

## ХІРУРГІЯ

УДК 619.617:636.7

## Перспективні напрями консервативного лікування сук із пухлинами молочної залози (оглядова інформація)

Білий Д.Д.<sup>1</sup>, Рубленко М.В.<sup>2</sup>, Самойлюк В.В.<sup>1</sup>, Спіцина Т.Л.<sup>1</sup><sup>1</sup> Дніпровський державний аграрно-економічний університет<sup>2</sup> Білоцерківський національний аграрний університет✉ Білий Д.Д. dmdmbeliy@ukr.net; Рубленко М.В. hiryrnya@ukr.net;  
Самойлюк В.В. samouluk1966@ukr.net; Спіцина Т.Л. spitsina@ua.fm

Білий Д.Д., Рубленко М.В., Самойлюк В.В., Спіцина Т.Л. Перспективні напрями консервативного лікування сук із пухлинами молочної залози (оглядова інформація). Науковий вісник ветеринарної медицини, 2021. № 1. С. 179–190.

Bilyi D., Rublenko M., Samoiliuk V., Spitsyna T. Perspective directions of bitches conservative treatment with breast tumors (review information). *Nauk. visn. vet. med.*, 2021. №1. PP. 179–190.

Рукопис отримано: 27.01.2021 р.

Прийнято: 12.02.2021 р.

Затверджено до друку: 25.05.2021 р.

Doi: 10.33245/2310-4902-2021-165-1-179-190

Проблема лікування пухлин у собак залишається актуальною, що зумовлено складністю патогенетичних каскадів, відсутністю єдиних методологічних підходів до діагностики та лікування онкохворих пацієнтів, недостатньою кількістю тварин у групах, описовим характером представлених результатів, некоректністю «механічного» запозичення терапевтичних протоколів із гуманної медицини. Запропоновані схеми лікування не забезпечують отримання бажаних результатів, реєструють стійку тенденцію до збільшення кількості дрібних домашніх тварин із пухлинами молочної залози. Тому актуальним є пошук альтернативних методів лікування собак із неоплазіями молочної залози, серед яких, насамперед, слід виділити застосування нестероїдних протизапальних засобів, які мають позитивний ефект завдяки пригніченню експресії циклооксигенази-2, активації апоптозу та інгібуванням міграції ракових клітин. Потенційно ефективними терапевтичними методами є електропорація та електрохіміотерапія, які дають змогу суттєво збільшити концентрацію хіміотерапевтичного засобу в ракових клітинах на тлі мінімальної токсичності для здорових тканин. Важливе значення гіперкоагуляції в механізмах розвитку та прогресування новоутворень молочної залози у собак обґрунтовує доцільність застосування антитромбічної терапії в онкохворих пацієнтів, насамперед низькомолекулярних гепаринів, які дають змогу покращити ефективність терапевтичних протоколів та профілакувати метастазування пухлин. Зазначені методи у складі комплексних схем лікування збільшують ефективність загальноприйнятих протоколів хіміо- та променевої терапії, а також хірургічного втручання. Однак, потрібні подальші дослідження патогенетичних аспектів дії зазначених методів лікування за пухлин молочної залози у сук та вивчення можливості їх поєднання з іншими терапевтичними схемами.

**Ключові слова:** суки, неоплазії молочної залози, протоколи лікування, нестероїдні протизапальні засоби, електропорація, антитромбічна терапія.

Перша частина статті опублікована в науковому журналі ветеринарної медицини.

*Білий Д.Д., Рубленко М.В., Самойлюк В.В., Спіцина Т.Л. Перспективні напрями консервативного лікування собак із пухлинами молочної залози (огляд літератури). Частина 1 – НПЗП. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 2. С. 166–174.*

**Електропорація та електрохіміотерапія за лікування раку молочної залози.** Лікування раку у ветеринарній медицині продовжує розвиватись за межами загальноприйнятих стандартних хірургічних, хіміотерапевтичних методів та протоколів променевої терапії. Нові технології у лікуванні пухлин передбачають

спрямований механізм «відкриття» клітинної мембрани через застосування електропорації з метою введення в клітину терапевтичних засобів (електрохіміотерапія) або генних продуктів (електрогенна терапія). Електропорація являє собою перспективний лікувальний напрямок, який завдяки високій ефективності і

низькій токсичності на тлі невисокої вартості, простоти застосування та гнучкості, набуває популярності серед ветеринарних онкологів [41]. Електролітична абляція та абляція на основі електропорації є мінімально інвазивними, нетермічними хірургічними технологіями, які використовують електричний струм і електричні поля для видалення ракових клітин в загальному об'ємі тканин [42].

У ветеринарній онкології представлено результати застосування цього методу у собак за різних гістологічних типів раку на доклінічній моделі в моноваріантів, а також у складі протоколів, що поєднують загальноприйняті комбінації лікарських засобів та електрохіміотерапію [43].

Електропорація, на відміну від сучасних методів термічної абляції, таких як радіочастотна абляція та кріоабляція, призначених для сфокусованої загибелі ракових клітин внаслідок незворотної дестабілізації клітинних мембран, застосовує нетеплову електричну енергію. Позитивними властивостями електропорації є: збереження оточуючих життєво важливих структур; відсутність залежності від тепловідводу; апоптична загибель пухлинних клітин із швидкою регенерацією тканин; більш коротка тривалість процедури; можливість проводити моніторинг в режимі реального часу [44]. Електрохіміотерапія спричинює значне зниження кровотоку в неоплазійній тканині, що забезпечує додатковий протипухлинний ефект. Короткотривала фаза вазоконстрикції, яка зумовлює порушення структур цитоскелету і бар'єрної функції ендотелію мікросудин, доповнюється впливом хіміопрепаратів, що призводить до незворотного пошкодження судин новоутворення та подальшого зниження кровотоку пухлини впродовж декількох годин після застосування електрохіміотерапії. Внаслідок гіпоксії та недостатнього надходження поживних речовин відбувається загибель неоплазійних клітин [45].

На відміну від інших методів абляції, незворотна електропорація незначно впливає на сполучну тканину та нерви, а також на організм загалом. Здатність методу спричинювати загибель клітин, розташованих безпосередньо біля судин без впливу на останні, а також сумісність із хіміотерапією значно розширила спектр застосування електропорації. Однак ефект неоднорідний, залежить від првідності тканин, кількості імпульсів, сили струму та загальної тривалості лікування. Крім того, на відміну інших методів, клінічна апробація електропорації почалась на ранніх етапах розробки протоколів, тому вивчення

її впливу на організм знаходиться в активній стадії досліджень [46].

Як альтернатива традиційній незворотній електропорації (IRE) з метою усунення проблем, пов'язаних із нервово-м'язовою електростимуляцією, розроблена високочастотна незворотна електропорація (H-FIRE). У H-FIRE монополярні імпульси замінені «пакетами» коротких біполярних імпульсів [47]. Високочастотна незворотна електропорація є новою формою лікування раку, яка застосовує імпульси із змінною полярністю для прицільного руйнування мембран клітин в межах визначеного об'єму. Звичайно імпульси тривалістю 2 мкс швидко повторюються 24–50 разів, створюючи сплеск енергії тривалістю 48–100 мкс, 100-разовою кратністю, частотою 1 Гц впродовж сеансу 0,01 с [48].

Високочастотна незворотна електропорація (H-FIRE), в основі якої лежить дестабілізація мембран ракових клітин та індукція загибелі клітин під впливом високочастотних біполярних електричних імпульсів, ефективно видаляє первинну пухлину, знижує метастазування та спричинює прозапальні зрушення у мікросередовищі новоутворення. На моделі неоплазії молочної залози 4T1 щурів доведено, що H-FIRE призводить до загибелі ракових клітин за допомогою нетеплових механізмів, пов'язаних із некрозом і піроптозом, через пошкодження пов'язаної із молекулярною структурою передачі сигналів *in vitro* та *in vivo*, а також активації імунної системи [49].

Ефекти лікування залежать від розподілу електричного поля, який можна розрахувати за допомогою чисельного моделювання. Для підвищення ефективності та об'єму електропорації необхідне впровадження сучасних протоколів, які є ефективними за пухлин великих розмірів та різних гістологічних типів. У ветеринарній онкології запропоновано лише окремі протоколи електропорації, розроблені із застосуванням аналізу і реконструкції медичних зображень, чисельного моделювання і настанов щодо розміщення електродів. Їх клінічна апробація показала здатність полегшувати клінічні симптоми у пацієнта, не пошкоджуючи при цьому оточуючі тканини в умовах складного гетерогенного середовища [50].

Електролітична абляція супроводжується утворенням хімічно активних компонентів (кислот та лугів) в ділянках прикріплення електродів, які прискорюють локальні зміни рН вище 10,6 або нижче 4,8, спричинюючи швидку загибель клітин. Ступінь загибелі клітин можна регулювати через зміну локальної буферної ємності та доступності антиоксидан-

тів. Тобто, електролітична абляція відрізняється від інших стратегій абляції своєю здатністю спричинювати клітинний некроз через прямий вплив на мікрооточення пухлини [51].

Порівняно із застосуванням у монорежимі електропорації або електролізу, синергічна комбінація цих методів має певні переваги. За мінімальної інвазивної абляції тканин електроліз забезпечує утворення під дією слабкого струму хімічних продуктів, а електропорація збільшує проникність клітинної мембрани, внаслідок чого відбувається загибель клітин [52].

Показано, що комбінація електролізу та електропорації-E2, яка характеризується нижчою напругою, меншою енергією і більш короткою тривалістю процедури, порівняно із незворотною електропорацією (IRE), забезпечує абляцію тканин із більшою ефективністю та не потребує додавання хіміотоксичних засобів, як за електрохіміотерапії. Гістологічні результати свідчать, що один сигнал E2 довжиною в декілька сотен мілісекунд здатен видалити більший об'єм тканин за нижчої напруги, на тлі збереження цілісності великих кровоносних судин та структур просвіту у зоні абляції без застосування хіміотоксичних препаратів або знеболювальних засобів [53].

Підвищене споживання хіміотерапевтичних засобів у випадку використання електрохіміотерапії призводить до апоптичної загибелі пухлинних клітин, що забезпечує тривалий локальний контроль та збільшення рівня виживання. Багатофакторний статистичний аналіз показав наявність достовірної кореляції високого відсотка некрозу і апоптозу в неоплазіях ( $p < 0,0001$  та  $p = 0,004$ , відповідно) із більш тривалим періодом виживання пацієнтів, що обґрунтовує доцільність застосування цих результатів для встановлення нових молекулярних мішеней та розробки нових терапевтичних протоколів за спонтанних новоутворень у собак, які можуть бути використані в гуманній медицині [54].

Електрохіміотерапія – лікування пухлин, яке адаптує системну або локальну доставку протипухлинних препаратів завдяки застосуванню проникних електричних імпульсів із відповідною амплітудою та формами хвиль. Це дає змогу із високим рівнем ефективності використовувати ліпофобні лікарські засоби, які у більшості випадків мають вузький терапевтичний індекс, на тлі зниження негативного впливу на організм [37]. Цей метод на сьогодні впроваджено більш ніж у 140 центрах лікування раку в Європі, його застосування підтримує Англійський національний інститут охорони здоров'я. Електрогенна терапія нині проходить

широку клінічну апробацію. Серед її найбільш перспективних стратегій є ДНК-вакцинація та імунотерапія на основі цитокінів, спрямовані на стимулювання протипухлинного імунітету. Дослідники припускають потенційно позитивний результат за комбінації електрохіміотерапії та імунотерапії, зокрема зниження ймовірності розвитку як рецидивів, так і метастазів [55].

Клінічними дослідженнями Spugnini et al. [56] доведено збільшення засвоєння у разі застосування електрохіміотерапії таких лікарських засобів як блеоміцин – в 700 разів, ципластин – в 4–8 разів. Це узгоджується із результатами Giardino et al. [57]: утворення пор в клітинній мембрані дає змогу лікарським засобам із низькою проникністю накопичуватись у клітині, локально збільшуючи токсичність до 10000 разів для блеоміцину, до 80 разів – ципластину, підвищуючи ефективність терапії до 80 %, незалежно від гістологічного типу пухлин.

Враховуючи високу ефективність терапевтичного засобу, цей спосіб стає більш затребуваним у ветеринарній онкології як доповнення до хірургічного втручання або першої лінії лікування із паліативною або лікувальною метою. Електрохіміотерапія ципластином – просте, ефективне та безпечне місцеве лікування пухлин молочної залози, розглядається як альтернатива хірургічному втручання, насамперед за незначних за розміром неоперабельних новоутворень [58].

На доклінічних моделях показано додаткові терапевтичні можливості електропораційної імунотерапії (доставка плазмідної ДНК, яка кодує інтерлейкін-12 та інтерлейкін-2) за меланом як домашніх [59], так і продуктивних тварин: призводила до посиленого некрозу пухлинних клітин лімфоцитарної інфільтрації вогнища на тлі системної імунної відповіді [60].

Здатність контролювати імунну систему для активної «атаки» на неоплазійні клітини є одним із найбільш ефективних напрямів протипухлинної терапії. Для подолання бар'єрів цього контролю з успіхом як за пролікованих, так і не оброблених новоутворень застосовують доставку плазмідної ДНК інтерлейкіну-12, опосередкована електропорацією. При цьому на тлі вираженої протипухлинної імунної відповіді, незалежно від дози (максимальна доза становила 3 г), не реєструють побічних ефектів [61].

Протипухлинна внутрішньом'язова та інтратуморальна електрогенна терапія інтелейкіном-12 (IL-12) за різних типів первинних новоутворень (зокрема множинні та метастазуючі) має виражений системний ефект, особливо у поєднанні з іншими методами лікування.

Позитивний клінічний результат пов'язаний з посиленням адаптивного імунітету, природної резистентності та антиангіогенної дії [62].

Електропорація плазмідної ДНК інтерлейкіну-12 у комбінації із блеоміцином та генцитабіном у собак забезпечує сильний, але безпечний протираковий ефект за лікування первинних новоутворень та їх рецидивів, у випадку довготривалого лікування агресивних типів, за виключенням сарком. Універсальність цього протоколу дає змогу вносити зміни, враховуючи реакції, з метою подолання стійкості ракових клітин до терапії [63].

Показано більшу ефективність ( $P < 0,001$ ) електрохіміотерапії порівняно із монотерапією блеоміцином і ципластином, внутрішньопухлинного призначення блеоміцину проти його внутрішньовенного введення ( $P < 0,001$ ) [64]. Порівняно із внутрішньопухлинним введенням, електрохіміотерапія ципластином за новоутворень молочної залози у собак показала достовірне ( $p = 0,014$ ) збільшення позитивних клінічних результатів із 20 до 84 % випадків. Введення у неоплазійну тканину за допомогою електричних імпульсів ципластину дало змогу на тлі зменшення дози ципластину із 3 до 0,01 см<sup>3</sup>, покращити динаміку зменшення об'єму пухлини та значно збільшити тривалість відповіді на хіміотерапію ( $p = 0,046$ ), що доводить ефективність, безпечність та простоту місцевого застосування цього протоколу [65].

Ад'ювантне внутрішньом'язове переміщення гена інтерлейкіну-12 (mIL-12) посилювало інтенсивність знищення пухлинних клітин та специфічну затримку росту новоутворення в 1,8–2 рази, а також збільшувало ефективність лікування на 20 %, що пов'язано з імунною відповіддю, обумовленою руйнуванням неоплазійних клітин молочної залози [66]. Застосування цього методу, порівняно із хірургічним лікуванням, дало змогу оцінити якість життя пацієнтів як добру (7,4 із 10 балів), покращити загальний стан тварин стосовно первинного (3,9 із 5 балів) [67].

Позитивною характеристикою електрохіміотерапії є досягнення 100 % ефекту за пухлин розміром до 2 см<sup>3</sup>, можливість проведення повторних курсів, що дає змогу перевести цей протокол лікування в категорію стандартних методів пухлин як в гуманній, так і ветеринарній онкології [68].

Отже, електрохіміотерапія є безпечним та ефективним методом терапії для місцевого контролю великих новоутворень у домашніх тварин на тлі посилення її ефективності у випадку ад'ювантного застосування, що надає переваги порівняно із загальноприйнятими

стратегіями (зокрема, променевою терапією): відсутність гострих і підтермінованих побічних ефектів та можливість проведення повторних курсів. Подальшою перспективою є дослідження можливості застосування електрохіміотерапії для усунення резистентності до лікарських засобів та транспортування в пухлинну клітину біологічних агентів [37]. Також актуальною проблемою є розробка електрохіміотерапевтичних протоколів лікування глибоко розташованих тканин, які базуються на транспортуванні в клітини імуностимулювальних генів або комбінованих із електрофотодинамічною терапією [69].

**Антитромбічна терапія за неоплазій молочної залози у сук.** В останні роки відбувається зміна пріоритетних напрямів консервативного лікування новоутворень молочної залози у собак. Зокрема, основна увага приділяється фармакологічному впливу на патогенетичні механізми розвитку пухлин. Проведені попередні дослідження свідчать про активацію у онкохворих пацієнтів механізмів тромбоемболії, що є одним із чинників ризику метастазування [70].

Зв'язок між коагуляцією та розвитком раку вивчають впродовж багатьох десятиріч. Тому в останні роки активно розглядають протипухлинний потенціал антитромбічної терапії, яка здатна попередити розвиток раку, зменшити інтенсивність росту новоутворення і метастатичний потенціал, а також покращити частоту виживання пацієнтів [71]. Зокрема, на моделях тварин інтенсивно тестують низькомолекулярні інгібітори урокінази і активатора тканинного типу, які за раку мають пропухлинний ефект, сприяють ангіогенезу та виживанню неоплазійних клітин [72].

Тісно пов'язана із раком венозна тромбоемболія, яка являє собою серйозну проблему за його лікування. Активація коагуляції має важливе значення в міграції пухлинних клітин та розвитку вогнищ метастазування. Зокрема, тканинний чинник, який ініціює зовнішній шлях згортання крові, додатково залучений до негемостатичної передачі сигналів через рецептори, що спричинює активацію ангіогенезу новоутворення [73].

Терапевтичний потенціал похідних гепарину та міметиків гепаринсульфату (функціонально визначених міметиків HS) за онкологічної патології пов'язаний із їх здатністю зв'язувати та модулювати функцію широкого спектру HS-зв'язуючих білків, які мають першочергове значення у механізмах росту неоплазійного вогнища та дисемінації ракових клітин [74].

Наріжним каменем лікування венозної тромбоемболії є антикоагуляторна терапія, традиційні засоби якої передбачають парентеральні гепарини та пероральні антагоністи вітаміну К. Нещодавно були розроблені нові пероральні антикоагулянти, які включають прямі інгібітори фактора Ха та інгібітори тромбіну [75].

В окремих випадках новоутворення молочної залози спричинюють розвиток артеріальних тромбозів, які за локалізації у магістральних судинах зумовлюють загибель тварини [76].

Розуміння головних механізмів венозної тромбоемболії дасть змогу розробляти нові методи лікування для безпечного її усунення у онкологічно хворих пацієнтів. Це питання актуальне, враховуючи збільшення в 6,5 раза частоти тромбозів на тлі застосування загальноприйнятих методів (хіміотерапія, променева терапія тощо) [77].

З огляду на це, перспективним напрямом лікування собак із пухлинами молочної залози, фактично не вивчених у ветеринарній медицині, є застосування транексамової кислоти, яку широко використовують у гуманній онкологічній практиці. Слід враховувати, що порівняно із людьми, у собак для повного інгібування фібринолізу у плазмі крові необхідно застосувати вищі концентрації амінокапронової та транексамової кислоти [78].

За ефективністю дії низькомолекулярні гепарини переважають антагоністи вітаміну К щодо ризику рецидивів венозної тромбоемболії (RR = 0,60, 95 % CI: 0,45–0,79,  $p < 0,001$ ), а їх безпечність порівняна із ними (RR = 1,08, 95 % CI: 0,70–1,66,  $p = 0,74$ ). Терапевтична дія низькомолекулярних гепаринів, порівняно із пероральними антикоагулянтами прямої дії, достовірно не відрізняється (RR = 1,08, 95 % CI: 0,59–1,95,  $p = 0,81$ ) на тлі незначно вищого ризику ускладнень (RR = 0,67, 95 % CI: 0,31–1,46,  $p = 0,31$ ) [79].

Частота рецидивів венозної тромбоемболії за використання низькомолекулярних гепаринів становить 4,1 % (95 %, CI 2,6–6,0), антагоністів вітаміну К – 6,1 % (95 %, CI 4,1–8,5), кровотеч – 15 % (95 %, CI 12–18) та 16 %, (95 %, CI 9,9–22) відповідно [80].

Порівняно із антагоністами вітаміну К, низькомолекулярні гепарини (LMWH) та прямі пероральні антикоагулянти (DOAC) більш ефективні для лікування венозної тромбоемболії, але перші характеризуються меншим ризиком кровотечі. DOAC забезпечують кращий терапевтичний ефект відносно LMWH щодо рецидиву тромбозу, але за високого ризику кровотеч [81].

Збільшення міцності згустку та зниження активності фібринолізу у зразках крові собак після застосування транексамової кислоти, на тлі залежності ефекту від дози та методу введення, доведено на моделі *in vitro* із використанням тромбоеластографії. Максимальна амплітуда, яка характеризує найбільшу міцність згустку достовірно збільшується порівняно із первинним рівнем у всіх тимчасових точках за всіх обробок. У випадку внутрішньовенного застосування транексамової кислоти у дозі 20 мг/кг міцність згустку перевищує відповідні показники за перорального її призначення. Пероральне введення лікарського засобу призводить до більш пізнього піку антифібринолітичного ефекту, порівняно із внутрішньовенним використанням [82].

Водночас, на моделі сингенних самок щурів BALB за внутрішньовенного ін'єктування клітин карциноми молочної залози показано, що десмопресин (dDAVP) у клінічно значимих дозах (0,3–2 мкг/кг внутрішньовенно), на відміну від транексамової кислоти та еноксипарину, спричинює дозозалежне інгібування утворення метастатичних вогнищ у легенях [83].

Доцільність застосування антитромботичних засобів за неоплазій молочної залози підтверджують клінічні випадки, які у більшості супроводжуються розвитком синдрому дисемінованого згортання крові. За злоякісного перебігу пухлин діагностовано артеріальні тромботичні ураження [84], ефективне лікування яких можливе за використання внутрішньовенного введення стрептокінази [85].

Позитивний результат отримано за комбінованого застосування низькомолекулярного гепарину та хіміотерапії: зменшується інтенсивність росту пухлини молочної залози, знижується частота реєстрації метастазів у легенях на тлі посилення апоптозу із збільшенням площі некрозу та інгібуванням експресії фактору росту ендотелію судин (VEGF) [86].

Із врахуванням порушень згортання крові в онкохворих пацієнтів, перспективним варіантом ад'ювантної терапії за лікування агресивних типів раку у дрібних домашніх тварин є застосування десмопресину – аналогу пептиду вазопресину із кровозупинними властивостями, що забезпечує значне подовження безрецидивного виживання ( $p < 0,001$ ) та загальної виживаності ( $p < 0,01$ ) у сук із карциною 2 і 3 ступенів. Крім того, він характеризується антиметастатичними властивостями [87]. Його подвійний ефект (ангіостатичний та антиметастатичний) пов'язаний із впливом на функції ендотеліальних клітин під час прогресування пухлини [88].

Незважаючи на накопичений клінічний та експериментальний матеріал щодо застосування аспірину як хіміотерапевтичного засобу з метою попередження раку, ефективність та безпечність його антиагрегатних властивостей дискутується. Потенційний хіміотерапевтичний ефект аспірину щодо загальної захворюваності та летальності за деяких видів пухлин сумнівний [89].

Застосування низькомолекулярних гепаринів не обмежується їх антикоагуляторними властивостями, а охоплює протизапальну і протиракову дію. Вони навіть за критичних станів, порівняно із нефракційним гепарином, забезпечують більш прогнозовану та стабільну терапію. Основним недоліком наявної терапії низькомолекулярними гепаринами є не лише необхідність застосування парентерального введення, але й відносно коротка тривалість дії, аніонний прояв і висока молекулярна маса. Системи мікро- та нанотранспортування низькомолекулярних гепаринів, особливо із розробкою нових полімерів, методів нанотехнологій та їх адаптацією у біомедичні сфери, пропонують потенційно більш ефективні методи їх доставки [90].

Крім застосування низькомолекулярних гепаринів як антитромбічних засобів, на їх основі запропоновано кон'югати для транспортування доксорубіцину. Такий комплекс більш ефективно поглинається клітинами та забезпечує посилення антиметастатичного та антиангіогенного впливу на пухлинну тканину, що обумовлено синергізмом цитотоксичних властивостей на тлі пригнічення клітинної інвазії і міграції клітин [91].

На сьогодні перспективними є результати апробації на доклінічних моделях пухлин комплексних препаратів на основі низькомолекулярних гепаринів. Продемонстровано, що ЛНТ7, кон'югат низькомолекулярного гепарину та таурохолату (жовчна кислота), характеризується вираженою антиангіогенною та онкосупресивною активністю на тлі незначних антикоагуляторних властивостей. ЛНТ7, кон'югований із пептидом апоптозу (ЛНТ7-АроРер-1) крім посиленого антиангіогенного впливу на пухлинну тканину, забезпечує протипухлинну дію через активацію апоптозу ракових клітин за незначної токсичності для нормальних клітин [92].

У випадку використання для транспортування низькомолекулярних гепаринів гібридних наночасток ліпід-полімеру (LPHN) суттєво, близько в 6,8 раза, збільшується його пероральна біодоступність на тлі уповільнення вивільнення із гелю, в 2,99 раза посилюється антитромбічна дія [93].

Значний прогрес у розумінні особливостей мікросередовища неоплазій та їх значення в прогресуванні раку дав змогу визначити антитромбічні мішені для терапії, однак одночасне застосування хіміотерапії та антитромбоцитарних засобів має як переваги, так і певні ризики. Тому потрібні подальші дослідження специфічних біомаркерів для прогнозування реакції пацієнтів [94].

У дослідях на щурах показано, що гепарин не посилює цитотоксичність природних кіле-рив (NK-клітин), але стимулює їх виживаність *in vitro* та здатний контролювати розвиток пухлинних метастазів, а в клітинах людей – збільшує продукцію інтерферону (IFN)- $\gamma$  у поєднанні із інтерфероном-12 (IL-12) [95].

Доведена ефективність комбінованого способу лікування собак із новоутвореннями молочної залози, який передбачає електрокоагуляцію пухлин та фармакологічну корекцію гемостазіологічного статусу, що дозволяє рекомендувати його для впровадження у клінічну ветеринарну практику. Застосування на тлі електрохірургічного видалення пухлин молочної залози у сук протоколу фармакологічної корекції системи гемостазу (ронколейкін, транексам та ацелізин або фленокс) дає змогу впродовж 14 діб після оперативного втручання нормалізувати гемостазіологічні механізми, знижуючи ризик тромбозу, ймовірність рецидивування і метастазування [96].

Незважаючи на позитивні результати застосування антикоагулянтів та антиагрегантів в онкохворих пацієнтів, окремі повідомлення вказують на те, що потенційні механізми в певних умовах здатні опосередковано стимулювати ріст новоутворення та метастазування через нестабільність агрегатів тромбоцитів і пухлинних клітин та/або нездатність локально утримувати ракові клітини *in situ* [97].

Вивчення антикоагуляторної терапії в онкохворих пацієнтів – складне завдання, оскільки на тлі дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові, чинниками ризику посилення гіперкоагуляції або кровотечі є лікувальні заходи (хірургічне втручання, хіміо-, променева і гормональна терапія, встановлення внутрішньовенних катетерів), а також багатоекторність спричинених пухлиною порушень системи гемостазу [98].

Необхідність подальшого вивчення можливості застосування антитромбічної терапії у онкохворих тварин зумовлена екстраполяцією результатів із гуманної медицини, що не завжди є коректним, а також обмеженістю інформації, отриманої із клінічного досвіду їх застосування у собак, тематичних досліджень та окремих звітів [99].

**Висновки.**

1. Незважаючи на активні спроби розробки та клінічного впровадження сучасних протоколів лікування раку молочної залози, рівень загибелі пацієнтів залишається високим, а методи протипухлинної терапії за контролю прогресування захворювання обмежені.

2. Покращення результатів лікування онкохворих пацієнтів можливе за персоналізованого підходу із застосуванням патогенетично обґрунтованого впливу на окремі ланки онкогенезу, зокрема на систему гемостазу. Найбільш перспективними мішенями для терапії раку молочної залози є коагуляційний каскад, нормалізація механізмів якого мінімізує тромботичний ризик, а також міграційні та імплантатійні можливості ракових клітин.

3. Доведено клінічну ефективність застосування за пухлин молочної залози нестероїдних протизапальних засобів, які пригнічують запальний процес, в основі якого лежить гіперекспресія циклооксигенази-2, що має першочергове значення в прогресуванні раку.

4. Новітніми комбінованими методами лікування новоутворень, зокрема молочної залози, є електропорація та електрохіміотерапія, які дають змогу знешкоджувати пухлинні клітини за мінімального токсичного впливу на організм, а у випадку їх включення до загальноприйнятих протоколів (хіміо- та променева терапія) – збільшити їх ефективність.

Перспективи подальших досліджень – патогенетичне обґрунтування, розробка та клінічне впровадження персоналізованих протоколів лікування пухлин молочної залози у сук.

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

41. Impellizeri J., Aurisicchio L., Forde P., Soden D.M. Electroporation in veterinary oncology. *Veterinary Journal*. 2016. Vol. 217. P. 18–25. Doi: 10.1016/j.tvjl.2016.05.015

42. Single exponential decay waveform; a synergistic combination of electroporation and electrolysis (E2) for tissue ablation/ N. Klein et al. *Peer J*. 2017. Vol. 5: e3190. Doi: 10.7717/peerj.3190

43. Spugnini E.P., Fanciulli M., Citro G., Baldi A. Preclinical models in electrochemotherapy: the role of veterinary patients. *Future Oncology*. 2012. Vol. 8 (7). P. 829–837. Doi: 10.2217/fon.12.64

44. Irreversible electroporation (NanoKnife) in cancer treatment/ N. Jourabchi et al. *Gastrointestinal Intervention*. 2014. Vol. 3. P. 8–18. Doi: 10.1016/j.gii.2014.02.002

45. Jarm T., Cemazar M., Miklavcic D., Sersa G. Antivascular effects of electrochemotherapy: implications in treatment of bleeding metastases. *Expert review of anticancer therapy*. 2010. Vol. 10 (5). P. 729–746. Doi: 10.1586/era.10.43

46. Thomson K.R., Kavnoudias H., Neal R.E. Introduction to Irreversible Electroporation—Principles and Techniques. *Techniques in Vascular and Interventional*

*Radiology*. 2015. Vol. 18 (3). P. 128–134. Doi: 10.1053/j.tvir.2015.06.002

47. Beitel-White N., Aycock K.N., Castellvi Q., Davalos R.V. Dynamics of cell death after conventional IRE and H-FIRE treatments/ B. Mercadal et al. *Annals of Biomedical Engineering*. 2020. Vol. 48 (5). P. 1451–1462. Doi: 10.1007/s10439-020-02462-8

48. Sano M.B., Fesmire C.C., DeWitt M.R., Xing L. Burst and continuous high frequency irreversible electroporation protocols evaluated in a 3D tumor model. *Physics in Medicine and Biology*. 2018. Vol. 63 (13):135022. Doi: 10.1088/1361-6560/aacb62

49. High-frequency irreversible electroporation is an effective tumor ablation strategy that induces immunologic cell death and promotes systemic anti-tumor immunity / V.M. Ringel-Scaia et al. *EBioMedicine*. 2019. Vol. 44. P. 112–125. Doi: 10.1016/j.ebiom.2019.05.036

50. Neal R.E., Garcia P.A., Rossmeisl J.H., Davalos R.V. A study using irreversible electroporation to treat large, irregular tumors in a canine patient. *Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Annual Conference. Piscataway*. 2010. P. 2747–2750. (United States). Doi: 10.1109/IEMBS.2010.5626372

51. Electrolytic ablation enables cancer cell targeting through pH modulation/ N.R. Perkons et al. *Communications Biology*. 2018. Vol. 1. 48 p. Doi: 10.1038/s42003-018-0047-1

52. Phillips M., Krishnan H., Raju N., Rubinsky B. Tissue ablation by a synergistic combination of electroporation and electrolysis delivered by a single pulse. *Annals of Biomedical Engineering*. 2016. Vol. 44 (10). P. 3144–3154. Doi: 10.1007/s10439-016-1624-4

53. Toward a clinical real time tissue ablation technology: combining electroporation and electrolysis (E2) / E. Guenther et al. *Peer J*. 2020. Vol. 8:e7985. Doi: 10.7717/peerj.7985

54. Patterns of tumor response in canine and feline cancer patients treated with electrochemotherapy: preclinical data for the standardization of this treatment in pets and humans / E.P. Spugnini et al. *Journal of Translational Medicine*. 2007. Vol. 5: 48. Doi: 10.1186/1479-5876-5-48

55. Calvet C.Y., Mir L.M. The promising alliance of anti-cancer electrochemotherapy with immunotherapy. *Cancer Metastasis Reviews*. 2016. Vol. 35 (2). P. 165–177. Doi: 10.1007/s10555-016-9615-3

56. Spugnini E.P., Baldi A. Electrochemotherapy in veterinary oncology: state-of-the-art and perspectives. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*. 2019. Vol. 49 (5). P. 967–979. Doi: 10.1016/j.cvsm.2019.04.006

57. Fini M., Bonazzi V., Cadossi R., Nicolini A., Carpi A. Electrochemotherapy a novel approach to the treatment of metastatic nodules on the skin and subcutaneous tissues/ R. Giardino et al. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2006. Vol. 60 (8). P. 458–462. Doi: 10.1016/j.biopha.2006.07.016

58. Electrochemotherapy compared to surgery for treatment of canine mast cell tumours / V. Kodre et al. *In Vivo*. 2009. Vol. 23 (1). P. 55–62. PMID: 19368125

59. Heller L.C., Heller R. Electroporation gene therapy preclinical and clinical trials for melanoma. *Current Gene Therapy*. 2010. Vol. 10 (4). P. 312–317. Doi: 10.2174/156652310791823489

60. Pavlin D., Cemazar M., Sersa G., Tozon N. IL-12 based gene therapy in veterinary medicine. *Journal of Translational Medicine*. 2012. Vol. 10: 234. Doi: 10.1186/1479-5876-10-234
61. Safety and efficacy of tumor-targeted interleukin 12 gene therapy in treated and non-treated, metastatic lesions / J. Cutrera et al. *Current Gene Therapy*. 2015. Vol. 15 (1). P. 44–54. Doi: 10.2174/1566523214666141127093654
62. Cemazar M., Jarm T., Sersa G. Cancer electrogene therapy with interleukin-12. *Current Gene Therapy*. 2010. Vol. 10 (4). P. 300–311. Doi: 10.2174/156652310791823425
63. Safe and effective treatment of spontaneous neoplasms with interleukin 12 electro-chemo-gene therapy / J. Cutrera et al. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2015. Vol. 19 (3). P. 664–675. Doi: 10.1111/jcmm.12382
64. Antitumor effectiveness of electrochemotherapy: a systematic review and meta-analysis/ B. Mali et al. *European Journal of Surgical Oncology: The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology*. 2013. Vol. 39 (1). P. 4–16. Doi: 10.1016/j.ejso.2012.08.016
65. Tozon N., Sersa G., Cemazar M. Electrochemotherapy: potentiation of local antitumour effectiveness of cisplatin in dogs and cats. *Anticancer Research*. 2001. Vol. 21 (4A). P. 2483–2488. PMID: 11724311
66. Potentiation of electrochemotherapy by intramuscular IL-12 gene electrotransfer in murine sarcoma and carcinoma with different immunogenicity / A. Sedlar et al. *Radiology and Oncology*. 2012. Vol. 46 (4). P. 302–311. Doi: 10.2478/v10019-012-0044-9
67. Health-related quality of life in dogs treated with electrochemotherapy and/or interleukin-12 gene electrotransfer / N. Milevoj et al. *Veterinary Medicine and Science*. 2020. Vol. 6 (3). P. 290–298. Doi: 10.1002/vms3.232
68. Operating procedures of the electrochemotherapy for treatment of tumor in dogs and cats / N. Tozon et al. *Journal of Visualized Experiments*. 2016. Vol. 116: 54760. Doi: 10.3791/54760
69. Escoffre J.M., Rols M.P. Electrochemotherapy: progress and prospects. *Current Pharmaceutical Design*. 2012. Vol. 18 (23). P. 3406–3415. PMID: 22663554.
70. Breast tumour size as a predictor of hemostatic system status and endothelial function in dog/ D.D. Bely et al. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2019. Vol. 10 (3). P. 300–305. Doi: 10.15421/021946
71. Antiplatelet agents for cancer treatment: a real perspective or just an echo from the past? / M.Z. Wojtukiewicz et al. *Cancer Metastasis Reviews*. 2017. Vol. 36 (2). P. 305–329. Doi: 10.1007/s10555-017-9683-z
72. Placencio V.R., DeClerck Y.A. Plasminogen activator inhibitor-1 in cancer: rationale and insight for future therapeutic testing. *Cancer Research*. 2015. Vol. 75 (15). P. 2969–2974. Doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-0876
73. Tiekens C., Versteeg H.H. Anticoagulants versus cancer. *Thrombosis research*. 2016. Vol. 140 (1). P. 148–153. Doi: 10.1016/S0049-3848(16)30114-1
74. Lanzi C., Cassinelli G. Heparan sulfate mimetics in cancer therapy: the challenge to define structural determinants and the relevance of targets for optimal activity. *Molecules*. 2018. Vol. 23 (11): 2915. Doi: 10.3390/molecules23112915
75. Franchini M., Mannucci P.M. Direct oral anticoagulants and venous thromboembolism. *European respiratory review: an official journal of the European Respiratory Society*. 2016. Vol. 25 (141). P. 295–302. Doi: 10.1183/16000617.0025-2016
76. Canine mammary anaplastic carcinoma with concurrent aorto-iliac thrombosis in a dog: a case report/ J. Kim et al. *Veterinari Medicina*. 2016. Vol. 60. P. 391–398. Doi: 10.17221/8388-VETMED
77. Losonczy H., Nagy Á., Tar A. A kórházi és az ambuláns kemoterápiában részesülő onkológiai betegek vénásthromboembolia-profilaxisának aktuális kérdései. Actual questions about the prevention of venous thromboembolism in cancer patients receiving chemotherapy. *Orvosi Hetilap*. 2016. Vol. 157 (6). P. 203–211. Doi: 10.1556/650.2016.30357
78. Fletcher D.J., Blackstock K.J., Epstein K., Brainard B.M. Evaluation of tranexamic acid and ε-aminocaproic acid concentrations required to inhibit fibrinolysis in plasma of dogs and humans. *American Journal of Veterinary Research*. 2014. Vol. 75. P. 731–738. Doi: 10.2460/ajvr.75.8.731
79. Königsbrügge O., Zielinski C., Pabinger I., Ay C. Treatment of venous thromboembolism in patients with cancer: A network meta-analysis comparing efficacy and safety of anticoagulants/ F. Posch et al. *Thrombosis Research*. 2015. Vol. 136 (3). P. 582–589. Doi: 10.1016/j.thromres.2015.07.011
80. Meta-analysis of the efficacy and safety of new oral anticoagulants in patients with cancer-associated acute venous thromboembolism / T. van der Hulle et al. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2014. Vol. 12 (7). P. 1116–1120. Doi: 10.1111/jth.12605
81. Kirkilesis G.I., Kakkos S.K., Tsolakis I.A. Editor's choice - a systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of anticoagulation in the treatment of venous thromboembolism in patients with cancer. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2019. Vol. 57 (5). P. 685–701. Doi: 10.1016/j.ejvs.2018.11.004
82. Pharmacokinetics of tranexamic acid in healthy dogs and assessment of its antifibrinolytic properties in canine blood / K.E. Osekavage et al. *American Journal of Veterinary Research*. 2018. Vol. 79 (10). P. 1057–1063. Doi: 10.2460/ajvr.79.10.1057
83. Insight into the effect of the vasopressin analog desmopressin on lung colonization by mammary carcinoma cells in BALB/c mice / J. Garona et al. *Anticancer Research*. 2014. Vol. 34 (9). P. 4761–4765. PMID: 25202055.
84. Canine mammary anaplastic carcinoma with concurrent aorto-iliac thrombosis in a dog: a case report/ J.H. Kim et al. *Veterinari Medicina*. 2015. Vol. 60. P. 391–398. Doi: 10.17221/8388-VETMED
85. Kim J.H., Park H.M. Unilateral femoral arterial thrombosis in a dog with malignant mammary gland tumor: clinical and thermographic findings, and successful treatment with local intra-arterial administration of streptokinase. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2012. Vol. 74 (5). P. 657–661. Doi: 10.1292/jvms.11-0432
86. Yin W., Zhang J.G., Jiang Y., Juan S.A. Combination therapy with low molecular weight heparin and Adriamycin results in decreased breast cancer cell metastasis in C3H mice. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2014. Vol. 8. P. 1213–1218. Doi: 10.3892/etm.2014.1911
87. Effect of adjuvant perioperative desmopressin in locally advanced canine mammary carcinoma and its



relation to histologic grade / Hermo G.A. et al. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 2011. Vol. 47 (1). P. 21–27. Doi: 10.5326/JAAHA-MS-5509

88. Metastasis: recent discoveries and novel perioperative treatment strategies with particular interest in the hemostatic compound desmopressin/ D.F. Alonso et al. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2011. Vol. 12 (11). P. 1974–1980. Doi: 10.2174/138920111798377076

89. Antiplatelet Agents for Cancer Prevention: Current Evidences and Continuing Controversies/ C. Frere et al. *Cancers*. 2019. Vol. 11 (11): 1639. Doi: 10.3390/cancers11111639

90. Low molecular weight heparins for current and future uses: approaches for micro- and nano-particulate delivery/ S.S. Ibrahim et al. *Drug Delivery*. 2016. Vol. 23 (8). P. 2661–2667. Doi: 10.3109/10717544.2015.1046570

91. Development of low molecular weight heparin based nanoparticles for metastatic breast cancer therapy / H. Sun et al. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018. Vol. 112. P. 343–355. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.01.195

92. An apoptosis-homing peptide-conjugated low molecular weight heparin-taurocholate conjugate with antitumor properties / S.M. Bae et al. *Biomaterials*. 2013. Vol. 34 (8). P. 2077–2086. Doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.11.020

93. Tang B., Qian Y., Fang G. Development of lipid-polymer hybrid nanoparticles for improving oral absorption of enoxaparin. *Pharmaceutics*. 2020. Vol. 12 (7): 607. Doi: 10.3390/pharmaceutics12070607

94. Elaskalani O., Berndt M.C., Falasca M., Metharom P. Targeting platelets for the treatment of cancer. *Cancers*. 2017. Vol. 9 (7). P. 94. Doi: 10.3390/cancers9070094

95. The antitumor effect of heparin is not mediated by direct NK cell activation / G.R. Rossi et al. *Journal of Clinical Medicine*. 2020. Vol. 9 (8): E2666. Doi: 10.3390/jcm9082666

96. Pharmacological correction of the hemostasis system for the surgical treatment of females tumors of the mammary gland / D.D. Bely et al. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2018. Vol. 9 (3). P. 353–362. Doi: 10.15421/021852

97. Serebruany V.L., Cherepanov V., Cabrera-Fuentes H.A., Kim M.H. Solid cancers after antiplatelet therapy: Confirmations, controversies, and challenges. *Thrombosis and Haemostasis*. 2015. Vol. 114 (6). P. 1104–1112. Doi: 10.1160/TH15-01-0077

98. Potential role of new anticoagulants for prevention and treatment of venous thromboembolism in cancer patients / A. Gómez-Outes et al. *Vascular Health and Risk Management*. 2013. Vol. 9. P. 207–228. Doi: 10.2147/VHRM.S35843

99. Lunsford K., Mackin A. Thromboembolic therapies in dogs and cats: an evidence-based approach. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*. 2007. Vol. 37 (3). P. 579–609. Doi: 10.1016/j.cvsm.2007.01.010

## REFERENCES

41. Impellizeri, J., Aurisicchio, L., Forde, P., Soden, D.M. (2016). Electroporation in veterinary oncology. *Veterinary Journal*. Vol. 217, pp. 18–25. Doi: 10.1016/j.tvjl.2016.05.015

42. Klein, N., Guenther, E., Mikus, P., Stehling, M.K., Rubinsky, B. (2017). Single exponential decay waveform; a synergistic combination of electroporation and electrolysis (E2) for tissue ablation. *PeerJ*. Vol. 5: e3190. Doi: 10.7717/peerj.3190

43. Spugnini, E.P., Fanciulli, M., Citro, G., Baldi, A. (2012). Preclinical models in electrochemotherapy: the role of veterinary patients. *Future Oncology*. Vol. 8 (7), pp. 829–837. Doi: 10.2217/fon.12.64

44. Jourabchi, N., Beroukhi, K., Tafti, B.A., Kee, S.T., Lee, E.W. (2014). Irreversible electroporation (NanoKnife) in cancer treatment. *Gastrointestinal Intervention*. Vol. 3, pp. 8–18. Doi: 10.1016/j.gii.2014.02.002

45. Jarm, T., Cemazar, M., Miklavcic, D., Sersa, G. (2010). Antivascular effects of electrochemotherapy: implications in treatment of bleeding metastases. *Expert review of anticancer therapy*. Vol. 10 (5), pp. 729–746. Doi: 10.1586/era.10.43

46. Thomson, K.R., Kavoudias, H., Neal, R.E. (2015). Introduction to Irreversible Electroporation-Principles and Techniques. *Techniques in Vascular and Interventional Radiology*. Vol. 18 (3), pp. 128–134. Doi: 10.1053/j.tvir.2015.06.002

47. Mercadal, B., Beitel-White, N., Aycock, K.N., Castellví, Q., Davalos, R.V. (2020). Dynamics of cell death after conventional IRE and H-FIRE treatments. *Annals of Biomedical Engineering*. Vol. 48 (5), pp. 1451–1462. Doi: 10.1007/s10439-020-02462-8

48. Sano, M.B., Fesmire, C.C., DeWitt, M.R., Xing, L. (2018). Burst and continuous high frequency irreversible electroporation protocols evaluated in a 3D tumor model. *Physics in Medicine and Biology*. Vol. 63 (13): 135022. Doi: 10.1088/1361-6560/aacb62

49. Ringel-Scaia, V.M., Beitel-White, N., Lorenzo, M.F., Brock, R.M., Huie, K.E., Coutermarsh-Ott, S., Eden, K., McDaniel, D.K., Verbridge, S.S., Rossmesl, J.H., Oestreich, K.J., Davalos, R.V., Allen, I.C. (2019). High-frequency irreversible electroporation is an effective tumor ablation strategy that induces immunologic cell death and promotes systemic anti-tumor immunity. *EBioMedicine*. Vol. 44, pp. 112–125. Doi: 10.1016/j.ebiom.2019.05.036

50. Neal, R.E., Garcia, P.A., Rossmesl, J.H., Davalos, R.V. (2010). A study using irreversible electroporation to treat large, irregular tumors in a canine patient. *Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Annual Conference*. Piscataway, pp. 2747–2750. (United States). Doi: 10.1109/IEMBS.2010.5626372

51. Perkons, N.R., Stein, E.J., Nwaezeapu, C., Wildenberg, J.C., Saleh, K. (2018). Electrolytic ablation enables cancer cell targeting through pH modulation. *Communications Biology*. Vol. 1, 48 p. Doi: 10.1038/s42003-018-0047-1

52. Phillips, M., Krishnan, H., Raju, N., Rubinsky, B. (2016). Tissue ablation by a synergistic combination of electroporation and electrolysis delivered by a single pulse. *Annals of Biomedical Engineering*. Vol. 44 (10), pp. 3144–3154. Doi: 10.1007/s10439-016-1624-4

53. Guenther, E., Klein, N., Mikus, P., Botea, F., Pautov, M., Lugnani, F., Macchioro, M., Popescu, I., Stehling, M.K., Rubinsky, B. (2020). Toward a clinical real time tissue ablation technology: combining electroporation and electrolysis (E2). *PeerJ*. Vol. 8: e7985. Doi: 10.7717/peerj.7985

54. Spugnini, E. P., Baldi, F., Mellone, P., Feroce, F., D'Avino, A., Bonetto, F., Vincenzi, B., Citro, G., Baldi, A. (2007). Patterns of tumor response in canine and feline cancer patients treated with electrochemotherapy: preclinical

data for the standardization of this treatment in pets and humans. *Journal of Translational Medicine*. Vol. 5: 48. Doi: 10.1186/1479-5876-5-48

55. Calvet, C.Y., Mir, L.M. (2016). The promising alliance of anti-cancer electrochemotherapy with immunotherapy. *Cancer Metastasis Reviews*. Vol. 35 (2), pp. 165–177. Doi: 10.1007/s10555-016-9615-3

56. Spugnini, E.P., Baldi, A. (2019). Electrochemotherapy in veterinary oncology: state-of-the-art and perspectives. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*. Vol. 49 (5), pp. 967–979. Doi: 10.1016/j.cvsm.2019.04.006

57. Giardino, R., Fini, M., Bonazzi, V., Cadossi, R., Nicolini, A., Carpi, A. (2006). Electrochemotherapy a novel approach to the treatment of metastatic nodules on the skin and subcutaneous tissues. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. Vol. 60 (8), pp. 458–462. Doi: 10.1016/j.biopha.2006.07.016

58. Kodre, V., Cemazar, M., Pecar, J., Sersa, G., Cor, A., Tozon, N. (2009). Electrochemotherapy compared to surgery for treatment of canine mast cell tumours. *In Vivo*. Vol. 23 (1), pp. 55–62. PMID: 19368125

59. Heller, L.C., Heller, R. (2010). Electroporation gene therapy preclinical and clinical trials for melanoma. *Current Gene Therapy*. Vol. 10 (4), pp. 312–317. Doi: 10.2174/156652310791823489

60. Pavlin, D., Cemazar, M., Sersa, G., Tozon, N. (2012). IL-12 based gene therapy in veterinary medicine. *Journal of Translational Medicine*. Vol. 10:234. Doi: 10.1186/1479-5876-10-234

61. Cutrera, J., King, G., Jones, P., Kicenuik, K., Gumpel, E., Xia, X., Li, S. (2015). Safety and efficacy of tumor-targeted interleukin 12 gene therapy in treated and non-treated, metastatic lesions. *Current Gene Therapy*. 2015. Vol. 15 (1), pp. 44–54. Doi: 10.2174/1566523214666141127093654

62. Cemazar, M., Jarm, T., Sersa, G. (2010). Cancer electrochemotherapy with interleukin-12. *Current Gene Therapy*. Vol. 10 (4), pp. 300–311. Doi: 10.2174/156652310791823425

63. Cutrera, J., King, G., Jones, P., Kicenuik, K., Gumpel, E., Xia, X., Li, S. (2015). Safe and effective treatment of spontaneous neoplasms with interleukin 12 electro-chemo-gene therapy. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. Vol. 19 (3), pp. 664–675. Doi: <https://doi.org/10.1111/jcmm.12382>

64. Mali, B., Jarm, T., Snoj, M., Sersa, G., Miklavcic, D. (2013). Antitumor effectiveness of electrochemotherapy: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Surgical Oncology: The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology*. Vol. 39 (1), pp. 4–16. Doi: 10.1016/j.ejso.2012.08.016

65. Tozon, N., Sersa, G., Cemazar, M. (2001). Electrochemotherapy: potentiation of local antitumour effectiveness of cisplatin in dogs and cats. *Anticancer Research*. Vol. 21 (4A), pp. 2483–2488. PMID: 11724311

66. Sedlar, A., Dolinsek, T., Markelc, B., Prosen, L., Kranjc, S., Bosnjak, M., Blagus, T., Cemazar, M., Sersa, G. (2012). Potentiation of electrochemotherapy by intramuscular IL-12 gene electrotransfer in murine sarcoma and carcinoma with different immunogenicity. *Radiology and Oncology*. Vol. 46 (4), pp. 302–311. Doi: 10.2478/v10019-012-0044-9

67. Milevoj, N., Tozon, N., Licen, S., Lamprecht Tratar, U., Sersa, G., Cemazar, M. (2020). Health-related quality of life in

dogs treated with electrochemotherapy and/or interleukin-12 gene electrotransfer. *Veterinary Medicine and Science*. Vol. 6 (3), pp. 290–298. Doi: <https://doi.org/10.1002/vms3.232>

68. Tozon, N., Lamprecht Tratar, U., Znidar, K., Sersa, G., Teissie, J., Cemazar, M. (2016). Operating procedures of the electrochemotherapy for treatment of tumor in dogs and cats. *Journal of Visualized Experiments*. Vol. 116: 54760. Doi: 10.3791/54760

69. Escoffre, J.M., Rols, M.P. (2012). Electrochemotherapy: progress and prospects. *Current Pharmaceutical Design*. Vol. 18 (23), pp. 3406–3415. PMID: 22663554

70. Bely, D.D., Rublenko, M.V., Samoyuluk, V.V., Yevtushenko, I.D., Maslikov, S.N. (2019). Breast tumour size as a predictor of hemostatic system status and endothelial function in dog. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. Vol. 10 (3), pp. 300–305. Doi: <https://doi.org/10.15421/021946>

71. Wojtukiewicz, M.Z., Hempel, D., Sierko, E., Tucker, S.C., Honn, K.V. (2017). Antiplatelet agents for cancer treatment: a real perspective or just an echo from the past? *Cancer Metastasis Reviews*. Vol. 36 (2), pp. 305–329. Doi: 10.1007/s10555-017-9683-z

72. Placencio, V.R., DeClerck, Y.A. (2015). Plasminogen activator inhibitor-1 in cancer: rationale and insight for future therapeutic testing. *Cancer Research*. Vol. 75 (15), pp. 2969–2974. Doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-0876

73. Tieken, C., Versteeg, H.H. (2016). Anticoagulants versus cancer. *Thrombosis research*. Vol. 140 (1), pp. 148–153. Doi: 10.1016/S0049-3848(16)30114-1

74. Lanzi, C., Cassinelli, G. (2018). Heparan sulfate mimetics in cancer therapy: the challenge to define structural determinants and the relevance of targets for optimal activity. *Molecules*. Vol. 23 (11): 2915. Doi: 10.3390/molecules23112915

75. Franchini, M., Mannucci, P.M. (2016). Direct oral anticoagulants and venous thromboembolism. *European respiratory review: an official journal of the European Respiratory Society*. 2016. Vol. 25 (141), pp. 295–302. Doi: 10.1183/16000617.0025-2016

76. Kim, J., Kim, W.J., Park, J., Shin, J., Yoon, H.Y. (2016). Canine mammary anaplastic carcinoma with concurrent aortoiliac thrombosis in a dog: a case report. *Veterinari Medicina*. Vol. 60, pp. 391–398. Doi: 10.17221/8388-VETMED

77. Losonczy, H., Nagy, Á., Tar, A. (2016). A kórházi és az ambuláns kemoterápiában részesező onkológiai betegek vénásthromboembolia-profilaxisának aktuális kérdései. Actual questions about the prevention of venous thromboembolism in cancer patients receiving chemotherapy. *Orvosi hetilap*. Vol. 157 (6), pp. 203–211. Doi: 10.1556/650.2016.30357

78. Fletcher, D.J., Blackstock, K.J., Epstein, K., Brainard, B.M. (2014). Evaluation of tranexamic acid and ε-aminocaproic acid concentrations required to inhibit fibrinolysis in plasma of dogs and humans. *American Journal of Veterinary Research*. Vol. 75, pp. 731–738. Doi: 10.2460/ajvr.75.8.731

79. Posch, F., Königsbrügge, O., Zielinski, C., Pabinger, I., Ay, C. (2015). Treatment of venous thromboembolism in patients with cancer: A network meta-analysis comparing efficacy and safety of anticoagulants. *Thrombosis Research*. Vol. 136 (3), pp. 582–589. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2015.07.011>

80. van der Hulle, T., den Exter, P.L., Kooiman, J., van der Hoeven, J.J., Huisman, M.V., Klok, F.A. (2014). Meta-analysis of the efficacy and safety of new oral anticoagulants in patients with cancer-associated acute venous thromboembolism. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. Vol. 12 (7), pp. 1116–1120. Doi: 10.1111/jth.12605
81. Kirkilesis, G.I., Kakkos, S.K., Tsolakis, I.A. (2019). Editor's choice – a systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of anticoagulation in the treatment of venous thromboembolism in patients with cancer. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. Vol. 57 (5), pp. 685–701. Doi: 10.1016/j.ejvs.2018.11.004
82. Osekavage, K.E., Brainard, B.M., Lane, S.L., Almoslem, M., Arnold, R.D., Koenig, A. (2018). Pharmacokinetics of tranexamic acid in healthy dogs and assessment of its antifibrinolytic properties in canine blood. *American Journal of Veterinary Research*. Vol. 79 (10), pp. 1057–1063. Doi: 10.2460/ajvr.79.10.1057
83. Garona, J., Pifano, M., Scursoni, A., Gomez, D., Alonso, D., Ripoll, G.V. (2014). Insight into the effect of the vasopressin analog desmopressin on lung colonization by mammary carcinoma cells in BALB/c mice. *Anticancer Research*. Vol. 34 (9), pp. 4761–4765. PMID: 25202055
84. Kim, J.H., Kim, W.J., Park, J., Shin, J.I., Yoon, H.Y. (2015). Canine mammary anaplastic carcinoma with concurrent aorto-iliac thrombosis in a dog: a case report. *Veterinari Medicina*. Vol. 60, pp. 391–398. Doi: 10.17221/8388-VETMED
85. Kim, J.H., Park, H.M. (2012). Unilateral femoral arterial thrombosis in a dog with malignant mammary gland tumor: clinical and thermographic findings, and successful treatment with local intra-arterial administration of streptokinase. *Journal of Veterinary Medical Science*. Vol. 74 (5), pp. 657–661. Doi: 10.1292/jvms.11-0432
86. Yin, W., Zhang, J.G., Jiang, Y., Juan, S.A. (2014). Combination therapy with low molecular weight heparin and Adriamycin results in decreased breast cancer cell metastasis in C3H mice. *Experimental and Therapeutic Medicine*. Vol. 8, pp. 1213–1218. Doi: 10.3892/etm.2014.1911
87. Hermo, G.A., Turic, E., Angelico, D., Scursoni, A.M., Gomez, D.E., Gobello, C., Alonso, D.F. (2011). Effect of adjuvant perioperative desmopressin in locally advanced canine mammary carcinoma and its relation to histologic grade. *Journal of the American Animal Hospital Association*. Vol. 47 (1), pp. 21–27. Doi: 10.5326/JAAHA-MS-5509
88. Alonso, D.F., Ripoll, G.V., Garona, J., Iannucci, N.B., Gomez, D.E. (2011). Metastasis: recent discoveries and novel perioperative treatment strategies with particular interest in the hemostatic compound desmopressin. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. Vol. 12 (11), pp. 1974–1980. Doi: 10.2174/138920111798377076
89. Frere, C., Lejeune, M., Kubicek, P., Faille, D., Marjanovic, Z. (2019). Antiplatelet Agents for Cancer Prevention: Current Evidences and Continuing Controversies. *Cancers*. Vol. 11 (11): 1639. Doi: 10.3390/cancers11111639
90. Ibrahim, S.S., Osman, R., Awad, G.A., Mortada, N.D., Geneidy, A.S. (2016). Low molecular weight heparins for current and future uses: approaches for micro- and nanoparticulate delivery. *Drug Delivery*. Vol. 23 (8), pp. 2661–2667. Doi: 10.3109/10717544.2015.1046570
91. Sun, H., Cao, D., Wu, H., Liu, H., Ke, X., Ci, T. (2018). Development of low molecular weight heparin based nanoparticles for metastatic breast cancer therapy. *International Journal of Biological Macromolecules*. Vol. 112, pp. 343–355. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.01.195
92. Bae, S.M., Kim, J.H., Chung, S.W., Byun, Y., Kim, S.Y., Kim, I.S., Park, R.W. (2013). An apoptosis-homing peptide-conjugated low molecular weight heparin-taurocholate conjugate with antitumor properties. *Biomaterials*. Vol. 34 (8), pp. 2077–2086. Doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.11.020
93. Tang, B., Qian, Y., Fang, G. (2020). Development of lipid-polymer hybrid nanoparticles for improving oral absorption of enoxaparin. *Pharmaceutics*. Vol. 12 (7): 607. Doi: 10.3390/pharmaceutics12070607
94. Elaskalani, O., Berndt, M.C., Falasca, M., Metharom, P. (2017). Targeting platelets for the treatment of cancer. *Cancers*. Vol. 9 (7): 94. Doi: 10.3390/cancers9070094
95. Rossi, G.R., Gonçalves, J.P., McCulloch, T., Delconte, R.B., Hennessy, R.J., Huntington, N.D., Trindade, E.S., Souza-Fonseca-Guimaraes, F. (2020). The antitumor effect of heparin is not mediated by direct NK cell activation. *Journal of Clinical Medicine*. Vol. 9 (8): E2666. Doi: 10.3390/jcm9082666
96. Bely, D.D., Rublenko, M.V., Rublenko, S.V., Yevtushenko, I.D., Suslova, N.I., Samoyuluk, V.V. (2018). Pharmacological correction of the hemostasis system for the surgical treatment of females tumors of the mammary gland. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. Vol. 9 (3), pp. 353–362. Doi: 10.15421/021852
97. Serebruany, V.L., Cherepanov, V., Cabrera-Fuentes, H.A., Kim, M.H. (2015). Solid cancers after antiplatelet therapy: Confirmations, controversies, and challenges. *Thrombosis and Haemostasis*. Vol. 114 (6), pp. 1104–1112. Doi: 10.1160/TH15-01-0077
98. Gómez-Outes, A., Suárez-Gea, M.L., Lecumberri, R., Terleira-Fernández, A.I., Vargas-Castrillón, E., Rocha, E. (2013). Potential role of new anticoagulants for prevention and treatment of venous thromboembolism in cancer patients. *Vascular Health and Risk Management*. Vol. 9, pp. 207–228. Doi: 10.2147/VHRM.S35843
99. Lunsford, K., Mackin, A. (2007). Thromboembolic therapies in dogs and cats: an evidence-based approach. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*. Vol. 37 (3), pp. 579–609. Doi: 10.1016/j.cvsm.2007.01.010

#### Перспективные направления консервативного лечения сук с опухолями молочной железы (обзорная информация)

Белый Д.Д., Рубленко М.В., Самойлюк В.В., Спицина Т.Л.

Проблема лечения опухолей у собак остаётся актуальной, что обусловлено сложностью патогенетических каскадов, отсутствием единых методологических подходов к диагностике и лечению онкобольных пациентов, недостаточным количеством животных в группах, описательным характером представленных результатов, некорректностью «механического» переноса терапевтических протоколов из гуманной медицины. Предложенные схемы лечения не обеспечивают получение желаемых результатов, регистрируют стойкую

тенденцію к увеличению количества мелких домашних животных с опухолями молочной железы. Поэтому актуальным является поиск альтернативных методов лечения сук с опухолями молочной железы, среди которых, прежде всего, необходимо выделить применение нестероидных противовоспалительных средств, которые обеспечивают положительный эффект за счёт угнетения экспрессии циклооксигеназы-2, активации апоптоза и ингибирования миграции раковых клеток. Потенциально эффективными методами являются электропорация и электрохимиотерапия, которые позволяют существенно увеличить концентрацию химиотерапевтического средства в раковых клетках на фоне минимальной токсичности для здоровых тканей. Важное значение гиперкоагуляции в механизмах развития и прогрессирования новообразований молочной железы у собак обосновывает целесообразность использования антитромбической терапии у онкобольных пациентов, прежде всего низкомолекулярных гепаринов, которые позволяют увеличить эффективность терапевтических протоколов и профилактировать метастазирование опухолей. Указанные методы в составе комплексных схем лечения увеличивает эффективность общепринятых протоколов химио- и лучевой терапии, а также хирургического лечения. Однако, необходимы дальнейшие исследования патогенетических аспектов действия указанных методов лечения опухолей молочной железы у сук и определение возможности их комбинации с другими терапевтическими схемами.

**Ключевые слова:** суки, неоплазии молочной железы, протоколы лечения, нестероидные противовоспалительные средства, электропорация, антитромбическая терапия.

### Perspective directions of bitches conservative treatment with breast tumors (review information)

**Bilyi D., Rublenko M., Samoiliuk V., Spitsyna T.**

The problem of treating tumors in dogs remains relevant due to the complexity of pathogenetic cascades, lack of common methodological approaches to diagnosis and treatment of cancer patients, insufficient number of animals in groups, the described nature of the results, incorrect "mechanical" borrowing of therapeutic protocols from human medicine. The proposed treatment regimens do not provide the desired results, there is a steady trend to increase the number of small pets with breast tumors. Therefore, it is important to find alternative treatments for dogs with breast neoplasms, among which, first of all, should be noted the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, which cause a positive effect by inhibiting the expression of cyclooxygenase-2, activating apoptosis and inhibiting cancer cell migration. Potentially effective therapeutic methods are electroporation and electrochemotherapy, which can significantly increase the concentration of chemotherapeutic agents in cancer cells against the background of minimal toxicity to healthy tissues. The important role of hypercoagulation in the mechanisms of development and progression of breast tumors in dogs justifies the use of antithrombotic therapy in cancer patients, especially low molecular weight heparins, which can improve the effectiveness of therapeutic protocols and prevent tumor metastasis. It is shown that these methods as part of complex treatment regimens increase the effectiveness of conventional protocols of chemotherapy and radiation therapy, as well as surgery. However, further studies of the pathogenetic aspects of these treatments for breast tumors in bitches and the possibility of combining them with other therapeutic regimens are needed.

**Key words:** bitches, breast neoplasms, treatment protocols, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, electroporation, antithrombotic therapy.



Copyright: Білий Д.Д. та ін. © This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



ORCID iD:

Білий Д.Д.

Рубленко М.В.

Самойлюк В.В.

Спіцина Т.Л.

<https://orcid.org/0000-0003-3896-0384>

<https://orcid.org/0000-0001-9690-9531>

<https://orcid.org/0000-0001-8400-8904>

<https://orcid.org/0000-0002-8047-7305>