

ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ НАУКА – ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗДРАВООХРАНЕНИЮ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК618.19-006.04:636.8]-089/163:615.277.3.07

Трещалина Е.М.¹, Якунина М.Н.¹, Антар М.О.², Борисова Ю.А.¹, Смирнова Г.Б.¹, Райхлин Н.Т.¹**РЕЗУЛЬТАТЫ ДОКЛИНИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ ГЕМЦИТАБИНСОДЕРЖАЩЕЙ СХЕМЫ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ХИМИОТЕРАПИИ СПОНТАННОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КОШЕК**¹ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина», 115478, г. Москва; ²Ветеринарная клиника «Белая медведица», 117042, г. Москва

Доклиническое изучение комбинированной химиотерапии по схеме доксорубицин (ДОКС) + гемцитабин (ГЕМЦ), ориентированной на предоперационное лечение рака молочной железы (РМЖ) кошек, выполнено на перевиваемой аденокарциноме молочной железы Ca755 у мышей BDF₁ в сравнении со стандартом лечения ДОКС. При развившейся Ca755 V_{cp} 595,5 мм³ (моделирование предоперационного лечения) в качестве суммарных доз для 3-кратного курса ГЕМЦ в сочетании с ДОКС в однократной дозе 7,5 мг/кг отобраны дозы 100 или 200 мг/кг. Комбинированное лечение показало преимущество схемы ДОКС + ГЕМЦ в суммарной дозе 200 мг/кг (70, 70 и 60 мг/кг соответственно) перед другими лечеными группами по ингибирующему действию (TPO_{max}=100% против 96%; число полных ремиссий 30% против 0%, увеличение продолжительности жизни 163% против 84–85%). Лучший режим демонстрировал дозозависимый лечебный патоморфоз II–III степени на фоне уменьшения в 1,5 раза степени полиморфизма клеток и усиления процессов цитодифференцировки, уменьшения в 3–4 раза числа митозов и увеличения в 5–10 раз числа клеток с признаками апоптоза. Сделано заключение о перспективности комбинации для проведения предоперационной комбинированной химиотерапии местно-распространенного РМЖ кошек по схеме ДОКС+ГЕМЦ с сохранением дозового соотношения комбинантов и рекомендовать ее для клинической апробации при данной патологии.

Ключевые слова: доклиническое изучение; комбинация доксорубицин+гемцитабин; противоопухолевая активность; лечебный патоморфоз; рак молочной железы кошек.

Для цитирования: Российский онкологический журнал. 2015; 20 (3): 43–48.

PRECLINICAL RESULTS OF GEMCITABINE-BASED REGIMENS FOR PREOPERATIVE CHEMOTHERAPY OF SPONTANEOUS FELINE BREAST CANCERTreshalina H.M.¹, Yakunina M.N.¹, Antar M.O.², Borisova Ju. A.¹, Smirnova G.B.¹, Raichlin N.T.¹.¹N.N.Blokhin Russian Cancer Research Center, 115478, Moscow, Russian Federation, ²Veterinary clinic «Polar bear», 117042, Moscow, Russian Federation

Comparative preclinical study of chemotherapy regimen doxorubicin (DOX) + gemcitabine (GEM) for preoperative chemotherapy of spontaneous feline breast cancer and standard monotherapy with DOX alone was performed on transplantable murine mammary adenocarcinoma Ca755 in BDF₁ hybrid mice model. The total GEM doses of 100 and 200 mg/kg for the triple course in combination with the single injection of 7.5 mg/kg of DOX were chosen to treat the established Ca755 tumor of 595.5 mm³ average volume (preoperative treatment modeling). The combined chemotherapy showed an advantage of DOX + GEM regimen with GEM course dose of 200 mg/kg (70, 70 and 60 mg/kg, accordingly) as compared to other groups in terms of Tumor Growth Inhibition (TGI max=100% versus 96%; number of complete remissions (CR) 30% versus 0%, and enhanced Life Expectancy (LE) 163% versus 84–85%). The most effective regimen demonstrated dose-dependent therapeutic pathomorphism of grade II–III with 1.5-fold decrease of cell polymorphism and increase of cell differentiation. At the same time, the number of cells in mitosis decreased in 3–4 times and the number of apoptotic cells increased in 5–10 times. The results suggest that DOX + GEM combination with the unchanged components doses ratio has good potential for preoperative chemotherapy of locally advanced feline breast cancer and may be recommended for clinical study of this disease.

Key words: preclinical study; combination doxorubicin + gemcitabine; antitumor activity; therapeutic pathomorphism; feline breast cancer.

Citation: Rossiiskii onkologicheskii zhurnal. 2015; 20 (3): 43–48. (In Russ.)

Correspondence to: Elena Treshalina – MD, PhD, DSc, Prof.; e-mail: treshalina@yandex.ru.

Received 27.03.15

Применение доксорубицина (ДОКС) при неоперабельном раке молочной железы (РМЖ) кошек в предоперационном периоде ограничено относительно низкой чувствительностью и дозозависимым побочным действием. В настоящей работе оценена возможность повышения эффективности

лечения этой патологии путем использования схемы ДОКС + гемцитабин (ГЕМЦ), хорошо зарекомендовавшей себя при лечении РМЖ человека [1].

Цель исследования – доклиническая оценка эффективности комбинации ДОКС+ГЕМЦ для предоперационной химиотерапии РМЖ кошек.

Задачи:

1. Отработка оптимальных доз ГЕМЦ в комбинации с ДОКС.
2. Патоморфологический контроль эффективности комбинированной химиотерапии.
3. Сравнительная эффективность комбинированного лечения по схеме ДОКС + ГЕМЦ с монохимиотерапией ДОКС.

Материал и методы

Опухолевая модель. Использован штамм мышинной перевиваемой аденокарциномы молочной железы Ca755 (3–4-й пассаж) из коллекции РОНЦ. В соответствии с действующими в РФ рекомендациями трансплантацию опухоли выполняли мышам самкам-гибридам BDF1 под кожу бока по 50 мг опухолевой ткани в 0,5 мл питательной среды 199 [2].

Животные. В качестве доноров опухолевого материала использованы 10 особей мышей самок C57BL/6j, для проведения эксперимента – 70 особей гибридов BDF1 [C57BL/6j • DBA/2] массой тела 20–21 г. Мышей получали из питомника «Столбовая» ГУ НЦ БМТ и содержали в отделе лабораторных животных ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина» (РОНЦ) при обычном световом дне на экструзированной корме и постоянном доступе к воде. Перед началом опытов всех мышей с перевитыми опухолями распределяли по группам ($n=10$), одну группу оставляли без специфического лечения и использовали для контроля роста опухоли (КРО).

Комбинанты

Доксорубин («Тева», Нидерланды), лиофилизат по 10 мг/фл вводили мышам однократно внутривентриально в разовой дозе 7,5 мг/кг.

Гемзар (Lilly, Франция), лиофилизат по 200 мг/фл вводили мышам внутривентриально в двух режимах: 1) однократно в разовых дозах 50, 100 и 200 мг/кг; 2) 3-кратно с интервалом 7 дней в суммарных дозах 100 и 200 мг/кг.

Комбинированное лечение. На Ca755 с относительно коротким периодом роста до гибели (максимально 19 дней после трансплантации) первичная оценка эффективности комбинации выполнена при развившейся опухоли ($n=40$) с V_{cp} $595,5 \pm 166,7$ мм³ на 9-е сутки после трансплантации. ГЕМЦ вводили внутривентриально однократно в дозах 50, 100 и 200 мг/кг. Для проведения комбинированного лечения, аналогичного клинической схеме [4], ГЕМЦ вводили 3-кратным курсом на 2, 9 и 16-е сутки после трансплантации опухоли в разовых дозах 30, 30 и 40 мг/кг (суммарно 100 мг/кг) или в разовых дозах 70, 70 и 60 мг/кг (суммарно 200 мг/кг). ДОКС всегда вводили первым однократно внутривентриально в оптимальной дозе 7,5 мг/кг. В качестве объекта сравнения использован ДОКС в монотерапии – стандарт лечения РМЖ кошек [5–10]. Мыши контрольных групп получали физиологический раствор в адекватном объеме и режимах.

Оценка эффективности лечения. У всех мышей после окончания лечения определяли размеры опухоли с помощью электронного измерителя и рассчитывали объем по формуле $V=a \cdot b \cdot c$. После чего определяли V_{cp} в каждой группе и стандартный показатель эффективности торможение роста опухоли $TPO = V_o - V_k / V_k \cdot 100\%$, где V_o и V_k – величина V_{cp} в опыте и контроле. В качестве минимального критерия эффективности принимали $TPO \geq 50\%$ длительностью не менее недели. По уменьшению размера опухолевого узла относительно предыдущего объема регистрировали регрессию. В опыте с 3-кратным курсом ГЕМЦ дополнительно определяли стандартный показатель увеличения продолжительности жизни $УПЖ = СПЖ_o - СПЖ_k / СПЖ_k \cdot 100\%$, а также число полных ремиссий (ПР). ПР считали отсутствие признаков опухолевого роста в месте трансплантации в течение 60 дней.

Методика патоморфологического исследования опухоли

По 5 мышей с развившимися опухолями умерщвляли на 20-е сутки после трансплантации (11-е сутки после лечения для соответствующих групп), опухоли извлекали, фиксировали в 10% нейтральном формалине и заключали в парафин. Затем на микротоме готовили срезы толщиной 8–10 мк, которые окрашивали гематоксилином и эозином, просматривали и фотографировали в световом микроскопе «Поливар» (Австрия).

На срезах оценивали число клеток с признаками апоптоза, число митозов и площадь некрозов. Соотношение морфологических признаков пролиферации и гибели клеток определяли как степень лечебного патоморфоза (ЛП). Для градации ЛП по степени выраженности использовались, помимо перечисленных количественных показателей, визуальные качественные критерии: степень полиморфизма клеток и степень развития склероза соответствовала требованиям ветеринарной практики для данной патологии.

Оценка переносимости воздействия. Проведена по состоянию и поведению мышей в процессе эксперимента, следили за гибелью от токсичности.

Статистическая обработка результатов. Результаты исследования подвергнуты статистической обработке путем расчета критерия Фишера с помощью компьютерных программ Excel 2013 и Excel для Windows 2007. Значимыми считали различия при $p < 0,05$. Расчетные статистические величины приведены в таблицах.

Завершение экспериментов. Павших или умерщвленных мышей с соблюдением гуманных методов подвергали аутопсии для выявления визуальных патологических изменений внутренних органов [3,4].

Результаты и обсуждение**Эффективность комбинации ДОКС + однократный ГЕМЦ**

Показано, что Ca755 после трансплантации мышам BDF1 находится в экспоненциальной фазе роста до 13 сут с увеличением объема более чем в 6 раз, переходя затем в стационарную фазу роста. На 9-е сутки роста опухоль достигает среднего объема 595,5 мм³ ($n=50$). Эффективность комбинации ДОКС + ГЕМЦ с однократным введением препаратов на 9-й день роста Ca755 при стартовом среднем

Для корреспонденции: Трещалина Елена Михайловна - д-р мед. наук, проф., руководитель лаб. комбинированной терапии опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, д.24, e-mail: treshalina@yandex.ru.

Таблица 1

Эффективность комбинации ДОКС + ГЕМЦ на запущенной аденокарциноме молочной железы мышей Ca755

Группа	Однократная доза, мг/кг	Средний объем опухоли (в мм ³), сутки после трансплантации опухоли				Сутки после лечения			
		9-е*	13-е	17-е	23-й**	ТРО%			Регр.
						4-е	8-е	14-е	
КРО	0,5 мл	626 (522–730)	3857 (3239–4475)	6431 (5559–7303)	8849 (7703–9995)	-	-	-	0/10
ДОКС + ГЕМЦ	7,5 50	633 (585–681)	301 (206–396)	560 (307–813)	1312	92***	91***	85	7/10
ДОКС + ГЕМЦ	7,5 100	540 (461–619)	239 (198–280)	242 (121–369)	1078	94***	96***	88	8/10
ДОКС + ГЕМЦ	7,5 200	583 (533–633)	140 (98–212)	148 (51–245)	698	96***	98***	92	8/10

Примечание: * – $V_{cp} 595,5 \pm 166,7 \text{ мм}^3$; ** – в леченых группах большой разброс показателя; *** – различия с группой КРО достоверны, $p < 0,05$.

объеме опухоли от 540 до 633 мм³ показана в табл. 1.

Видно, что комбинация с использованием ГЕМЦ в однократных дозах 50–200 мг/кг высокоэффективна и в течение 8 дней после окончания лечения достоверно ингибирует рост опухолей. На 4-е и 8-е сутки наблюдения в леченых группах средний объем опухолей уменьшался более чем наполовину пропорционально величине примененной дозы ГЕМЦ. В эти сроки ТРО 91–98% ($p < 0,05$), а на 8-е сутки у 80% мышей отмечена регрессия опухолей. К 14-му дню ингибирующее действие снижалось по числу регрессий до нуля, а по ингибированию – до ТРО 85–92% с увеличением вариабельности объема опу-

холей, исключаяющей оценку достоверности различий с контролем, несмотря на $n=10$.

Патоморфологическая верификация эффективности

Показано, что Ca755 без лечения (рис. 1) имеет строение дольковой аденокарциномы на большем протяжении, в отдельных участках встречаются разрастания рака, имеющие протоковое строение или смешанное протоково-дольковое. Опухолевые клетки полиморфны, различного размера, чаще крупные, образуют в участках долькового рака солидные разрастания, в участках протоково-железистые структуры,

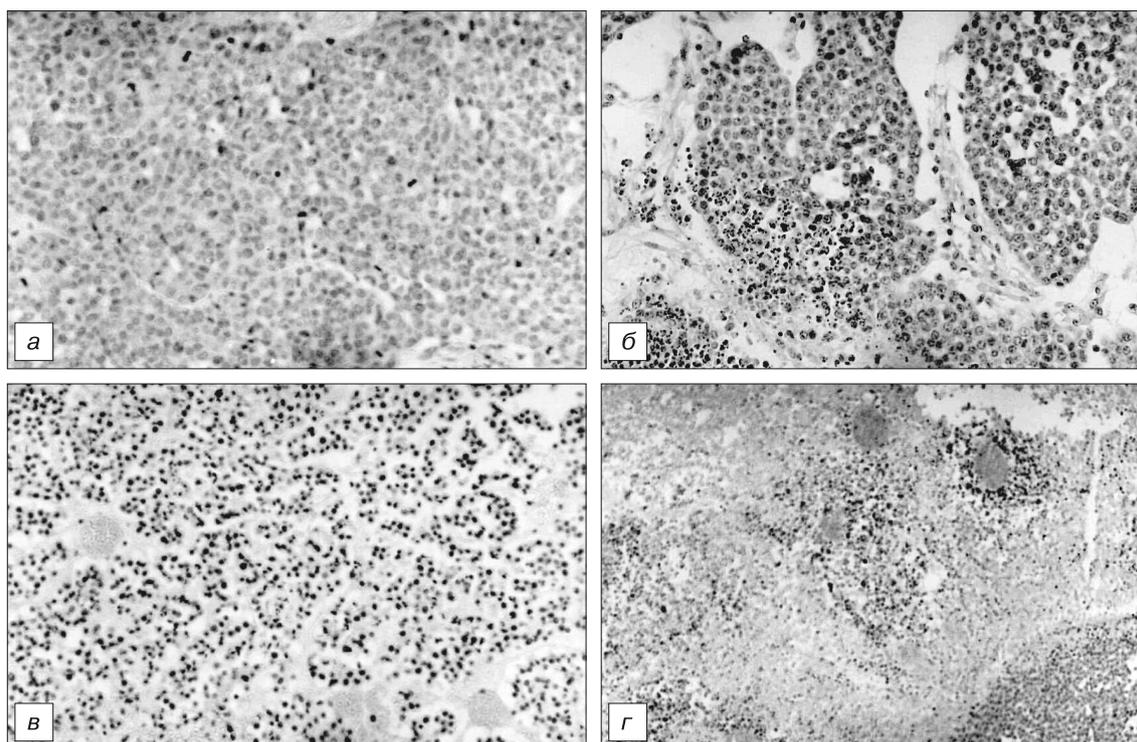


Рис. 1. Ca755 без лечения. 20-е сутки после трансплантации мышам самкам BDF1.

a – участок долькового рака солидного строения. Видно несколько клеток с признаками апоптоза и клетки в состоянии митоза. Опухолевые клетки полиморфные. $\times 200$; *b* – опухоль имеет смешанное дольково-протоковое строение. Опухолевые клетки образуют солидные скопления и протоки. Опухолевые клетки полиморфные, между их скоплениями располагаются тонкие прослойки соединительнотканых. Некоторые клетки с признаками дистрофии, апоптоза и в состоянии некроза. $\times 200$; *v* – участки опухоли протокового строения, состоящие из железисто-подобных структур. Видны полнокровные сосуды. $\times 100$; *г* – обширный участок некроза опухолевой ткани. Видны сохранившиеся небольшие очаги опухоли, сосуды полнокровны. $\times 100$.

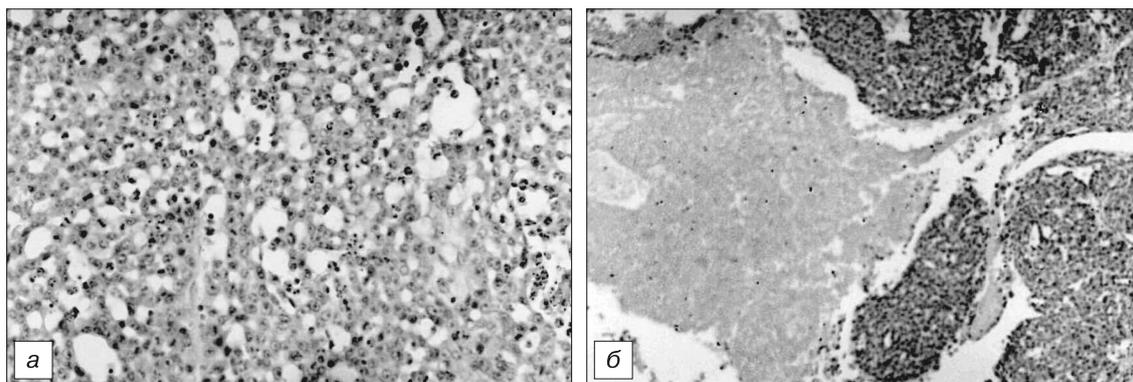


Рис. 2. Ca755. 20-е сутки после трансплантации, 11-е сутки после лечения ДОКС 7,5 мг/кг + ГЕМЦ 50 мг/кг.

a – опухолевые клетки образуют протоковые структуры, видны единичные митозы, некоторые клетки с признаками апоптоза. $\times 200$; *б* – неправильной формы очаг некроза. Сохранившийся участок опухоли долькового строения с отдельными протоковыми структурами. $\times 100$.

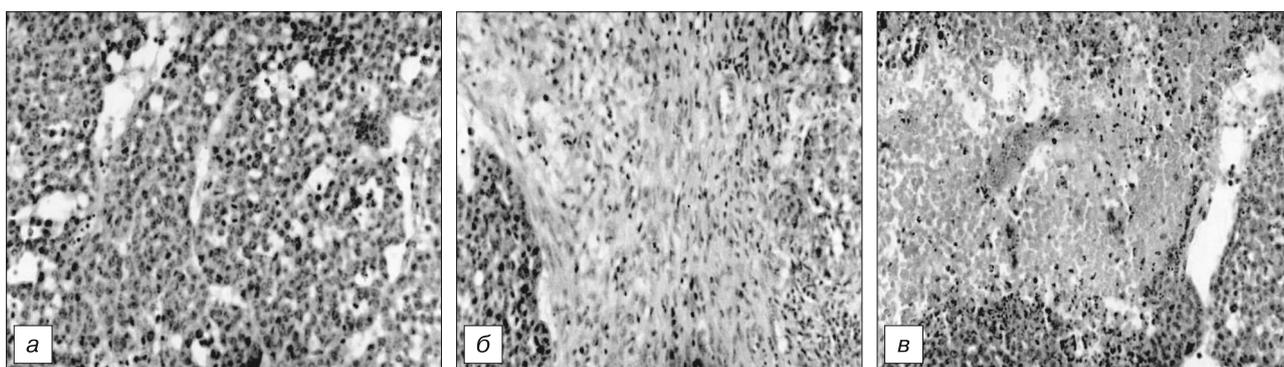


Рис. 3. Ca755. 20-е сутки после трансплантации, 11-е сутки после лечения ДОКС 7,5 мг/кг + ГЕМЦ 100 мг/кг.

a – опухолевые клетки образуют солидные скопления и протоковые структуры. Видны единичный митоз и несколько клеток в состоянии апоптоза. Часть клеток имеет мономорфное строение. $\times 200$; *б* – обширный участок разрастания соединительной ткани. Сохранившиеся опухолевые клетки мономорфны. $\times 200$; *в* – участок некроза опухолевой ткани, окруженный сохранившимися клетками, преимущественно мономорфного строения. $\times 200$.

которые встречаются и в солидных разрастаниях. Количество митозов в так называемых горячих точках (местах их наибольшего образования) колеблется в пределах 1–1,5%. Опухолевые клетки с признаками апоптоза в виде скоплений хроматина. На месте расположения ядер встречаются в пределах 0,1–0,3%. В участках и долькового, и протокового рака имеются неправильной формы различного размера некрозы, занимающие до 10–15% площади среза. Строма в опухоли развита слабо.

В результате комбинированного лечения по схеме ДОКС + ГЕМЦ 50 мг/кг (рис. 2, *a, б*) видно, что количество митозов в «горячих точках» составляет 0,5–0,8%. Явления апоптоза обнаружены в 0,2–0,6% клеток. Участки некроза занимают 9–10% площади среза. Строма в опухоли развита умеренно. ЛП выражен слабо, степень I.

Под влиянием комбинированной химиотерапии по схеме ДОКС + ГЕМЦ 100 мг/кг (рис. 3, *a–в*) число митозов уменьшилось до 0,3–0,5%. Клетки с признаками апоптоза составляют 0,5–0,8%. Участки некроза занимают 10–12% среза. Строма в опухоли развита умеренно. ЛП выражен также умеренно, степень II.

В группе, получившей лечение по схеме ДОКС + ГЕМЦ 200 мг/кг (рис. 4, *a–г*), в опухоли развиты явления склероза в виде различ-

ного размера участков соединительной ткани, расположенных среди скоплений опухолевых клеток. Количество митозов в «горячих точках» не превышает 0,2–0,5% от общего числа клеток. Клетки с признаками апоптоза составляют 1–1,5%. Некроз

Таблица 2
Результаты морфологического исследования Ca755 после комбинированной химиотерапии ДОКС + ГЕМЦ в диапазоне доз

Группа	Митоз, %	Апоптоз, %	Некроз, %	Степень		
				поли- морфизм клеток	развитие склероза	ЛП
КРО	1,0–1,5	0,1–0,3	10–15	+++	+	-
ДОКС 7,5 мг/кг + ГЕМЦ 50 мг/кг	0,5–0,8	0,2–0,6	8–10	+++	++	1
ДОКС 7,5 мг/кг + ГЕМЦ 100 мг/кг	0,3–0,5	0,5–0,8	10–12	++	+++	2
ДОКС 7,5 мг/кг + ГЕМЦ 200 мг/кг	0,2–0,5	1,0–1,5	12–15	++	+++	2–3

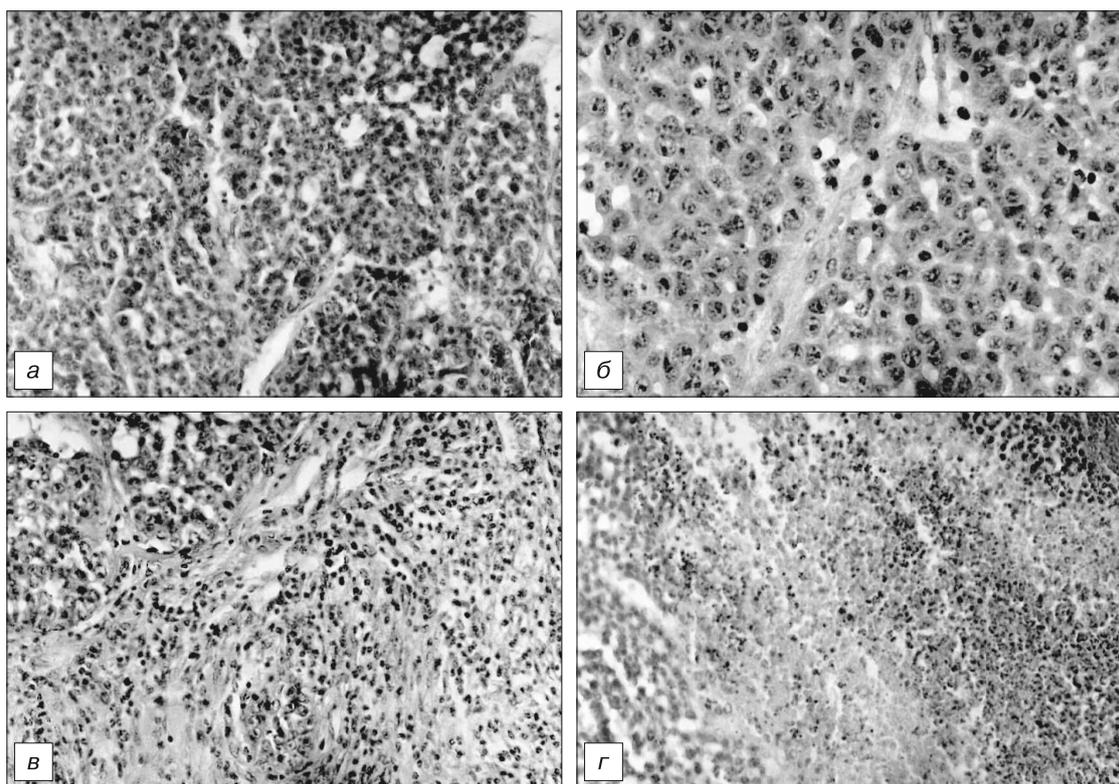


Рис. 4. Ca755. 20-е сутки после трансплантации, 11-е сутки после лечения ДОКС 7,5 мг/кг + ГЕМЦ 200 мг/кг.

а – опухоль имеет дольково-протоковое строение. В поле зрения имеются несколько клеток с признаками апоптоза (скопление в ядре хроматина). $\times 200$; *б* – опухолевые клетки крупные, преимущественно мономорфные, образуют протоковые структуры и солидные скопления. $\times 400$; *в* – обширные участки склероза. Небольшой очаг опухоли состоит из мономорфных клеток, образующих протоки. $\times 200$; *г* – участки некроза опухолевой ткани, часть прилежащих к некрозу опухолевых клеток сохранена, часто в состоянии дистрофии. $\times 200$.

занимает 12–15% среза. ЛП выражен, степень II–III.

Сравнительные анализ морфологических показателей ЛП в Ca755 на 11-е сутки после комбинированной химиотерапии по схеме ДОКС + ГЕМЦ в диапазоне доз представлен в табл. 2.

Из табл. 2 видно, что по сравнению с опухолью без лечения после применения комбинации ДОКС + ГЕМЦ на фоне уменьшения в 1,5 раза степени полиморфизма клеток и соответственно усиления процессов цитодифференцировки в 3–4 раза уменьшается число митозов и в 5–10 раз увеличивается ко-

личество клеток с признаками апоптоза. Поскольку терапия не оказала влияния на развитие некрозов, можно считать, что основное антипролиферативное действие комбинации связано с подавлением пролиферации и активацией апоптоза при инициации цитодифференцировки и развития процесса склероза в опухоли. Наблюдаемые изменения возрастали при увеличении дозы ГЕМЦ в комбинации.

Проведенные на развившейся Ca755 исследования позволили считать комбинацию более эффективной при дозах ГЕМЦ 100 и 200 мг/кг. С учетом удов-

Таблица 3

Выживаемость мышей с аденокарциномой молочной железы Ca755 при комбинированном лечении по схеме ДОКС + ГЕМЦ (3-кратный курс)

Группа	Длительность лечения после трансплантации опухоли, сут	Доза, мг/кг*		ТРО _{max} , %	СПЖ, сут	УПЖ, %	ПР, число
		разовая	суммарная				
КРО (физиологический раствор)	2, 9, 16	0,5 мл	1,5 мл	-	17,2 ± 0,4 (n = 10)	-	0/10
ДОКС + ГЕМЦ	2 (2, 9, 16)	7,5 (30, 30, 40)	100	100**	31,8 ± 7,8 (n = 10)	85**	0/10
ДОКС + ГЕМЦ	2 (2, 9, 16)	7,5 (70, 70, 60)	200	100**	45,3 ± 5,6 (n = 7)	163**	3/10
ДОКС	2	7,5	7,5	96**	31,7 ± 0,9 (n = 10)	84**	0/10

Примечание: * – Внутривенное введение; СПЖ – средняя продолжительность жизни; УПЖ – увеличение продолжительности жизни; ПР – полная ремиссия. ** – $p < 0,05$ от группы КРО.

летворительной переносимости лечения эти дозы использованы в качестве суммарных для 3-кратного курса ГЕМЦ при комбинированном лечении.

Эффективность комбинации ДОКС + 3-кратный курс ГЕМЦ

Результаты исследования демонстрирует табл. 3. Видно, что при СПЖ $17,2 \pm 0,4$ дня в группе КРО комбинированное лечение с использованием ГЕМЦ в суммарной дозе 200 мг/кг существенно пролонгировало продолжительность жизни мышей с опухолями, УПЖ 163% против 84–85% ($p < 0,05$) в других леченых группах. Полная ремиссия с отсутствием опухолевых узлов у 30% мышей достигнута также только при этой схеме. Соотношение доз препаратов в эффективной комбинации ДОКС 7,5 мг/кг + ГЕМЦ 200 мг/кг суммарно при 3-кратном курсе составило 26,6 мг/кг. Переносимость всех комбинаций была удовлетворительной.

Заключение

Доклиническое изучение комбинированной химиотерапии по схеме ДОКС + ГЕМЦ, ориентированной на предоперационное лечение РМЖ кошек, выполнено на перевиваемой аденокарциноме молочной железы мышей Ca755 у мышей BDF1 в сравнении со стандартом лечения ДОКС. При развившейся Ca755 $V_{cp} 595,5$ мм³ (моделирование предоперационного лечения) в качестве суммарных доз для 3-кратного курса ГЕМЦ в сочетании с ДОКС в однократной дозе 7,5 мг/кг отобраны дозы 100 или 200 мг/кг. Комбинированное лечение показало преимущество схемы ДОКС + ГЕМЦ в суммарной дозе 200 мг/кг (70, 70 и 60 мг/кг соответственно) перед другими лечеными группами по ингибирующему действию (ТРО_{max} 100% против 96%; число полных ремиссий 30% против 0%, УПЖ 163% против 84–85%). Лучший режим продемонстрировал дозозависимый лечебный патоморфоз II–III степени на фоне уменьшения в 1,5 раза степени полиморфизма клеток и усиления процессов цитодифференцировки, уменьшения в 3–4 раза числа митозов и увеличения в 5–10 раз числа клеток с признаками апоптоза. Сделано заключение о перспективности комбинации для проведения предоперационной комбинированной химиотерапии местно-распространенного рака молочной железы кошек по схеме доксорубицин+гемцитабин с сохранением дозового соотношения комбинантов и рекомендовать ее для клинической апробации при данной патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Переводчикова Н.И., Филоненко Д.В. Гемцитабин (Гемзар) в современной терапии рака молочной железы. В кн.: *Гемзар и Алимта в лечении злокачественных опухолей* / Под ред. М.Б. Бычкова. 2009: 78–106.
2. Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К., Андропова Н.В., Гарин А.М. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств. В кн.: *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств* / Под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К.; 2012: 642–57.
3. Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей. ЕЭС, Страсбург, 1985 г. *Ланималогия*. 1993; 1: 29.
4. Большаков О.П., Незнанов Н.Г., Бабаханян Р.В. Доклинические и этические аспекты проведения исследований на био-

моделях и на лабораторных животных. *Качественная клиническая практика*. 2002; 1: 58–61.

5. Переводчикова Н.И., Горбунова В.А., ред. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. М.: *Практическая медицина*; 2015.
6. Якунина М.Н., Трещалина Е.М. Анализ эффективности адьювантной химиотерапии доксорубицином спонтанного рака молочной железы собак и кошек. *Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные*. 2009; 4: 23–7.
7. Якунина М.Н. Таксотер и доксорубицин в предоперационной (неоадьювантной) химиотерапии первично-неоперабельного рака молочной железы кошек. *Ветеринарная медицина*. 2010; 5: 43–5.
8. Якунина М.Н. Предварительные результаты изучения эффективности гемцитабина (гемзара) при диссеминированном раке молочной железы у животных. *Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные*. 2011; 1: 23–4.
9. Фомичева Д.В., Концевая С.Ю., Трещалина Е.М. Возможности адьювантной химиотерапии рака молочной железы у кошек. В кн.: *Сборник тезисов четвертой Всероссийской конференции по вопросам онкологии и анестезиологии мелких домашних животных*. М.: 2008; 27–31.
10. Novosad C.A., Bergman P.J., O'Brien M.G. Retrospective evaluation of adjunctive doxorubicin for the treatment of feline mammary gland adenocarcinoma: 67 cases. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 2006; 42 (2): 10–20.
11. McNeill C.J., Sorenmo K.U., Shofer L. et al. Evaluation of adjuvant doxorubicin-based chemotherapy for the treatment of feline mammary carcinoma. *J. Vet. Intern. Med.* 2009; 23: 123–9.

REFERENCES

1. Perevodchikova N.I., Filonenko D.V. Gemtsitabin (Gemzar) in modern therapy of a breast cancer. In: *Gemzar and Alimta in Treatment of Malignant tumors. [Gemzar i Alimta v lechenii zlokachestvennykh opukholey]*. Ed. M.B. Bychkov. 2009: 78–106. (in Russian)
2. Treshchalina E.M., Zhukova O.S., Gerasimova G.K., Andronova N.V., Garin A. M. Methodical recommendations about preclinical studying of antineoplastic activity of medicines. In: *The Guide to Carrying out Preclinical Researches of Medicines. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv]*. Ed. A.N. Mironov. Moscow: Grif i K.; 2012: 642–57. (in Russian)
3. The European convention on protection of the vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. EEC, Strasbourg, 1985. *Lanimalogiya*. 1993; 1: 29.
4. Bol'shakov O.P., Neznanov N.G., Babakhanyan R.V. Preclinical and ethical aspects of carrying out researches on biomodels and on laboratory animals. *Kachestvennaya klinicheskaya praktika*. 2002; 1: 58–61. (in Russian)
5. Perevodchikova N.I., Gorbunova V.A., eds. *Guidelines for chemotherapy of tumoral diseases. [Rukovodstvo po khimioterapii opukholevykh zabolovaniy]*. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2015. (in Russian)
6. Yakunina M.N. Treshchalina E.M. Contemporary approach to the medicinal therapy of spontaneous cancer of mammary gland in dogs and cats. *Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal. Melkie domashnie i dikiye zhivotnye*. 2014; 2: 38–41. (in Russian)
7. Yakunina M.N. The neoadjuvant chemotherapy of primary inoperable mammary cancer by doxorubicin and taxoter in cats. *Veterinarnaya meditsina*. 2010; 5: 43–5. (in Russian)
8. Yakunina M.N. Preliminary results of chemotherapy of dissiminated mammary cancer by Gemcitabin in animals. *Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal. Melkie domashnie i dikiye zhivotnye*. 2011; 1: 23–4. (in Russian)
9. Fomicheva D.V., Timofeev S.V., Treshchalina E.M. Characteristics of a metastases of a breast cancer at cats. *Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal*. 2007; 2: 30–3. (in Russian)
10. Novosad C.A., Bergman P.J., O'Brien M.G. Retrospective evaluation of adjunctive doxorubicin for the treatment of feline mammary gland adenocarcinoma: 67 cases. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 2006; 42 (2): 10–20.
11. McNeill C.J., Sorenmo K.U., Shofer L. et al. «Evaluation of adjuvant doxorubicin-based chemotherapy for the treatment of feline mammary carcinoma. *J. Vet. Intern. Med.* 2009; 23: 123–9.

Поступила 27.03.15