

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-1-45-50>

Ингибирующий эффект ломустина на рост спонтанных HER2-позитивных опухолей молочной железы у трансгенных мышей

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

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; Россия, 197758 Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68

Контакты: Валерий Анатольевич Александров alexandrov.valeri@yandex.ru

Введение. У больных HER2-положительным раком молочной железы (HER2⁺ РМЖ) в результате таргетной анти-HER2-терапии значительно удлиняется период ремиссии. Однако часто развивается резистентность к терапии. В поисках эффективных дополнительных препаратов при комбинированной терапии целесообразно изучить противоопухолевое действие ломустина (CCNU) при HER2⁺ РМЖ. Ломустин не является таргетным препаратом, но используется для лечения метастазов в головной мозг, поскольку известен как одно из стандартных средств для терапии глиобластом.

Цель исследования – оценить ингибирующую активность ломустина на рост спонтанного HER2⁺ РМЖ у самок мышей FVB/N.

Материалы и методы. Использовали трансгенных мышей HER2⁺ линии FVB/N – самок в возрасте 5–6 мес, из которых отобрали 7 пар животных (для контроля и лечения ломустином) с одинаковыми по размеру спонтанными опухолями молочных желез в каждой паре. Ломустин вводили однократно в дозе 50 мг/кг (перорально через зонд) с последующим 30-дневным наблюдением. Критериями оценки противоопухолевого эффекта были ТРО % (торможение роста опухолей), а также ИРО (индекс роста опухоли), рассчитываемый по отношению площади (S) под кинетической кривой роста опухолей в группе животных с лечением ломустином (S_2) к контролю (S_1). При таком сравнении в контроле ИРО всегда будет 100 %.

Результаты. За период наблюдения объем опухолей молочной железы в контроле (введение растворителя) увеличился в 8 раз, тогда как у мышей, получавших ломустин, опухоли значительно регрессировали. ТРО после лечения ломустином составило 78–92 % ($p = 0,007–0,0006$ к контролю). Суммарное среднее значение S достоверно различалось в 5,6 раза при сравнении двух групп, а ИРО у мышей в группе ломустина составил 18,8 %, тогда как в контроле 100 %; $p = 0,0006$).

Заключение. Ломустин проявляет выраженный ингибирующий эффект на рост спонтанного HER2⁺ РМЖ у трансгенных мышей FVB/N. Результаты свидетельствуют о целесообразности применения ломустина у больных с HER2⁺ РМЖ, осложненным церебральными метастазами.

Ключевые слова: ломустин, HER2, трансгенные мыши, рак молочной железы, противоопухолевый эффект

Для цитирования: Александров В.А., Стуков А.Н., Змитриченко Ю.Г. и др. Ингибирующий эффект ломустина на рост спонтанных HER2-позитивных опухолей молочной железы у трансгенных мышей. Российский биотерапевтический журнал 2024;23(1):45–50. DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-1-45-50>

Inhibitory effect of lomustine on the growth of spontaneous HER2-positive mammary tumors in transgenic mice

Valerii A. Alexandrov, Alexander N. Stukov, Yuliya G. Zmitrichenko, Olesya A. Belyaeva, Grigory V. Tochilnikov

N. N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 68 Leningradskaia Str., Pesochnyi, Saint Petersburg 197758, Russia

Contacts: Valerii Anatolievich Alexandrov alexandrov.valeri@yandex.ru

Background. In patients with HER2-positive breast cancer (HER2⁺ BC), as a result of targeted anti-HER2 therapy, the remission period is significantly prolonged. However, resistance to therapy often develops, especially in relation

to brain metastases. In the search for effective additional drugs in combination therapy, it is advisable to study the antitumor effect of lomustine (CCNU) in HER2⁺ BC. Lomustine is not targeted, but is used to treat brain metastases, because it is known as one of the standard remedies for glioblastomas.

Aim. Evaluate the inhibitory activity of lomustine on the growth of spontaneous HER2⁺ BC in female FVB/N mice.

Materials and methods. Transgenic mice HER2⁺ aged 5–6 months were used, from which seven pairs of animals were selected (for control and treatment with lomustine) with spontaneous mammary tumors of the same size in each pair. Lomustine was administered once at a dose of 50 mg/kg (orally by gavage) followed by a 30-day follow-up. The criteria for evaluating the antitumor effect were ITG % (inhibition of tumor growth), as well as TGI (tumor growth index), calculated by the ratio of the area (S) under the kinetic curve of tumor growth in the group of animals treated with lomustine (S_e) to control (S_c). With such a comparison in the control, TGI will always be 100 %.

Results. During the observation period, the volume of BC in the control (solvent administration) increased 8-fold, while in mice treated with lomustine, the tumors regressed significantly. ITG after treatment with lomustine was 78–92 % ($p = 0.007–0.0006$, to control). The total mean S significantly differed by 5.6 times when comparing the control and lomustine groups and TGI in mice in the lomustine group was 18.8 %, while in the control it was 100 % ($p = 0.0006$).

Conclusion. Lomustine exhibits a pronounced inhibitory effect on the growth of spontaneous HER2⁺ BC in FVB/N transgenic mice. The results indicate the advisability of using lomustine in patients with HER2⁺ BC complicated by cerebral metastases.

Keywords: lomustine, HER2, transgenic mice, breast cancer, antitumor effect

For citation: Alexandrov V.A., Stukov A.N., Zmitrichenko Yu.G. et al. Inhibitory effect of lomustine on the growth of spontaneous HER2-positive mammary tumors in transgenic mice. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2024;23(1):45–50. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-1-45-50>

Введение

Гиперэкспрессия HER2 (рецептора эпидермального фактора роста человека 2-го типа, кодируемого геном *ERBB2*) определяется в 10–35 % случаев рака молочной железы (ПМЖ) человека и ассоциируется с агрессивным течением заболевания, снижением чувствительности к химио- и гормонотерапии и в целом неблагоприятным прогнозом [1]. Этот генетический подтип ПМЖ характеризуется высокой частотой метастазов в нервную систему — в среднем 20 %, но может достигать 30–55 % [2]. Для лечения HER2-положительного (HER2⁺) метастатического ПМЖ в первую очередь применяют таргетные препараты, блокирующие рецепторы HER2 (трастузумаб, адо-трастузумаб эмтанзин, лапатиниб и др.) [3]. Патогенетическая анти-HER2-терапия позволяет увеличивать сроки ремиссии и выживаемость пациентов. Однако к такой терапии часто развивается резистентность, особенно в отношении метастазов в головной мозг. В связи с этим ведется поиск различных схем химиотерапии с применением известных противоопухолевых препаратов: таксанов, антрациклинов, а также цисплатина, циклофосфида, ломустина [4, 5]. Представляет интерес изучение активности препаратов этого ряда, в частности ломустина, с целью оценки целесообразности его применения при HER2⁺ ПМЖ. Выбор основан на том, что ломустин является одним из эффективных препаратов в лечении глиобластомы [6] и также используется при выявлении метастазов в головной мозг, часто сопутствующих HER2⁺ ПМЖ. Однако целесообразность применения ломустина при HER2⁺ ПМЖ исследована недостаточно.

Цель исследования — оценить ингибирующую активность ломустина на рост спонтанного HER2⁺ ПМЖ у самок мышей FVB/N.

Материалы и методы

Лабораторные животные. В работе использовали трансгенных самок мышей линии FVB/N, гомозиготных по HER2/neu, у которых к возрасту 12–14 мес в 100 % случаев развиваются спонтанные аденокарциномы молочной железы [7]. Эти трансгенные HER2/neu-мыши первоначально получены из Центра передовых технологий исследований старения (Анкона, Италия) и в течение нескольких лет содержатся и размножаются в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» (Санкт-Петербург, Россия). Мышей содержали по 5–7 особей в полипропиленовых клетках при стандартном режиме свет/темнота (по 12 ч), при окружающей температуре 22 ± 2 °C. Животные получали стандартный лабораторный корм (ПК-120, ООО «Лабораторкорм», Москва, Россия) и водопроводную воду для питья *ad libitum*.

Препарат. В опытах использовали ломустин (содержимое капсул Ломустин медак, GmbH, Германия).

Дизайн исследования. В эксперименте использовали мышей-самок линии FVB/N в возрасте 5–6 мес с HER2⁺ опухолями молочной железы (аденокарциномами) разного размера (объемы от 139 до 600 мм³). В проспективном исследовании отобрано 14 мышей со спонтанными опухолями. Животных разделили на 7 пар таким образом, чтобы каждая мышь, получавшая ломустин, соответствовала контрольной мышью с аналогичным объемом опухоли. Ломустин

вводили перорально через зонд в дозе 50 мг/кг (в максимально переносимой дозе) однократно в виде 2,5 % водной суспензии в крахмале, так как этот препарат нерастворим в воде. Контрольным мышам перорально вводили 2,5 % крахмальную суспензию. За животными наблюдали в течение 30 дней, проводя ежедневный контроль их состояния, регулярное взвешивание и регистрацию объема опухолей после замеров. На 31-й день всех мышей подвергали вскрытию, а опухоли и другие ткани с макроскопически видимой патологией фиксировали в 10 % формалине и проводили их стандартную обработку для последующего гистологического изучения.

Критерии оценки противоопухолевого эффекта.

Активность препарата оценивали традиционными методами путем регистрации изменения объема опухолей с последующим расчетом коэффициента торможения роста опухолей (ТРО, %):

$$\text{ТРО \%} = (V_k - V_3) / V_k \times 100,$$

где V_k – средний объем опухоли в контроле, мм³; V_3 – средний объем опухоли в экспериментальной группе (у мышей, получавших ломустин), мм³.

Кроме того, определяли площадь под кинетической кривой роста опухоли, обозначая общую площадь как S , и рассчитывали индекс роста опухоли (ИРО) [8, 9]. ИРО выражает отношение S_3 в экспериментальной группе мышей, получавших ломустин, по сравнению с контролем S_k :

$$\text{ИРО \%} = S_3 / S_k \times 100.$$

Для измерения кинетики роста опухоли использовали метод трапеций [10]. ИРО является интегральным критерием действия препарата, позволяющим оценить не только степень противоопухолевой активности, но и ее продолжительность [8]. Очевидно, что ИРО в контроле всегда будет равен 100 %, тогда как в экспериментальной группе при регрессии, стабилизации или замедлении роста опухоли этот индекс будет меньше 100 %, а при стимуляции роста опухоли – больше 100 %.

Статистический анализ. Для статистической обработки результатов использовали программу GraphPad Prism версии 8.0 (GraphPad Software, Inc., США). Суммарные данные в сравниваемых парах животных рассчитывали как среднее и стандартную ошибку среднего (*SEM*). Групповые различия оценивали с помощью критерия Уилкоксона–Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Как можно видеть из данных таблицы, во всех парных группах у мышей, получавших ломустин, уже

к 11-м суткам объем опухолей достоверно уменьшался по сравнению с исходным (начало лечения) – в среднем в 5,2 раза. В контроле наблюдали быстрый рост спонтанных опухолей: на 11-е сутки – в 2,6 раза, а к 31-м суткам их объем увеличился в 8 раз. ТРО в результате введения ломустина отмечали во все сроки наблюдения (на 11, 21 и 31-е сутки). Показатель ТРО был достоверным, а его максимальное значение составило 92,3 % на 11-е сутки наблюдения.

Результаты оценки эффекта по площади под кинетической кривой роста (S) и ИРО также свидетельствовали о выраженном ингибирующем эффекте ломустина на рост спонтанного HER2⁺ РМЖ. Во всех 7 парах S_3 у мышей, получивших ломустин, была меньше, чем у соответствующих контрольных животных: минимум в 2,4 раза и максимум – в 18,5 раза. Соответственно ИРО составлял от 5,3 до 41,0 % в сравнении со 100 % в контроле. Показатель среднего значения S_3 в группе с ломустином был в 5,6 раза ниже контроля, а ИРО составил 18,8 % (в контроле 100 %; $p = 0,0006$).

Как известно, ломустин относится к соединениям из группы нитрозомочевины с алкилирующим механизмом действия [11]. Ломустин – жирорастворимое соединение, хорошо проникающее через гематоэнцефалический барьер [12]. Как видно из представленных результатов, ломустин обладает высоким ингибирующим воздействием на рост спонтанных HER2⁺ опухолей молочной железы у трансгенных мышей: ТРО составило от 92,3 до 77,8 % по сравнению с контролем ($p = 0,0006–0,007$), а ИРО – 18,8 % (100 % в контроле; $p = 0,0006$). В экспериментах мы использовали схему подбора пар мышей с одинаковыми объемами спонтанных опухолей (в группах контроля и с ломустином) и оценку эффекта при проспективном наблюдении. Такой подход в экспериментах на животных аналогичен проведению рандомизированного контролируемого клинического исследования с отбором пациентов по определенным критериям, например при определении эффективности исследуемого препарата.

В предыдущей публикации мы сообщали о тестировании активности ломустина на трансгенных мышках с HER2⁺ РМЖ, но с трансплантированным вариантом после перевивок спонтанной опухоли. В этих экспериментах суспензию опухолевых клеток трансплантировали мышам FVB/N двумя способами: внутримышечно (в бедренную мышцу) и интракраниально (в большое полушарие головного мозга). Ломустин при пероральном введении в дозе 50 мг/кг однократно ингибировал рост трансплантированного внутримышечно HER2⁺ РМЖ: ТРО составило от 96 до 52 % ($p < 0,0001$), а ИРО не превышал 33 % (против 100 % в контроле; $p < 0,001$). Лечение ломустином после интракраниальной трансплантации опухолей

Влияние ломустина на рост спонтанных HER2-позитивных опухолей молочной железы у трансгенных мышей
The effect of lomustine on the growth of spontaneous HER2-positive breast tumors in transgenic mice

Групповые пары мышей Group pairs of mice		Объем опухолей, мм ³ Tumor volume, mm ³			
		Дни от начала лечения Days from start of treatment			
		1-й* 1 st *	11-й 11 th	21-й 21 st	31-й 31 st
1	Контроль (n = 1) Control (n = 1)	139	309	538	1179
	Ломустин (n = 1) Lomustine (n = 1)	126	0	0	40
2	Контроль (n = 1) Control (n = 1)	600	600	1120	1152
	Ломустин (n = 1) Lomustine (n = 1)	600	6	0	75
3	Контроль (n = 1) Control (n = 1)	416	1210	1690	2228
	Ломустин (n = 1) Lomustine (n = 1)	426	271	115	322
4	Контроль (n = 1) Control (n = 1)	208	386	1173	3000
	Ломустин (n = 1) Lomustine (n = 1)	206	12	276	1566
5	Контроль (n = 1) Control (n = 1)	309	538	1179	3115
	Ломустин (n = 1) Lomustine (n = 1)	338	75	432	1460
6	Контроль (n = 1) Control (n = 1)	287	1208	2773	4081
	Ломустин (n = 1) Lomustine (n = 1)	322	6	6	320
7	Контроль (n = 1) Control (n = 1)	316	1577	2781	3464
	Ломустин (n = 1) Lomustine (n = 1)	322	75	350	454
Средний объем опухолей, мм ³ , торможение роста опухолей, % Tumor volume average, mm ³ , tumor growth inhibition, %					
Контроль (n = 1) Control (n = 1)		325 ± 56	833 ± 186	1608 ± 377	2603 ± 426
Ломустин (n = 1) Lomustine (n = 1)		334 ± 58	64 ± 37	168 ± 69	605 ± 241
		100 %	92,3 %	89,5 %	77,8 %
		p = 0,64	p = 0,0006	p = 0,0006	p = 0,007

*День введения крахмальной суспензии (контроль) и ломустина (50 мг/кг).

Примечание. p – достоверность к контролю.

*The day of administration of a starch suspension (control) and lomustine (50 mg/kg).

Note. p – reliability to control.

увеличивало медиану продолжительности жизни животных на 43 %, или до 30 дней, по сравнению с 21-м днем в контроле ($p < 0,001$) [13], т.е. препарат ингибировал развитие мозговых трансплантатов HER2⁺ РМЖ. Отметим, что внутричерепная трансплантация рассматривается как один из методов моделирования процесса метастазирования опухолей в головной мозг [14].

Интересные данные были получены F. Fisusi и соавт. [15], которые изучали активность ломустина и конъюгата ломустина с наночастицами (полимер МЕТ) в ортотопической модели с внутричерепной инъекцией клеток глиобластомы человека (U-87 MG) у иммунодефицитных голых мышей. Ломустин-МЕТ, но не ломустин, был эффективен и значительно

увеличивал выживаемость мышей с опухолями. К сожалению, клеточная линия глиобластомы человека U-87 MG показала низкую экспрессию HER2/neu [16, 17].

Имеются экспериментальные данные о противоопухолевом действии некоторых таргетных анти-HER2-препаратов, хотя достоверно сравнить их активность с ломустинном не представляется возможным. В частности, препарат mAb 4D5, мышинный аналог трастузумаба, изучали на модели с внутричрепной трансплантацией мышинных трансгенных клеток РМЖ, экспрессирующих HER2 человека (клеточные линии Fo2–1282 или Fo5) [18]. Этот препарат, вводимый внутривентриально 1 раз в неделю в течение 3 нед в дозах 20 и 30 мг/кг антитела, значительно увеличивал выживаемость (в среднем более чем на 50 дней). В аналогичных экспериментах трастузумаб эмтанзин (препарат Т-DM1) также повышал выживаемость мышей с интракраниально трансплантированными клетками HER2⁺ РМЖ [18].

В обзоре Е.А. Fry и соавт. [19] приводятся данные о терапевтической активности некоторых других таргетных препаратов у трансгенных мышей с HER2⁺ РМЖ. Кроме того, в настоящее время показано,

что развитие спонтанного канцерогенеза у трансгенных мышей с HER2⁺ РМЖ могут ингибировать многие синтетические и природные вещества (ресвератрол, пептид эпителина, метформин, мелатонин и пр.) с различным механизмом действия (антиоксидантным, противовоспалительным, иммуномодулирующим и др.) [19–23]. Результаты этих экспериментов относятся к химиопрофилактике рака [24]. Формально их нельзя сравнивать, поскольку химиотерапия рака представляет собой ингибирующее действие препаратов на рост уже развившихся опухолей в большинстве случаев как результат цитостатического и цитотоксического действий на опухолевые клетки.

Заключение

Ломустин проявляет выраженное противоопухолевое действие на модели спонтанного HER2⁺ РМЖ у трансгенных мышей, хотя не является анти-HER2-таргетным препаратом. Полученные нами результаты свидетельствуют о целесообразности применения ломустина у больных с HER2⁺ РМЖ как препарата с возможным действием не только на церебральные метастазы, но и на первичную опухоль.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Gheni N., Westenberg D. Quantitative real-time PCR assay with immunohistochemical evaluation of HER2/neu oncogene in breast cancer patients and its correlation with clinicopathological findings. *Indian J Pathol Microbiol* 2020;63(Suppl.):S.123–8. DOI: 10.4103/IJPM.IJPM_136_19
- Zimmer A.S., Van Swearingen A.E.D., Anders C.K. HER2-positive breast cancer brain metastasis: A new and exciting landscape. *Cancer Rep (Hoboken)* 2022;5(4):e1274. DOI: 10.1002/cnr2.1274
- Kunte S., Abraham J., Montero A.J. Novel HER2-targeted therapies for HER2-positive metastatic breast cancer. *Cancer* 2020;126(19):4278–88. DOI: 10.1002/cncr.33102
- Тюляндин С.А., Артамонова Е.В., Жукова Л.Г. и др. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака молочной железы. Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO #3s2 2022;12:155–97. DOI: 10.18027/2224-5057-2022-12-3s2-155-197
Tyulyandin S.A., Artamonova E.V., Zhukova L.G. et al. Practical recommendations for the drug treatment of breast cancer. *Zlokachestvennyye opukholi = Malignant Tumors: Practice Guidelines RUSSCO #3s2 2022;12:155–97. (In Russ.)*. DOI: 10.18027/2224-5057-2022-12-3s2-155-197
- Bredin P., Walshe J.M., Denduluri N. Systemic therapy for metastatic HER2-positive breast cancer. *Semin Oncol* 2020;47(5):259–69. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2020.07.008
- Weller M., Le Rhun E. How did lomustine become standard of care in recurrent glioblastoma? *Cancer Treat Rev* 2020;87:102029. DOI: 10.1016/j.ctrv.2020.102029
- Panchenko A.V., Popovich I.G., Trashkov A.P. et al. Biomarkers of aging, life span and spontaneous carcinogenesis in the wild type and HER-2 transgenic FVB/N female mice. *Biogerontology* 2016;17(2):317–24. DOI: 10.1007/s10522-015-9611-y
- Стуков А.Н., Иванова М.А., Никитин А.К. и др. Индекс роста опухоли как интегральный критерий эффективности противоопухолевой терапии в эксперименте. *Вопросы онкологии* 2001;47(5):616–8. PMID: 11785106
Stukov A.N., Ivanova M.A., Nikitin A.K. et al. Tumor growth index as an integral criterion for the effectiveness of antitumor therapy in the experiment. *Voprosy onkologii = Issues of oncology* 2001;47(5):616–8 (In Russ.). PMID: 11785106
- Duan F., Simeone S., Wu R. et al. Area under the curve as a tool to measure kinetics of tumor growth in experimental animals. *J Immunol Methods* 2012;382(1–2):224–8. DOI: 10.1016/j.jim.2012.06.005
- Holder D.J., Hsuan F., Dixit R., Soper K. A method for estimating and testing area under the curve in serial sacrifice, batch, and complete data designs. *J Biopharm* 1999;9(3):451–64. DOI: 10.1081/BIP-100101187
- Weiss R.B., Issell B.F. The nitrosoureas: carmustine (BCNU) and lomustine (CCNU). *Cancer Treat Rev* 1982;9(4):313–30. DOI: 10.1016/s0305-7372(82)80043-1
- Lee F.Y., Workman P., Roberts J.T., Bleehe N.M. Clinical pharmacokinetics of oral CCNU (lomustine). *Cancer Chemother Pharmacol* 1985;14(2):125–31. DOI: 10.1007/BF00434350
- Стуков А.Н., Вершинина С.Ф., Козьявин Н.А. и др. Изучение активности ломустина при перевиваемом HER2-положительном раке молочной железы у мышей линии FVB/N, трансгенных по HER2. *Сибирский онкологический журнал* 2019;18(5):54–60. DOI: 10.21294/1814-4861-2019-18-5-54-60
Stukov A.N., Verшинina S.F., Koziavin N.A. et al. Study of the effect of lomustin on HER2-positive breast cancer in FVB/N HER-2 transgenic mice. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal = Siberian Journal of Oncology* 2019;18(5):54–60 (In Russ.). DOI: 10.21294/1814-4861-2019-18-5-54-60

14. Cruz-Muñoz W., Kerbel R.S. Preclinical approaches to study the biology and treatment of brain metastases. *Semin Cancer Biol* 2011;21(2):123–30. DOI: 10.1016/j.semcancer.2010.12.001
15. Fisusi F.A., Siew A., Chooi K.W. et al. Lomustine nanoparticles enable both bone marrow sparing and high brain drug levels – A strategy for brain cancer treatments. *Pharm Res* 2016;33(5):1289–303. DOI: 10.1007/s11095-016-1872-x
16. Mineo J.F., Bordron A., Quintin-Roué I. et al. Recombinant humanised anti-HER2/neu antibody (Herceptin) induces cellular death of glioblastomas. *Br J Cancer* 2004;91(6):1195–9. DOI: 10.1038/sj.bjc.6602089
17. Cui H., Cheng Y., Piao S.Z. et al. Correlation between HER-2/neu(erbB-2) expression level and therapeutic effect of combination treatment with HERCEPTIN and chemotherapeutic agents in gastric cancer cell lines. *Cancer Cell Int* 2014;14(1):10. DOI: 10.1186/1475-2867-14-10
18. Lewis Phillips G.D., Nishimura M.C., Lacap J.A. et al. Trastuzumab uptake and its relation to efficacy in an animal model of HER2-positive breast cancer brain metastasis. *Breast Cancer Res Treat* 2017;164(3):581–91. DOI: 10.1007/s10549-017-4279-4
19. Fry E.A., Taneja P., Inoue K. Clinical applications of mouse models for breast cancer engaging HER2/neu. *Integr Cancer Sci Ther* 2016;3(5):593–603. DOI: 10.15761/ICST.1000210
20. Provinciali M., Re F., Donnini A. et al. Effect of resveratrol on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice. *Int J Cancer* 2005;115(1):36–45. DOI: 10.1002/ijc.20874
21. Anisimov V.N., Khavinson V.K., Provinciali M. et al. Inhibitory effect of the peptide epitalon on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice. *Int J Cancer* 2002;101(1):7–10. DOI: 10.1002/ijc.10570
22. Anisimov V.N., Berstein L.M., Egormin P.A. et al. Effect of metformin on life span and on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice. *Exp Gerontol* 2005;40(8-9):685–93. DOI: 10.1016/j.exger.2005.07.007
23. Anisimov V.N., Alimova I.N., Baturin D.A. et al. The effect of melatonin treatment regimen on mammary adenocarcinoma development in HER-2/neu transgenic mice. *Int J Cancer* 2003;103(3):300–5. DOI: 10.1002/ijc.10827
24. Al Rabadi L., Bergan R. A way forward for cancer chemoprevention: Think local. *Cancer Prev Res (Phila)* 2017;10(1):14–35. DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-16-0194

Вклад авторов

В.А. Александров: концепция, анализ полученных результатов, написание статьи;
 А.Н. Стуков: дизайн опытов, проведение экспериментов и систематизация материала;
 Ю.Г. Змитриченко, О.А. Беляева: проведение экспериментов на животных и систематизация материала;
 Г.В. Точильников: редактирование текста статьи, финальное утверждение рукописи.

Author's contributions:

V.A. Alexandrov: concept and design of experiments, analysis of the results, writing an article;
 A.N. Stukov: design of experiments, conducting experiments and systematizing the material;
 Yu.G. Zmitrichenko, O.A. Belyaeva: conducting experiments and systematizing the material;
 G.V. Tochilnikov: article editing, final approval of the manuscript.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.А. Александров / V.A. Alexandrov: <https://orcid.org/0000-0002-0019-2685>
 А.Н. Стуков / A.N. Stukov: <https://orcid.org/0000-0002-1741-6630>
 Ю.Г. Змитриченко / Yu.G. Zmitrichenko: <https://orcid.org/0000-0002-9137-9532>
 О.А. Беляева / O.A. Belyaeva: <https://orcid.org/0009-0004-2201-5796>
 Г.В. Точильников / G.V. Tochilnikov: <https://orcid.org/0000-0003-4232-8170>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Funding. The work was performed without external funding.

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

Compliance with principles of bioethics. The study was carried out in accordance with the ethical standards for the treatment of animals adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrates Used for Research and Other Scientific Purposes.

Статья поступила: 28.06.2023. Принята в печать: 26.11.2023.

Article received: 28.06.2023. Accepted for publication: 26.11.2023.