

На правах рукописи

Немцева Юлия Сергеевна

**ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ
РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КОШЕК**

**06.02.01 – Диагностика болезней и терапия животных, патология,
онкология и морфология животных**

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени кандидата
ветеринарных наук**

Москва 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский государственный университет пищевых производств» Министерства науки и высшего образования РФ

Научный руководитель: **Давыдов Евгений Владимирович,** кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры «Ветеринарная медицина» института ветеринарии, ветеринарно-санитарной экспертизы и агробезопасности Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет пищевых производств»

Официальные оппоненты: **Салаутин Владимир Васильевич,** профессор, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры «Морфология, патология животных и биология» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова»

Дилекова Ольга Владимировна, доцент, доктор биологических наук, заведующая кафедрой паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии им. профессора С.Н. Никольского Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ставропольский государственный аграрный университет»

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский Университет Дружбы Народов» (ФГАОУ ВО РУДН)

Защита диссертации состоится 21 апреля 2022 г. в 14-00 ч на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.227.03 созданного при ФГБНУ «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук»; ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»; ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» по адресу: 123022, г. Москва, Звенигородское шоссе, д. 5.
Телефон: 8 (499) 256-35-81 E-mail: vniivshe@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ВНИИВСГЭ - филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН по адресу: 123022, г. Москва, Звенигородское шоссе, д. 5, и на сайтах: <https://vak.minobrnauki.gov.ru/main>; <https://viev.ru>; <https://mgupp.ru>; <http://www.vgnki.ru>.

Автореферат разослан «_____» _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета, доктор биологических наук

Е.А. Денисова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Опухоли молочной железы (ОМЖ) являются одними из наиболее распространенных онкологических заболеваний среди мелких домашних животных (Митрохина Н.В., 2016; Overley-Adamson B., 2016). В основе опухолевого роста лежит безграничное неконтролируемое организмом размножение клеток, что приводит к нарушению функций и разрушению тканей, и в итоге к смерти организма (Вакуленко М.Ю., 2012; Горинский В.И., 2017).

Эффективная диагностика и правильный выбор тактики лечения опухолей молочной железы у животных являются важной задачей в ветеринарной онкологии. К основным методам диагностики, учитывая возможности метастазирования опухолей молочной железы, относят первичный осмотр опухоли, рентгенологическое исследование органов грудной полости и ультразвуковую диагностику (Baptista, C.S. et al., 2015; Garden, O.A. et al., 2018). Морфологическую верификацию диагноза проводят путем гистологического исследования операционного материала. Также используют аспирационную пункционную биопсию с цитологическим исследованием материала. При подозрении на генерализованную опухоль молочной железы в качестве дополнительных методов применяют компьютерную томографию (КТ) и магнитно-резонансную томографию (МРТ) для определения точной локализации опухоли за счет трехмерного изображения (Якунина М.Н., 2011; Garden, O.A. et al., 2018). Данные научной литературы указывают, что существуют формы рака молочной железы, которые устойчивы к воздействию химиотерапии, а также распространенные формы рака, когда хирургическое удаление таких опухолей затруднено, при этом РМЖ чаще возникает у возрастных пациентов, у которых есть сопутствующие болезни, что накладывает ограничения на проведение стандартные методы лечения – хирургию и химиотерапию (Якунина М.Н., 2014; Глазунова Л.А., 2015).

Одним из новых методов лечения является фотодинамическая терапия, которая определяется как радикальный, но, в тоже же время, малоинвазивный метод воздействия на злокачественные опухолевые клетки (Якубовская Р. И. и соавт., 2012; Ногайцева Е.С. и соавт., 2019; Kostron H. et al., 2016; Kwiatkowski S. et al., 2018). Этот метод основывается на разрушении опухолевых клеток за счет влияния активных форм кислорода, которые образуются в ходе фотохимической реакции. Необходимыми компонентами этой реакции являются свет определенной длины волны, которая соответствует пику поглощения фотосенсибилизатора, кислород, всегда имеющийся в тканях организма, а также светочувствительное вещество – фотосенсибилизатор (Русин В.И., 2009; Слесаревкая, М.Н. и соавт., 2012; Улащик В. С., 2013; Давыдов Е.В., 2017, Уша Б.В. и соавт., 2019; Abrahamse H., 2016; Tomohiro, O. et al., 2017; Guilherme, C.M. et al., 2018). В ходе фотохимической реакции происходит выделение синглетного кислорода и свободных радикалов кислорода, которые оказывают токсичное воздействие на раковые клетки. Клетки подвергаются некротизированию и со временем заменяются соединительной тканью (Капинус В.К. и соавт. 2005; Филоненко, Е.В., 2014; Каплан М.А. и соавт., 2013, 2014; Tomohiro, O. et al., 2017; Guilherme, C.M. et al., 2018).

Таким образом, изучение и применение метода фотодинамической терапии для лечения рака молочной железы является актуальной темой в ветеринарной практике, особенно если у животных имеются противопоказания или ограничения для применения стандартных методов лечения. Поэтому необходимо изучать и совершенствовать новейшие высокотехнологические методы лечения опухолей,

которые могут стать альтернативой при лечении больных, когда классические методы не приведут к необходимому терапевтическому эффекту.

Степень разработанности темы. Онкологические заболевания являются важной проблемой современного мира, процент онкологически больных пациентов возрастает как среди людей, так и среди животных. Поэтому широкий исследовательский интерес у ученых проявляется к экспериментальному клиническому изучению и совершенствованию фотодинамической терапии для лечения злокачественных новообразований (Максимова В.А., 2014; Филоненко Е.В., 2014).

Клиницисты постоянно проводят экспериментальные опыты с целью подбора максимально эффективных методов лечения опухолей с использованием ФДТ. Большое число работ последних лет посвящено поиску и исследованию терапевтического эффекта фотосенсибилизаторов, проявляющих различную фотоактивность, и режимам излучения (Лукьянец Е.А., 2013; Иванова-Радкевич В.И. и соавт., 2014; Хламов В.В. и соавт., 2014; Якунина М.Н. и соавт., 2019; Hamblin, M.R., 2016; Turan I.S., 2016).

Значительный вклад в развитие фотодинамической терапии в нашей стране внесли А.Ф. Миронов (1990), Е.Ф. Странацко (1992-2015), В.В. Соколов (1992-2015), Е.В. Филоненко (1992-2014), М.А. Каплан (1998-2020), В.Н. Волгин (2013), Е.В. Гребенкина (2014), П.Б. Попов (2016), В.В. Южаков (2017), С.А. Ягников (2016, 2018) и др.

При поиске и изучение литературных и патентных источников по теме диссертационной работы, нами не было обнаружено сведений о применении фотодинамической терапии, как метода лечения злокачественных опухолей молочной железы у кошек.

Научная гипотеза исследования строится на предположении, что метод фотодинамической терапии будет эффективен для лечения злокачественных опухолей молочной железы у кошек, в качестве самостоятельной методики, особенно при наличии противопоказаний к другим методам лечения.

Цель исследования. Доказать эффективность проведения терапии рака молочной железы у кошек с использованием инновационного метода лечения – фотодинамической терапии.

Задачи исследования.

1. Внедрить методику фотодинамической терапии при раке молочной железы у кошек;
2. Провести анализ результатов диагностического исследования по возрастному и породному показателям, а также провести анализ стадий онкологического процесса у исследуемых животных;
3. Изучить лечебную эффективность фотодинамической терапии при раке молочной железы у кошек;
4. Определить побочные действия на организм животного после применения фотодинамической терапии;
5. Провести сравнительную оценку лечения рака молочной железы кошек при помощи фотодинамической терапии и комбинированного метода лечения;
6. Изучить ультраструктурные изменения клеток рака молочной железы непосредственно после применения фотодинамической терапии.

Объект исследования. За период исследования к нам поступило 70 кошек с новообразованиями молочной железы. При дальнейшем диагностировании болезни у

56 кошек (80 %) был поставлен диагноз – злокачественные опухоли молочной железы, у 14 кошек (20 %) – доброкачественные опухоли молочной железы.

Предмет исследования. Для исследований отбирали животных, имеющих любые визуальные признаки новообразования молочной железы.

Область исследования соответствует требованиям паспорта специальности ВАК Минобрнауки РФ 06.02.01 – «Диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных» и охватывает изучение онкологических болезней животных и разработку на этой основе принципов и методов диагностики, лечения, профилактики и организационных мер борьбы с ними и соответствует пунктам 6 и 9 Паспорта научной специальности 06.02.01: «Онкологические заболевания продуктивных и мелких домашних животных, этиология, онкогенез и морфология, разработка методов диагностики и дифференциальной диагностики, лечение новообразований», «Структура и функции клеток, тканей и органов животных, взаимосвязь функциональных, структурных и гистохимических изменений в норме и патологии».

Теоретическая и практическая значимость работы.

1. Освоена и внедрена в клиническую ветеринарную практику методика фотодинамической терапии при раке молочной железы у кошек. На основании полученных данных были разработаны методические рекомендации «Фотодинамическая терапия и флуоресцентная диагностика рака молочной железы у мелких домашних животных».

2. Результаты исследований были получены при реализации гранта РФФИ № 19-316-90069 Аспиранты «Исследование влияния фотодинамического эффекта и активных форм кислорода на клетки при лечении спонтанного рака молочной железы у животных» 2019-2021 г.г., руководитель проекта – Давыдов Евгений Владимирович.

Научная новизна. Полученные данные исследования имеют научную ценность и новизну в области фундаментальных исследований, так как:

– Проведен анализ результатов диагностического исследования по возрастному и породному показателям, а также проведен анализ стадий онкологического процесса у исследуемых животных;

– Впервые была отработана методика фотодинамической терапии при раке молочной железы у кошек;

– Впервые была изучена лечебная эффективность фотодинамической терапии при раке молочной железы у кошек;

– Впервые были определены возможные побочные эффекты фотодинамической терапии при раке молочной железы у кошек;

– Впервые были изучены изменения клеток рака молочной железы непосредственно после фотодинамической терапии.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Анализ результатов диагностики опухолей в зависимости от возраста, породы и стадий онкологического процесса у исследуемых животных;

2. Освоение и внедрение в ветеринарную практику методики фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором «Фотодитазин» при раке молочной железы у кошек;

3. Показатели лечебной эффективности фотодинамической терапии при раке молочной железы у кошек;

4. Сведения о побочных эффектах фотодинамической терапии при раке молочной железы у кошек;

5. Результаты сравнительной оценки лечения рака молочной железы кошек при помощи фотодинамической терапии и комбинированного метода лечения;

6. Сведения об ультраструктурных изменениях клеток рака молочной железы после применения фотодинамической терапии.

Апробация работы.

Основные положения работы были изложены и обсуждались в ходе проведения следующих научных конференций и форума:

1) Научно-практическая конференция студентов и аспирантов «Разработка инновационных методов диагностики и лечения в ветеринарной практике» Москва, МГУПП, 2018;

2) V Международная научно-практическая конференция «Научные исследования высшей школы», МЦНС «Наука и Просвещение», Пенза, 2020;

3) Международная научно-практическая конференция «Инновационные исследования: опыт, проблемы внедрения результатов и пути решения», Киров, 2020;

4) II Международная научно-практическая конференция «Научный потенциал молодежных исследований», МЦНП «Новая наука», Петрозаводск, 2020;

5) XIV Международный Форум «РосБиоТех–2020», Московский государственный университет пищевых производств (МГУПП) и Федеральный научный центр пищевых систем им В.М. Горбатова РАН, Москва, 2020;

6) Научно-практическая конференция преподавателей, аспирантов и студентов: «Диагностика, терапия и профилактика заразных болезней животных, опасных для здоровья человека» (on-line), МГУПП, Москва, 2020;

7) XXXI Международная конференция «Лазеры в науке, технике, медицине», Московское НТО радиотехники, электроники и связи им. А.С. Попова, Москва, 2020.

Публикации результатов исследования. По материалам диссертационной работы опубликовано 14 научных работ, в том числе статьи в журналах – 8 (из них 6 в журналах перечня ВАК, 1 – Scopus и 1 – РИНЦ), так же тезисы в материалах международных и российских конференций – 6.

Структура и объем диссертации.

Диссертация изложена на 161 страницах печатного текста, включает в себя: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, заключение, список литературы и приложения. Диссертационная работа содержит 30 таблиц, 35 рисунков. Список литературы включает в себя 201 источник, из которых 73 иностранных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В литературном обзоре по теме диссертационной работы была проведена систематизация, обработка и анализ источников научной, исследовательской отечественной и зарубежной литературы, в которую были включены материалы, опубликованные в различных отечественных и зарубежных изданиях, а так же тезисы научных конференций. В литературном обзоре приведена историческая справка развития фотодинамической терапии, изучены вопросы этиологии и канцерогенеза онкологических болезней, выделены основные классификации опухолей молочной железы, изучены современные методы лечения, применяемые в ветеринарной практике, а так же рассмотрены перспективы применения метода фотодинамической терапии для лечения злокачественных опухолей.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы. Клинические наблюдения и исследования проводили с 2016 по 2021 год на кафедре «Ветеринарная медицина» ФГБОУ ВО МГУПП, а также на базе ветеринарного центра «Надежда» (г. Москва), на базе ветеринарной клиники «Велес-Тексильщики» (г. Москва). Объектом исследования служили кошки разных пород и возрастных групп со спонтанно возникшими новообразованиями молочных желез. За время нашего исследования нами были проанализированы данные 1590 историй болезней, предоставленные ветеринарными клиниками для установления частоты встречаемости рака молочной железы у кошек.

Для реализации поставленных целей и задач мы разделили животных на 3 группы.

В контрольную группу № 1 мы включили 5 кошек разных пород в возрасте старше 15 лет с уточненным диагнозом РМЖ III стадии онкологического процесса. Данной группе лечение не проводилось, в виду отказа владельцев от лечения.

В контрольную группу № 2 мы включили 10 кошек разных пород в возрасте от 7 до 15 лет с уточненным диагнозом РМЖ I, II, III стадии онкологического процесса, без признаков метастазирования, выбранных случайным образом. Данной группе проводилось комбинированное лечение (хирургическое вмешательство + химиотерапия).

В экспериментальной группе было 25 кошек разных пород в возрасте от 8 до 16 лет с уточненным диагнозом РМЖ I, II, III стадии онкологического процесса без признаков метастазирования. В эту группу вошли кошки, которым по результатам диагностических исследований было противопоказано хирургическое вмешательство, введение их в стадию наркоза или же владельцы данных животных отказались от лечения стандартными методами. Этим животным проводился курс фотодинамической терапии с применением фотосенсибилизатора «Фотодитазин».

2.2 Методы исследования

2.2.1 Клинические исследования. Перед началом лечебных мероприятий для всех животных проводилось полное диагностическое обследование. При проведении визуального осмотра обращали внимание на величину молочных желез, на состояние сосков и на наличие изменений кожных покровов (Уша Б.В., 1998; Булынский Д.Н. 2009). После осмотра проводилась пальпация с целью выявления очагов уплотнения, изменения местной температуры, определения болезненности. Оценивали состояние регионарных лимфатических узлов: увеличение, изменение локализации, форма, плотность и болезненность. В анамнез включали данные о положении тела, упитанность, состояние кожи, шерстного покрова и видимых слизистых оболочек. Исследовали доступные для пальпации лимфатические узлы. Визуально определяли тип дыхания, ритмичность, глубину, частоту дыхательных движений. Проводили аускультацию поля легких, при необходимости пальпацию и перкуссию грудной клетки. Дополнительно, по общепринятой методике проводили исследования органов сердечно-сосудистой, пищеварительной и мочевыделительной систем, а также репродуктивных органов (Уша Б.В., 1998; Мищенко С.Н., 2002; Булынский Д.Н. 2009).

Для оценки состояния пациентов всем животным проводили гематологический и биохимический анализы крови. У кошек забор крови выполнялся из внутренней бедренной вены или из передней подкожной вены предплечья. Для

гематологического исследования исследуемым материалом служила цельная кровь, которую собирали в вакуумная пробирка с антикоагулянтом K2EDTA или K3EDTA, для биохимического исследования использовали сыворотка крови, которую собирали в вакуумные пробирки без наполнителя, полученную кровь не перемешивали и отправляли на исследование (Мищенко С.Н. 2002; Старченков С.В., 2013). Исследование полученного материала проводилось в ветеринарной лабораторной службе «ВЕТТЕСТ» или в «Ветеринарном центре патоморфологии и лабораторной диагностики доктора Н.В. Митрохиной».

Метод рентгенографии применялся для исключения метастатического поражение легких у больных животных. В процессе проведения исследования обращали внимание на прозрачность полей легких и состояние легочного рисунка, положение и конфигурацию сердца. Рентгенографию грудной клетки проводили на портативном аппарате EcoRay Orange-1040HF при фокусном расстоянии 100 см в трех стандартных проекциях: правой и левой латеральной, вентро-дорсальной (Якунина, М.Н., 2013). Ультразвуковая диагностика проводилась с целью оценки состояние органов брюшной полости. Наибольшее внимание уделялось исследованию печени и почек, так как в эти органы наиболее часто метастазирует РМЖ. Ультразвуковое исследование проводили ультразвуковым медицинским диагностическим аппаратом «Mindray DC-3», при помощи трансдукторов: «Конвексный ультразвуковой датчик Mindray 3C5A» с частотой диапазона 2,5–5,0 МГц, «Линейный датчик Mindray 7L5» с частотой диапазона 3,0–14,0 МГц, «Секторный фазированный датчик Mindray 2P2» с частотой диапазона 2,0–4,4 МГц, «Микроконвексный датчик Mindray 35C20EA» с частотой диапазона 2,0–6,0 МГц (Барр Ф., 2004; Шабанов А.М. и соавт., 2005; Маннион П., 2008; Пенник Д., 2015).

Цитологическое исследование применяли в качестве вспомогательной методики для уточнения предварительного диагноза с дальнейшим уточнением при помощи гистологического исследования. Окрашивание цитологических мазков проводили по методу Папенгейма с применением красителей по Май–Грюнвальду и Романовскому–Гимза, также для окрашивания использовали набор красителей LT 005/E «Дифф–Квик». Просматривали полученные мазки под микроскопом «Микромед Р–1» под увеличением в $\times 100$, $\times 400$, $\times 1000$ раз и изучали особенности строения клеток, клеточного состава и наличие признаков злокачественности (Ханхасыков С.П., 2003; Болотов В.Ц. 2005). Гистологические исследования являются заключительным этапом диагностики и позволяют поставить окончательный диагноз злокачественного новообразования. Процессы фиксации, проводки, осветления и заливки гистологического материала в парафин мы проводили в аппарате с использованием процессора карусельного типа для гистологической обработки тканей серии «АГТ–11 ФМП». Для получения тонких срезов толщиной 4–5 мкм из полученных парафиновых блоков мы использовали «Саный микротом МС–2» с ножом 180X40, МРТУ 42–561–64. Окрашивание мазков проводили по методу Ван–Гизона с применением красителей гематоксилин Вейгерта и пикрофуксиновая смесь Ван–Гизона. Подготовленные препараты подвергались микроскопическому исследованию также, как и при цитологическом исследовании (Герасименко И.И., 2008; Лозовская Е.А., 2012; Лукьянец Е.А., 2013; Нелюбина Л.А., 2014).

В своей работе мы применяли следующие виды биопсий:

1. Тонкоигольный аспирационный метод биопсии (ТАБ). Суть метода ТАБ состоит в получении клеточного материала путем прокола новообразования тонкой иглой и аспирации клеток в просвет иглы. Забор материала производили при помощи

одноразового шприца объемом 10 мл, под пальпаторным или ультразвуковым контролем. Полученный исследуемый материал выдавливали из иглы на предметное стекло для дальнейшей окраски и микроскопии (Малыхина Т.М., 2006; Гончарова Е.А., 2014; Егоренков В.В. и соавт., 2017; Tadiparthi S. et al., 2008).

2. Биопсия с помощью инструмента Tru Core. Данную процедуру у кошек мы проводили под общей анестезией в комплексе с ультразвуковой диагностикой. При этом использовались специальные иглы (диаметром 1,2–2,0 мм), на которых нанесена сантиметровая разметка, что позволяло контролировать глубину введения иглы и ее местоположение. Полученный материал в виде кусочков ткани из патологического очага подвергался гистологическому исследованию (Егоренков В.В. и соавт., 2017; Tadiparthi S. et al., 2008).

3. Punch-биопсия - биопсия – метод взятия патологического материала с помощью специального трубчатого скальпеля – панча, диаметром от 2 до 8 мм, на конце которого располагается металлический цилиндр с режущей кромкой. При погружении трубчатого скальпеля в исследуемый участок кожи мы получали биоптат, в форме столбика тканей, который включал в себя поверхностные и глубокие слои кожи вместе с подкожной жировой клетчаткой. Полученный материал подвергался гистологическому исследованию (Егоренков В.В. и соавт., 2017; Tadiparthi S. et al., 2008).

4. Инцизионная биопсия проводилась нами во время хирургических операций. В качестве исследуемого материала мы брали небольшую часть опухолевой ткани с периферии очага размером примерно 1,0 x 1,0 см. При этом обязательно вместе с опухолевой тканью проводилось иссечение здоровой ткани. Полученный материал подвергался гистологическому исследованию (Егоренков В.В. и соавт., 2017; Tadiparthi S. et al., 2008).

Было проведено электронное микроскопическое исследование для выявления ультраструктурных изменений клеток рака молочной железы под влиянием ФДТ. Электронно-микроскопическое исследование мы проводили на просвечивающемся электронном микроскопе JEOL JEM–1011 с цифровой камерой ORIUS SC1000W. Данную методику использовали для уточнения некоторых диагнозов при диагностике доброкачественных и злокачественных опухолей. Метод основан на выявлении в исследуемом образце ткани под увеличением в диапазоне от x50 до x1 000 000 ультраструктурных компонентов клетки, которые специфичны для того или иного вида клеток, что помогает отличать один вид опухоли от другого (Андреева В.Д., 2016).

2.2.2 Методы лечения. Лечение исследуемых животных проводилось с помощью:

1. Комбинированного метода лечения (хирургическое вмешательство + химиотерапия). Все хирургические операции РМЖ проводились с соблюдением принципов абластики, антиабластики, зональности, футлярности. В качестве хирургического вмешательства мы использовали следующие виды мастэктомии: унилатеральная мастэктомия (УМЭ) и регионарная мастэктомия (Гаранин Д.В., 2005; Фомичева Д.В., 2010; Нелюбина Л.А. 2014).

После оперативного вмешательства животным проводилась адъювантная химиотерапия для продления послеоперационной ремиссии путем профилактики метастазирования и рецидивирования опухолевого очага. Адъювантную ХТ

проводили с препаратом доксорубицином в монорежиме, или по протоколу АТ (доксорубицин + таксотер) (Фомичева Д.В., 2008; 2010).

2. Фотодинамическая терапия основывается на введении в организм фотосенсибилизаторов, которые избирательно накапливаются в ткани опухоли. Под световым воздействием происходит либо излучение кванта света, в результате чего можно регистрировать флуоресценцию ткани опухоли, либо продуцируется химическая реакция, вследствие которой выделяется синглетный кислород (O_2)* и свободные кислородные радикалы, которые оказывают токсичное действие на опухолевые клетки (Лалетин В.Г. и соавт., 2013; Белоногов А.В., 2014; Горанская Е.В., 2014; Пономарев Г.В., 2014; Попов П.Б., 2016).

В нашем исследовании мы применяли фотосенсибилизатор хлоринового ряда второго поколения «Фотодитазин» ООО «БЕТА-ГРАНД» (Россия) (*Fotoditazin*). Основным действующим веществом является диметилглюкаминовая соль хлорина Е6. После внутривенного введения максимальная концентрация препарата в опухоли достигается через 1,5–2,5 часа с момента введения, а через 4–5 часов концентрация «Фотодитазина» в опухоли постепенно уменьшается. Фотосенсибилизатор быстро выводится из организма (в течение 24–28 часов) через кожу и слизистые оболочки (Васильев Д.В., 2003; Каплан М.А. и соавт., 2004; Волгин, В.Н., 2011).

2.2.3 Статистическая обработка данных. В своей работе мы применяли следующие методы статистического анализа:

- 1) первичные методы;
- 2) вторичные методы.

С помощью первичных методов статистического анализа можно получить статистические данные, которые будут отражать результаты проводимых измерений в ходе исследовательской работы. К этим методам относятся: показатели среднего арифметического, моды, медианы и дисперсии. Обработка первичных данных была проведена с помощью персонального ноутбука в программе Microsoft Excel 2016.

Статистическая обработка вторичных данных проводилась с помощью персонального ноутбука в программе STATISTICA 10. С помощью данной программы производился расчет стандартных отклонений показателей для оценки разброса значений отклонений от их средней величины, а так же мы определили являются ли полученные показатели зависимыми, для этого мы воспользовались *t*-критерием Стьюдента для определения уровня значимости.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Анализ результатов диагностического исследования

Дальнейшие исследования проводились с пациентами, которые имели подтвержденный диагноз – злокачественные опухоли молочной железы. Нами был сделан анализ результатов диагностического исследования по возрастной и породной предрасположенности кошек к опухолям молочной железы, а так же был проведен анализ по стадиям онкологического процесса у исследуемых животных.

Из 70 случаев заболевания, включенных в наше исследование, все 70 пациентов (100 %) были самками. При диагностировании болезни, у 56 кошек (80 %) был поставлен диагноз – злокачественные опухоли молочной железы, а у 14 кошек (20 %) – доброкачественные опухоли молочной железы.

3.1.1 Анализ результатов диагностического исследования больных кошек по возрастному показателю

При распределении животных по возрасту, нами были выделены 3 возрастные группы:

- До 8 лет включительно;
- От 9 до 13 лет;
- От 14 лет и старше.

В результате указанного распределения животных по возрасту, нами получены следующие данные (Рисунок 1):

- в возрастной группе до 8 лет – 9 животных, что составляет 16 % от общего числа поступивших к нам кошек со злокачественными новообразованиями;
- в возрастной группе от 9 до 13 лет – 25 животных, или 45 %;
- в возрастной группе от 14 лет и старше – 22 животных, или 39%.

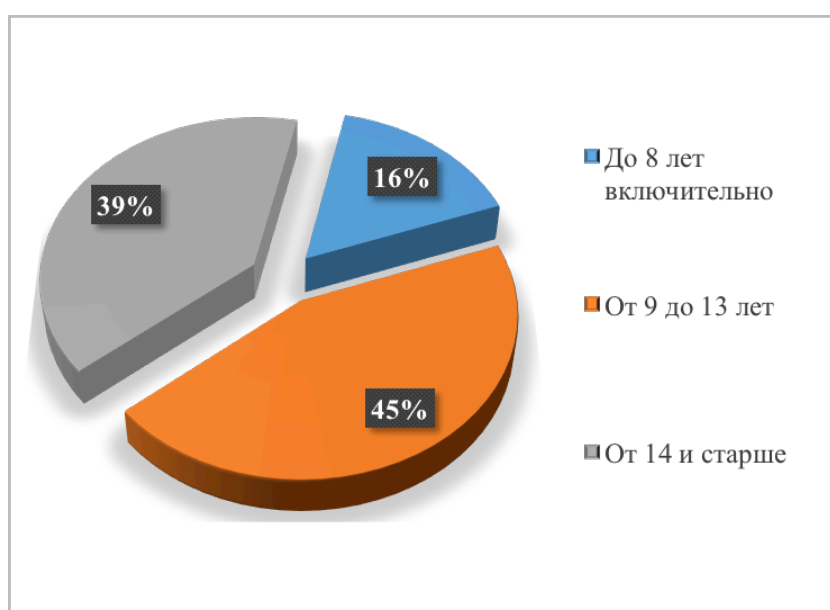


Рисунок 1 – Анализ результатов диагностического исследования больных кошек по возрастному показателю

3.1.2 Анализ результатов диагностического исследования больных кошек по породному показателю

Статистический анализ породной предрасположенности поступивших к нам животных за период исследования показал, что из числа исследуемых пациентов: метисы – 35 кошек - 62 % от общего числа поступивших кошек с подтвержденным диагнозом РМЖ; британская порода – 6 кошек – 11 %; сибирская порода – 6 кошек – 11 %; персидская порода – 3 кошки – 5 %; сиамская порода – 3 кошки – 5 %; шотландская вислоухая – 2 кошки – 4 %; русская голубая порода – 1 кошка – 2 % (Рисунок 2).



Рисунок 2 – Анализ результатов диагностического исследования больных кошек по породному показателю

3.1.3 Анализ результатов диагностического исследования по стадиям онкологического процесса у поступивших животных кошек (TNM – классификация)

По результатам комплекса проведённых исследований каждому животному мы устанавливали стадию заболевания по классификации TNM (Рисунок 3):

- с I стадией злокачественного процесса к нам поступило – 9 кошек (16 %);
- со II стадией – 22 кошки (39 %);
- с III стадией – 22 кошки (39 %);
- с IV стадией – 3 кошки (6 %).

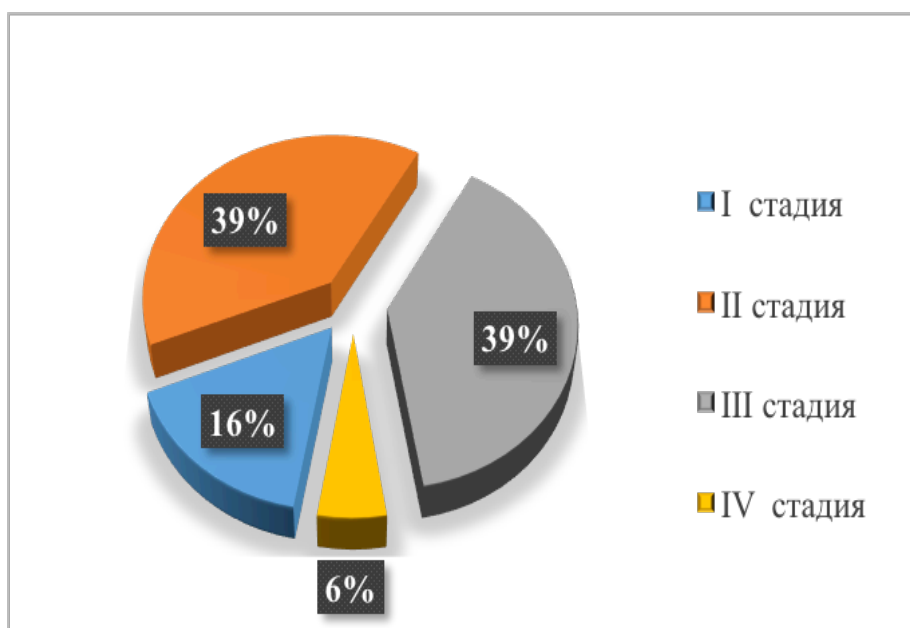


Рисунок 3 – Анализ результатов диагностического исследования по стадиям онкологического процесса у поступивших животных

3.2 Лечение исследуемых животных

3.2.1 Результаты наблюдения за животными, которым не было проведено лечение. Данная группа животных в течение 9 месяцев находилась под наблюдением, в отсутствие лечения у животных (n=5) состояние здоровья ухудшилось. В интервале от 6 до 9 месяцев у всех животных данной группы наступил летальный исход от метастазирования и прогрессирования онкологического процесса. Медиана продолжительности жизни составляет 7 месяцев.

3.2.2 Результаты лечения комбинированным методом (хирургическое вмешательство + химиотерапия). Комбинированное лечение проводилось у контрольной группы № 2, в которую мы включили 10 кошек разных пород в возрасте от 7 до 15 лет с уточненным диагнозом РМЖ I–III стадии онкологического процесса. Данный вид лечения был назначен животным с нормальным самочувствием, мы оценивали результаты клинических исследований и результаты анализов крови.

Оперативному вмешательству было подвергнуто 10 животных:

- 1) Унилатеральная мастэктомия (УМЭ) была выполнена в 9-ти случаях (90 %);
- 2) Регионарная мастэктомия – в 1-ом случае (10 %).

После оперативного вмешательства животным проводилась адъювантная ХТ для продления послеоперационной ремиссии путем профилактики метастазирования и рецидивирования опухолевого очага.

Адъювантная ХТ с препаратом доксорубицином в монорежимах была проведена у 3-х кошек (30 %), химиотерапия по протоколу АТ (доксорубицин + таксотер) у 7-ми кошек (70 %). После применения химиопрепаратов у животных отмечалась слабость, аллергических реакций выявлено не было.

Оценка эффективности лечения больных животных с помощью хирургическое вмешательство + химиотерапии:

Через 4 недели после окончания лечения у 8 кошек (80 %) была отмечена полная регрессия. У 2-х кошек, которым была диагностирована III стадия онкологического процесса и которым проводилось хирургическое вмешательство с последующим назначением химиотерапии с применением доксорубицина в монорежиме, через 4 недели были выявлены множественные метастазы в легких. Одна из них умерла собственной смертью через сутки после диагностического исследования, владельцы второй кошки приняли решение об эвтаназии животного. В обоих случаях вскрытие не проводилось.

Через 4 месяца у еще одной кошки (была диагностирована II стадия онкологического процесса), которой так же после оперативного вмешательства была назначена химиотерапия с применением доксорубицина в монорежиме, были выявлены метастазы в легких. Владельцы данного животного так же приняли решение об эвтаназии.

Остальные животные находятся под дальнейшим наблюдением, признаков рецидива заболевания не выявлено.

Продолжительность жизни в контрольной группе № 2 составляет от 1 до 12 и более месяцев, медиана продолжительности жизни составляет 12,5 месяцев.

Выживаемость:

- через 1 месяц после окончания лечения составляет 80 % от общего числа животных в контрольной группе;
- через 4 месяца – 70 %;

- дальнейшие исследования проводились через 6 и через 12 месяцев, признаков рецидивов и метастазирования у оставшихся животных (n=7) в контрольной группе № 2 не выявлено.

3.2.3 Фотодинамическая терапия рака молочной железы кошек

Животным опытной группы проводилось полное клиническое обследование, которое включало в себя общий осмотр, сбор анамнеза, определение габитуса, лабораторные исследования крови в виде – общеклинического анализа и биохимического анализа крови. Также мы проводили исследования для исключения отдаленного метастазирования – рентген грудной клетки и УЗИ органов брюшной полости. В обязательном порядке осуществлялась биопсия для установления окончательного диагноза.

В исследование были включены животные – кошки с диагностированным РМЖ I, II и III стадии, при этом не имеющие признаков метастазирования в лимфатических узлах и признаков отдаленного метастазирования в другие органы.

Процедуру фотодинамической терапии мы начинали с введения фотосенсибилизатора «Фотодитазин» в предварительно установленный внутривенный катетер. «Фотодитазин» вводили в дозе 0,8-1 мг/кг. Требуемое количество ФС перед применением разводили в растворе натрия хлорида 1:10. Затем животных оставляли в затемненном помещении, для исключения попадания прямых солнечных лучей и через 3 часа после накопления ФС в опухоли, проводилось облучение зоны опухоли с захватом 1 см здоровых тканей вокруг опухоли когерентным лазерным излучением с длиной волны 660 ± 2 нм в красной области спектра, мощностью 1-1,5 Вт и с плотностью энергии 300 Дж/см².

После ФДТ опухоль, как правило, темнела, появлялась гиперемия тканей, экссудация с поверхности снижалась. В течение 1-3 дней после ФДТ мы наблюдали отёк опухолевой ткани, что является нормальной реакцией на проведенное облучение.

Через 6-10 дней после терапии опухоль начинала подвергаться деструкции, можно было обнаружить некротический распад тканей и наличие гнойного экссудата. В таких случаях мы рекомендовали владельцам проводить ежедневные обработки хлоргексидином и антибактериальными мазями, а в случае сильного некроза опухоли прибегали к удалению некротических масс.

Процессы деструкции заканчивались как правило через 1,5-2 недели после проведения ФДТ, в дальнейшем при необходимости мы проводили повторные сеансы лечения. При полной регрессии рака молочной железы ранозаживление проходило по вторичному натяжению.

В нашем исследовании среднее количество курсов фотодинамической терапии на пациента составляло – 3 курса.

Оценка эффекта применения фотодинамической терапии в монорежиме при раке молочной железы у кошек

При лечении РМЖ у кошек с помощью фотодинамической терапии, нами были получены следующие результаты:

- 1) При лечении I стадии рака молочной железы (n=3) полная регрессия составила 100 %, период наблюдения составлял 360 дня (12 месяцев);

2) При лечении II стадии рака молочной железы (n=13) полная регрессия составила 62 %, частичная регрессия – 38 %, объективный ответ – 100 %. Период наблюдения при II стадии составил 323 дня (11 месяцев);

3) При лечении III стадии рака молочной железы (n=9), по нашим наблюдениям полная регрессия составила 45 %, частичная регрессия – 33 %, стабилизация заболевания – 22 %, объективный ответ составил 78 %. Время наблюдения за животными с III стадией рака молочной составила 329 дней (11 месяцев).

3.3 Побочные действия после применяя фотодинамической терапии

1. Применяемый нами фотосенсибилизатор «Фотодитазин» обладает высокой селективностью накопления в раковых клетках, но при этом имеет минимальное время задержки в окружающих здоровых тканях. В процессе проведения ФДТ нами не было выявлено ни реакций на внутривенное введение ФС, ни кожной фототоксичности.

2. При соблюдении режима проведения ФТД, в опухоли подвергшейся облучению развиваются высокотоксичные фотодинамические реакции, которые приводят к повреждению раковых клеток. При этом соседние, здоровые клетки, сохраняются неповрежденными.

3. При проведении лабораторных исследований крови (общий анализ крови и биохимический анализ крови) показатели до проведения лечения и после применения фотодинамической терапии существенно не менялись.

3.4 Сравнительная оценка эффективности лечения

I стадии онкологического процесса была выявлена у двух исследуемых групп, и по результатам исследования мы получили следующие данные, что:

1) в контрольной группе № 2 у одной кошки (50 %) на протяжении 12 месяцев выявлена полная регрессия, а у второй исследуемой кошки (50 %) через 4 месяца после окончания лечения были обнаружены метастазы в легких, что привело к летальному исходу,

2) в экспериментальной группе у 3 –х кошек (100 %) на протяжении 12 месяцев выявлена полная регрессия, летального исхода в данной группе животных не наблюдалось (Таблица 1).

Таблица 1 – Сравнительная оценка эффективности лечения групп с I стадией онкологического процесса

I стадия онкологического процесса	
Контрольная группа № 2 2 особи	Экспериментальная группа 3 особи
Медиана наблюдения	
12 месяцев	12 месяцев
Полная регрессия – 1 кошки (50 %)	Полная регрессия – 3 кошек (100 %)
Летальный исход через 4 месяца – 1 кошки (50 %)	Летальный исход – 0 кошек (0 %)

II стадии онкологического процесса была выявлена у двух исследуемых групп, и по результатам исследования мы получили следующие данные, что:

1) в контрольной группе № 2 у двух кошек (100 %) на протяжении 11 месяцев выявлена полная регрессия. Летального исхода в данной группе выявлено не было

2) в экспериментальной группе у 8-ми кошек (62 %) на протяжении 11 месяцев выявлена полная регрессия, у 5-ти кошек (38 %) – частичная регрессия, объективный ответ на лечение составил 100 %. Летального исхода у животных выявлено не было (Таблица 2).

Таблица 2 – Сравнительная оценка эффективности лечения групп со II стадией онкологического процесса

II стадия онкологического процесса	
Контрольная группа № 2 2 особи	Экспериментальная группа 13 особей
Медиана наблюдения	
11 месяцев	11 месяцев
Полная регрессия – 2 кошки (100 %)	Полная регрессия – 8 кошек (62 %)
	Частичная регрессия – 5 кошек (38 %)
	Летальный исход – 0 кошек (0 %)
	Объективный ответ на лечение – 100 %

III стадии онкологического процесса была выявлена у трех исследуемых групп, и по результатам исследования мы получили следующие данные, что:

1) в контрольной группе № 1 спустя 9 месяцев исследования была выявлена 100 % летальность исследуемых животных

2) в контрольной группе № 2 у 4-х кошек (67 %) на протяжении 11 месяцев выявлена полная регрессия, а у 2-х кошек через месяц после окончания лечения были обнаружены метастазы в легких, что привело к летальному исходу,

3) в экспериментальной группе у 4-х кошек (45 %) на протяжении 11 месяцев выявлена полная регрессия у 3 –х кошек (33 %) – частичная регрессия, у 2-х кошек (22 %) – стабилизация заболевания, объективный ответ на лечение составил 78 %. Летального исхода у животных выявлено не было (Таблица 3).

Таблица 3 – Сравнительная оценка эффективности лечения групп с III стадией онкологического процесса

III стадия онкологического процесса		
Контрольная группа № 1 5 особи	Контрольная группа № 2 6 особей	Экспериментальная группа 9 особей
Медиана наблюдения		
9 месяцев	11 месяцев	11 месяцев
Летальный исход спустя 9 месяцев у всех животных данной группы (100 %)	Полная регрессия – 4 кошки (67 %)	Полная регрессия – 4 кошки (45 %)
	Летальный исход – 2 кошки (33 %)	Частичная регрессия – 3 кошки (33 %)
		Стабилизация болезни – 2 кошки (22 %)
		Летальный исход – 0 кошек (0 %)
		Объективный ответ – 78 %

3.5 Ультраструктурные изменения клеток рака молочной железы под влиянием фотодинамической терапии

Нами было проведено электронное микроскопическое исследование клеток рака молочной железы до фотодинамической терапии и через 30 минут после фотодинамической терапии. По результатам электронной микроскопии было выявлено, что в клетках РМЖ до проведения ФДТ, хорошо визуализировались клеточные стенки, присутствовали выросты – десмосомы, так же хорошо видны органеллы животной клетки. В исследуемых клетках хорошо были выражены признаки злокачественности, просматривался грубый хроматин, в ядрах присутствовало от 1 до 3-х нуклеол, отмечалась малая доля цитоплазмы, значительно было увеличено ядро относительно размеров клетки. Клетки имели разные размеры, а также ядра варьировались по размеру или присутствовало несколько ядер в одной клетке.

При исследовании клеток РМЖ через 30 минут после проведения ФДТ было обнаружено, что большая часть клеток не визуализируется. Присутствуют свободнолежащие скопления клеточных элементов (ядро, митохондрии, рибосомы, комплекс Гольджи, вакуоли) без признаков клеточной стенки. Так же вокруг ядра произошло увеличение количества кератиновых фибрилл.

Таким образом, непосредственно после воздействия ФДТ на клетки РМЖ происходит разрушение их клеточных стенок. И данный факт может быть связан, с тем что внутри клеточных стенок происходит активное накопление ФС фотодитазина, с дальнейшим выделением синглетного кислорода, который в свою очередь полностью разрушает клеточные стенки. В результате этого происходит цитотоксический эффект при ФДТ рака молочной железы.

3.6 Сравнение основных показателей крови до и после применения фотодинамической терапии

В ходе исследования у животных экспериментальной группы проводился забор проб крови для общего и биохимического исследований крови. Кровь брали до проведения и после проведения ФДТ спустя двое суток.

С целью изучения влияния ФДТ на показатели крови из экспериментальной группы было выбрано случайным образом 15 кошек.

В Таблице 4 представлено сравнение основных показателей ОАК и БХА кошек экспериментальной группы до проведения ФДТ и после. С помощью программы «STATISTICA 10», нами было получено значения стандартных отклонений каждого показателя крови для оценки разброса значений отклонений от их средней величины.

Также с помощью статистических методов в программе «STATISTICA 10», мы определили являются ли полученные показатели крови до лечения и после лечения с помощью ФДТ зависимыми. Для этого мы воспользовались t -критерием Стьюдента для определения уровня значимости (p).

Исходя из полученных данных видно, что для всех показателей крови $p > 0,05$, следовательно взаимосвязи между анализом крови до проведения лечения и после нет. Отсюда можно сделать вывод, что ФДТ не оказывает негативного влияния на показатели крови, данный метод лечения является безопасным.

Таблица 4 – Показатели общих и биохимических анализов крови 15 кошек до и после фотодинамической терапии

Показатель крови	До ФДТ	После ФДТ	Референсные значения для кошек	Уровень значимости (p)
1	2	3	4	5
Общий анализ крови				
Эритроциты, $10^{12}/л$	7,93±1,25	7,86±1,33	5-10	0,883
Гемоглобин, г/л	118,53±28,37	118,20±23,52	80-150	0,972
Гематокрит, %	36,51±5,97	35,58±4,78	24-45	0,641
Лейкоциты, $10^9/л$	13,40±6,40	13,22±5,37	5,5-19,5	0,934
Палочкоядерные нейтрофилы, %	1,07±1,16	1,13±1,25	0-3	0,880
Сегментоядерные нейтрофилы, %	68,25±9,42	67,81±8,81	35-75	0,896
Эозинофилы, %	1,60±2,03	1,87±1,55	2-12	0,689
Моноциты, %	1,98±1,06	1,97±0,94	0-4	0,988
Лимфоциты, %	26,66±8,83	26,28±8,36	20-55	0,904
Тромбоциты, $10^9/л$	273,85±50,86	279,38±49,26	200-600	0,764
СОЭ, мм/ч	17,33±8,91	14,47±6,47	0-5	0,322
Биохимический анализ крови				
Мочевина, ммоль/л	9,14±1,45	8,96±1,22	5,40-12,10	0,754
Креатинин, нмоль/л	135,04±32,79	131,62±26,02	70,00-165,00	0,754
АСТ, ед/л	37,94±10,82	36,86±10,74	9,0-45,0	0,786
АЛТ, ед/л	58,69±14,65	56,71±12,92	8,0-60,0	0,699
Глюкоза, ммоль/л	5,51±1,93	5,50±1,77	3,30-6,30	0,985
ЩФ, ед/л	49,13±6,41	48,69±4,77	5,0-55,0	0,830
Альбумин, г/л	31,89±4,50	30,71±3,70	24,0-38,0	0,442
Общий белок, г/л	73,07±9,72	72,85±9,29	54,0-79,0	0,950
Амилаза общая, ед/л	891,57±166,06	949,71±141,73	500,0-1200,0	0,311
Билирубин общий, ммоль/л	4,01±1,82	4,02±1,35	0,00-12,00	0,982
Билирубин прямой, ммоль/л	3,73±1,40	3,63±1,32	0,00-5,50	0,843

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Внедрен в клиническую ветеринарную практику метод фотодинамической терапии рака молочной железы у кошек с фотосенсибилизатором хлоринового ряда «Фотодитазин». Фотосенсибилизатор вводился в дозе 0,8-1 мг/кг. Предварительно необходимое количество препарата разводили в растворе натрия хлорида 1:10. Через 3 часа после накопления ФС в опухоли, проводилось облучение зоны опухоли когерентным лазерным излучением с длиной волны 660 ± 2 нм в красной области спектра, мощностью 1-1,5 Вт и с дозой лазерного излучения 300 Дж/см².

2. При анализе результатов диагностического исследования по породному показателю было выявлено, что к нам поступили следующие породы кошек: метисы – 35 кошек (62 %); британская порода – 6 кошек (11 %); сибирская порода – 6 кошек (11 %); персидская порода – 3 кошки (5 %); сиамская порода – 3 кошки (5 %); шотландская вислоухая – 2 кошки (4 %); русская голубая порода – 1 кошка (2 %). При анализе возрастного показателя в возрастной группе от 9 до 13 лет – 25 кошек (45 %),

в группе от 14 лет и старше – 22 кошки (39 %) и в группе до 8 лет – 9 кошек (16 %). При анализе статистических данных по стадиям заболевания по классификации TNM было определено, с I стадией злокачественного процесса – 9 кошек (16 %); со II стадией – 22 кошки (39 %); с III стадией – 22 кошки (39 %); с IV стадией – 3 кошки (6 %).

3. Установлено, что при лечении I стадии рака молочной железы полная регрессия составила 100 %, время наблюдения – 12 месяцев. При лечении II стадии полная регрессия составила 62%,частичная регрессия – 38 %, объективный ответ – 100 %, время наблюдения – 11 месяцев. При лечении III стадии полная регрессия составила 45 %, частичная регрессия – 33 %, стабилизация заболевания – 22 %, объективный ответ составил 78 %, время наблюдения 11 месяцев.

4. Доказано, что при использовании фотодинамической терапии для лечения рака молочной железы у кошек не было обнаружено каких-либо побочных эффектов связанных с введением фотосенсибилизатора «Фотодитазин» и с самой фотодинамической терапией. Лабораторные показатели общего и биохимического исследования крови не показали значительных изменений до проведения лечения и после применения фотодинамической терапии.

5. У животных контрольной группы № 1 в отсутствие лечения состояние здоровья ухудшилось. В интервале от 6 до 9 месяцев у всех животных данной группы наступил летальный исход от метастазирования и прогрессирования онкологического процесса, медиана жизни в данной группе составляла 7 месяцев. Так же были получены результаты при лечения животных с помощью хирургического вмешательства в комбинации с химиотерапией (контрольная группа № 2), на наш взгляд применение данного метода наиболее оправданно при лечении II и III стадии онкологического процесса. При анализе данного метода у животных продолжительность жизни составляет от 1 до 12 и более месяцев, а так же были выявлены летальные исходы, медиана жизни составила 12,5 месяцев.

Применение фотодинамической терапии эффективно при лечении, как I и II, так и III стадии онкологического процесса. Фотодинамическая терапия имеет большой потенциал в лечении рака молочной железы. Медиана продолжительность жизни в экспериментальной группе составляет 11 месяцев, летальных исходов выявлено не было. Данный метод с успехом можно применять для лечения злокачественных опухолей молочной железы, как самостоятельную методику, особенно при наличии противопоказаний к другим методам лечения.

6. При проведение электронного микроскопического исследования раковых клеток молочной железы кошек после непосредственного применения фотодинамической терапии у всех животных (100 % случаев) было отмечено разрушение клеточных стенок. Это происходит в связи с активным накоплением фотосенсибилизатора в клеточных стенках и с дальнейшим выделением синглетного кислорода, который полностью разрушает их структуру.

РЕКОМЕНДАЦИИ, ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. Разработана методика фотодинамической терапии рака молочной железы кошек, которая заключается во внутривенном введение раствора «Фотодитазина» в дозе 0,8-1 мг/кг. Предварительно необходимое количество препарата разводили в растворе натрия хлорида 1:10. Через 3 часа после накопления ФС в опухоли, проводилось облучение зоны опухоли когерентным лазерным излучением с длинной

волны 660 ± 2 нм в красной области спектра, мощностью 1-1,5 Вт и с дозой лазерного излучения 300 Дж/см^2 . Данный метод лечения был внедрен в ветеринарную клинику «Велес-Текстильщики» и в ветеринарную клинику «Веттал».

2. На основании полученных данных были разработаны методические рекомендации «Фотодинамическая терапия и флуоресцентная диагностика рака молочной железы у мелких домашних животных». Методические рекомендации рассмотрены и одобрены на заседании кафедры «Ветеринарная медицина» ИВВСЭиАБ (ФГБОУ ВО «МГУПП») протокол № 4 от «22» октября 2021 года, на заседании совета института ветеринарии, ветеринарно-санитарной экспертизы и агробезопасности (ИВВСЭиАБ) ФГБОУ ВО «МГУПП» протокол № 5 от «12» ноября 2021 года, в качестве учебного пособия для подготовки специалистов, обучающихся по направлению 36.05.01 - «Ветеринария», специализации «Ветеринарная медицина и экспертиза»

3. На базе электронной информационно-образовательной среды Университета (ФГБОУ ВО МГУПП) создан курс «Фотодинамическая терапия и флуоресцентная диагностика онкологических заболеваний у мелких домашних животных» для подготовки ветеринарных врачей и аспирантов на кафедре «Ветеринарная медицина» института ветеринарии, ветеринарно-санитарной экспертизы и агробезопасности (ИВВСЭиАБ) ФГБОУ ВО «МГУПП».

4. Результаты исследований были получены при реализации гранта РФФИ № 19-316-90069 Аспиранты, название проекта: «Исследование влияния фотодинамического эффекта и активных форм кислорода на клетки при лечении спонтанного рака молочной железы у животных» 2019-2021 г.г., руководитель проекта – Давыдов Евгений Владимирович.

ОСНОВНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ АВТОРА ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ В журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ

1. **Немцева Ю.С., Давыдов Е.В.** Опыт лечения опухолей молочной железы с использованием фотодинамической терапии // Журнал Лазерная медицина. – 2016. – Т. 20. – № 3. – С. 50-51.

2. Уша Б.В., Давыдов Е.В., Алексеев Ю.В., Марюшина Т.О., **Немцева Ю.С.**, Вяльцева Н.И. Опыт применения отечественного фотосенсибилизатора "Фотосенс" для лечения фибросарком методом фотодинамической терапии в эксперименте // Журнал Лазерная медицина. – 2019. – Т. 23. – № S3. – С. 44.

3. Якунина М.Н., **Немцева Ю.С.**, Сысоева Н.Ю., Солошенко Н.Ю., Вяльцева Н.И. Опыт применения фотодинамической терапии при лечении опухолей кожи в эксперименте // Журнал Лазерная медицина. – 2019. – Т. 23. – № S3. – С. 44.

4. Давыдов Е.В., Уша Б.В., Марюшина Т.О., Крюковская Г.М., **Немцева Ю.С.** Изменение биохимических и гематологических показателей крови собак при онкологических заболеваниях после фотодинамической терапии // Журнал Аграрный вестник Верхневолжья. – 2021. – № 4 (37). – С. 38-41.

5. Давыдов Е.В., Уша Б.В., Марюшина Т.О., **Немцева Ю.С.** Изучение ультраструктурных изменений в клетках рака молочной железы кошек при фотодинамической терапии // Журнал Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2021. – № 4 (52). – С. 40-42.

6. Давыдов Е.В., Уша Б.В., Марюшина Т.О., Матвеева М.В., **Немцева Ю.С.** Изменения гематологических и биохимических показателей крови кошек при

онкологических заболеваниях после фотодинамической терапии // Журнал Аграрная наука. – 2021. – № 7-8. – С. 15-17.

В журналах, индексируемых в Web of Science и Scopus.

7. Давыдов Е.В., Алексеев Ю.В., Иванов А.В., **Немцева Ю.С.**, Иванов В.В., Рябов М.В. Опыт применения отечественного фотосенсибилизатора Фотосенс для лечения опухолей молочной железы в эксперименте // Журнал Biomedical Photonics. Специальный выпуск. –2018. – С. 10-11.

В журналах, материалах научных конференций, семинаров и иных изданий

8. **Немцева Ю.С.** Опухоли молочной железы (ОМЖ) у мелких домашних животных // Научно-практической конференции студентов и аспирантов «Разработка инновационных методов диагностики и лечения в ветеринарной практике» Москва, МГУПП, 2018.

9. **Немцева Ю.С.** Фотодинамическая терапия, как новый метод лечения в ветеринарной онкологии // Журнал Сельское хозяйство. – 2018. – № 2. – С. 16 - 21.

10. **Немцева Ю.С.** Фотодинамическая терапия рака молочной железы у животных // Сборник докладов XIV Международного биотехнологического форума «РОСБИОТЕХ-2020». ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» Российской академии наук; ФГБОУ ВО «МГУПП». – Москва, 2020. – С. 116-118.

11. **Немцева Ю.С.** Методика проведения фотодинамической терапии в ветеринарной медицине // Сборник статей II Международной научно-практической конференции «Научный потенциал молодежных исследований. – Петрозаводск: Международный центр научного партнерства «Новая Наука», 2020. – С. 258-261.

12. **Немцева Ю.С.** Эффективность лечения опухолей молочной железы у кошек с помощью фотодинамической терапии // Сборник статей Международной научно-практической конференции. – Уфа: Общество с ограниченной ответственностью «Аэтерна», 2020, – С. 285-286.

13. Давыдов Е.В., Алексеев Ю.В., Уша Б.В., **Немцева Ю.С.**, Марюшина Т.С., Рябов М.В. Фотодинамическая терапия опухоли молочной железы в эксперименте с применением фотосенсибилизатора «Фотосенс» // Сборник научных трудов XXXI Международной конференции. Под редакцией В.А. Петрова. Москва, 2020, – С. 136-137.

14. **Немцева Ю.С.** Способы лечения злокачественных опухолей молочной железы у кошек // Научно-практической конференции преподавателей, аспирантов и студентов: «Диагностика, терапия и профилактика заразных болезней животных опасных для здоровья человека» (on-line), Москва, МГУПП, 2020.