

# Оценка противоопухолевой активности 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиола (хлонизола) у мышей C57BL/6 с трансплантированной интракраниально меланомой B16

Муразов Я. Г., Стуков А. Н., Змитриченко Ю. Г., Нюганен А. О., Точильников Г. В., Латипова Д. Х., Филатова Л. В., Семиглазова Т. Ю.

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

**Аннотация.** *Актуальность.* Арсенал средств противоопухолевой терапии метастазов меланомы в головной мозг ограничен. Актуальным остаётся поиск и изучение новых средств, способных проникать через гематоэнцефалический барьер и оказывать терапевтический эффект в отношении интракраниальных опухолевых очагов. *Цель.* Оценить противоопухолевую активность отечественного производного нитрозоалкилмочевин хлонизола у мышей с трансплантированной интракраниально сингенной меланомой B16. *Методы.* Эксперимент был проведён на 18 инбредных мышках самках линии C57BL/6. После интракраниальной трансплантации опухоли, выполненной по модифицированной методике, животные были рандомизированы в две группы: I. Контроль ( $n = 10$ ) – животным однократно внутривентриально вводили 0,9 % раствор натрия хлорида в объёме 10 мл/кг; II. Хлонизол ( $n = 8$ ) – животным однократно внутривентриально вводили тестируемое соединение в дозе 15 мг/кг в 0,9 % раствора натрия хлорида. Введение 0,9 % раствора натрия хлорида и хлонизола выполняли через 24 часа после трансплантации опухоли. Конечной точкой исследования была оценка общей выживаемости (ОВ) животных. *Результаты.* По сравнению с контрольной группой введение хлонизола значительно увеличило медиану ОВ мышей с 13 до 18 дней (логранговый тест,  $p = 0,0005$ ). В группе хлонизола установлено достоверное снижение риска смерти животных на 71 % по сравнению с контрольной группой (HR = 0,29; 95% CI 0,10–0,82). К 15-му дню после интракраниальной трансплантации меланомы B16 все 10 мышей контрольной группы погибли от внутримозговой опухоли (100 %), а в группе хлонизола погибли 2 из 8 (25 %) мышей (точный критерий Фишера,  $p = 0,0015$ ). *Заключение.* Несмотря на разведочный характер представленного исследования, его результаты могут служить обоснованием для дальнейшего изучения хлонизола при опухолевых поражениях головного мозга.

**Ключевые слова:** меланома; интракраниальная опухоль; метастазы в головной мозг; хлонизол; доклинические исследования

## Для цитирования:

Муразов Я.Г., Стуков А.Н., Змитриченко Ю.Г., Нюганен А.О., Точильников Г.В., Латипова Д.Х., Филатова Л.В., Семиглазова Т.Ю. Оценка противоопухолевой активности 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиола (хлонизола) у мышей C57BL/6 с трансплантированной интракраниально меланомой B16. *Фармакокинетика и фармакодинамика.* 2021;(1):23–29. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2021-1-23-29>

**Поступила:** 14 октября 2020 г. **Принята:** 28 октября 2020 г. **Опубликована:** 20 февраля 2021 г.

## Evaluation of the antitumor activity of 2-[3-(2-chloroethyl)-3-nitrosoureido]-1,3-propanediol (chlolisol) in C57BL/6 mice with intracranially transplanted B16 melanoma

Murazov YaG, Stukov AN, Zmitrichenko YuG, Niuganen AO, Tochilnikov GV, Latipova DH, Filatova LV, Semiglazova TYu  
NMRC of Oncology named after N.N. Petrov of MoH of Russia, Saint-Petersburg, Russia

**Abstract.** *Background.* The arsenal of antitumor drug therapy for melanoma brain metastases is limited. The search and study of new agents capable to penetrate the blood-brain barrier and provide a therapeutic effect against intracranial tumors remains an unmet clinical need. *The aim* is to evaluate the antitumor activity of the domestic derivative of nitrosoalkylureas, chlolisol, in mice with intracranially transplanted syngeneic B16 melanoma. *Methods.* The experiment was carried out in 18 female inbred C57BL/6 mice. After intracranial tumor transplantation, performed according to modified technique, the animals were randomized into two groups: I. Control ( $n = 10$ ) – the animals were injected with normal saline 10 ml/kg intraperitoneally; II. Chlolisol ( $n = 8$ ) – the animals were treated with the test compound at a dose of 15 mg/kg in normal saline intraperitoneally. The single administration of normal saline and chlolisol was performed 24 hours after tumor transplantation. The end point of the study was overall survival (OS) of the animals. *Results.* Compared with the control group, administration of chlolisol significantly increased the median OS of mice from 13 to 18 days (log rank test,  $p = 0.0005$ ). Chlolisol significantly decreased the risk of death by 71 % compared with the control group (HR = 0.29; 95% CI 0.10–0.82). By the 15th day after intracranial transplantation of B16 melanoma, all 10 mice in the control group died from intracerebral tumors (100 %), whereas in the chlolisol group only 2 out of 8 (25 %) mice died (Fisher's exact test,  $p = 0.0015$ ). *Conclusion.* Despite the exploratory nature of the present study, it provides a good starting point for further research of chlolisol in brain tumors.

**Keywords:** melanoma; intracranial tumor; brain metastases; chlolisol; preclinical studies

## For citations:

Murazov YaG, Stukov AN, Zmitrichenko YuG, Niuganen AO, Tochilnikov GV, Latipova DH, Filatova LV, Semiglazova TYu. Evaluation of the antitumor activity of 2-[3-(2-chloroethyl)-3-nitrosoureido]-1,3-propanediol (chlolisol) in C57BL/6 mice with intracranially transplanted B16 melanoma. *Farmakokinetika i farmakodinamika.* 2021;(1):23–29. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2021-1-23-29>

**Received:** October 14, 2020. **Accepted:** October 28, 2020. **Published online:** February 20, 2021

## Введение / Introduction

Количество опухолей, метастазирующих в головной мозг (ГМ), значительно превышает количество первичных опухолей ГМ. Наиболее часто метастазы в центральной нервной системе (ЦНС) наблюдаются при опухолях лёгкого, молочной железы и меланоме. Меланома имеет наибольший риск метастазирования в ЦНС среди этих наиболее частых опухолей у человека. У 40–60 % пациентов с метастатической меланомой появятся метастазы в ЦНС, а по данным аутопсии до 80 % пациентов имеют поражение ЦНС. Метастазирование меланомы в ЦНС (ГМ) является основной причиной гибели пациентов от этого заболевания. Медиана общей выживаемости (ОВ) этой категории больных составляет 4–6 месяцев [1]. К сожалению, даже сегодня терапия метастазов меланомы в ГМ носит паллиативный характер и включает лучевую терапию, хирургические методы или их комбинацию. При этом медиана ОВ не превышает одного года [2, 3]. Определённые успехи были достигнуты в таргетной терапии метастазов в ЦНС меланомы с мутациями BRAF<sup>V600</sup> [4]. В последние годы результаты клинических исследований ингибиторов иммунных контрольных точек (иИКТ: анти-PD-1, анти-PD-L1, анти-CTLA-4 моноклональные антитела) продемонстрировали обнадеживающие результаты при метастазах меланомы в ГМ. При этом следует учитывать, что в исследованиях иИКТ ожидаемо лучший эффект наблюдался при наличии бессимптомных метастазов в ГМ, а пациенты с симптомными метастазами в ГМ чаще всего исключались из исследований, или эффективность иИКТ у них была низкой [2]. К сожалению, из-за «финансовой токсичности» доступ к терапии иИКТ ограничен. Следует отметить, что исключение пациентов с метастазами в ЦНС/ГМ из клинических исследований характерно не только для иИКТ, но и для других лекарственных средств, что, несомненно, осложняет принятие решения о назначении терапии у этой категории больных. Поиск эффективных и доступных средств лекарственной терапии метастазов меланомы в ГМ остаётся актуальной задачей современной онкофармакологии.

Химиотерапия при метастазах в ГМ применяется нечасто из-за её низкой способности проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) [5]. В историческом плане это было основной причиной исключения пациентов с метастазами в ЦНС из клинических исследований средств химиотерапии. Тем не менее, алкилирующий агент темозоломид долго применялся для лечения метастазов меланомы в ГМ, несмотря на уровень интракраниального клинического ответа 3–7 % [6]. В рамках клинического исследования I/II фазы была предпринята попытка комбинации темозоломида с представителем класса нитрозоалкилмочевин (НАМ) ломустинном. Данная комбинация оказалась неэффективной у пациентов с метастазами меланомы в ГМ [7].

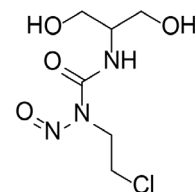
В результате многолетних исследований, проводившихся в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, был получен перспективный противоопухолевый агент из класса НАМ хлонизол [8]. Хлонизол относится к группе алкилнитрозоуреидопропандиолов и на доклиническом этапе показал более выраженную противоопухолевую активность в сравнении с другим представителем класса НАМ ломустинном. Соотношение площадей под кривыми «концентрация–время» в ГМ и крови интактных животных ( $AUC_{ГМ}/AUC_{кровь}$ ) для хлонизола составило 9,5. Это указывает на высокую способность хлонизола проникать через гематоэнцефалический барьер [9].

В эксперименте для моделирования метастатического поражения ГМ при меланоме часто используется сингенный штамм меланомы B16. Трансплантация штамма осуществляется мышам C57BL/6 в сонную артерию или сердце [10, 11], непосредственно в полушарие ГМ [12] или в стриатум с использованием стереотаксического оборудования [3]. В нашем исследовании трансплантацию опухоли выполняли по методике, являющейся модификацией метода внутримозгового заражения мышей вирусом бешенства [13].

*Цель эксперимента* – оценить противоопухолевую активность хлонизола у мышей C57BL/6 при интракраниальной трансплантации меланомы B16.

## Материалы и методы / Materials and methods

*Характеристика тестируемого объекта.* Хлонизол (2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиол) относится к классу НАМ (рис. 1). Молекулярные механизмы действия НАМ связаны с алкилированием и карбомоилированием макромолекул продуктами биodeградации соединений. По уровню цитогенетической активности хлонизол превосходит все другие исследованные ранее препараты класса НАМ [8, 14].



**Рис. 1.** 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиол (хлонизол)

**Figure 1.** 2-[3-(2-chloroethyl)-3-nitrosoureido]-1,3-propanediol (chlonisol)

*Животные, их содержание и использование.* Эксперимент был проведён на 18 инбредных мышях самках линии C57BL/6, полученных из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская область, Россия). Уход и все манипуляции с животными выполнялись в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, исполь-

зубаемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123), Директивой Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС о защите животных, использующихся для научных целей. Протокол был одобрен локальным этическим комитетом. Животные содержались в конвенциональном виварии в стандартных условиях: температура воздуха 20–24 °С, относительная влажность 50–60 %, 12-часовой цикл светлого/тёмного времени суток. Мыши получали полнорационный брикетированный комбикорм производства компании «Лабораторкорм» (Москва, Россия) и водопроводную питьевую воду *ad libitum*.

**Дизайн эксперимента.** После трансплантации опухоли животные были рандомизированы в две группы: I. Контроль ( $n = 10$ ) – мышам внутривентриально однократно вводили 0,9 % раствор натрия хлорида в объёме 10 мл/кг; II. Хлонизол ( $n = 8$ ) – животным однократно внутривентриально вводилось тестируемое соединение в дозе 15 мг/кг в 0,9 % раствора натрия хлорида. Введение 0,9 % раствора натрия хлорида и хлонизола выполняли через 24 часа после трансплантации опухоли.

**Интракраниальная трансплантация меланомы B16.** Мышам под изофлурановым наркозом (индукция – 3 %, поддержание 1,5 %) в условиях операционной вивария в надглазничную область вблизи срединной линии головы вводили укороченную до 3 мм и вновь заточенную инъекционную иглу (23 G), через которую инокулировали 10 % взвесь опухолевых клеток в стерильном 0,9 % растворе натрия хлорида в объёме 0,025 мл на одно животное.

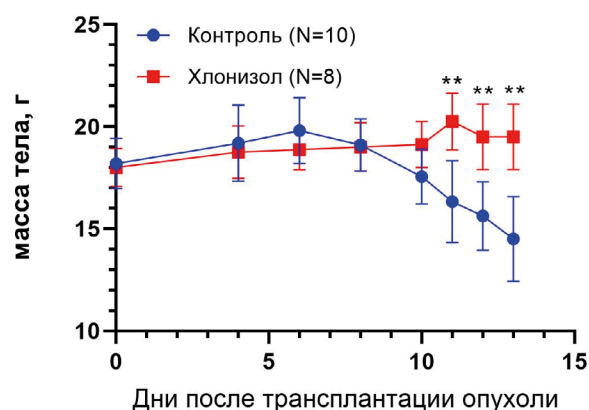
**Оцениваемые параметры.** Конечной точкой исследования была общая выживаемость (ОВ) животных. ОВ определялась как время со дня трансплантации опухоли до дня гибели животного или эвтаназии в терминальном состоянии. В течение эксперимента определяли динамику массы тела мышей в двух группах. Павших и забитых в терминальном состоянии животных подвергали полной аутопсии. Череп с ГМ фиксировали в 10 % нейтральном формалине в соотношении 1:20. После фиксации материал подвергался вырезке в сагиттальной и фронтальной плоскостях на фрагменты толщиной не более 3 мм. Далее фрагменты подвергались декальцинации в декальцинирующем растворе СофтиДЕК (Биовитрум, Россия) в соотношении 1:20 при температуре 22 °С в автоматическом ультразвуковом декальцификаторе USE 33 Medite (Германия) в течение 24 часов. После декальцинации материал отправляли в стандартную проводку в процессоре Logos Microwave Hybrid Tissue Processor (Milestone, Италия). Проведённый материал заливали в парафиновые блоки и далее изготавливали срезы на микротоме Microm HM 340E (Thermo scientific, США). Полученные парафиновые срезы толщиной 3–4 мкм окрашивали гематоксином Майера и водным раствором эозина по стандартной методике в автоматическом гистостейнере Leica CV 5030 (Leica

Microsystems, Германия). Готовые микропрепараты, окрашенные гематоксилином и эозином, отсканированы с помощью сканера гистологических препаратов Pannoramic 250 (3D Histech, Венгрия). Микрофотографии гистологических срезов выполнены с помощью программного обеспечения Case Viewer (3D Histech, Венгрия).

**Статистический анализ.** Статистическую обработку результатов эксперимента проводили с помощью пакета GraphPad Prism версии 8.0. Критерий Манна–Уитни использовали для сравнения количественных данных. Для сравнения категориальных переменных применяли точный критерий Фишера. Данные по ОВ животных графически представлены в виде кривых Каплана–Мейера. Для сравнения кривых ОВ применяли логранговый критерий. Все критерии были двусторонними. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Отношение рисков (Hazard Ratio, HR) и границы его 95 % доверительного интервала (95 % CI) рассчитывали с помощью регрессионной модели Кокса.

## Результаты и обсуждение / Results and discussion

Степень энграфтмента опухоли составила 100 %. Рост трансплантированной интракраниально меланомы B16 сопровождался ухудшением общего состояния мышей (вялость, снижение потребления корма), снижением массы тела, клонико-тоническими судорогами. Все эти проявления роста внутримозговой опухоли были менее выражены у мышей в группе хлонизола и происходили в более поздние сроки, чем в контрольной группе. Динамика массы тела в двух группах представлена на рис. 2.



**Рис. 2.** Динамика массы тела животных  
**Figure 2.** Course of mean body weight of animals

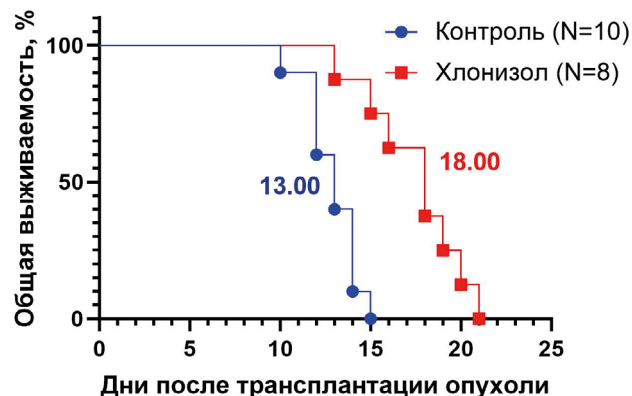
**Примечания:** Каждая точка представлена в виде среднего и стандартного отклонения минимум 4 измерений. \*\* – критерий Манна–Уитни, разница между группами статистически значима,  $p \leq 0,01$ .

**Notes:** Each data point represents mean (SD) of minimum 4 measurements. \*\* – significant Mann-Whitney test,  $p \leq 0.01$



Опухолеспецифическая летальность животных составила 100 %. На аутопсии животных макроскопически определялась деформация черепа и асимметрия полушарий ГМ. При микроскопическом исследовании срезов черепа с ГМ мышей наблюдали солидные поля эпителиоидных резко атипичных клеток с выраженным полиморфизмом и высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением. Опухолевые клетки имеют эозинофильную цитоплазму и округлые или овальные ядра с крупными эозинофильными ядрышками. Перитуморальная лимфоидная инфильтрация во всех случаях была крайне скудной или вовсе отсутствовала. Продукция меланоцитарного пигмента была умеренно выраженная. Отмечалась инвазия опухоли в окружающие ткани с обширной деструкцией костей черепа (рис. 3).

Кривые общей выживаемости животных представлены на рис. 4. Медиана ОБ в контрольной группе составила 13 дней, а в группе хлонизола – 18 дней. Хлонизол статистически значимо увеличивал продолжительность жизни мышей с трансплантированной интракраниально меланомой В16 (логранговый тест,  $p = 0,0005$ ). Введение хлонизола значимо снижало риск смерти животных на 71 % по сравнению с контрольной группой (HR = 0,29; 95 % CI 0,10–0,82).

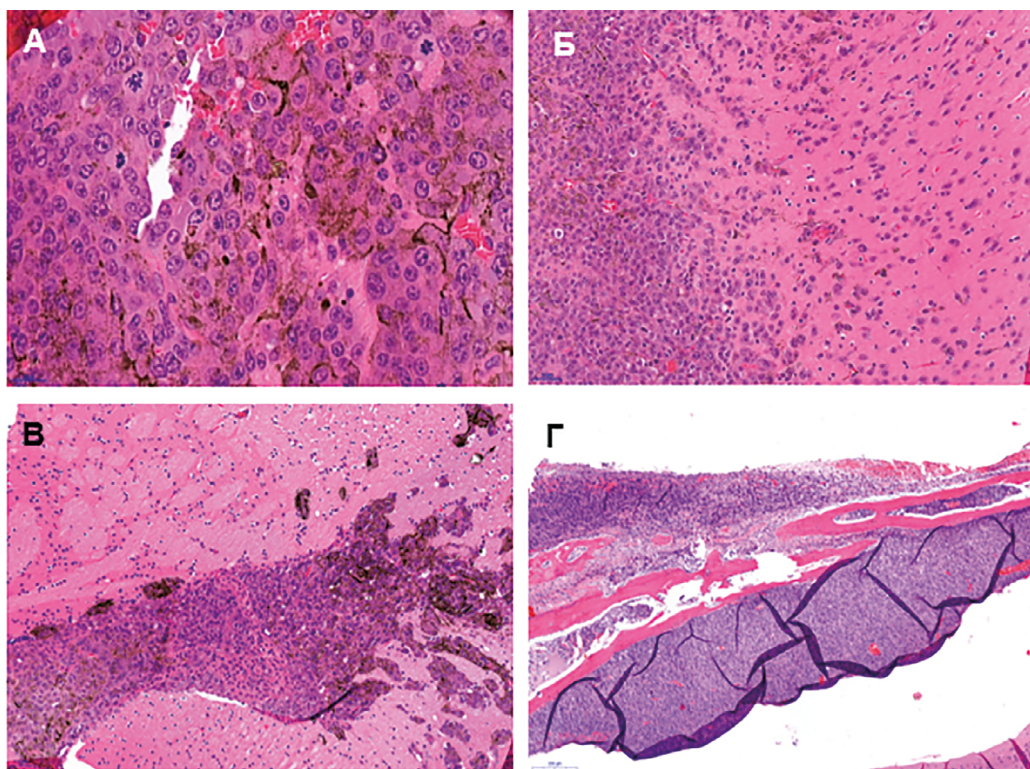


**Рис. 4.** Кривые Каплана–Мейера ОБ мышей в двух группах

**Figure 4.** Kaplan–Meier survival curves for two groups of mice

*Примечания:* Представлена медиана ОБ. Различия в ОБ статистически значимы; логранговый тест,  $p = 0,0005$ .

*Notes:* Median OS is presented. The difference in OS is statistically significant, log-rank test,  $p = 0,0005$ .



**Рис. 3.** Микрофотографии опухолей после интракраниальной трансплантации меланомы В16 мышам C57BL/6

**Figure 3.** Microscopic tumor view after intracranial transplantation of B16 melanoma in C57BL/6 mice

*Примечания:* А – очаг меланомы В16 с пигментом, гематоксилин/эозин,  $\times 660$ ; Б – ткань головного мозга с опухолевой инвазией, гематоксилин/эозин,  $\times 210$ ; В – инвазивный рост меланомы в ткани ГМ, гематоксилин/эозин,  $\times 170$ ; Г – деструкция костей черепа в результате роста опухоли, гематоксилин/эозин,  $\times 80$ .

*Notes:* A – lesion of B16 melanoma with pigment, haematoxylin and eosin,  $\times 660$ ; Б – brain tissue with tumor invasion, haematoxylin and eosin,  $\times 210$ ; В – invasive growth of melanoma in brain tissue, haematoxylin and eosin,  $\times 170$ ; Г – destruction of the skull bones as a result of tumor growth, haematoxylin and eosin,  $\times 80$ .

К 15-му дню после интракраниальной трансплантации меланомы В16 все 10 мышей контрольной группы погибли от внутримозговой опухоли (100 %), а в группе хлонизола погибли 2 из 8 (25 %) мышей (точный критерий Фишера,  $p = 0,0015$ ).

### Заключение / Conclusion

Впервые на собственной модификации метода интракраниальной трансплантации меланомы В16 установлена противоопухолевая активность отечественного соединения класса НАМ хлонизола при однократном внутривентриальном введении в дозе 15 мг/кг. Несмотря на разведочный характер проведенного исследования и небольшое количество животных, полученные результаты могут служить обоснованием для дальнейшего направленного изучения хлонизола при опухолевых поражениях ЦНС.

### ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFORMATION

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Участие авторов.** Муразов Я.Г. – сбор и систематизация материала, написание текста статьи; Стуков А.Н. – концепция, сбор и систематизация материала, критические замечания; Змитриченко Ю.Г. – сбор и систематизация материала; Нюганен А.О. – гистологическая обработка материала, редактирование текста статьи; Точильников Г.В., Латипова Д.Х., Филатова Л.В. – редактирование текста статьи; Семиглазова Т.Ю. – критические замечания.

### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Муразов Ярослав Геннадьевич**  
*Автор, ответственный за переписку*

e-mail: yaroslav84@yandex.ru  
ORCID ID: 0000-0002-6573-3112  
SPIN-код: 2770-5375

к. б. н., н. с. научной лаборатории химиопрофилактики рака и онкофармакологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

**Murazov Yaroslav G.**  
*Corresponding author*

e-mail: yaroslav84@yandex.ru  
ORCID ID: 0000-0002-6573-3112  
SPIN code: 2770-5375

PhD in Biological Sci., Research Scientist, Scientific Laboratory of Cancer Chemoprevention and Oncopharmacology, FSBI «N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia

**Стуков Александр Николаевич**

e-mail: stukov2008@yandex.ru  
ORCID ID: 0000-0002-1741-6630  
SPIN-код: 4652-8674

д. м. н., с. н. с. научного отдела инновационных методов терапевтической онкологии и реабилитации ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

**Stukov Alexander N.**

e-mail: stukov2008@yandex.ru  
ORCID ID: 0000-0002-1741-6630  
SPIN code: 4652-8674

Dr. Sci. (Med.), Senior Research Scientist, Department of Innovative methods of Therapeutic Oncology and Rehabilitation, FSBI «N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia

**Змитриченко Юлия Геннадьевна**

e-mail: zmitrichenko@gmail.com  
ORCID ID: 0000-0002-9137-9532

м. н. с. научной лаборатории химиопрофилактики рака и онкофармакологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

**Zmitrichenko Yuliya G.**

e-mail: zmitrichenko@gmail.com  
ORCID ID: 0000-0002-9137-9532

Junior Research Scientist, Scientific Laboratory of Cancer Chemoprevention and Oncopharmacology, FSBI «N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia

**Нюганен Анна Олеговна**

e-mail: annanyuganen@gmail.com

ORCID ID: 0000-0003-2685-5093

SPIN-код: 2357-6059

врач-патологоанатом патологоанатомического  
отделения ФГБУ «НМИЦ онкологии им.  
Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-  
Петербург, Россия

**Nyuganen Anna O.**

e-mail: annanyuganen@gmail.com

ORCID ID: 0000-0003-2685-5093

SPIN code: 2357-6059

Pathologist, Department of Pathology, FSBI  
«N.N. Petrov National Medical Research Center  
of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the  
Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia

**Точильников Григорий Викторович**

e-mail: gr75@mail.ru

ORCID ID: 0000-0003-4232-8170

SPIN-код: 4366-6930

к. м. н., и. о. заведующего научной  
лаборатории химиопрофилактики рака и  
онкофармакологии ФГБУ «НМИЦ онкологии  
им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-  
Петербург, Россия

**Tochilnikov Grigory V.**

e-mail: gr75@mail.ru

ORCID ID: 0000-0003-4232-8170

SPIN code: 4366-6930

PhD Med. Sci., acting Head of the Scientific Labo-  
ratory of Cancer Chemoprevention and Oncop-  
harmacology, FSBI «N.N. Petrov National Medical  
Research Center of Oncology» of the Ministry  
of Healthcare of the Russian Federation, Saint-  
Petersburg, Russia

**Латипова Дилором Хамидовна**

e-mail: dilat77@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-8906-0370

SPIN-код: 5124-5881

к. м. н., врач-онколог, химиотерапевт ФГБУ  
«НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова»  
Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

**Latipova Dilorom V.**

e-mail: dilat77@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-8906-0370

SPIN code: 5124-5881

PhD Med. Sci., Oncologist, chemotherapist, FSBI  
«N.N. Petrov National Medical Research Center  
of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the  
Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia

**Филатова Лариса Валентиновна**

e-mail: larisa\_filatova@list.ru

ORCID ID: 0000-0002-0728-4582

SPIN-код: 2564-9233

д. м. н., врач-онколог ФГБУ «НМИЦ онкологии  
им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-  
Петербург, Россия

**Filatova Larisa V.**

e-mail: larisa\_filatova@list.ru

ORCID ID: 0000-0002-0728-4582

SPIN code: 2564-9233

Dr. Sci. (Med.), oncologist, FSBI «N.N. Petrov Na-  
tional Medical Research Center of Oncology» of  
the Ministry of Healthcare of the Russian Federa-  
tion, Saint-Petersburg, Russia

**Семиглазова Татьяна Юрьевна**

e-mail: tsemiglazova@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-4305-6691

SPIN-код: 9773-3759

д. м. н., профессор, в. н. с. научного отдела  
инновационных методов терапевтической  
онкологии и реабилитации, заведующая  
научным отделом инновационных методов  
терапевтической онкологии и реабилитации  
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова»  
Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

**Semiglazova Tatiana Yu.**

e-mail: tsemiglazova@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-4305-6691

SPIN code: 9773-3759

Dr. Sci. (Med.), professor, Leading researcher,  
Scientific Department of Innovative methods of  
Therapeutic oncology and Rehabilitation, Head of  
the Scientific Department of Innovative methods  
of Therapeutic oncology and Rehabilitation, FSBI  
«N.N. Petrov National Medical Research Center  
of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the  
Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia

## Литература / References

1. Cohen JV, Tawbi H, Margolin KA, et al. Melanoma central nervous system metastases: current approaches, challenges, and opportunities. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2016;29(6):627–642. DOI:10.1111/pcmr.12538.
2. Di Giacomo AM, Valente M, Cerase A, et al. Immunotherapy of brain metastases: breaking a "dogma". *J Exp Clin Cancer Res.* 2019;38(1):419. DOI:10.1186/s13046-019-1426-2.
3. Taggart D, Andreou T, Scott KJ, et al. Anti-PD-1/anti-CTLA-4 efficacy in melanoma brain metastases depends on extracranial disease and augmentation of CD8+ T cell trafficking. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018;115(7): E1540–E1549. DOI:10.1073/pnas.1714089115.
4. Glitza Oliva I, Tawbi H, Davies MA. Melanoma Brain Metastases: Current Areas of Investigation and Future Directions. *Cancer J.* 2017;23(1):68–74. DOI:10.1097/PPO.0000000000000237.
5. Ostrom QT, Wright CH, Barnholtz-Sloan JS. Brain metastases: epidemiology. *Handb Clin Neurol.* 2018; 149:27–42. DOI:10.1016/B978-0-12-811161-1.00002-5.
6. Agarwala SS, Kirkwood JM, Gore M, et al. Temozolomide for the treatment of brain metastases associated with metastatic melanoma: a phase II study. *J Clin Oncol.* 2004;22(11):2101–2107. DOI:10.1200/JCO.2004.11.044.
7. Larkin JM, Hughes SA, Beirne DA, et al. A phase I/II study of lomustine and temozolomide in patients with cerebral metastases from malignant melanoma. *Br J Cancer.* 2007;96(1):44–48. DOI:10.1038/sj.bjc.6603503.
8. Stukov AN, Esikov KA, Usmanova LM, et al. Synthesis and antitumor activity of 2-[3-(2-chloroethoxy)-3-nitrosoureido]-1,3-propanediol (chlonisol). *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2020;54(6):579–581. DOI: 10.1007/s11094-020-02242-7.
9. Островская Л.А., Филов В.А., Ивин Б.А. и др. Хлонизол – новый эффективный противоопухолевый препарат из класса нитрозоалкилмочевин. *Российский биотерапевтический журнал.* 2004;3(1):37–48. [Ostrovskaya LA, Filov VA, Ivin BA, et al. Chlonizol – the new alkylnitrosourea drug with antitumor activity. *Russian biotherapeutic journal.* 1998;3(1):37–48 (In Russ).].
10. Aboody KS, Najbauer J, Schmidt NO, et al. Targeting of melanoma brain metastases using engineered neural stem/progenitor cells. *Neuro Oncol.* 2006;8(2):119–126. DOI:10.1215/15228517-2005-012.
11. Kircher DA, Silvis MR, Cho JH, Holmen SL. Melanoma Brain Metastasis: Mechanisms, Models, and Medicine. *Int J Mol Sci.* 2016;17(9):1468. DOI:10.3390/ijms17091468.
12. Staib L, Harel W, Mitchell MS. Protection against experimental cerebral metastases of murine melanoma B16 by active immunization. *Cancer Res.* 1993;53(5):1113–1121.
13. Стуков А.Н., Филатова Л.В., Латипова Д.Х. и др. Терапевтическая активность гемцитабина при интракраниальных опухолях. *Вопросы онкологии.* 2015;61(2):274–754. [Stukov AN, Filatova LV, Latipova DKh, et al. Therapeutic activity of gemcitabine in intracranial tumors. *Voprosy onkologii.* 2015;61(2):274–279. (In Russ).].
14. Коньков С.А., Стуков А.Н., Резцова В.В. и др. Алкилнитрозоуреидодиоксаны и алкилнитрозоуреидопропандиолы – новые группы противоопухолевых соединений // *Вопр. онкологии.* 1998;44(1):97–99. [Kon'kov SA, Stukov AN, Rezcova VV, et al. Alkylnitrozoureidodioksany i alkylnitrozoureidopropandioly – novye gruppy protivopukhovevnykh soedinenij. *Voprosy onkologii.* 1998;44(1):97–99. (In Russ).].