

На правах рукописи

Гурина Елизавета Романовна

**КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ
СРЕДСТВ В ЛЕЧЕНИИ СОБАК ПРИ ЛИМФОМЕ**

4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и
токсикология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Санкт-Петербург – 2025

Работа выполнена на кафедре фармакологии и токсикологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» (ФГБОУ ВО СПбГУВМ)

Научный руководитель – Лунегов Александр Михайлович,
кандидат ветеринарных наук, доцент.

Официальные оппоненты: **Дилекова Ольга Владимировна,**
доктор биологических наук, доцент,
ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», кафедра паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии имени С. Н. Никольского, заведующий кафедрой;

Кудачева Наталья Александровна,
кандидат ветеринарных наук, доцент,
ФГБОУ ВО «Самарский государственный аграрный университет», кафедра эпизоотологии, патология и фармакология, доцент.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный аграрный университет имени П. А. Столыпина» (Омский ГАУ).

Защита состоится « 6 » ноября 2025 года в 11:00 часов на заседании диссертационного совета 35.2.034.02 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская д. 5, тел. 8(812) 388-36-31.

С диссертацией можно ознакомится в библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО СПбГУВМ по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская д.5., и на официальном сайте <http://spbguvm.ru>

Автореферат разослан: « » 2025 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Хватов Виктор Александрович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В настоящее время количество регистрируемых животных с онкологическими заболеваниями увеличилось. Многие исследователи описывают различные методы диагностики и лечения новообразований у животных (Удочкина, Е. Н., Добренький, М. Н., Воробьев, М. Н., 2011; Кудряшов, А. А., Балабанова, В. И., 2015; Ханхасыков, С. П., Косинская, В. О., Тихенко, А. С., 2015; Теребова, С. В., Иванчук, Г. В., Салионова, А. Ю., 2016; Михайленко, Н. И., Войцехович, Д. В., 2017; Кудачева, Н.А., 2019; Татарникова, Н. А., Новикова, О. В., Негодных, Д. А., 2022; Сотникова, Л. Ф., Меликова, Ю. Н., 2022; Дилекова, О. В., Митенко, В.В., 2024; Семенов Б.С., Нечаев А.Ю., Назарова А.В., 2024).

Инцидентность лимфом у собак составляет 7-24% от числа всех онкологических заболеваний, в зависимости от географического региона, породы и возраста животных (Withrow, S. J., Vail, D. M., Page, R., 2012). Симптоматическое проявление лимфомы зависит от расположения очага опухолевого процесса (Славнова, Е. Н., 2017; Трофимцов, Д. В., Вилковыский, И. Ф., Аверин, М. А., 2017; Сидорова, К. А., 2018). Для подтверждения диагноза, как правило, проводят полную диагностику, которая включает первичный осмотр, анализы крови, компьютерную томографию, УЗИ, цитологию и гистологию (Фавро, К., 2015; Меликова, Ю. Н., 2022; Атабаева, Т. К., Костылев, В. А., Гончарова, А. В., 2022). На основании данных результатов исследований принимается решение по поводу тактики лечения, в том числе, введения цитостатических препаратов (химиотерапии) (Михайленко Н. И., 2017; Уфимцева И. А., Циулина Е. П., 2024).

Полное выздоровление при лимфоме невозможно, но благодаря химиотерапии можно достичь лучшего качества жизни и продолжительной ремиссии (Барсуков, С. В., 2007; Славнова, Е. Н., Тюрина, Н. Г., Головин, С. Т., Петров, А. Н., 2017; Кошкин, И. Н., Гречко, В. В., Сульдин, Е. В., Овчинников, Д. К., 2018).

Многие химиотерапевтические средства негативно влияют на качество жизни животных (Вилковыский, И. Ф., Ватников, Ю. А., Селезнев, С. Б., и др., 2015; Ниёзова, Ш. Х., Израильбекова, К. Ш., 2020). В настоящее время в ветеринарной практике лечение онкологических заболеваний у животных с применением цитостатических препаратов носит рекомендательный характер.

Данное исследование является актуальной темой в ветеринарной практике, так как численность онкологических заболеваний у животных увеличивается и требует новых методик лечения, которые будут увеличивать медиану выживаемости и качество жизни животных.

Степень разработанности темы. На данный момент существует множество протоколов лечения лимфомы у собак (Чегодаева, М. Е., Татарникова, Н. А., 2013; Игнатенко, Н. А., 2016; Литвицкий, Б. А., Жевак, Т.Н., 2016; Дудин, П. В., Лашин, А. П., 2024), но ни один из вариантов лечения не отличается выраженной ремиссией и меньшим проявлением побочных

эффектов. После введения цитостатических препаратов отмечается ухудшение качества жизни животных, что заставляет владельцев собак в дальнейшем отказываться от продолжения назначенного курса лечения.

При изучении литературных и патентных источников по теме диссертационной работы не было обнаружено сведений о применении комбинации доксорубицин, винкристин, преднизолон, этопозид в качестве основного протокола лечения собак с лимфомой.

Цель и задачи исследований. Цель исследований - разработать оптимальную комбинацию химиотерапевтических препаратов для лечения собак с диагнозом лимфома, которая будет отличаться большей продолжительностью жизни собак при ее применении и иметь меньший риск возникновения побочных эффектов на всем этапе курса лечения.

Для достижения поставленной цели определили ряд задач:
проанализировать данные по заболеванию собак с лимфомой;
разработать новую комбинацию противоопухолевых лекарственных препаратов в лечении собак с лимфомой;

- выявить побочные эффекты комбинации препаратов, входящих в состав нового протокола НОРЕ;

- сравнить эффективность новой комбинации препаратов НОРЕ с известным протоколом СНОР в лечении собак с лимфомой и внедрить в ветеринарную практику.

Научная новизна работы. Научная новизна и ценность полученных результатов заключается в том, что впервые создана комбинация лекарственных противоопухолевых препаратов в ветеринарной медицине под аббревиатурой НОРЕ, которая включает в себя следующие препараты: доксорубицин, винкристин, преднизолон, этопозид. Экспериментально доказано увеличение продолжительности жизни собак с лимфомой и менее выраженным проявлением побочных эффектов. Федеральной службой по интеллектуальной собственности зарегистрирован патент на изобретение № 2822936 «Состав для химиотерапии собак с лимфомой» от 16.07.2024 года (Е. Р. Гурина, А. М. Лунегов).

Теоретическая и практическая значимость. Полученные данные по лечению собак с лимфомой в результате исследований заключаются в том, что на основании проведенных исследований разработана новая комбинация цитостатических препаратов под аббревиатурой НОРЕ, которая увеличивает продолжительность жизни животных и улучшает качество жизни собак, что имеет значительную ценность для ветеринарной медицины.

Результаты исследований внедрены и используются в учебном процессе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный агротехнический университет», ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет», а также в ветеринарных клиниках г. Санкт-Петербург.

Методология и методы исследований. Для оценки основных закономерностей развития лимфомы у собак, их проявление и методы лечения, были изучены литературные данные. Также были проведены: сбор анамнеза

жизни и болезни собак, компьютерная томография, ультразвуковое исследование, гистология, цитология, общий клинический и биохимический анализ крови. Обработка результатов выполнялась с помощью критерия Стьюдента.

Основные положения, выносимые на защиту:

- анализ заболеваемости собак с лимфомой;
- новая комбинация химиотерапевтических средств в лечении лимфом у собак;
- побочные эффекты цитостатических препаратов циклофосфамида, этопозида и преднизолона;
- сравнительная клиническая эффективность протокола НОРЕ в лечении собак с лимфомой.

Степень достоверности и апробация результатов. Для проведения исследований было использовано современное сертифицированное оборудование, в экспериментах использовано достаточное количество животных. Доказана эффективность комбинации противоопухолевых препаратов при лимфоме у собак и достоверность полученных данных. Материалы диссертационной работы опубликованы и доложены на Международной научно-практической конференции «Интеграция образования, науки и практики в АПК: проблемы и перспективы» (Луганск, 2023 г.), Международном практическом форуме Компаньон ОНЛАЙН 2023 (Москва, 2023 г.), Национальной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГУВМ (Санкт-Петербург, 2024 г.), VI Международном конгрессе «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии» (Санкт-Петербург, 2024 г.).

Публикация результатов исследований. По теме диссертационной работы опубликовано 7 работ, из них две в изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования (Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии – 1; Международный вестник ветеринарии –1), зарегистрирован патент на изобретение № 2822936 «Состав для химиотерапии собак с лимфомой» от 16.07.2024 года.

Личный вклад. Диссертационная работа является результатом исследований, проводимых в период с 2021–2025 гг. Соискателем была сформирована самостоятельно цель и задачи исследования, составлен план проведения работы, изучены литературные данные лечения собак с лимфомой, на основании которых была составлена новая комбинация цитостатических препаратов для лечения собак с лимфомой, произведен анализ полученных данных, написание научных статей и выступление на конференциях, внедрение нового протокола лечения в ветеринарные клиники. Статьи опубликованы совместно с Лунеговым, А. М. Соавтор не возражает в использовании данных результатов. Личный вклад составляет 90%.

Соответствие диссертации паспорту научной деятельности. Диссертация соответствует паспорту научной деятельности 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология: пункты 9, 21.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 129 страницах компьютерного текста. Состоит из разделов: введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов, практических предложений, рекомендаций и перспектив дальнейшей разработки темы, списка литературы, состоящего из 294 источника, в том числе 108 отечественных и 186 иностранных авторов. Текст диссертации содержит 11 таблиц, а также 29 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось на базе кафедры фармакологии и токсикологии Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины и ветеринарной клиники в г. Санкт-Петербург.

В качестве объекта исследования служили 234 собаки, разделенные на 3 опытные группы, по 78 в каждой, возрастом от 6 до 9 лет без учета половой и породной принадлежности, с диагнозом лимфома, период лечения которых осуществлялся с 2021 по 2025 год.

Сбор анамнеза жизни и анамнеза болезни животных проводился со слов владельцев животных. Диагностические мероприятия осуществлялись с применением: компьютерной томографии, ультразвукового исследования, гистологии, цитологии, общего клинического и биохимического анализов крови. Обработка результатов выполнялась с помощью критерия Стьюдента.

Сбор анамнеза проводился на приеме в ветеринарной клинике с целью планирования и проведения лечебных и диагностических мероприятий. Также на приеме осуществлялась оценка положения тела в пространстве, тургор кожи, упитанность животного, масса тела животного, аускультация грудной клетки, перкуссия грудной клетки, измерение скорости наполнения капилляров (СНК), пальпация поверхностных лимфатических узлов и оценка их размеров, консистенции, гетерогенность. На основании данных анамнеза и осмотра проводилось принятие решения о дальнейших манипуляциях.

Отбор материала на цитологическое исследование проводился в присутствии и при разрешении владельца животного путем тонкоигольной аспирационной биопсии (ТИАБ) из поверхностных лимфатических узлов - нижнечелюстных, поверхностных шейных и подколенных.

Отбор материала для гистологического исследования выполнялось также из нижнечелюстных, поверхностных шейных и подколенных лимфатических узлов с помощью трепан-биопсии.

Ультразвуковое исследование брюшной полости осуществлялось на аппарате Mindray DC-80, оценивая лимфатические узлы в брюшной полости. Животное располагалось на столе на спине, фиксировались тазовые и грудные конечности.

Компьютерная томография проводилась в клинике на аппарате Siemens SOMATOM Emotion. Используемые при компьютерной томографии параметры

варьировались в зависимости от веса животных в исследуемых группах, и составляли напряжение от 100 до 150 kV, а сила тока составляла от 100 до 200 mA. Реконструкция проводилась в мягкотканное и костное окно без контраста, ангиография проводилась препаратом «Омнипак» 350 мг в дозировке 2–4 мл/кг внутривенно с дальнейшим просмотром артериальной, венозной и отсроченной фаз сканирования.

Каждая опытная группа, состоящая из 78 собак, была разделена по протоколам лечения (Таблица 1). 39 собак проходило курс лечения классическим протоколом CHOP-19 Wisconsin-Madison (далее протокол CHOP) (Таблица 2) состоящий из комбинации таких препаратов как циклофосфамид, доксорубицин, винкристин, преднизолон. Остальные 39 собак проходили курс лечения по разработанной нами комбинации лекарственных препаратов - доксорубицин, винкристин, преднизолон, этопозид (далее протокол HOPE).

Таблица 1 – Общее количество исследуемых животных в период с 2021 по 2025 год

Опытные группы	Общее количество собак в группе	Количество собак на лечении по протоколу CHOP (подгруппа 1)	Количество собак на лечении по протоколу HOPE (подгруппа 2)
Группа 1	78	39	39
Группа 2	78	39	39
Группа 3	78	39	39
Общее количество исследуемых животных	234		

Для химиотерапии каждому животному устанавливался внутривенный периферический катетер, фиксировался тканевым пластырем. Перед каждым сеансом химиотерапии проводилось исследование общего клинического и биохимического анализов крови. Для сравнения результатов анализа крови собак были использованы референсные значения из учебного пособия Ковалева С.П.

После получения данных анализов крови проводилась предварительная медикаментозная подготовка животного путем введения противорвотного препарата ондансетрон 0,5 мг/кг за 15 минут до начала введения цитостатика.

Таблица 2 - Протокол CHOP-19 Madison-Wisconsin для лечения собак с лимфомой

Неделя	Схема применения лекарственных средств
1	Винкристин 0,6 мг/м ² внутривенно Преднизолон 2 мг/кг перорально 1 раз в сутки

Продолжение таблицы 2

2	Циклофосфамид 250 мг/м ² внутривенно Преднизолон 1,5 мг/кг перорально 1 раз в сутки
3	Винкристин 0,6 мг/м ² внутривенно Преднизолон 1 мг/кг перорально 1 раз в сутки
4	Доксорубицин 30 мг/м ² внутривенно (для собак средних и крупных пород), 25 мг/м ² (для собак массой менее 15 кг), 1 мг/кг (для карликовых пород и массой не более 10 кг) Преднизолон 0,5 мг/кг перорально 1 раз в сутки
5	Отмена преднизолона, препараты для химиотерапии не вводятся
6	Винкристин 0,6 мг/м ² внутривенно
7	Циклофосфамид 250 мг/м ² внутривенно
8	Винкристин 0,6 мг/м ² внутривенно
9	Доксорубицин 30 мг/м ² внутривенно (для собак средних и крупных пород), 25 мг/м ² (для собак массой менее 15 кг), 1 мг/кг (для карликовых пород и массой не более 10 кг)
10	Препараты для химиотерапии не вводятся
11	Винкристин 0,6 мг/м ² внутривенно
12	Циклофосфамид 250 мг/м ² внутривенно
13	Винкристин 0,6 мг/м ² внутривенно
14	Доксорубицин 30 мг/м ² внутривенно (для собак средних и крупных пород), 25 мг/м ² (для собак массой менее 15 кг), 1 мг/кг (для карликовых пород и массой не более 10 кг)
15	Препараты для химиотерапии не вводятся
16	Винкристин 0,6 мг/м ² внутривенно
17	Циклофосфамид 250 мг/м ² внутривенно
18	Винкристин 0,6 мг/м ² внутривенно
19	Доксорубицин 30 мг/м ² внутривенно (для собак средних и крупных пород), 25 мг/м ² (для собак массой менее 15 кг), 1 мг/кг (для карликовых пород и массой не более 10 кг)

В качестве протокола сравнения в лечении собак с лимфомой использовали протокол СНОР, который состоял из 19-недельного курса лечения и послужил прототипом к новому протоколу НОРЕ.

Результаты собственных исследований

Разработка протокола химиотерапии НОРЕ в лечении собак с лимфомой

За основу изобретения нового протокола НОРЕ был взят протокол СНОР, который используется у животных при лечении лимфомы. Протокол СНОР показал хорошие данные о медиане выживаемости у животных, но он имел ряд побочных эффектов – влияние циклофосфамида на мочевой пузырь, который приводил к развитию геморрагического цистита, влияющего на качество жизни животных, что также было подтверждено многими учеными. В качестве замены

препарата циклофосфамид был выбран этопозид, который по литературным данным имеет токсичность ниже, даже при увеличенных дозах.

На основе анализа побочных эффектов высокодозного применения препарата преднизолон в протоколе CHOP, которое выражалось в виде полиурии и полидипсии, приняли решение снизить дозу преднизолона до 1 мг/кг на весь курс лечения (Таблица 3). В протоколе CHOP доза преднизолона была 2 мг/кг и использовалась в течение всей недели после первого сеанса химиотерапии, с дальнейшим ее снижением и отменой после четвертой недели лечения.

Таблица 3 - Новый протокол HOPE для лечения собак с лимфомой

Неделя	Схема применения лекарственных средств
1	Винкристин 0,6 мг/м ² внутривенно Преднизолон 1 мг/кг перорально 1 раз в сутки
2	Этопозид 35 мг/м ² ежедневно внутривенно в течение 3-х дней Преднизолон 1 мг/кг перорально 1 раз в сутки
3	Винкристин 0,6 мг/м ² внутривенно Преднизолон 1 мг/кг перорально 1 раз в сутки
4	Доксорубицин 30 мг/м ² внутривенно (для собак средних и крупных пород), 25 мг/м ² (для собак массой менее 15 кг), 1 мг/кг (для карликовых пород и массой не более 10 кг). Преднизолон 1 мг/кг перорально 1 раз в сутки
5	Препараты для химиотерапии не вводятся
6	Винкристин 0,6 мг/м ² внутривенно Преднизолон 1 мг/кг перорально 1 раз в сутки
7	Этопозид 35 мг/м ² ежедневно внутривенно в течение 3-х дней Преднизолон 1 мг/кг перорально 1 раз в сутки
8	Винкристин 0,6 мг/м ² внутривенно Преднизолон 1 мг/кг перорально 1 раз в сутки
9	Доксорубицин 30 мг/м ² внутривенно (для собак средних и крупных пород), 25 мг/м ² (для собак массой менее 15 кг), 1 мг/кг (для карликовых пород и массой не более 10 кг). Преднизолон 1 мг/кг перорально 1 раз в сутки
10	Препараты для химиотерапии не вводятся
11	Винкристин 0,6 мг/м ² внутривенно Преднизолон 1 мг/кг перорально 1 раз в сутки
12	Этопозид 35 мг/м ² ежедневно внутривенно в течение 3-х дней Преднизолон 1 мг/кг перорально 1 раз в сутки
13	Винкристин 0,6 мг/м ² внутривенно Преднизолон 1 мг/кг перорально 1 раз в сутки
14	Доксорубицин 30 мг/м ² внутривенно (для собак средних и крупных пород), 25 мг/м ² (для собак массой менее 15 кг), 1 мг/кг (для карликовых пород и массой не более 10 кг) Преднизолон 1 мг/кг перорально 1 раз в сутки

Продолжение таблицы 3

15	Препараты для химиотерапии не вводятся
16	Винкристин 0,6 мг/м ² внутривенно Преднизолон 1 мг/кг перорально 1 раз в сутки
17	Этопозид 35 мг/м ² ежедневно внутривенно в течение 3-х дней Преднизолон 1 мг/кг перорально 1 раз в сутки
18	Винкристин 0,6 мг/м ² внутривенно Преднизолон 1 мг/кг перорально 1 раз в сутки
19	Доксорубицин 30 мг/м ² внутривенно (для собак средних и крупных пород), 25 мг/м ² (для собак массой менее 15 кг), 1 мг/кг (для карликовых пород и массой не более 10 кг) Преднизолон 1 мг/кг перорально 1 раз в сутки

Таким образом, протокол СНОР послужил прототипом к новому протоколу НОРЕ, который исключал цитостатик циклофосфамид, в связи с выраженным побочными эффектами, с заменой на этопозид и изменением курса и дозы преднизолона на всем этапе лечения.

Диагностика лимфомы у собак

Предварительный диагноз лимфома ставился на основании данных осмотра, при котором у животных выявлялось увеличение всех поверхностных лимфатических узлов (Рисунок 1), а также ультразвукового исследования для оценки лимфатических узлов в брюшной полости (Рисунок 2) и компьютерной томографии поверхностных лимфатических узлов и лимфатических узлов в грудной, брюшной полости (Рисунок 3).



Рисунок 1 - Увеличение нижнечелюстных лимфатических узлов у собаки № 96, 7 лет.



Рисунок 2 – УЗИ - увеличение мезентериальных лимфатических узлов в брюшной полости у собаки № 38, 8 лет.

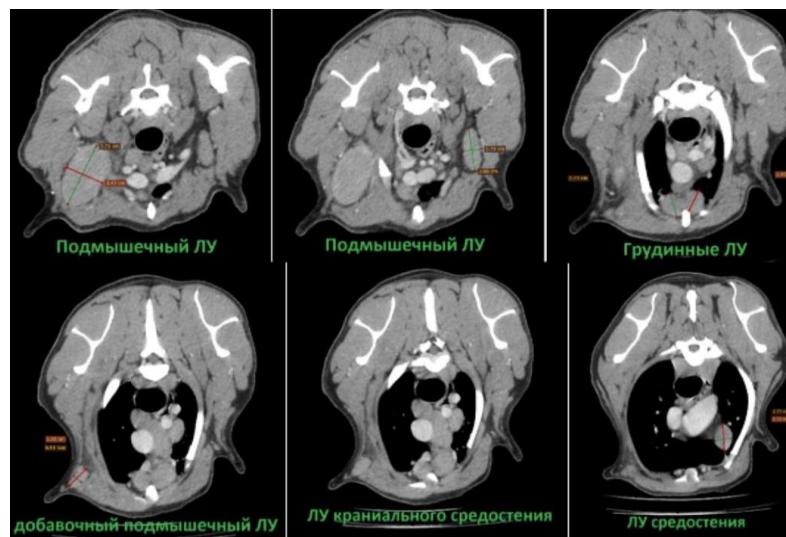


Рисунок 3 – КТ - увеличение подмышечных, грудинных и лимфатических узлов средостения у собаки № 18, 7 лет.

При осмотре и пальпации поверхностные лимфатические узлы у исследуемых животных были плотные, форма округлая или овальная, безболезненные, неподвижные относительно окружающих тканей, кожный покров над лимфатическими узлами не изменен. Более выражены визуально изменения нижнечелюстных лимфатических узлов (Рисунок 1).

При ультразвуковом исследовании брюшной полости отмечалось увеличение группы мезентериальных лимфатических узлов, которые изображены цифрами 1- 4 (Рисунок 2).

На компьютерной томографии с введением контрастного вещества визуализировалось увеличение подмышечных, грудинных, добавочных подмышечных узлов, лимфатических узлов средостения (Рисунок 3).

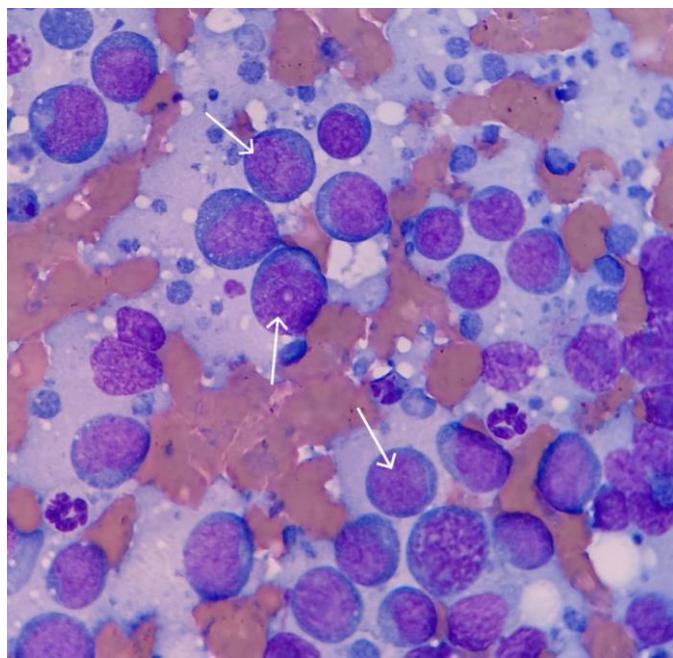


Рисунок 4 – Подколенный лимфатический узел, пораженный лимфомой. Крупные и неправильной формы нуклеолы и ядрышки (Окраска по Романовскому-Гимзе. Увел.400).

Для постановки окончательного диагноза из увеличенных лимфатических узлов была проведена тонкоигольная аспирационная биопсия для цитологического исследования и трепан-биопсия для гистологического исследования из увеличенных нижнечелюстных, поверхностных шейных и подколенных лимфатических узлов.

При цитологическом исследовании (Рисунок 4), цитоплазма крупных лимфоцитов скудная, от светло- до тёмно-базофильного цвета, с зоной просветления. Ядро преимущественно эксцентричное, округлое или бобовидное, стрелками отмечены крупные, неправильной формы нуклеолы и ядрышки.

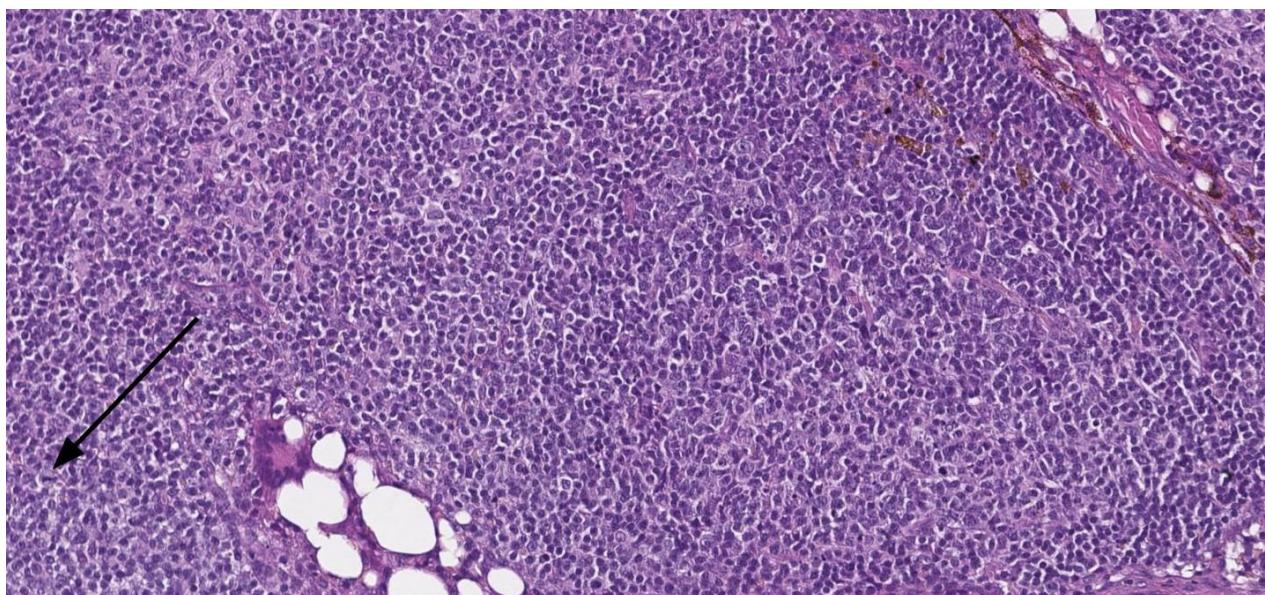


Рисунок 5 – Подколенный лимфатический узел, пораженный клетками лимфомы (Окраска гематоксилином и эозином. Увел.100).

Опухолевые клетки в гистологическом исследовании представлены мономорфной популяцией. Клетки округлые, ядра диаметром в 1,5–2 раза больше эритроцита, с узкой, преимущественно слабо базофильной цитоплазмой. Полиморфизм минимально выраженный. Ядра клеток преимущественно гиперхромные. Встречаются редкие митотические фигуры (Рисунок 5, стрелка).

У всех исследуемых животных (234 собаки) была диагностирована крупноклеточная лимфома.

Сравнительное исследование побочных эффектов цитостатиков

Перед каждым сеансом химиотерапии у пациента велся учет побочных реакций на протяжении всего курса лечения на протоколе СНОР и протоколе НОРЕ.

Наиболее часто на протоколе СНОР у собак встречались диспепсические явления (тошнота, рвота, диарея, анорексия), миелоидные реакции (угнетение работы костного мозга, лейкопения, нейтропения) и реакция мочевыделительной системы на препарат циклофосфамид. Ультразвуковым исследованием подтвердили побочный эффект препарата циклофосфамид, который визуализировался диффузно утолщенной стенкой мочевого пузыря, и проявлялся в виде геморрагического цистита (Рисунок 6).



Рисунок 6 – УЗИ мочевого пузыря у собаки № 215, 9 лет, проявление цистита после окончания курса химиотерапии СНОР в последствии применения циклофосфамида.

На протоколе химиотерапии НОРЕ было проявление диспепсических расстройств у собак, слабая миелосупрессия и аллергическая реакция на препарат этопозид. Снизили дозу преднизолона, что уменьшило нагрузку на

мочевыделительную систему. Данный протокол лечения переносился лучше на фоне длительного введения препарата преднизолон в невысокой дозе, тем самым удлиняя период ремиссии, и на фоне замены циклофосфамида на этопозид.

На лечении протоколом НОРЕ при первом введении этопозида через 15 минут у собак проявлялась аллергическая реакция. Отмечали покраснения ушной раковины, чихание, гиперсаливацию. Симптом хорошо купировался антигистаминным препаратом (блокатором Н1-гистмаминовых рецепторов) димедролом 0,1 мл/кг. После введения димедрола реакция больше не наблюдалась. Также продолжительное применение в низкой дозе препарата преднизолон в протоколе НОРЕ уменьшает выраженность аллергической реакции на этопозид. Так как этопозид необходимо вводить в дозе 35 мг/м² внутривенно ежедневно 3 дня, то если на первый день введения препарата у животного проявлялась аллергическая реакция, димедрол вводили превентивно уже на 2-й и 3-й день также, и в последующие недели в качестве премедикации к химиотерапии перед введением этопозида.

По окончанию курса лечения в группе 1 у 41% собак проявлялся побочный эффект в виде геморрагического цистита, который вызывал дискомфорт у животных. Пациентам в этом случае назначался препарат месна с целью уменьшения воспаления мочевого пузыря.

Такие же исследования побочных эффектов проводились параллельно в группе 2, где побочный эффект в виде цистита от циклофосфамида наблюдался у 17 животных из 39 (43,5%) суммарно, и проявился впервые уже на 9-й неделе химиотерапии протоколом СНОР, а дальше развитие цистита усиливалось, несмотря на антибиотикотерапию, что не наблюдалось при лечении протоколом НОРЕ. На протоколе НОРЕ у 8 собак из 39 (20,5%) была аллергическая реакция на этопозид через 15-20 минут после начала его введения на второй неделе лечения. Симптомы также купировались антигистаминным препаратом.

В группе 3 у 38,4% собак (15 собак из 39) суммарно отмечались симптомы цистита уже в конце протокола лечения лимфомы из-за препарата циклофосфамида. Впервые диагностировали цистит на 7-й неделе лечения. У 23% собак (у 9 собак из 39) была выявлена аллергическая реакция на препарат этопозид в первое введение, которая успешно купировалась димедролом.

Таблица 4 – Соотношение побочных эффектов этопозида и циклофосфамида в 3-х опытных группах в период с 2021 по 2025 год

Опытные группы	Побочный эффект от циклофосфамида, %	Побочный эффект от этопозида, %
Группа 1	41	15,3
Группа 2	43,5	20,5
Группа 3	38,4	23

В сравнительной характеристике протоколов лечения можно утверждать, что побочные эффекты от циклофосфамида в протоколе СНОР диагностируются чаще, чем от применения этопозида в протоколе НОРЕ (Таблица 4). В группе 1 побочный эффект от циклофосфамида составил 41%, в группе 2 – 43,5%, в группе 3 – 38,4%. Побочный эффект от этопозида был значительно меньше, в группе 1 – 15,3%, в группе 2 – 20,5%, в группе 3 – 23%. Первые симптомы цистита от введения циклофосфамида были зарегистрированы в группе 1 – на 8-ю неделю лечения; в группе 2 – на 9-ю неделю; в группе 3 – на 7-ю неделю лечения.

Исследование крови при введении цитостатиков

Перед каждым сеансом химиотерапии проводился отбор крови на клиническое и биохимическое исследование в связи с тем, что цитостатические препараты имеют влияние не только на опухолевые клетки, но также и на клетки костного мозга, а именно на лейкоциты (общее количество лейкоцитов и нейтрофилы), эритроциты и тромбоциты. Биохимическое исследование крови проводилось в первую очередь с целью оценки функции печени и почек.

Все вышеперечисленные показатели крови (лейкоциты, эритроциты и тромбоциты) являются важным этапом отбора пациентов перед химиотерапией, так как при наличии тех или иных отклонений в анализах крови, проводится коррекция дозы цитостатика, пациент может не допускаться к следующему сеансу химиотерапии, пока показатели не придут в норму с помощью различных способов стимуляции лейкопоэза и эритропоэза, а также инфузий с постоянной скоростью в отделении реанимации при более обширных патологиях со стороны внутренних органов.

По нашим наблюдениям, наиболее значимые изменения крови выявлены на 7-9 неделе химиотерапии протоколами СНОР и НОРЕ у всех животных в трех опытных группах ввиду накопительного эффекта цитостатиков, что отражалось на общем клиническом и биохимическом анализе крови (Таблица 5 и 6).

Таблица 5 – Общий клинический анализ крови собак на 7 - 9 неделе химиотерапии протоколами СНОР и НОРЕ.

Показатели крови	Референсные значения у собак	Протокол СНОР	Протокол НОРЕ
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	5,2 – 8,4	$6,94 \pm 2,9$	$7,87 \pm 3,8$
Гематокрит, %	37,0 – 55,3	$38,7 \pm 9,2$	$44,8 \pm 10,4$
Гемоглобин, г/л	9,8 – 16,2	$10,0 \pm 3,6$	$11,0 \pm 4,2$
Средний объем эритроцита, фл	60,0 – 74,0	$35,3 \pm 13,7$	$36,9 \pm 15,5$
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	11,8 – 17,3	$11,3 \pm 3,1$	$15,0 \pm 2,7$
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/дл	28,1 – 35,8	$29,5 \pm 2,9$	$30,6 \pm 4,3$

Продолжение таблицы 5

Ширина распределения эритроцитов, %	15,0 – 27,0	31,7±6,7	26,7±3,9
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	8,5 – 10,5	8,8±3,5	9,8±4,9
Нейтрофилы, %	52 – 81	65,5±5,7	79,6±8,4
Лимфоциты, %	12,0 – 33,0	19,0±2,1	13,4±3,1
Моноциты, %	2,0 – 13,0	13,4±0,4	1,17±0,1
Эозинофилы, %	0,5 – 10,0	2,1±0,1	10,7±2,9
Базофилы, %	0,0 – 1,3	0,1±0,03	1,1±0,01
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л	2,30 – 10,29	3,57±2,01	8,26±4,3
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	0,92 – 6,88	2,6±1,2	3,04±1,9
Моноциты, 10 ⁹ /л	0,05 – 1,97	0,19±0,1	1,17±0,3
Эозинофилы, 10 ⁹ /л	0,17 – 1,57	0,2±0,07	0,27±0,04
Базофилы, 10 ⁹ /л	0,01 – 0,26	0,02±0,003	0,14±0,002
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	250 – 550	334±36	480±23
Средний объем тромбоцитов, фл	8,0 -21,6	17,5±4	8,9±3,4
Тромбокрит, %	0,17 – 0,86	0,58±0,3	0,20±0,01

p < 0,05 – различия статистически значимы

Согласно представленным данным, протокол химиотерапии НОРЕ, который содержал в себе препарат этопозид проявлял меньше побочных эффектов, чем протокол СНОР, который включал препарат циклофосфамид.

Одним из самых распространенных побочных эффектов многих цитостатиков является миелосупрессия. Развивается вследствие того, что противоопухолевые препараты действуют на все быстroredеляющиеся клетки костного мозга, а так как продолжительность жизни лейкоцитов ниже, чем других форменных элементов, то наступает лейкопения. Это проявляется чаще всего слабостью и вялостью животного, но бывают случаи, когда данная патология никак себя не проявляет. В группе 1 (СНОР) лейкоциты 8,8±3,5, в группе 2 (НОРЕ) 9,8±4,9. Нейтрофилы в 1-й группе 3,57±2,01, во 2-й группе 8,26±4,3. Причиной данного состояния являлся накопительный эффект от цитостатиков, который наиболее ярко проявлялся на химиотерапии циклофосфамидом.

Таблица 6 – Биохимический анализ крови собак на 7 - 9 неделе химиотерапии протоколами СНОР и НОРЕ.

Показатели крови	Референсные значения у собак	Протокол СНОР	Протокол НОРЕ
Мочевина, ммоль/л	3,5 – 9,2	$15,1 \pm 3,2$	$5,9 \pm 2,4$
Креатинин, мкмоль/л	44 – 133	$141,7 \pm 12,6$	$70,4 \pm 6,8$
АЛТ, МЕ/л	6 – 70	$116 \pm 10,4$	$51,6 \pm 7,2$
АСТ, МЕ/л	10 – 43	$114,7 \pm 8,1$	$32,8 \pm 7,3$
Щелочная фосфотаза, МЕ/л	8 – 156	$309,1 \pm 29,2$	$90,5 \pm 15,4$
Общий белок, г/л	50 – 72	$65,1 \pm 4,2$	$72,5 \pm 3,1$
Альбумин, г/л	25 – 39	$24,3 \pm 3,9$	$28,8 \pm 2,1$
Глобулин, г/л	27 – 44	$28,5 \pm 3,7$	$30,2 \pm 2,5$
Альбумин/глобулин, г/л	0,6 – 1,3	$0,71 \pm 0,2$	$0,66 \pm 0,1$
Билирубин общий, мкмоль/л	0 – 8	$8,2 \pm 2,7$	$3,3 \pm 3,8$
Кальций, ммоль/л	2,25 – 2,85	$2,9 \pm 0,2$	$2,4 \pm 0,3$
Фосфор, ммоль/л	0,94 – 1,71	$1,72 \pm 0,3$	$1,17 \pm 0,4$
Натрий, ммоль/л	144 – 160	$153 \pm 0,43$	$150 \pm 0,4$
Калий, ммоль/л	3,5 – 5,8	$4,6 \pm 0,8$	$4,30 \pm 0,6$
Натрий/Калий, ммоль/л	29 – 40	$33,3 \pm 1,7$	$32,6 \pm 2,03$
Хлор, ммоль/л	109 – 122	$118 \pm 6,38$	$111 \pm 7,95$

$p < 0,05$ – различия статистически значимы.

На фоне химиотерапии протоколом СНОР (1-я группа) с 7 по 9 неделю лечения, отмечали увеличение почечных показателей – мочевины ($15,1 \pm 3,2$), креатинина ($141,7 \pm 12,6$), фосфора ($1,72 \pm 0,3$), а также влияние на печень – повышение АЛТ ($116 \pm 10,4$), АСТ ($114,7 \pm 8,1$), щелочной фосфатазы ($309,1 \pm 29,2$), билирубина ($8,2 \pm 2,7$) и кальция ($2,9 \pm 0,2$). В таблице 6 указаны средние значения, которые были у 117 собак, проходящих курс химиотерапии СНОР и НОРЕ в 3-х опытных группах.

Таким образом, значимые отклонения в общем клиническом и биохимическом анализах крови при использовании протокола СНОР на 7-9 неделе может быть обусловлено накопительным действием препаратов, развитием диспепсических расстройств, а также влиянием циклофосфамида на организм.

Результаты фармакодинамического эффекта при лечении собак протоколами СНОР и НОРЕ

Ответом на лечение у собак в обоих случаях на протоколе химиотерапии НОРЕ и СНОР являлось уменьшение нижнечелюстных, поверхностных шейных и подколенных лимфатических узлов, и лимфатических узлов в брюшной полости (мезентериальные, тощекишечные, медиальные подвздошные).

По компьютерной томографии (Рисунок 7) отмечены множественные поражения лимфатических узлов в брюшной полости до химиотерапии протоколом НОРЕ (№ 1 – тощекишечный лимфатический узел; № 2 – мезентериальный лимфатический узел; № 3 – медиальный подвздошный лимфатический узел).

На рисунке 8 отмечен результат лечения через 7 недель химиотерапии протоколом НОРЕ. Визуализируется слабая реакция тощекишечного лимфатического узла (№ 1 – тощекишечный лимфатический узел).

На рисунке 9 представлены увеличенные мезентериальные лимфатические узлы в брюшной полости при УЗИ до начала лечения протоколом НОРЕ, на рисунке 10 представлен результат УЗИ лимфатических узлов в брюшной полости после 2-й недели химиотерапии протоколом НОРЕ.

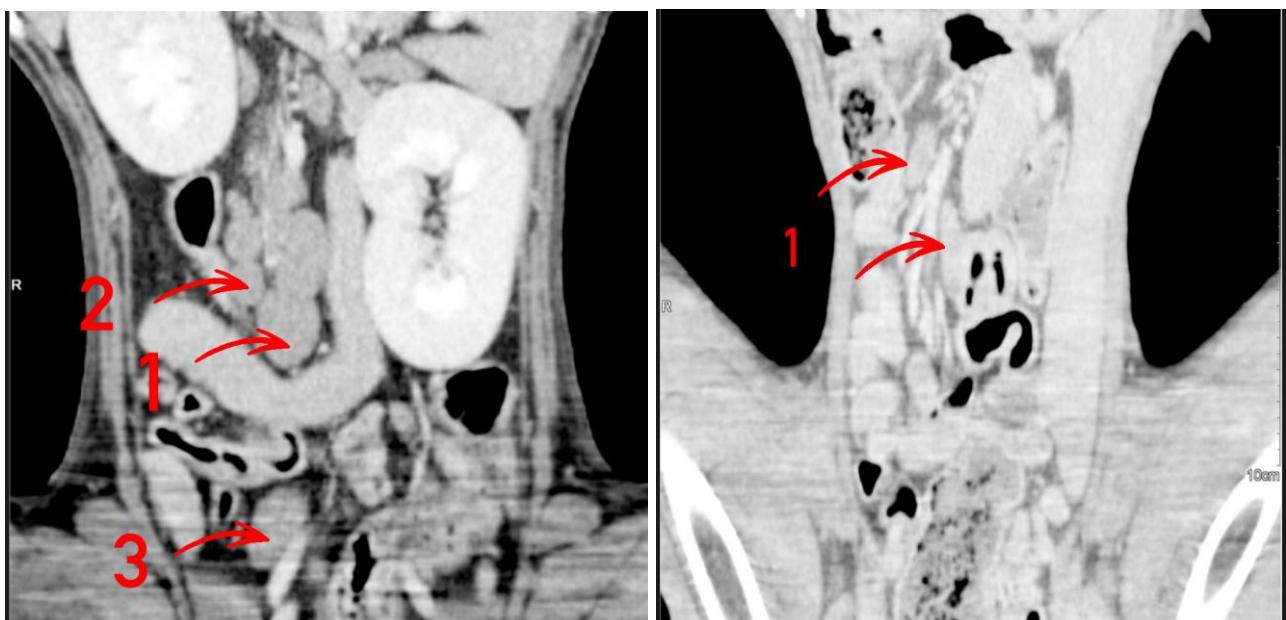


Рисунок 7 – КТ собаки № 23, 9 лет, с диагнозом лимфома до лечения протоколом Н
ОРЕ; № 2 – мезентериальный лимфатический узел; № 3 – медиальный подвздошный лимфатический узел; № 1 – тощекишечный лимфатический узел

Рисунок 8 – КТ собаки № 23, 9 лет, на 7-й неделе лечения после сеанса химиотерапии НОРЕ



Рисунок 9 – УЗИ мезентериальных лимфатических узлов собаки № 15, 8 лет, до химиотерапии протоколом НОРЕ

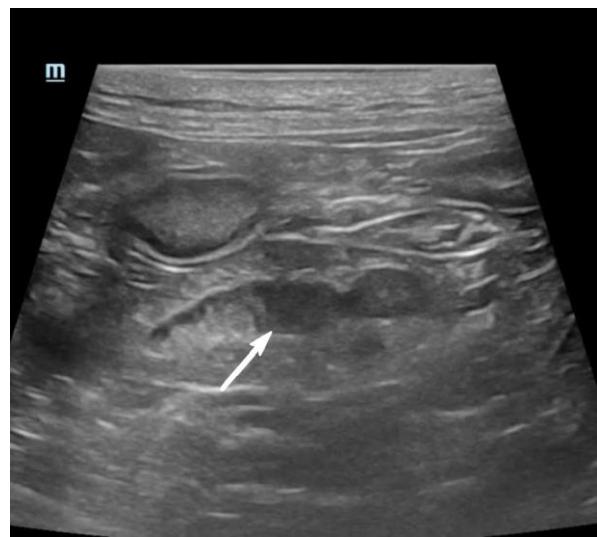


Рисунок 10 – УЗИ мезентериальных лимфатических узлов собаки № 15, 8 лет, после 2-й недели химиотерапии протоколом НОРЕ

По ультразвуковому исследованию и компьютерной томографии отметили, что ответ на лечение в виде уменьшения мезентериальных лимфатических узлов при использовании протокола химиотерапии НОРЕ достигался быстрее благодаря применению препарата этопозид, чем при использовании протокола СНОР. При применении преднизолона в протоколе НОРЕ продлевался период ремиссии у собак.

Результаты клинической эффективности лечения собак с лимфомой по протоколу НОРЕ

Клиническая эффективность протоколов химиотерапии заключается в увеличении медианы выживаемости и улучшении качества жизни животного. В протоколы химиотерапии включены цитостатические препараты, которые имеют низкий терапевтический индекс, в связи с этим их дозировка рассчитывается крайне точно.

Ответом на лечение считается уменьшение всех поверхностных и глубоких лимфатических узлов. Данный процесс мы контролировали визуально и пальпаторно (нижнечелюстные, поверхностные шейные и подколенные лимфатические узлы), а также с помощью УЗИ брюшной полости и компьютерной томографии грудной и брюшной полости.

Средняя продолжительность жизни на протоколе СНОР в опытной группе 1 составила $366,65 \pm 32,28$ дней; на протоколе НОРЕ $522,44 \pm 48,79$ дней, в опытной группе 2 средняя продолжительность жизни на протоколе СНОР у собак с лимфомой составила $392,05 \pm 44,27$ дня; на протоколе НОРЕ средняя продолжительность жизни $535,67 \pm 38,17$ дней. В опытной группе 3 продолжительность жизни на протоколе СНОР составила $395,79 \pm 36,54$ дней; продолжительность жизни на протоколе НОРЕ $536,77 \pm 41,35$ дней.

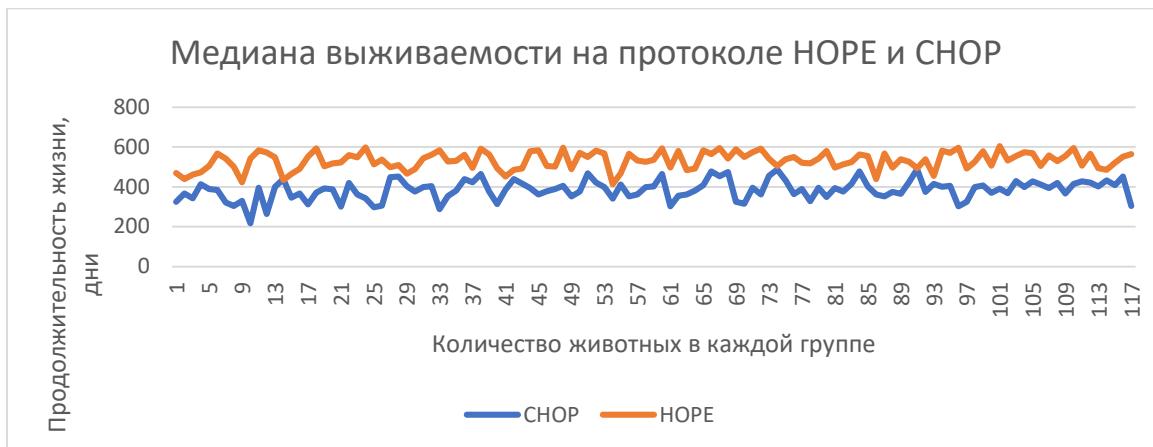


Рисунок 11 - Средняя продолжительность жизни животных в опытных группах на разных протоколах лечения

По результатам исследований в трех опытных группах общая продолжительность жизни собак с лимфомой на протоколе лечения CHOP в период 2021 года по 2025 год составила $384,83 \pm 37,63$ дней, на протоколе лечения HOPE составила $531,62 \pm 42,77$ дней (Рисунок 11).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Создавая новый протокол химиотерапии HOPE для собак с лимфомой, включающий винкристин, этопозид, доксорубицин и преднизолон, стремились улучшить качество жизни животных и увеличить медиану их выживаемости, что подтвердилось результатами проводимого исследования, по которым были сформированы следующие выводы:

1. Собственные исследования на 234 собаках, проводимые с помощью УЗИ, КТ, цитологии и гистологии подтвердили у трех опытных групп крупноклеточную лимфому 3-й стадии.

2. Разработана новая комбинация лекарственных препаратов для химиотерапии собак с лимфомой под аббревиатурой HOPE, которая включает в себя доксорубицин, винкристин, преднизолон, этопозид, а также разработана схема лечения.

3. Впервые с помощью УЗИ выявили на 7-9 неделе лечения побочное действие циклофосфамида в виде геморрагического цистита в среднем у 40,9% собак, входящего в состав протокола CHOP, который снижал качество жизни в течение всего курса лечения. Было выявлено побочное действие препарата этопозид, входящий в протокол HOPE, в виде аллергической реакции у 19,6% собак, которая купировалась премедикацией антигистаминным препаратом, что не влияло на качество жизни. Введение преднизолона в дозе 2 мг/кг по протоколу CHOP вызывало полиурию и полидипсию, в отличие от протокола HOPE, в котором преднизолон вводился в дозе 1 мг/кг в течение всего курса лечения, не вызывая побочных явлений.

4. Наиболее значимые изменения крови у собак выявлены на 7-9 неделе химиотерапии протоколами CHOP и HOPE у всех животных в трех опытных

группах в виду накопительного эффекта цитостатиков. Протокол химиотерапии НОРЕ, который содержал в себе препарат этопозид, проявлял меньше побочных эффектов, чем протокол СНОР, который включал препарат циклофосфамид.

5. При лечении собак с лимфомой протоколом НОРЕ отметили уменьшение поверхностных и глубоких лимфатических узлов. Эффект достигался быстрее, чем на лечении протоколом СНОР. Средняя продолжительность жизни на протоколе СНОР составила $384,83 \pm 37,63$ дней, в отличие от разработанного нами протокола НОРЕ, где средняя продолжительность жизни составила $531,62 \pm 42,77$ дней, что существенно увеличило продолжительность и качество жизни животных.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Полученные данные по разработке нового протокола химиотерапии НОРЕ, который включает в себя винкристин, этопозид, доксорубицин и преднизолон, могут быть использованы ветеринарными специалистами в ветеринарной практике при лечении лимфомы у собак, планировании диагностических, профилактических и лечебных манипуляций; при оценке результативности лечения лимфомы, при анализе данных о заболевании собак с лимфомой; при разработке новых комбинаций цитостатиков при лечении собак с лимфомой; при изучении фармакодинамики химиотерапевтических препаратов; при сравнении протоколов химиотерапии для собак с лимфомой; использовать данные для обучения студентов в высших учебных заведениях, а также при чтении лекций и проведении практических занятий по клинической фармакологии, патологической анатомии, написании учебников, учебных пособий.

Данные о побочных эффектах известного протокола СНОР и созданного протокола НОРЕ необходимо учитывать при планировании лечения лимфом у собак.

РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Полученные результаты исследований в виде создания нового протокола НОРЕ для лечения собак с лимфомой рекомендуем использовать в дальнейшем для расширения клинических исследований, повышения качества жизни собак на новом протоколе лечения с помощью разработки превентивной меры устранения побочных эффектов, а также оптимизации дозирования цитостатических лекарственных средств. Дозы препаратов следует применять в соответствии с данным исследованием. Для определения стадии опухолевого процесса рекомендовано проведение ультразвукового исследования и компьютерной томографии. Перспектива развития состоит в разработке новых протоколов лечения лимфомы у собак, с учетом индивидуальных молекулярных особенностей опухолевой клетки, использовании биомаркеров для определения резистентности к химиотерапии.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в журналах, включенных в перечень (по специальности 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология) рецензируемых научных изданий ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ

1. Гурина, Е. Р. Сравнительное исследование протоколов химиотерапии при лимфоме у собак / Е. Р. Гурина, А. М. Лунегов // Международный вестник ветеринарии - 2024. - № 1 - С. 427 - 432.
2. Гурина, Е. Р. Токсичность этопозида в лечении кошек при лимфоме / Е. Р. Гурина, А. М. Лунегов // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2023. – № 2. – С. 84-88.

Материалы, опубликованные в других научных журналах и сборниках материалов конференций

3. Гурина, Е. Р. Проявление побочного действия лекарственной терапии у собак и кошек с лимфомой / Е. Р. Гурина, А. М. Лунегов // Материалы национальной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГУВМ - 2024. - С. 21-22 - DOI:10.52419/3006-2023-14.
4. Гурина, Е. Р. Лимфома собак и кошек / Е. Р. Гурина // Ветеринарная онкология. – 2022. - № 1(1). – С. 4-9.
5. Гурина, Е. Р. Анализ локализации лимфомы у собак и кошек / Е. Р. Гурина // Материалы IV Международного конгресса «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии» (Санкт-Петербург, 15–17 мая 2024 г.) / ФГБОУ ВО СПбГУВМ, 2024. – 34-35 с.
6. Гурина, Е. Р. Лекарственная токсикология у собак и кошек с лимфомой / Е. Р. Гурина, А. М. Лунегов // Сборник материалов III международной научно-практической конференции (Луганск, 23–24 ноября 2023 г.) / ФГБОУ ВО ЛГАУ, 2023. – 41-42 с.

Патент на изобретение

7. Патент на изобретение № 2822936 RU С1 Российская Федерация «Состав для химиотерапии собак с лимфомой» : заявл. 03.04.2023 : опубл. 16.07.2024 / Е. Р. Гурина, А. М. Лунегов; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины".