

Морфобиохимический профиль крови при терапии ингибиторами ЦОГ-2 и циклофосфамидом

В. И. Горинский¹, В. В. Салаутин^{1✉}, Н. А. Пудовкин¹

¹ Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова, Саратов, Россия

✉ E-mail: salautin60@mail.ru

Аннотация. В современной ветеринарной медицине в последнее десятилетие отмечаются значительные достижения в области лечения злокачественных опухолей у собак, но тем не менее онкобольные животные достаточно широко распространены и их количество имеет тенденцию к дальнейшему увеличению. Использование для терапии онкологических патологий лишь традиционных методов (лучевая и химиотерапия, хирургический) не оказывает положительного эффекта, соответственно, не решает проблему в целом.

Научная новизна заключается в изучении влияния селективных ингибиторов ЦОГ-2 в комбинации с циклофосфамидом на морфобиохимические показатели крови собак при злокачественных новообразованиях молочной железы. **Целью** нашей работы являлось изучение динамики морфобиохимических показателей крови при проведении мультимодальной консервативной терапии рецидива рака молочной железы у собак селективными ингибиторами ЦОГ-2 (фирококсиб, циминоксиб) и циклофосфамидом. **Методы исследования.** Клинические наблюдения и исследования проведены в ветеринарной клинике Центра красоты и здоровья животных «Зоостиль» Волгограда. Объектом исследования служили 6 собак – сук различных пород в возрасте 10–14 лет с морфологически подтвержденным диагнозом рецидива аденокарциномы молочной железы. При этом использовали автоматический гематологический анализатор Mindray BC-2800 Vet и полуавтоматический биохимический анализатор BioChem SA. Окрашенные мазки крови просматривали под микроскопом «МИКМЕД-5». **Результаты.** Результаты исследований показывают, что морфобиохимические показатели крови к 90-му дню терапии в обеих группах варьировали. Полученные результаты убедительно показывают, что применение комбинации селективных ингибиторов ЦОГ-2 и циклофосфамида в клинически значимых дозах индуцировало повышение отдельных биохимических показателей сыворотки крови без симптоматических проявлений. В группе применения фирококсиба уровень креатинина и мочевины превысил референсные значения на 39,5 и 67,7 % соответственно. Таким образом, комбинация препаратов в первой группе демонстрирует повышенный риск применения животными с почечной недостаточностью.

Ключевые слова: кровь, динамика, гематологические и биохимические показатели, циклооксигеназа-2, циклофосфамид, рак молочной железы, собака.

Для цитирования: Горинский В. И., Салаутин В. В., Пудовкин Н. А. Морфобиохимический профиль крови при терапии ингибиторами ЦОГ-2 и циклофосфамидом // Аграрный вестник Урала. 2023. № 03 (232). С. 22–31. DOI: 10.32417/1997-4868-2023-232-03-22-31.

Дата поступления статьи: 02.11.2022, **дата рецензирования:** 29.11.2022, **дата принятия:** 19.12.2022.

Постановка проблемы (Introduction)

Рак – обобщающий термин, применяемый для определения заболеваний, главной характеристикой которых является неконтролируемый рост и пролиферация соматических клеток. Это генетическая, не всегда наследственная патология. Накопленные множественные мутации – основная причина онкогенеза. Злокачественные новообразования могут возникать после воздействия мутагенов окружающей среды, таких как ультрафиолетовое облучение, сигаретный дым, техногенные загрязнения и т. д. Тем не менее было бы неверным пола-

гать, что окружающая среда полностью ответственна за большинство опухолей. Важным внутренним мутагеном является частота ошибок ферментов, контролирующих репликацию ДНК. Большинство мутаций, вызванных внешними или внутренними факторами, не проявляют патологических свойств и не препятствуют нормальному функционированию клетки. Однако благодаря активным мутациям возможна инактивация генов – супрессоров опухоли или индукция протоонкогенов, что действует как пусковой механизм трансформации обычных клеток в раковые. Концепция внутренней мута-

генности трактует, что более двух третей раковых заболеваний вызваны «случайными» ошибками в репликации ДНК. Предполагается, что не менее половины мутационной нагрузки, присутствующей в раковых клетках, возникает до того, как образуются опухоли. Главная идея риска развития новообразований заключается в том, что репликация ДНК представляет собой основной фактор риска развития рака в дополнение к основным причинам: наследственность, экология, инфекционные агенты и т. д. В современном представлении о биологии рака, ни один ген не несет универсальной ответственности за трансформацию клеток. Необходимо не менее 5–6 драйверных мутаций для определения фенотипа опухоли. Каждый следующий шаг к канцерогенезу регулируется множественными биохимическими путями. Как мутации нескольких отличных между собой генов могут привести к определенному фенотипу, так мутации одного и того же гена могут наблюдаться при различных видах рака [20]. По литературным данным новообразования молочной железы в популяции собак составляют не менее трети всех опухолей. Пик заболеваемости приходится на возрастную группу 8,5–9 лет. Практически все заболевшие животные – самки. По результатам гистологического исследования меньше половины случаев опухолей представлены доброкачественным процессом (48,8 %), а канцерогенез диагностирован у большего количества сук (51,2 %) [2]. Значение медикаментозной противоопухолевой терапии как самостоятельного метода или как этапа комплексного лечения неоспоримо. Цитотоксические препараты неизменно применяются как в неoadъювантном, так и в адъювантном режимах, а также в случаях, когда другие методы лечения не могут быть применимы. В процессе терапии, несмотря на тщательный подбор режима дозирования цитостатического препарата, нередко проявляется его токсическое действие на слизистую оболочку ротовой полости, пищеварительный канал, почки, органы кроветворения, кожный покров и нервную систему. Побочные эффекты противоопухолевых препаратов, характеризующиеся способностью оказывать повреждающее действие не только на клетки опухоли, но и на активно пролиферирующие здоровые клетки организма, являются лимитирующим фактором для проведения химиотерапии. В связи с этим приобретает важность совершенствование методов, применяемых для предупреждения, ослабления и устранения негативного влияния противоопухолевой терапии на органы и системы организма [17]. Методы терапии рака в основном сосредоточены на разрушении непосредственно опухолевых клеток. Концептуальный прогресс за последние десятилетия добавил к пониманию биологии рака такое понятие, как микроокружение опухоли. Отличительные признаки рака, приобретенные в ходе многоэтапного канцерогенеза, дополнились

перепрограммированием метаболизма, уклонением от иммунного разрушения и рекрутированием «нормальных» клеток, способствующих созданию микроокружения опухоли. Взаимодействие трансформированных клеток с микроокружением определяет биологическое поведение опухоли. Современный подход к терапии рака подразумевает комплексное воздействие на различные молекулярные мишени, обусловленные онкогенезом. Стратегии модуляции микроокружения злокачественных новообразований открывают новые перспективы в онкологии. Поиск молекулярных мишеней и способов модуляции микроокружения опухоли находят широкое применение и все больше влияют на разработку новых средств для лечения злокачественных новообразований у человека и животных. Концепция, предложенная Рудольфом Вирховым в 1863 г., о взаимосвязи между хроническим неразрешенным воспалением и развитием рака, получила широкое распространение в клинической и экспериментальной онкологии. В качестве ключевых признаков ассоциированного с канцерогенезом воспаления были выделены инфильтрация лейкоцитов, опухолеассоциированных макрофагов, цитокинов (IL-1, IL-6, TNF- α), некоторых хемокинов, ускорение клеточного цикла, пролиферация, уклонение от апоптоза и неопластический ангиогенез [15]. Первоначально реализация противоопухолевого эффекта селективных ингибиторов циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) основывалась на фактах определения повышенного уровня простагландина E2 и сверхэкспрессии ЦОГ-2 при раке молочной железы у собак [5; 6; 13]. Аналогичные результаты с гиперэкспрессией ЦОГ-2 были получены и при исследованиях клеточных линий других злокачественных новообразований [13; 16]. В медицине человека по результатам клинических исследований отмечено снижение риска развития, а также смертности от неоплазии у пациентов, принимающих нестероидные противовоспалительные препараты [7; 12; 14; 18; 21]. В современном представлении ингибирование ЦОГ-2 – это всего лишь одна из молекулярных мишеней в борьбе с раком. Помимо эйкозаноидного пути воздействия нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП), дополнительно были продемонстрированы и ЦОГ-независимые мишени [8; 10; 11; 12; 14; 15; 21]. В качестве ЦОГ-независимых мишеней для COXIB можно выделить PDK-1/Akt (Arico с соавт., 2002; Benelli с соавт., 2019), PPAR (Narayanan с соавт., 2005), MAPK (Setia с соавт., 2006; Jia с соавт., 2021; Park с соавт., 2010), Wnt/ β -катенин (Sareddy с соавт., 2013; Huang с соавт., 2017), mTOR (Zhang с соавт., 2019), аутофагия (Lu Y. с соавт., 2016; Huang с соавт., 2010, 2013), клеточная кинетика (Grösch с соавт., 2001), цитохром C (Maier с соавт., 2004; Wang с соавт., 2013), NAG-1 (Huang с соавт., 2007; Iguchi с соавт., 2009), мобилизация Ca²⁺ (Johnson с соавт., 2002), карбоангидраза (Weber с соавт., 2004;

Knudsen с соавт., 2004; Vlad с соавт., 2015) [12; 15; 21]. Современные терапевтические стратегии не позволяют игнорировать медиаторы воспаления или нижестоящие сигнальные молекулы в борьбе с раком. В сравнении с неселективными НПВП коксибы (COXIB) показали более значимое снижение риска возникновения и развития рака с менее выраженными побочными эффектами [15]. В случаях консервативного лечения наибольший терапевтический эффект демонстрируют различные комбинации препаратов [1; 5; 9; 17]. А метрономный режим в качестве продленной системной терапии позволяет значительно улучшить результаты лечения пациентов со злокачественными нерезектабельными новообразованиями [1; 3; 19; 20, с. 186, 267]. Результаты проводимого нами исследования позволят разработать научно обоснованный подход к применению селективных ингибиторов ЦОГ-2 в комбинации с цитостатическими препаратами при спонтанных новообразованиях животных, что даст возможность максимально нивелировать токсический эффект проводимого лечения, добиться стабилизации процесса, увеличение медианы продолжительности жизни с сохранением ее качества.

Цель нашего исследования – выявить динамику морфобиохимических показателей крови при проведении консервативной терапии рецидива рака молочной железы у собак селективными ингибиторами ЦОГ-2 (фирококсиб, циминоксиб) в комбинации с циклофосфамидом.

Методология и методы исследования (Methods)

Объектом исследования служили 6 собак – суки различных пород в возрасте 10–14 лет с морфологически подтвержденным диагнозом рецидива аденокарциномы молочной железы. Предварительно производили сбор анамнестических данных, а также оценку общего соматического состояния с учетом результатов физикального осмотра, лабораторных, рентгенологического и ультразвукового исследований, МР-томографии. Классификацию и стадирование проводили согласно с TNM-классификации (Owen, 1980) и общей клинической классификации злокачественных опухолей по стадиям развития. Рентгенографию осуществляли на ветеринарном рентген аппарате Examion X-DR Static Classic. Ультразвуковые исследования производили на сканере Chison QBIT 9 NEW Matrix, при помощи датчиков – D6C15L, D7L40L. Магнитно-резонансную томографию выполняли на МР-томографе Signa HDxt (General Electric) с напряженностью поля 1,5 Тл. По принципу аналогов были сформированы две опытные группы. Терапия в группах отличалась по комбинации выбранных препаратов. Животным первой группы в течение 90 дней ежедневно перорально в метрономном режиме применяли циклофосфамид в дозе 15 мг на 1 м² поверхности тела 1 раз в день [3, с. 235, 302; 4, 172; 10, с. 190–191, 265–268] и одновременно фирококсиб в дозе

5 мг на 1 кг веса животного 1 раз в день. Во второй группе, в комбинации с циклофосфамидом в течение 90 дней ежедневно перорально применяли циминоксиб, в дозе 2 мг на 1 кг веса животного 1 раз в день. Селективные ингибиторы ЦОГ-2 применяли согласно инструкции производителя. Для оценки морфобиохимических показателей пробы брали до начала эксперимента и на 90-й день применения препаратов. При этом использовали автоматический гематологический анализатор Mindray BC-2800 Vet и полуавтоматический биохимический анализатор BioChem SA. Окрашенные мазки крови просматривали под микроскопом «МИКМЕД-5». Цифровой материал подвергали статистической обработке с вычислением критерия Стьюдента на персональном компьютере с использованием стандартной программы вариационной статистики Microsoft Excel.

Результаты (Results)

Результаты по изучению влияния проводимой терапии на морфологические и биохимические показатели крови больных животных представлены в таблицах 1–4.

Морфологические и биохимические показатели как больных, так и подвергшихся лечению животных, представленные в таблицах 1–4, убедительно показывают, что при разных схемах мультимодальной терапии отмечается разная динамика изменений в крови. Так, по результатам общего анализа крови у животных первой группы при комбинированном применении циклофосфамида и фирококсиба к 90-му дню терапии содержание гранулоцитов, включая процентное отношение, увеличилось на 7,16 % и 7,87 %. Также было отмечено повышение количества гематокрита на 37,59 %. Достоверно снизились показатели лимфоцитов на 28,23 % и 28,29 %, эритроцитов – на 13,54 %, тромбоцитов – на 22,27% по сравнению с значениями первого дня до терапии. Во второй группе при комбинированном применении циклофосфамида и циминоксиба на 90-й день терапии количество лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов уменьшилось на 20,62 %, 32,74 %, 25 % и 16,55 % соответственно. Процентное содержание лимфоцитов снизилось на 11,65 %. При оценке биохимических показателей сыворотки крови у собак первой группы на 90-й день терапии было отмечено повышение уровня альбуминов на 7,50 %, общего билирубина – на 125,40 %, АЛТ – на 28,90 %, амилазы – на 56,22 %, холестерина – на 10,41 %, креатинина – на 47,30 %, мочевины – на 119,64 % в сравнении со значениями первого дня до начала лечения. Также наблюдали снижение количества глобулинов на 7,35 %, щелочной фосфатазы – на 39,65 %, глюкозы – на 22,18 %, фосфора – на 29,88 %. Во второй группе к 90-му дню терапии зарегистрировано увеличение значений альбумина на 12,03 %, общего билирубина – на 52,92 %, АЛТ – на 12,71 %, щелочной фосфатазы –

на 34,75 %, мочевины – на 57,88 %. В то же время отмечено понижение показателей глобулина на 11,16 %, амилазы – на 11,02 %, глюкозы – на 8,42 %, креатинина – на 29,48 %, кальция – на 5,27 %.

Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

Таким образом, анализ морфологических и биохимических показателей крови при проведении консервативной терапии злокачественных новообразований молочной железы у собак селективными ингибиторами ЦОГ-2 в комбинации с циклофосфамидом показал, что к 90-му дню терапии они варьировали в обеих группах. При разных схемах мультимодальной терапии отмечали разную динамику изменений крови.

При комбинированном применении циклофосфамида и фирококсиба у собак первой группы отмечено увеличение количества гранулоцитов и гематокрита, а также достоверное снижение показателей лимфоцитов, эритроцитов и тромбоцитов в пределах референсных значений. Зарегистрировано повышение уровня общего билирубина и мочевины (более чем в 2 раза), креатинина на 47,30 %, АЛТ и амилазы в сравнении со значениями первого дня до

терапии. Выявлено снижение количества щелочной фосфатазы, глюкозы и фосфора.

У собак второй группы при комбинированном применении циклофосфамида и циминоксиба определено понижение количества лейкоцитов на 20,62 %. Отмечено увеличение значений общего билирубина и мочевины свыше 50 %, щелочной фосфатазы на 34,75 %, альбумина и АЛТ, а также снижение показателей креатинина на 29,48 %, глобулинов, амилазы, глюкозы и кальция.

Полученные результаты убедительно показывают, что применение комбинации селективных ингибиторов ЦОГ-2 и циклофосфамида в клинически значимых дозах индуцировало повышение отдельных биохимических показателей сыворотки крови без симптоматических проявлений. В группе применения фирококсиба уровень креатинина и мочевины превысил референсные значения на 39,5 и 67,7 % соответственно.

Таким образом, комбинация препаратов в первой группе, демонстрирует повышенный риск применения животными с почечной недостаточностью.

Таблица 1
Динамика морфологических показателей при комбинированном применении циклофосфамида и фирококсиба

Показатель	Единица измерения	Референсные значения (собаки)	До начала терапии	На 90-й день терапии
Лейкоциты	10 ⁹ /л	6,0–17,0	7,93 ± 0,16	7,93 ± 0,34
Лимфоциты	10 ⁹ /л	0,8–5,1	1,63 ± 0,18	1,17 ± 0,18*
Моноциты	10 ⁹ /л	0,0–1,8	0,30 ± 0,0	0,33 ± 0,06*
Гранулоциты	10 ⁹ /л	4,0–12,6	6,00 ± 0,35	6,43 ± 0,13
Лимфоциты	%	12,0–30,0	20,40 ± 2,84	14,63 ± 1,72*
Моноциты	%	2,0–9,0	4,30 ± 0,45	4,13 ± 0,66*
Гранулоциты	%	60,0–83,0	75,30 ± 3,05	81,23 ± 2,39
Эритроциты	10 ¹² /л	5,50–8,50	7,76 ± 0,31	6,71 ± 0,07*
Гемоглобин	г/л	110–190	160,67 ± 13,28	160,00 ± 5,13
Гематокрит	%	39,0–56,0	54,07 ± 2,99	47,40 ± 1,65*
Тромбоциты	10 ⁹ /л	117–460	365,33 ± 82,90	284,00 ± 32,35*

Примечание. Достоверность различий относительно до начала терапии: * p ≤ 0,05.

Table 1
Dynamics of morphological parameters in the combined use of cyclophosphamide and firocoxib

Indicator	Unit of measurement	Reference values (dogs)	Before starting therapy	90th day of therapy
White blood cells	10 ⁹ /l	6.0–17.0	7.93 ± 0.16	7.93 ± 0.34
Lymphocytes	10 ⁹ /l	0.8–5.1	1.63 ± 0.18	1.17 ± 0.18*
Monocytes	10 ⁹ /l	0.0–1.8	0.30 ± 0.0	0.33 ± 0.06*
Granulocytes	10 ⁹ /l	4.0–12.6	6.00 ± 0.35	6.43 ± 0.13
Lymphocytes	%	12.0–30.0	20.40 ± 2.84	14.63 ± 1.72*
Monocytes	%	2.0–9.0	4.30 ± 0.45	4.13 ± 0.66*
Granulocytes	%	60.0–83.0	75.30 ± 3.05	81.23 ± 2.39
Red blood cells	10 ¹² /l	5.50–8.50	7.76 ± 0.31	6.71 ± 0.07*
Hemoglobin	g/l	110–190	160.67 ± 13.28	160.00 ± 5.13
Hematocrit	%	39.0–56.0	54.07 ± 2.99	47.40 ± 1.65*
Platelets	10 ⁹ /l	117–460	365.33 ± 82.90	284.00 ± 32.35*

Note. The significance of the differences relative to before the start of therapy: * p ≤ 0.05.

Таблица 2
Динамика биохимических показателей крови при комбинированном применении циклофосфамида и фирококсиба

Показатель	Единица измерения	Референсные значения (собаки)	До начала терапии	На 90-й день терапии
Общий белок	г/л	52–82	72,47 ± 5,74	71,57 ± 1,42
Альбумин	г/л	22–44	29,83 ± 2,93	32,07 ± 0,33*
Глобулин	г/л	23–52	42,63 ± 2,81	39,50 ± 1,25
Общий билирубин	мкмоль/л	2–15	3,11 ± 1,02	7,01 ± 3,73*
АЛТ	ед/л	10–118	30,00 ± 2,51	38,67 ± 3,93*
Щелочная фосфатаза	ед/л	20–150	56,33 ± 15,05	34,00 ± 9,53*
Амилаза	ед/л	400–2500	1647 ± 679,60	2573 ± 551,50*
Холестерол	ммоль/л	2,84–8,26	6,24 ± 1,01	6,89 ± 1,31*
Глюкоза	ммоль/л	3,89–7,95	7,35 ± 0,47	5,72 ± 0,34*
Креатинин	мкмоль/л	27–124	117,67 ± 21,34	173,33 ± 38,15*
Мочевина	ммоль/л	2,5–9,6	7,33 ± 1,15	16,10 ± 1,22*
Кальций	ммоль/л	1,98–2,95	2,49 ± 0,07	2,50 ± 0,06
Фосфор	ммоль/л	0,81–2,2	1,54 ± 0,42	1,08 ± 0,20*

Примечание. Достоверность различий относительно до начала терапии: * $p \leq 0,05$.

Table 2
Dynamics of blood biochemical parameters in the combined use of cyclophosphamide and firocoxib

Indicator	Unit of measurement	Reference values (dogs)	Before starting therapy	90th day of therapy
Total protein	g/l	52–82	72.47 ± 5.74	71.57 ± 1.42
Albumin	g/l	22–44	29.83 ± 2.93	32.07 ± 0.33*
Globulin	g/l	23–52	42.63 ± 2.81	39.50 ± 1.25
Total bilirubin	umol/l	2–15	3.11 ± 1.02	7.01 ± 3.73*
ALT	U/l	10–118	30.00 ± 2.51	38.67 ± 3.93*
Alkaline phosphatase	U/l	20–150	56.33 ± 15.05	34.00 ± 9.53*
Amylase	U/l	400–2500	1647 ± 679.60	2573 ± 551.50*
Cholesterol	mmol/l	2.84–8.26	6.24 ± 1.01	6.89 ± 1.31*
Glucose	mmol/l	3.89–7.95	7.35 ± 0.47	5.72 ± 0.34*
Creatinine	umol/l	27–124	117.67 ± 21.34	173.33 ± 38.15*
Urea	mmol/l	2.5–9.6	7.33 ± 1.15	16.10 ± 1.22*
Calcium	mmol/l	1.98–2.95	2.49 ± 0.07	2.50 ± 0.06
Phosphorus	mmol/l	0.81–2.2	1.54 ± 0.42	1.08 ± 0.20*

Note. The significance of the differences relative to before the start of therapy: * $p \leq 0.05$.

Таблица 3
Динамика морфологических показателей при комбинированном применении циклофосфамида и димикоксиба

Показатель	Единица измерения	Референсные значения (собаки)	До начала терапии	На 90-й день терапии
Лейкоциты	10 ⁹ /л	6,0–17,0	9,70 ± 2,32	7,70 ± 1,02*
Лимфоциты	10 ⁹ /л	0,8–5,1	2,23 ± 0,88	1,50 ± 0,25*
Моноциты	10 ⁹ /л	0,0–1,8	0,40 ± 0,10	0,30 ± 0,05*
Гранулоциты	10 ⁹ /л	4,0–12,6	7,07 ± 2,02	5,90 ± 0,90*
Лимфоциты	%	12,0–30,0	22,67 ± 7,48	20,03 ± 2,57*
Моноциты	%	2,0–9,0	4,43 ± 0,48	4,37 ± 0,64
Гранулоциты	%	60,0–83,0	72,90 ± 7,97	75,60 ± 2,25
Эритроциты	10 ¹² /л	5,50–8,50	7,16 ± 0,65	7,13 ± 0,31
Гемоглобин	г/л	110–190	155,00 ± 26,85	158,00 ± 23,89
Гематокрит	%	39,0–56,0	47,47 ± 5,89	48,23 ± 4,83
Тромбоциты	10 ⁹ /л	117–460	325,00 ± 75,10	331,33 ± 108,86

Примечание. Достоверность различий относительно до начала терапии: * $p \leq 0,05$.

Table 3

Dynamics of morphological parameters in the combined use of cyclophosphamide and cimicoxib

Indicator	Unit of measurement	Reference values (dogs)	Before starting therapy	90th day of therapy
White blood cells	10 ⁹ /l	6.0–17.0	9.70 ± 2.32	7.70 ± 1.02*
Lymphocytes	10 ⁹ /l	0.8–5.1	2.23 ± 0.88	1.50 ± 0.25*
Monocytes	10 ⁹ /l	0.0–1.8	0.40 ± 0.10	0.30 ± 0.05*
Granulocytes	10 ⁹ /l	4.0–12.6	7.07 ± 2.02	5.90 ± 0.90*
Lymphocytes	%	12.0–30.0	22.67 ± 7.48	20.03 ± 2.57*
Monocytes	%	2.0–9.0	4.43 ± 0.48	4.37 ± 0.64
Granulocytes	%	60.0–83.0	72.90 ± 7.97	75.60 ± 2.25
Red blood cells	10 ¹² /l	5.50–8.50	7.16 ± 0.65	7.13 ± 0.31
Hemoglobin	g/l	110–190	155.00 ± 26.85	158.00 ± 23.89
Hematocrit	%	39.0–56.0	47.47 ± 5.89	48.23 ± 4.83
Platelets	10 ⁹ /l	117–460	325.00 ± 75.10	331.33 ± 108.86

Note. The significance of the differences relative to before the start of therapy: * $p \leq 0.05$.

Таблица 4

Динамика биохимических показателей крови при комбинированном применении циклофосфамида и цимикоксиба

Показатель	Единица измерения	Референсные значения (собаки)	До начала терапии	На 90-й день терапии
Общий белок	г/л	52–82	74,43 ± 5,74	72,40 ± 3,72
Альбумин	г/л	22–44	27,43 ± 2,82	30,73 ± 1,88*
Глобулин	г/л	23–52	46,90 ± 3,10	41,67 ± 2,70*
Общий билирубин	мкмоль/л	2–15	3,59 ± 0,09	5,49 ± 1,27*
АЛТ	ед/л	10–118	91,67 ± 23,24	103,33 ± 19,80*
Щелочная фосфатаза	ед/л	20–150	39,33 ± 8,21	53,00 ± 9,00*
Амилаза	ед/л	400–2500	1553 ± 284,1	1382 ± 334,90*
Холестерол	ммоль/л	2,84–8,26	6,63 ± 0,43	6,53 ± 0,33
Глюкоза	ммоль/л	3,89–7,95	7,49 ± 0,22	6,86 ± 0,70*
Креатинин	мкмоль/л	27–124	57,67 ± 9,93	40,67 ± 2,40*
Мочевина	ммоль/л	2,5–9,6	4,63 ± 0,64	7,31 ± 1,44*
Кальций	ммоль/л	1,98–2,95	2,47 ± 0,09	2,34 ± 0,12
Фосфор	ммоль/л	0,81–2,2	1,26 ± 0,07	1,28 ± 0,16

Примечание. Достоверность различий относительно до начала терапии: * $p \leq 0,05$.

Table 4

Dynamics of blood biochemical parameters in the combined use of cyclophosphamide and cimicoxib

Indicator	Unit of measurement	Reference values (dogs)	Before starting therapy	90th day of therapy
Total protein	g/l	52–82	74.43 ± 5.74	72.40 ± 3.72
Albumin	g/l	22–44	27.43 ± 2.82	30.73 ± 1.88*
Globulin	g/l	23–52	46.90 ± 3.10	41.67 ± 2.70*
Total bilirubin	umol/l	2–15	3.59 ± 0.09	5.49 ± 1.27*
ALT	U/l	10–118	91.67 ± 23.24	103.33 ± 19.80*
Alkaline phosphatase	U/l	20–150	39.33 ± 8.21	53.00 ± 9.00*
Amylase	U/l	400–2500	1553 ± 284.1	1382 ± 334.90*
Cholesterol	mmol/l	2.84–8.26	6.63 ± 0.43	6.53 ± 0.33
Glucose	mmol/l	3.89–7.95	7.49 ± 0.22	6.86 ± 0.70*
Creatinine	umol/l	27–124	57.67 ± 9.93	40.67 ± 2.40*
Urea	mmol/l	2.5–9.6	4.63 ± 0.64	7.31 ± 1.44*
Calcium	mmol/l	1.98–2.95	2.47 ± 0.09	2.34 ± 0.12
Phosphorus	mmol/l	0.81–2.2	1.26 ± 0.07	1.28 ± 0.16

Note. The significance of the differences relative to before the start of therapy: * $p \leq 0.05$.

Библиографический список

1. Горинский В. И., Салаутин В. В., Пудовкин Н. А., Салаутина С. Е. Опыт применения адьювантной комбинированной системной иммунохимиотерапии кошкам при фибросаркоме места инъекции // Ветеринария. 2022. № 6. С. 49–54.
2. Горинский В. И., Салаутин В. В., Пудовкин Н. А., Клюкин С. Д., Салаутина С. Е. Комплексный подход в диагностике новообразований молочной железы у домашних непродуктивных животных // Международный вестник ветеринарии. 2022. № 2. С. 74–84.
3. Трофимцов Д. В. Онкология мелких домашних животных. Москва: Научная библиотека, 2017. 574 с.
4. Добсон Дж., Ласцеллес Д. Онкология собак и кошек / Пер. с англ. ; под ред. К. Лисицкой. Москва: Аквариум, 2017. 448 с.
5. Alonso-Miguel D., Valdivia G., José P., Alonso-Diez A., Clares I., Portero M., Peña L., Pérez-Alenza M. Clinical outcome of dogs diagnosed with canine inflammatory mammary cancer treated with metronomic cyclophosphamide, a cyclooxygenase-2 inhibitor and toceranib phosphate // Veterinary and Comparative Oncology. 2022. No. 20 (1). Pp. 179–188.
6. Carvalho M. I., Pires I., Prada J., Raposo T. P., Gregorio H., Lobo L., Queiroga F. L. High COX-2 expression is associated with increased angiogenesis, proliferation and tumoural inflammatory infiltrate in canine malignant mammary tumours: a multivariate survival study // Veterinary and Comparative Oncology. 2017. No. 15 (2). Pp. 619–631.
7. Chen Y., Zhang Y., Chen S., Liu W., Lin Y., Zhang H., Yu F. Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) sensitize melanoma cells to MEK inhibition and inhibit metastasis and relapse by inducing degradation of AXL // Pigment Cell & Melanoma Research. 2022. No. 35 (2). Pp. 238–251.
8. Dai X., Yan J., Fu X., Pan Q., Sun D., Xu Y., Wang J., Nie L., Tong L., Shen A. et al. Aspirin inhibits cancer metastasis and angiogenesis via targeting heparanase // Clinical Cancer Research. 2017. No. 23. Pp. 6267–6278.
9. Gedon J., Kehl A., Aupperle-Lellbach H., von Bomhard W., Schmidt J. M. BRAF mutation status and its prognostic significance in 79 canine urothelial carcinomas: A retrospective study (2006–2019) // Veterinary and Comparative Oncology. 2022. No. 20 (2). Pp. 449–457.
10. Gilligan M. M., Gartung A., Sulciner M. L., Norris P. C., Sukhatme V. P., Bielenberg D. R., Huang S, Kieran M. W., Serhan C. N., Panigrahy D. Aspirin-triggered proresolving mediators stimulate resolution in cancer // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. 2019. No. 116. Pp. 6292–6297.
11. Horikirizono H., Ishigaki K., Amaha T., Iizuka K., Nagumo T., Tamura K., Seki M., Edamura K., Asano K. Inhibition of growth of canine-derived vascular endothelial cells by non-steroidal anti-inflammatory drugs and atrial natriuretic peptide // Journal of Veterinary Medical Science. 2019. No. 81 (5). Pp. 776–779.
12. Huang C., Chen Y., Liu H., Yang J., Song X., Zhao J., He N., Zhou C. J., Wang Y., Huang C. et al. Celecoxib targets breast cancer stem cells by inhibiting the synthesis of prostaglandin E and down-regulating the Wnt pathway activity // Oncotarget. 2017. No. 8. Pp. 115254–115269.
13. Hurst E. A., Pang L. Y., Argyle D. J. The selective cyclooxygenase-2 inhibitor mavacoxib (Trocoxil) exerts anti-tumour effects in vitro independent of cyclooxygenase-2 expression levels // Veterinary and Comparative Oncology. 2019. No. 17 (2). Pp. 194–207.
14. Maity G., Chakraborty J., Ghosh A., Haque I., Banerjee S., Banerjee S. K. Aspirin suppresses tumor cell-induced angiogenesis and their incongruity // Journal of Cell Communication and Signaling. 2019. No. 13. Pp. 491–502.
15. Oluwafunke R., Khosrow K. NSAIDs and Cancer Resolution: New Paradigms beyond Cyclooxygenase // International Journal of Molecular Sciences. 2022. Vol. 23. Article number 1432. DOI: 10.3390/ijms23031432.
16. Packeiser E.-M., Hewicker-Trautwein M., Thiemeyer H., Mohr A., Junginger J., Schille J.T., Escobar H., Nolte I. Characterization of six canine prostate adenocarcinoma and three transitional cell carcinoma cell lines derived from primary tumor tissues as well as metastasis // PLoS One. 2020. No. 15 (3). Article number e0230272. DOI: 10.1371/journal.pone.0230272.
17. Salautin V. V., Gorinsky V. I., Demkin G. P., Molchanov A. V., Pudovkin N. A., Domnitsky I. Y., Salautina S. E. Palliative Combined System Immune Chemotherapy with Ligfol and Futoruracyl of Mammary Gland Cancer Relapse in Incurable Cases // Advances in Animal and Veterinary Sciences. 2019. Vol. 7. Special issue 1. Pp. 33–39. DOI: 10.17582/journal.aavs/2019/7.s1.33.39.
18. Sheng J., Sun H., Yu F.-B., Li B., Zhang Y., Zhu Y.-T. The Role of Cyclooxygenase-2 in Colorectal Cancer // International Journal of Medical Sciences. 2020. Vol. 17. Pp. 1095–1101.
19. Valdivia G., Alonso-Diez Á., Pérez-Alenza D., Peña L. From Conventional to Precision Therapy in Canine Mammary Cancer: A Comprehensive Review // Frontiers in Veterinary Science. 2021. No. 8. Article number 62. DOI: 10.3389/fvets.2021.623800.

20. Withrow & MacEwen's. Small Animal Clinical Oncology / D. M. Vail, D. H. Thamm, J. Liptak (Eds.). 6th edition. Elsevier, Inc., 2020. 842 p.

21. Zhang P., He D., Song E., Jiang M., Song Y. Celecoxib enhances the sensitivity of non-small-cell lung cancer Cells to radiation-induced apoptosis through downregulation of the Akt/mTOR signaling pathway and COX-2 expression // PLoS One. 2019. No. 14. Article number e0223760. DOI: 10.1371/journal.pone.0223760.

Об авторах:

Виталий Иванович Горинский¹, кандидат ветеринарных наук, ассистент кафедры «Морфология, патология животных и биология», ORCID 0000-0003-4347-1921, AuthorID 887956; +7 927 066-39-46, volgvitas@mail.ru

Владимир Васильевич Салаутин¹, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры «Морфология, патология животных и биология», ORCID 0000-0003-1182-7057, AuthorID 427953; +7 903 329-79-24, salautin60@mail.ru

Николай Александрович Пудовкин¹, доктор биологических наук, заведующий кафедрой «Морфология, патология животных и биология», ORCID 0000-0003-0665-1130, AuthorID 632317; +7 (8452) 69-25-31, niko-pudovkin@yandex.ru

¹ Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова, Саратов, Россия

Morphobiochemical profile of blood in therapy with COX-2 inhibitors and cyclophosphamide

V. I. Gorinskiy¹, V. V. Salautin¹✉, N. A. Pudovkin¹

¹ Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N. I. Vavilov, Saratov, Russia

✉ E-mail: salautin60@mail.ru

Abstract. In modern veterinary medicine, in the last decade, significant achievements have been noted in the treatment of malignant tumors in dogs, but nevertheless the number of oncologically ill animals is quite widespread, and tends to increase further. The use of only traditional methods for the treatment of oncological pathologies (radiation and chemotherapy, surgical) does not have a positive effect, and accordingly does not solve the problem as a whole. **The scientific novelty** lies in the study of the effect of selective COX-2 inhibitors in combination with cyclophosphamide on the morphobiochemical parameters of the blood of dogs with malignant neoplasms of the breast. **The purpose of our work** was to study the dynamics of morphobiochemical blood parameters during multimodal conservative therapy of breast cancer recurrence in dogs with selective COX-2 inhibitors (firocoxib, cimicoxib) and cyclophosphamide. **Research methods.** Clinical observations and studies were carried out in the veterinary clinic of the Center for Animal Beauty and Health “Zoostyle” in Volgograd. The object of the study was 6 female dogs of various breeds aged 10–14 years, with a morphologically confirmed diagnosis of recurrent breast adenocarcinoma. At the same time, an automatic hematological analyzer “Mindray BC-2800 Vet” and a semi-automatic biochemical analyzer “BioChem SA” were used. Stained blood smears were examined under a microscope “MIKMED-5”. **Results.** The results of the studies show that morphobiochemical blood parameters varied in both groups by the 90th day of therapy. The results obtained convincingly show that the use of a combination of selective COX-2 inhibitors and cyclophosphamide, in clinically significant doses, induced an increase in individual biochemical parameters of blood serum, without symptomatic manifestations. In the firocoxib group, creatinine and urea levels exceeded the reference values by 39.5 and 67.7 %, respectively. Thus, the combination of drugs in the first group demonstrates an increased risk of use in animals with renal insufficiency.

Keywords: blood, dynamics, hematological and biochemical parameters, cyclooxygenase-2, cyclophosphamide, mammary gland cancer, dog.

For citation: Gorinskiy V. I., Salautin V. V., Pudovkin N. A. Morfobiokhimicheskiy profil' krovi pri terapii inhibitorami TsOG-2 i tsiklofosfamidom [Morphobiochemical profile of blood in therapy with COX-2 inhibitors and cyclophosphamide] // Agrarian Bulletin of the Urals. 2023. No. 03 (232). Pp. 22–31. DOI: 10.32417/1997-4868-2023-232-03-22-31. (In Russian.)

Date of paper submission: 02.11.2022, **date of review:** 29.11.2022, **date of acceptance:** 19.12.2022.

References

1. Gorinskiy V. I., Salautin V. V., Pudovkin N. A., Salautina S. E. Opyt primeneniya ad'yuvantnoy kombinirovannoy sistemnoy immunokhimioterapii koshkam pri fibrosarkome mesta in'eksii [Experience with adjuvant combined systemic immunochemotherapy in cats with injection site fibrosarcoma] // *Veterinariya*. 2022. No. 6. Pp. 49–54. (In Russian.)
2. Gorinskiy V. I., Salautin V. V., Pudovkin N. A., Klyukin S. D., Salautina S. E. Kompleksnyy podkhod v diagnostike novoobrazovaniy molochnoy zhelezy u domashnikh neproduktivnykh zhivotnykh [An integrated approach to the diagnosis of neoplasms of the mammary gland in domestic unproductive animals] // *International Journal of Veterinary Medicine*. 2022. No. 2. Pp. 74–84. (In Russian.)
3. Trofimtsov D. V. *Onkologiya melkikh domashnikh zhivotnykh [Oncology of small animals]*. Moscow: Nauchnaya biblioteka, 2017. 574 p. (In Russian.)
4. Dobson D., Lastselles D. *Onkologiya sobak i koshek [Oncology of dogs and cats]* / Translate from English ; under the editorship of K. Lisitskaya. Moscow: Akvarium, 2017. 448 p. (In Russian.)
5. Alonso-Miguel D., Valdivia G., José P., Alonso-Diez A., Clares I., Portero M., Peña L., Pérez-Alenza M. Clinical outcome of dogs diagnosed with canine inflammatory mammary cancer treated with metronomic cyclophosphamide, a cyclooxygenase-2 inhibitor and toceranib phosphate // *Veterinary and Comparative Oncology*. 2022. No. 20 (1). Pp. 179–188.
6. Carvalho M. I., Pires I., Prada J., Raposo T. P., Gregorio H., Lobo L., Queiroga F. L. High COX-2 expression is associated with increased angiogenesis, proliferation and tumoural inflammatory infiltrate in canine malignant mammary tumours: a multivariate survival study // *Veterinary and Comparative Oncology*. 2017. No. 15 (2). Pp. 619–631.
7. Chen Y., Zhang Y., Chen S., Liu W., Lin Y., Zhang H., Yu F. Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) sensitize melanoma cells to MEK inhibition and inhibit metastasis and relapse by inducing degradation of AXL // *Pigment Cell & Melanoma Research*. 2022. No. 35 (2). Pp. 238–251.
8. Dai X., Yan J., Fu X., Pan Q., Sun D., Xu Y., Wang J., Nie L., Tong L., Shen A. et al. Aspirin inhibits cancer metastasis and angiogenesis via targeting heparanase // *Clinical Cancer Research*. 2017. No. 23. Pp. 6267–6278.
9. Gedon J., Kehl A., Aupperle-Lellbach H., von Bomhard W., Schmidt J. M. BRAF mutation status and its prognostic significance in 79 canine urothelial carcinomas: A retrospective study (2006–2019) // *Veterinary and Comparative Oncology*. 2022. No. 20 (2). Pp. 449–457.
10. Gilligan M. M., Gartung A., Sulciner M. L., Norris P. C., Sukhatme V. P., Bielenberg D. R., Huang S, Kieran M. W., Serhan C. N., Panigrahy D. Aspirin-triggered proresolving mediators stimulate resolution in cancer // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 2019. No. 116. Pp. 6292–6297.
11. Horikirizono H., Ishigaki K., Amaha T., Iizuka K., Nagumo T., Tamura K., Seki M., Edamura K., Asano K. Inhibition of growth of canine-derived vascular endothelial cells by non-steroidal anti-inflammatory drugs and atrial natriuretic peptide // *Journal of Veterinary Medical Science*. 2019. No. 81 (5). Pp. 776–779.
12. Huang C., Chen Y., Liu H., Yang J., Song X., Zhao J., He N., Zhou C. J., Wang Y., Huang C. et al. Celecoxib targets breast cancer stem cells by inhibiting the synthesis of prostaglandin E and down-regulating the Wnt pathway activity // *Oncotarget*. 2017. No. 8. Pp. 115254–115269.
13. Hurst E. A., Pang L. Y., Argyle D. J. The selective cyclooxygenase-2 inhibitor mavacoxib (Trocoxil) exerts anti-tumour effects in vitro independent of cyclooxygenase-2 expression levels // *Veterinary and Comparative Oncology*. 2019. No. 17 (2). Pp. 194–207.
14. Maity G., Chakraborty J., Ghosh A., Haque I., Banerjee S., Banerjee S. K. Aspirin suppresses tumor cell-induced angiogenesis and their incongruity // *Journal of Cell Communication and Signaling*. 2019. No. 13. Pp. 491–502.
15. Oluwafunke R., Khosrow K. NSAIDs and Cancer Resolution: New Paradigms beyond Cyclooxygenase // *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Vol. 23. Article number 1432. DOI: 10.3390/ijms23031432.
16. Packeiser E.-M., Hewicker-Trautwein M., Thiemeyer H., Mohr A., Junginger J., Schille J.T., Escobar H., Nolte I. Characterization of six canine prostate adenocarcinoma and three transitional cell carcinoma cell lines derived from primary tumor tissues as well as metastasis // *PLoS One*. 2020. No. 15 (3). Article number e0230272. DOI: 10.1371/journal.pone.0230272.
17. Salautin V. V., Gorinsky V. I., Demkin G. P., Molchanov A. V., Pudovkin N. A., Domnitsky I. Y., Salautina S. E. Palliative Combined System Immune Chemotherapy with Ligfol and Futoruracyl of Mammary Gland Cancer Relapse in Incurable Cases // *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 2019. Vol. 7. Special issue 1. Pp. 33–39. DOI: 10.17582/journal.aavs/2019/7.s1.33.39.
18. Sheng J., Sun H., Yu F.-B., Li B., Zhang Y., Zhu Y.-T. The Role of Cyclooxygenase-2 in Colorectal Cancer // *International Journal of Medical Sciences*. 2020. Vol. 17. Pp. 1095–1101.

19. Valdivia G., Alonso-Diez Á., Pérez-Alenza D., Peña L. From Conventional to Precision Therapy in Canine Mammary Cancer: A Comprehensive Review // *Frontiers in Veterinary Science*. 2021. No. 8. Article number 62. DOI: 10.3389/fvets.2021.623800.

20. Withrow & MacEwen's. *Small Animal Clinical Oncology* / D. M. Vail, D. H. Thamm, J. Liptak (Eds.). 6th edition. Elsevier, Inc., 2020. 842 p.

21. Zhang P., He D., Song E., Jiang M., Song Y. Celecoxib enhances the sensitivity of non-small-cell lung cancer Cells to radiation-induced apoptosis through downregulation of the Akt/mTOR signaling pathway and COX-2 expression // *PLoS One*. 2019. No. 14. Article number e0223760. DOI: 10.1371/journal.pone.0223760.

Authors' information:

Vitaliy I. Gorinskiy¹, candidate of veterinary sciences, assistant of the department "Morphology, Pathology of Animals and Biology", ORCID 0000-0003-4347-1921, AuthorID 887956; +7 927 0663946, volgvitas@mail.ru

Vladimir V. Salautin¹, doctor of veterinary sciences, professor of the department "Morphology, Pathology of Animals and Biology", ORCID 0000-0003-1182-7057, AuthorID 427953; +7 903 329-79-24, salautin60@mail.ru

Nikolay A. Pudovkin¹, doctor of biological sciences, head of the department "Morphology, Pathology of Animals and Biology", ORCID 0000-0003-0665-1130, AuthorID 632317; +7 8452 692531, niko-pudovkin@yandex.ru

¹Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N. I. Vavilov, Saratov, Russia