лимфогистиоцитарным инфильтратом. Небольшое количество клеток лимфоцитарного ряда могло быть обнаружено и вокруг кластеров жизнеспособных опухолевых клеток (рис. 1В–1Е).

Сами опухолевые клетки были крайне вариабельными по строению. Ядра клеток обычно были крупными, полиморфными, с преобладанием округлых форм. Они располагались, как правило, центрально и содержали хорошо различимые ядрышки. Цитоплазма клеток была преимущественно обширной и выражено эозинофильной. Митотическая активность на препаратах варьировала от единичных митозов до 10–15 делений в поле зрения.

Помимо местной инвазии в просвет протоков, лимфатических и (заметно реже) кровеносных сосудов, опухолевые клетки смогли распространиться в прилегающие ткани и лимфатические узлы. В фиброзно-жировой ткани, окружающей молочную железу, обнаруживались как единичные клетки MCF-7, так скопления по 7–12 клеток, часто с умеренной лимфогистиоцитарной инфильтрацией вокруг них. В жировой ткани опухолевые скопления были крупнее, морфологически они выглядели как типичные микрометастазы, тесно прилегающие к

питающим сосудам. В лимфатических узлах клетки MCF-7 обычно располагались единично, вокруг них присутствовала ярко выраженная тканевая реакция со стороны макрофагов и лимфоидной ткани.

Определение гистологического индекса позволило дать полуколичественную оценку гистологическим изменениям в зоне ксенотрансплантации клеток РМЖ человека при тестировании производных азолоазинов и препарата сравнения (табл. 4).

Как видно из представленных данных, применение эпирубина в дозе $1/2 IC_{50}$ практически не изменяло гистологический индекс опухолей, в сравнении с величиной показателя в контрольной группе животных.

Значения гистологического индекса во всех группах практически не отличались от контроля (максимальное снижение при введении имидазотетразина 1 – на 9,3%), что еще раз подтверждало тот факт, что клетки, нечувствительные к примененной химиотерапии, сохраняют высокую способность к злокачественной прогрессии в организме и даже могут ее увеличивать.

ОБСУЖДЕНИЕ

Развитие виртуального скрининга, химических технологий целенаправленного синтеза органических соединений с предсказанными свойствами, а также медицинской биотехнологии испытаний потенциальных лекарственных средств в культурах *in vitro* и модифицированных моделях на лабораторных животных стали основой для новой эры разработки и внедрения современных химиотерапевтических средств. Современная парадигма подразумевает, что химическая структура этих соединений с момента предъявления исследователями доказательно предполагает противоопухолевую активность (докинг или ближайшие аналоги имеющихся препаратов). По результатам доклинических испытаний препараты имеют четко обозначенные мишени воздействия, доказанную высокую противоопухолевую активность *in vitro* и *in vivo*, обладают минимальными токсическими эффектами в отношении здоровых тканей и не вызывают быстрого развития резистентности [24–26].

Применительно к тематике настоящего исследования следует подчеркнуть, что решение проблемы РМЖ в вопросах профилактики, ранней диагностики, лечения и реабилитации отнесено к приоритетным задачам мирового и отечественного здравоохранения [1, 5].

Выбранный нами класс соединений (производных имидазотриазина и имидазотетразина) в этом плане привлекателен как ввиду достаточного количества хорошо зарекомендовавших себя представителей, включая митозоламид и темозоломид, а также появления протоколов синтеза новых соединений с потенциально перспективными свойствами [12, 19]. По результатам доказательных исследований, соединения этого класса проявляют противоопухолевую, противовоспалительную, антиоксидантную, а также антибактериальную активность [27, 28].

Ортотопическая имплантация раковых клеток в ткани молочной железы животных позволяет весьма точно воспроизводить опухолевое микроокружение и во многом напоминает множественные стадии, участвующие в развитии РМЖ у пациентов [23, 29].

Проведенное исследование показало, что в ксеногенной модели РМЖ, полученной ортотопической инъекцией клеток линии MCF-7 мышам, все включенные в работу производные азолазинов проявляли противоопухолевую активность, которая имеет признаки дозозависимости и убывает в ряду имидазотетразин **1** (лидер) > имидазотриазин **3** > имидазотриазин **2** ≥ эпирубицин. Максимальное торможение роста опухоли при введении наиболее активного производного темозоломида **1** составляло 60,8%, что значительно превышало активность препарата сравнения эпирубина (24,5%). Препарат в значительной степени подавлял пролиферацию и распространение опухолевых клеток в модели ксенотрансплантации клеток линии MCF-7 РМЖ человека мышам. Введение препарата сопровождалось снижением гистологического индекса злокачественности для сохранившихся клеток на 9,3%.

Гистологическая картина во всех сериях экспериментов свидетельствовала об уменьшении и распаде части опухолевых структур в тканях мышей, но сохранившиеся клетки демонстрировали выраженный атипизм, склонность к митозам и инвазии, образовывали свежие скопления в ткани молочной железы, прилегающей жировой клетчатке и лимфатических узлах.

Как видно, все три препарата, выбранные по проведенным ранее исследованиям цитотоксичности на клетках РМЖ человека и неопухолевых клетках *in vitro*, показали результаты, превышающие таковые для препарата сравнения эпирубина. Фармакодинамические свойства эпирубина хорошо изучены и аналогичны свойствам других антрациклиновых противоопухолевых антибиотиков. Эпирубин наиболее активен в фазах клеточного цикла, сопровождающихся максимально интенсивным синтезом ДНК. После интеркаляции между парами оснований ДНК он стабилизирует комплекс топоизомеразы II-ДНК, что приводит к необратимому разрыву нити. Для эпирубина доказана цитотоксичность как *in vitro*, так и *in vivo* в отношении РМЖ и ряда других опухолевых клеток человека, и гибель клеток возрастает по мере увеличения концентрации препарата [30]. Тем не менее, активность препарата достаточно умеренная, что и продемонстрировало настоящее исследование. Следовательно, эпирубин может считаться классическим препаратом сравнения для новых доклинических испытаний, которые призваны найти новые, более эффективные препараты для химиотерапии опухолей.

Сравнение противоопухолевой активности в модели *in vivo* трех производных азолазинов показало, что, несмотря на сходную структуру и физико-химические свойства, эти соединения

проявляют неодинаковую активность по отношению к клеткам РМЖ. Известными причинами, которые вызывают различия в противоопухолевых эффектах гомологичных молекул, являются, в первую очередь, различия в характере распределения в организме при парентеральном введении и способности к проникновению в клетки-мишени. Полученные нами экспериментальные значения выживаемости опухолевых клеток согласуются с более ранними результатами изучения других производных азолазинов [12, 31, 32].

Имплантация мышам клеточных линий, полученных из рака РМЖ человека, относительно проста и позволяет проводить доказательные генетические или фармакологические манипуляции с имплантированными клетками. Однако в настоящее время справедливо считается, что ксенотрансплантаты опухолей у иммунодефицитных мышей не могут в полной мере моделировать опухоли у человека, в том числе в связи со значительным генетическим полиморфизмом и тем, что человеческие клетки, по-видимому, не полностью адаптированы к росту в тканях мышей [33]. Не случайно в последнее время внимание исследователей все больше сконцентрировано на создании трехмерных моделей раковых опухолей *in vitro*. Моделирование 3D-микросреды, максимально имитирующей микроокружение клеток при РМЖ у человека, делает их ценным инструментом в качестве альтернативы для замены моделей опухолей на животных и для прогнозирования оценки риска у людей [34].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На ксеногенной модели РМЖ железы человека (культура клеток MCF-7), все три новых производных азолазинов, включенных в исследование, показали противоопухолевую активность, превышающую активность препарата сравнения эпирубина. Среди тестируемых новых производных азолазинов, 3-циклогексил-4-оксоимидазо[5,1-d][1,2,3,5]тетразин-8-N-пиперидинилкарбоксамид является безусловным лидером, вызывающим торможение роста опухоли в ксеногенной модели *in vivo*.

Высокая чувствительность клеточной линии MCF-7 к тестируемым веществам позволяет сделать заключение о перспективности проведения дальнейших доклинических испытаний их эффективности и безопасности. Согласно результатам проведенного исследования новых производных азолазинов можно ожидать торможения роста перевиваемых опухолей у экспериментальных животных в отношении более широкого спектра моделируемых опухолей.

Полученное заключение следует трактовать как предварительное, так как в работе для оценки противоопухолевой активности использован только один подход (ксеногенная трансплантация у мышей) и одна клеточная линия РМЖ – MCF-7. Конкретные механизмы действия производных азолазинов, а также сопоставление их активности со структурными особенностями молекул требуют отдельного дальнейшего изучения.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

А.Х. Хумаири – разработка основной концепции, гипотезы и дизайна исследования, проведение исследования, обработка данных исследования, написание и редактирование текста; Д.Л. Сперанский – разработка концепции и дизайна исследования; В.В. Новочадов – разработка концепции и дизайна исследования, статистический анализ; С.В. Поройский – проведение исследования, реализация экспериментальной части исследования, обработка данных исследования, редактирование текста; Н.В. Чердынцева – разработка концепции исследования; В.В. Удуд – разработка концепции исследования. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Gradishar W.J., Anderson B.O., Abraham J., Aft R., Agnese D., Allison K.H., Blair S.L., Burstein H.J., Dang C., Elias A.D., Giordano S.H., Goetz M.P., Goldstein L.J., Isakoff S.J., Krishnamurthy J., Lyons J., Marcom P.K., Matro J., Mayer I.A., Moran M.S., Mortimer J., O'Regan R.M., Patel S.A., Pierce L.J., Rugo H.S., Sitapati A., Smith K.L., Smith M.L., Soliman H., Stringer-Reasor E.M., Telli M.L., Ward J.H., Young J.S., Burns J.L., Kumar R. Breast Cancer, Version 3.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology // J Natl Compr Canc Netw. – 2020. – Vol. 18, No. 4. – P. 452–478. DOI: 10.6004/jnccn.2020.0016
2. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries // CA Cancer J Clin. – 2021. – Vol. 71. P. – 209–249. DOI: 10.3322/caac.21660
3. Wilkinson L., Gathani T. Understanding breast cancer as a global health concern // Br J Radiol. – 2022. – Vol. 95. – Art. ID: 20211033. DOI: 10.1259/bjr.20211033
4. Akram M., Iqbal M., Daniyal M., Khan AU. Awareness and current knowledge of breast cancer // Biol Res. – 2017. – Vol. 50. – Art. ID: 33. DOI: 10.1186/s40659-017-0140-9
5. Rositch A.F., Unger-Saldaña K., DeBoer R.J., Ng'ang'a A., Weiner B.J. The role of dissemination and implementation science in global breast cancer control programs: Frameworks, methods, and examples // Cancer. – 2020. – Vol. 126. – P. 2394–2404. DOI: 10.1002/cncr.32877
6. Longacre M., Snyder N.A., Housman G., Leary M., Lapinska K., Heerboth S., Willbanks A., Sarkar S. A comparative analysis of genetic and epigenetic events of breast and ovarian cancer related to tumorigenesis // Int J Mol Sci. – 2016. – Vol. 17, No. 5. – Art. ID: 759. DOI: 10.3390/ijms17050759
7. Feiten S., Dünnebacke J., Friesenhahn V., Heymanns J., Köppler H., Meister R., Thomalla J., van Roye C., Wey D., Weide R. Follow-up reality for breast cancer patients – standardised survey of patients and physicians and analysis of treatment data // Geburtshilfe Frauenheilkd. – 2016. – Vol. 76, No. 5. – P. 557–563. DOI: 10.1055/s-0042-106210
8. Asif H.M., Sultana S., Ahmed S., Akhtar N., Tariq M. HER-2 Positive breast cancer – a mini-review // Asian Pac J Cancer Prev. – 2016. – Vol. 17, No. 4. – P. 1609–1615. DOI: 10.7314/apjcp.2016.17.4.1609
9. Azamjah N., Soltan-Zadeh Y., Zayeri F. Global trend of breast cancer mortality rate: a 25-year study // Asian Pac J Cancer Prev. – 2019. – Vol. 20. – P. 2015–2020. DOI: 10.31557/APJCP.2019.20.7.2015
10. Hassan M.S., Ansari J., Spooner D, Hussain S.A. Chemotherapy for breast cancer (Review) // Oncol Rep. – 2010. – Vol. 24. – P. 1121–1131. DOI: 10.3892/or_00000963
11. Zhukova L.G., Andreeva I.I., Zavalishina L.E., Zakiriakhodzhaev A.D., Koroleva I.A., Nazarenko A.V., Paltuev R., Parokonnaia A., Petrovskii A., Portnoi S., Semiglazov V., Semiglazova T., Stenina M., Stepanova A., Trofimova O., Tyulyandin S., Frank G., Frolova M., Shatova I., Gevorkian T. Breast cancer // J Modern Oncol. – 2021. – Vol. 23. – P. 5–40. DOI: 10.26442/18151434.2021.1.200823
12. Shirazi F., Zarghi A., Kobarfard F., Zendehele R., Nakhjavani M., Arfaiee S., Zebardast T., Mohebi S., Anjidani N., Ashtarinezhad A., Shoeibi S. Remarks in successful cellular investigations for fighting breast cancer using novel synthetic compounds. In: Breast Cancer-Focusing Tumor Microenvironment, Stem cells and Metastasis. InTech, 2011. DOI: 10.5772/23005
13. Garza-Morales R., Gonzalez-Ramos R., Chiba A., Montes de Oca-Luna R., McNally L.R., McMasters K.M., Gomez-Gutierrez J.G. Temozolomide enhances triple-negative breast cancer virotherapy in vitro // Cancers (Basel). – 2018. – Vol. 10. – Art. ID: 144. DOI: 10.3390/cancers10050144
14. Stevens M.F.G. Temozolomide – birth of a blockbuster. Drug Discovery. 2009. – No. 7. – P. 48–51.
15. Harbeck N., Gnant M. Breast cancer // Lancet. – 2017. – Vol. 389, No. 10074. – P. 1134–1150. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)31891-8
16. Moody C.L., Wheelhouse R.T. The medicinal chemistry of imidazotetrazine prodrugs // Pharmaceuticals (Basel). – 2014. – Vol. 7, No. 7. – P. 797–838. DOI: 10.3390/ph7070797
17. Мндлян Е.Ю., Семушина С.Г., Ржевский Д.И., Новикова Н.И., Калабина Е.А., Комков Д.С., Масленикова А.Ю., Мурашев А.Н., Холмухамедов Э.Л. Создание ортотопических опухолей в молочной железе мышей BALB/C NUDE клетками рака молочной железы человека MCF-7 и ее VDAC-дефицитными производными // Сибирский онкологический журнал. – 2022. – Т. 21, № 1. – С. 72–84. DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-72-84
18. Трещалина Е.М. Иммунодефицитные мыши Balb/c nude и моделирование различных вариантов опухолевого роста для доклинических исследований // Российский биотерапевтический журнал. – 2017. – Т. 16, № 3. – С. 6–13. DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-3-6-13

19. Sadchikova E.V., Mokrushin V.S. Interaction of 3,8-disubstituted imidazo-[5,1-C][1,2,4]triazines with nucleophiles // *Chem Heterocycl Comp*. 2014. – Vol. 50. – P. 1014–1020. DOI: 10.1007/s10593-014-1557-5
20. Sadchikova E.V. Synthesis of new azolo[5,1-d][1,2,3,5]tetrazin-4-ones – analogs of antitumor agent temozolomide // *Russ Chem Bull*. – 2016. – Vol. 65. – P. 1867–1872. DOI: 10.1007/s11172-016-1522-9
21. Liu L, Mu LM, Yan Y, Wu JS, Hu YJ, Bu YZ, Zhang JY, Liu R, Li XQ, Lu WL. The use of functional epirubicin liposomes to induce programmed death in refractory breast cancer. *Int J Nanomedicine*. 2017. – Vol. 12. P. 4163–4176. DOI: 10.2147/IJN.S133194
22. Хумаири А.Х., Сперанский Д.Л., Садчикова Е.В. Синтез и цитотоксическая активность новых производных азолотриазина при изучении на клеточных культурах // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2022. – Т. 56, № 6. – С. 17–22. DOI: 10.1007/s11094-022-02704-0
23. Iorns E., Drews-Elger K., Ward T.M., Dean S., Clarke J., Berry D., El Ashry D., Lippman M. A new mouse model for the study of human breast cancer metastasis // *PLoS ONE*. 2012. – Vol. 7, No. 10. – Art. ID: 47995. DOI: 10.1371/journal.pone.0047995
24. Dai X., Cheng H., Bai Z., Li J. Breast cancer cell line classification and its relevance with breast tumor subtyping // *J Cancer*. – 2017. – Vol. 8, No. 16. – P. 3131–3141. DOI: 10.7150/jca.18457.
25. Clegg J., Koch M.K., Thompson E.W., Haupt L.M., Kalitade Croft P., Bray L.J. Three-dimensional models as a new frontier for studying the role of proteoglycans in the normal and malignant breast microenvironment // *Front Cell Dev Biol*. – 2020. – Vol. 8. – Art. ID: 569454. DOI: 10.3389/fcell.2020.569454
26. Yan S., Yue S. Identification of early diagnostic biomarkers for breast cancer through bioinformatics analysis // *Medicine (Baltimore)*. – 2023. – Vol. 102, No. 37. – Art. ID: e35273. DOI: 10.1097/MD.00000000000035273
27. Ahani Z., Nikbin M., Maghsoudlou M.F., Farhadi-Ghalati F., Valizadeh J., Beyzaei H., Moghaddam-Manesh M. Semi-synthesis, antibacterial and antifungal activities of three novel thiazolidin-4-one by essential oil of *Anethum graveolens* seeds as starting material // *JIRAN Chem Soc*. – 2018. – Vol. 15. – P. 2423–2430. DOI: 10.1007/s13738-018-1431-y
28. Horishny V., Mandzyuk L., Lytvyn R., Bodnarchuk O.V., Matychuk V.S., Obushak M.D. Synthesis and biological activity of pyrazolo[1,5-c][1,3]benzoxazines containing a thiazolidin-4-one fragment // *Russ J Org Chem*. – 2020. – Vol. 56, No. 4. – P. 588–595. DOI: 10.1134/S1070428020040053
29. Sousa C.R.S., Miranda-Vilela A.L., de Almeida M.C., Fernandes J.M.S., Sebben A., Chaves S.B., Magalhães K.G., da Silva C.R., de Paula Rôlo J.L.J., Lucci C.M., Lacava Z.G.M. Experimental orthotopic breast cancer as a model for investigation of mechanisms in malignancy and metastasis to the lymph nodes // *Int J Vet Sci Res*. – 2019. – Vol. 5, No. 2. – P. 46–57. DOI: 10.17352/ijvrs.000041
30. Khodadadi A., Faghih-Mirzaei E., Karimi-Maleh H., Abbaspourrad A., Agarwal S., Gupta V.K. A new epirubicin biosensor based on amplifying DNA interactions with polypyrrole and nitrogen-doped reduced graphene: experimental and docking theoretical investigations // *Sensors and Actuators B: Chem*. – 2019. – Vol. 284. – P. 568–574. DOI: 10.1016/j.snb.2018.12.164
31. Sztanke K., Pasternak K., Rzymowska J., Sztanke M., Kandefer-Szerszeń M. Synthesis, structure elucidation and identification of antitumoural properties of novel fused 1,2,4-triazine aryl derivatives // *Eur J Med Chem*. – 2008. – Vol. 43, No. 5. – P. 1085–1094. DOI: 10.1016/j.ejmech.2007.07.009
32. Wang X., Luo N., Xu Zh., Zheng X., Huang B., Pan X. The estrogenic proliferative effects of two alkylphenols and a preliminary mechanism exploration in MCF-7 breast cancer cells // *Environ Toxicol*. – 2020. – Vol. 35, No. 5. – P. 628–638. DOI: 10.1002/tox.22898
33. Carranza-Torres I.E., Guzmán-Delgado N.E., Coronado-Martínez C., Bañuelos-García J.I., Viveros-Valdez E., Morán-Martínez J., Carranza-Rosales P. Organotypic culture of breast tumor explants as a multicellular system for the screening of natural compounds with antineoplastic potential // *Biomed Res Int*. – 2015. – Vol. 2015. – Art. ID: 618021. DOI: 10.1155/2015/618021
34. Carranza-Rosales P., Guzmán-Delgado N.E., Carranza-Torres I.E., Viveros-Valdez E., Morán-Martínez J. Breast organotypic cancer models // *Curr Top Microbiol Immunol*. – 2018. – Vol. 86. – P. 1–25. DOI: 10.1007/82_2018_86

АВТОРЫ

Хумаири Ахмед Хамид – PhD Фармакология, клиническая фармакология и Онкология, лучевая терапия, преподаватель кафедры медицины катастроф Института общественного здоровья ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; постдок лаборатории физиологии, молекулярной и клинической фармакологии, НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга ФГБНУ ТНИМЦ РАН. ORCID ID: 0000-0001-7545-8567. E-mail: ahmed.h.mneahil@gmail.com

Сперанский Дмитрий Леонидович – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры онкологии, гематологии и трансплантологии Института непрерывного медицинского и фармацевтического образования, ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-4362-1603. E-mail: d_speransky@mail.ru

Новоцадов Валерий Валерьевич – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры биологии и биоинженерии Института естественных

наук, ФГАОУ ВО ВолГУ. ORCID ID: 0000-0001-6317-7418. E-mail: novochadov.valeriy@volsu.ru

Поройский Сергей Викторович – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой медицины катастроф Института общественного здоровья, ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID: 0000-0001-6990-6482. E-mail: poroyskiy@mail.ru

Чердынцева Надежда Викторовна – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной и лечебной работе НИИ онкологии ФГБНУ ТНИМЦ РАН; член-корреспондент РАН. ORCID ID: 0000-0003-1526-9013. E-mail: nvch@tnimc.ru

Удут Владимир Васильевич – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной и лечебной работе, заведующий лабораторией физиологии, молекулярной и клинической фармакологии, НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга ФГБНУ ТНИМЦ РАН; член-корреспондент РАН. ORCID ID: 0000-0002-3829-7132. E-mail: udutv@mail.ru