

ХІРУРГІЯ

УДК 619.617:636.7

Перспективні напрями консервативного лікування собак із пухлинами молочної залози (огляд літератури) Частина 1 – Нестероїдні протизапальні препарати

Білий Д.Д.¹ , Рубленко М.В.² , Самойлюк В.В.¹ , Спіцина Т.Л.¹ 

¹ Дніпровський державний аграрно-економічний університет

² Білоцерківський національний аграрний університет



Білий Д.Д. E-mail: dmdmbeliy@ukr.net; Рубленко М.В. E-mail: hiryrhya@ukr.net;
Самойлюк В.В. E-mail: samouluk1966@ukr.net; Спіцина Т.Л. E-mail: spitsina@ua.fm



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

Bilyi D.D., Rublenko M.V., Samojljuk V.V., Spitsyna T.L. Perspektyvni naprjamy konservatyvnogo likuvannja sobak iz puhlynamy molochnoi' zalozy (ogljad literatury). Chastyna 1 – Nesteroidni protyzapal'ni preparaty. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2020. № 2. PP. 166–174.

Рукопис отримано: 27.10.20

Прийнято: 13.11.20.

Затверджено до друку: 24.11.20.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-160-2-166-174

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

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

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Незважаючи на значну кількість досліджень, рак молочної залози у людини залишається головною невирішеною проблемою. Хоча клінічна апробація протоколів, відповідно до сучасних поглядів на патогенез захворювання дозволила суттєво покращити результати лікування, прогноз у більшості ви-

падків залишається несприятливим, а 5-річна виживаність не перевищує 25 %. При цьому собаки залишаються оптимальними моделями для вивчення ефективності лікувальних заходів, враховуючи, що лише 3–6 % препаратів, які демонструють перспективність на доклінічному етапі, підтверджують її за клінічних досліджень [1]. Останні дослідження доводять

подібність із людиною поведінкових та прогностичних показників раку молочної залози у сук, що обґрунтовує їх цінність для тестування сучасних терапевтичних стратегій, які, зокрема, спрямовані на молекулярні механізми [2].

Клінічні дослідження на моделі домашніх тварин стають все більш поширеними та доступними для власників домашніх тварин, враховуючи прагнення ветеринарних онкологів до кращого розуміння біології пухлин та покращення методів діагностики і лікування раку. Збільшується кількість господарів, які реєструють своїх домашніх компаньйонів для участі у програмах клінічної апробації [3].

У практичній онкології основним методом лікування залишається хірургічне видалення пухлини, яке за наявності уражень лімфатичних вузлів та метастатичних вогнищ доповнюють хіміотерапією цитотоксичними препаратами. Класи хіміотерапевтичних препаратів, які застосовують як першу лінію або додаткове лікування не завжди забезпечують позитивний результат, що зумовлено стійкістю окремих типів пухлинних клітин. Хіміотерапія може суттєво подовжувати період виживання, але не здатна повністювилікувати пацієнта. Невивченими залишаються механізми, які лежать в основі внутрішньої та набутої неоплазійної резистентності [4].

Недостатня клінічна ефективність запропонованих протоколів зумовлює подальші дослідження в цьому напрямку, які дещо покращили ситуацію, проте не вирішили проблему в цілому. В цьому аспекті собака є оптимальною моделлю для вивчення біології раку, а також скринінгу нових терапевтичних агентів, які можуть бути використані для лікування новоутворень молочної залози у людей та тварин [5].

Спонтанні пухлини молочної залози у собак характеризуються широким різноманіттям, подібними із людиною, епідеміологічними, біологічними та клінічними особливостями (етіології, активації сигнальних шляхів, гістологічної класифікації), що робить цю модель найбільш привабливою в онкологічних дослідженнях [6]. Це підтверджує подібність геномних характеристик, зокрема частих мутацій PIK3CA (43 %), аберації шляху PI3K-Akt (61,7 %), наявність генів, які беруть участь в ініціації і прогресуванні раку на тлі видоспецифічних для собак молекулярних механізмів: відсутності ампліфікації ERBB₂ та Her₂ [7].

Тобто, загальні молекулярні шляхи та мішені у клітині є додатковим обґрунтуванням можливості використання як біологічних моделей домашніх компаньйонів. Загальні молекулярні першопричини, встановлені завдяки

новітнім досягненням в області геноміки, протеоміки, інформаційних технологій та аналітичних інструментів дозволяють дослідникам одночасно перевіряти значну кількість лікарських засобів [8].

Сучасне хіміотерапевтичне лікування постійно удосконалюється, проте воно не забезпечує 100 % ефективність за дисемінації новоутворень. Стійкість до протипухлинних препаратів – складний процес, який обґрунтовує доцільність модифікації лікарських засобів та розробку цілеспрямованої терапії. Досягнення в сучасних методах діагностики, зокрема протеоміки, дозволяють пропонувати кращі стратегії для подолання лікарської стійкості, яка може бути зумовлена генетичними особливостями організму, пригніченням апоптозу, зміною експресії транспортних молекул, епігенетичного метаболізму і мішеней лікарських засобів, посиленням репарації ДНК та ампліфікації генів [9, 10].

В канцерогенезі молочної залози важливу роль відіграє циклооксигеназа-2, її високу концентрацію пов'язують із несприятливим прогнозом. Проте, отримані результати у більшості випадків базуються на клінічних ознаках, що гальмує розробку нових терапевтичних підходів за даної патології як у людей, так і собак [11]. На початковому етапі знаходяться дослідження щодо можливості використання інгібіторів циклооксигенази-2 як альтернативи хіміотерапевтичних засобів у якості ад'ювантної терапії [12].

Незважаючи на доведений зв'язок тромбозу із запаленням, його патогенез залишається недостатньо вивченим. Між запаленням та гемостатоз існують складні взаємодії, які включають прозапальні цитокіни, хемокіни, молекули адгезії, експресію тканинного фактора, активацію тромбоцитів та ендотелію, а також мікрочасточки. За умови визначення ролі зазначених факторів вони можуть слугувати мішенями для терапії, проте ці дослідження знаходяться на початковому етапі [13].

Для дрібних домашніх тварин тромбоемболія, спричинена неоплазійним захворюванням, представляє собою серйозну проблему. Можливості тромбопрофілактики, доступні для клінічного застосування у собак і котів, обмежені із переважним застосуванням гепарину (нефракційних і низькомолекулярних форм) та аспірину. Тому актуальним є пошук альтернативних терапевтичних засобів та клінічна апробація нових лікарських засобів, які застосовують у гуманній медицині [14].

Удосконалити терапевтичний моніторинг антитромбічних препаратів за певних умов

дозволив би стандартизований систематичний огляд літератури заздалегідь визначених питань PICO (популяція, пацієнт, втручання, контроль, результат). Однак у більшості випадків представлено результати, отримані за експериментального моделювання захворювання або на здорових лабораторних тваринах на тлі недостатнього рівня достовірності [15].

Таким чином, поступове збільшення відсотка відмов від лікування, висока вартість протоколів, низька біодоступність та безпечність, обмежена ефективність, тривалий період розробки і тестування протиракових засобів, потребують пошуку нових фармакологічних мішеней та впровадження альтернативних підходів до консервативного впливу на механізм розвитку і прогресування новоутворень молочної залози в гуманній та ветеринарній медицині. На відміну від гуманної медицини, у ветеринарній клінічній впровадження нових лікарських засобів відбувається вкрай повільно, а застосування протиракових препаратів, які призначені для людей, потребує їх попередньої апробації на біологічних об'єктах.

Застосування нестероїдних протизапальних засобів за пухлин молочної залози.

Накопичуються докази, що канцерогенез часто розвивається як прогресуюча серія високоспецифічних клітинних та молекулярних змін у відповідь на індукцію надмірної експресії циклооксигенази-2 та каскаду простагландинів за запальної реакції в онкохворих пацієнтів [16].

Фермент циклооксигеназа-2 каталізує першу стадію біосинтезу простаноїдів білків, які беруть участь в різних фізіологічних та патологічних процесах у людей та тварин. Експресія циклооксигенази-2 суттєво збільшується за патологічних процесів, які супроводжуються запальною реакцією, зокрема розвитку пухлин молочної залози, що свідчить про її участь в онкогенезі. Незважаючи на інтенсивне вивчення на молекулярному, клітинному і тканинному рівнях її ролі у механізмах розвитку та прогресуванні новоутворень, багато питань залишаються дискусійними, що зумовлює доцільність подальших досліджень з метою розробки ефективних методів діагностики та лікування онкохворих пацієнтів [17].

Тому циклооксигеназа-2 розглядається як фармакологічна мішень для лікування та профілактики раку молочної залози. Як ефективні додаткові протипухлинні агенти у медицині та ветеринарії запропоновані нестероїдні протизапальні засоби, які знижують рівень експресії циклооксигенази-2, але у практичній діяльності лікарі ветеринарної медицини дані препарати практично не використовують, що у біль-

шості пов'язано із недостатньою вивченістю механізму впливу. Наявні лише окремі розрізнені публікації, які мають описовий характер клінічних змін [18, 19].

Протизапальна та протипухлинна активність нестероїдних протизапальних засобів, а також шлунково-кишкова та серцево-судинна токсичність реалізується, переважно, за рахунок взаємодії із ліпідами мембран. Нестероїдні протизапальні засоби специфічно взаємодіють із штучними і біологічними мембранами *in vitro* та *in vivo*, викликаючи зміни їх фізико-хімічних властивостей: текучість, фазовий перехід ліпідів та здатність проникати через них. Особливості та можливості їх активності залежать від концентрації препарату, рН середовища та ліпідного складу мембрани [20].

Протипухлинний вплив нестероїдних протизапальних засобів за новоутворень молочної залози у собак зумовлений загальними для них ефектами, пов'язаними із зменшенням експресії циклооксигенази-2: цитотоксичною дією на ракові клітини, індукуванням апоптозу, інгібуванням міграції неоплазійних клітин [21], а також специфічними шляхами пригнічення механізму пухлинної трансформації, які різняться залежно від препарату. Зокрема, целекоксиб інгібує проліферацію ракових клітин переважно через механізми, які не залежать від циклооксигенази-2: зменшує частку клітин у S-фазі та пригнічує їх диференціацію і метастазування шляхом підвищення експресії інгібіторів циклінзалежної кінази (CDKI) p21 і p27 [22].

Нестероїдні протизапальні засоби інгібують опосередкований циклооксигеназою-2 синтез простагландину E₂, тим самим знижуючи активність мітоген-активованої протеїнкінази, а також шляхів фосфатидилинозитол-3-кінази / Akt, індукують антиапоптичні Bcl-2 і Mcl-1 та експресію інгібітору каспарази-8. Посилення ними апоптозу відбувається шляхом пригнічення як внутрішнього, так і зовнішнього шляхів мітохондріального дихання [23].

Враховуючи подібність патогенезу раку молочної залози у людини та собаки, можливим є застосування піроксикаму, який індукує утворення активних форм кисню на тлі апоптичної загибелі неоплазійних клітин шляхом ROS-опосередкованого гіперфосфориллювання. Проте зазначені ефекти є специфічними та відсутні відносно естроген-негативних клітин [24].

Дослідження демонструють, що мелоксикам у низькій концентрації (0,25 мкг/мл) володіє антиінвазивними властивостями на клітини карциноми молочної залози (CF41.Mg), за раху-

нок зменшення секреції MMP-2 та посилення деградації β -катеніну. Тому він може бути корисним для контролю інвазії та метастазування за новоутворень молочної залози у сук [25].

Суліндак суттєво підвищує ефективність консервативного лікування пацієнтів із пухлинами молочної залози за рахунок додаткового імунологічного механізму – шляхом усунення дефіциту CD8⁺ Т-лімфоцитів, а також зниження ступеня вираження запальної реакції та пригнічення ангиогенезу новоутворень – шляхом зменшення залучення макрофагів M₂ [26].

Нестероїдні протизапальні засоби, зокрема тоценаріб фосфат та піроксикам, крім позитивного протипухлинного ефекту у собак старшої вікової групи за новоутворень молочної залози, спричинюють протизапальну дію у випадку наявності в таких пацієнтів остеоартриту, як супутньої патології [27].

Результати останніх досліджень вказують, що нестероїдні протизапальні засоби крім пригнічення ангиогенезу, впливають на апоптоз, продукцію хемокінів та посилюють фармакологічні властивості протипухлинних засобів [28].

Низькомолекулярні гепарини пригнічують *in vitro* ангиогенну відповідь ендотелію мікросудин, стимульований середовищем, яке створене пухлинними клітинами: дозозалежно інгібують збільшення утворення капілярних трубок та едотеліальну міграцію, а також ангиогенну відповідь, зумовлену VEGF і FGF-2 [29].

Системне інгібування запального ферменту циклооксигенази-2 неоплазійних клітин крім антиангіогенної дії не дозволяє уникати ними імунної відповіді за рахунок пригнічення внутрішньопухлинної цитотоксичної функції імунних клітин CD8⁺ [30].

Результати вивчення селективних нестероїдних протизапальних засобів підтверджує гіпотезу їх хіміотерапевтичної ефективності у комбінації із протираковими препаратами за пухлин молочної залози у собак, незалежно від рівня експресії циклооксигенази-2. У більшості випадків нестероїдні протизапальні засоби пригнічують ріст клітин за значно вищих концентрацій, порівняно із тими, які необхідні для функціонального інгібування циклооксигенази. Під їх впливом відбувається пригнічення певних генів: *LOC488305*, *H2AFJ*, *LOC476445* та *ANKRD43* [31].

При цьому за рахунок синергічної дії лікарських засобів на неоплазійну клітину наявна можливість знизити дозу протиракових препаратів. Такий ефект показано у випадку комбінованого використання деракоксибу та доксорубіцину: посилення антипроліферативної активності в 3 рази, апоптозу – в 1,4 рази

шляхом модуляції експресії Bcl-2 та зміни циклу клітинної лінії СМТ-U27 [32].

На прикладі використання деракоксибу і доксорубіцину показана захисна дія, відносно нормальних клітин організму, нестероїдних протизапальних засобів за їх призначення у комбінації із протипухлинними препаратами. При цьому деракоксиб забезпечував зниження в 3,04–3,57 рази апоптозу та надмірну продукцію оксиду азоту, опосередковані доксорубіцином [33].

Вплив впродовж 24, 48 та 72 годин комбінації доксорубіцину та деракоксибу на клітинну лінію раку молочної залози СМТ-U27 продемонстрував нормалізацію оксидантного статусу, який пов'язаний із суттєвим зниженням рівня каталази і загального глутатіону на тлі відсутності достовірних змін вмісту малонового діальдегіду. При цьому включення до лікувальної схеми нестероїдного протизапального засобу забезпечувало зменшення спричиненого доксирубіцином оксидантного пошкодження клітин за рахунок модулювання ферментативних та неферментативних компонентів в СМТ-U27 [34].

Проте, механізм дії за такого комбінованого застосування повністю не з'ясовано, зокрема він може включати інгібування експресії циклооксигенази-2, активності АВС-транспортерів або фактора транскрипції NF- κ B [35].

Крім ефективної взаємодії нестероїдних протизапальних засобів із хіміотерапевтичними препаратами, показано можливість покращення результатів лікування раку молочної залози у випадку їх комбінації із променевою терапією: за рахунок синергічної цитотоксичної дії на пухлинні клітини на тлі захисту нормальних клітин від негативного впливу йонізуючого опромінення [36].

Доповнення протоколу лікування, який включає піроксикам, гіпофракційною променевою терапією забезпечувало підвищення ефективності заходів з 64 до 100 % на тлі подовження безрецидивного періоду з 28 до 156 діб, терміну виживаності – з 59 до 180 діб [37].

Однією із відмінностей селективних нестероїдних протизапальних засобів, порівняно із неселективними, є безпосередній вплив на ракові клітини шляхом не залежного від каспаз посилення в них апоптозу та міграції, що було продемонстровано за порівняння мавакоксибу і карпрофену, хоча необхідність досліджень в цьому напрямку зберігається [38].

У ряді випадків нестероїдні протизапальні засоби мають клінічну перевагу порівняно із хіміопрепаратами. Особливу практичну значимість має застосування нестероїдних протиза-

пальних засобів за запальної карциноми молочної залози у собак (ІМС) – місцево-агресивної метастатичної неоплазії, яка погано піддається лікуванню традиційними хіміотерапевтичними протоколами. Зокрема, у таких пацієнтів використання піроксикаму, порівняно із доксорубіцином, збільшувало середній термін виживання без прогресування захворювання з 7 до 185 діб [39]. Впродовж двох років фірококсиб достовірно збільшував рівень безрецидивної ($p=0.015$) та загальної ($p=0.048$) виживаності, тоді як клінічні результати застосування мітоксантрону не відрізнялись від контрольної групи, тварини якої не отримували ад'ювантну хіміотерапію [40].

Висновки. Отже, доведено клінічну ефективність нестероїдних протизапальних засобів за використання консервативних протоколів лікування сук із пухлинами молочної залози. Проте, обґрунтування їх протиракової дії базується переважно на здатності інгібувати циклооксигеназу-2. Тому можна стверджувати про недостатню вивченість механізму впливу нестероїдних протизапальних засобів на онкогенез із врахуванням можливих побічних ефектів, що є однією із причин обмеженого використання у ветеринарній медицині.

Позитивним моментом у використанні нестероїдних протизапальних засобів, порівняно із гормональною терапією, є виражений клінічний ефект незалежно від наявності рецепторів до естрогену та прогестерону та відсутність впливу на систему згортання крові. Але на сьогодні відсутнє патогенетичне обґрунтування їх застосування в онкохворих собак, а також інформація щодо ефективності залежно від патоморфологічного типу та стадій пухлин молочної залози.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Naturally-occurring canine mammary tumors as a translational model for human breast cancer. *Frontiers in Oncology* / M. Gray et al. 2020. Vol. 10. Article 617. Doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00617>
2. Canine invasive mammary carcinomas as models of human breast cancer. Part 2: immunophenotypes and prognostic significance / J. Abadie et al. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2018. Vol.167 (2). P. 459–468. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4542-8>
3. Burton J., Khanna C. The role of clinical trials in veterinary oncology. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*. 2014. Vol. 44 (5). P. 977–987. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2014.05.006>
4. Klopffleisch R., Kohn B., Gruber A.D. Mechanisms of tumour resistance against chemotherapeutic agents in veterinary oncology. *Veterinary Journal*. 2016. Vol. 207. P. 63–72. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.06.015>
5. Sahabi K., Rajendren S.K., Foong J.N., Selvarajah G.T. Mammary gland tumours in the dog, a spontaneous tumour model of comparative value to human breast cancer. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*. 2018. Vol. 41 (2). P. 541–574.
6. Canine tumors: a spontaneous animal model of human carcinogenesis / S.S. Pinho et al. *Translational Research: The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 2012. Vol. 159 (3). P. 165–172. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2011.11.005>
7. Cross-species oncogenic signatures of breast cancer in canine mammary tumors / T.M. Kim et al. *Nature Communications*. 2020. Vol. 11(1). 3616 p. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17458-0>
8. Cancer drug discovery by repurposing: teaching new tricks to old dogs / S.C. Gupta et al. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2013. Vol. 34 (9). P. 508–517. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2013.06.005>
9. Shah K., Rawal R.M. Genetic and epigenetic modulation of drug resistance in cancer: challenges and opportunities. *Current Drug Metabolism*. 2019. Vol. 20 (14). P. 1114–1131. Doi: <https://doi.org/10.2174/1389200221666200103111539>
10. *Canis lupus familiaris* as relevant animal model for breast cancer – a comparative oncology review / L. Raduly et al. *Animal Science Papers & Reports*. 2018. Vol. 36 (2). P. 119–148.
11. Cox-2 levels in canine mammary tumors, including inflammatory mammary carcinoma: clinicopathological features and prognostic significance / F.L. Queiroga et al. *Anticancer research*. 2005. Vol. 25(6B). P. 4269–4275.
12. Survival time of dogs with inflammatory mammary cancer treated with palliative therapy alone or palliative therapy plus chemotherapy / M. Clemente et al. *Veterinary Record*. 2009. Vol. 165. P. 78–81. Doi: <https://doi.org/10.1136/vetrec.165.3.78>
13. Antithrombotic Potential of Tormentil Extractin Animal Models / N. Marcinczyk et al. *Frontiers in Pharmacology*. 2017. Vol. 8. 534 p. Doi: <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00534>
14. Smith S.A. Antithrombotic therapy. *Topics in companion animal medicine*. 2012. Vol. 27(2). P. 88–94. Doi: <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2012.08.002>
15. Consensus on the Rational Use of Antithrombotics in Veterinary Critical Care (CURATIVE): Domain 4-Refining and monitoring antithrombotic therapies / C.R. Sharp et al. *Journal of veterinary emergency and critical care*. 2019. Vol. 29(1). P. 75–87. Doi: <https://doi.org/10.1111/vec.12794>
16. Harris R.E. Cyclooxygenase-2 (cox-2) blockade in the chemoprevention of cancers of the colon, breast, prostate, and lung. *Inflammopharmacology*. 2009. Vol. 17(2). P. 55–67. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10787-009-8049-8>
17. Szweda M., Rychlik A., Babińska I., Pomianowski A. Significance of cyclooxygenase-2 in oncogenesis. *Journal of Veterinary Research*. 2019. Vol. 63 (2). P. 215–224. Doi: <https://doi.org/10.2478/jvetres-2019-0030>
18. de Groot D.J.A., de Vries E.G.E., Groen H.J.M., de Jong S. Non-steroidal anti-inflammatory drugs to potentiate chemotherapy effects: From lab to clinic. *Critical Reviews in Oncology. Hematology*. 2007. Vol. 61 (1). P. 52–69. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2006.07.001>
19. Moris D., Kontos M., Spartalis E., Fentiman I.S. The role of NSAIDs in breast cancer prevention and relapse: current evidence and future perspectives. *Breast*

Care (Basel). 2016. Vol. 11 (5). P. 339–344. Doi:htths://doi.org/10.1159/000452315

20. Tsuchiya H., Mizogami M. Membrane interactivity of non-steroidal anti-inflammatory drugs: a literature review. *Journal of Advances in Medicine and Medical Research*. 2020. Vol. 31 (9). P. 1–30. Doi:htths://doi.org/10.9734/jamr/2019/v31i930320

21. 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 Comparative Oncology*. 2019. Vol. 17. P. 194–207. Doi:htths://doi.org/10.1111/vco.12470

22. Celecoxib exerts antitumor effects in canine mammary tumor cells via COX-2-independent mechanisms / D. Tamura et al. *International Journal of Oncology*. 2015. Vol. 46. P. 1393–1404. Doi:htths://doi.org/10.3892/ijo.2015.2820

23. The role of apoptosis in therapy and prophylaxis of epithelial tumours by nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) / L.F. Fecker et al. *The British Journal of Dermatology*. 2007. Vol. 156 (3). P. 25–33. Doi:htths://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2007.07856.xe

24. Rai N., Sarkar M., Raha S. Piroxicam, a traditional non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) causes apoptosis by ROS mediated Akt activation. *Pharmacological Reports*. 2015. Vol. 67. P. 1215–1223. Doi:htths://doi.org/10.1016/j.pharep.2015.05.012

25. Iturriaga M.P., Paredes R., Arias J.I., Torres C.G. Meloxicam decreases the migration and invasion of CF41.Mg canine mammary carcinoma cells. *Oncology Letters*. 2017. Vol. 14 (2). P. 2198–2206. Doi:htths://doi.org/10.3892/ol.2017.6400

26. Yin T., Wang G., Ye T., Wang Y. Sulindac, a non-steroidal anti-inflammatory drug, mediates breast cancer inhibition as an immune modulator. *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6. 19534 p. Doi:htths://doi.org/10.1038/srep19534

27. Chon E., McCartan L., Kubicek L.N., Vail D.M. Safety evaluation of combination toceranib phosphate (Palladia®) and piroxicam in tumour-bearing dogs (excluding mast cell tumours): a phase I dose-finding study. *Veterinary and Comparative Oncology*. 2012. Vol. 10 (3). P. 184–193. Doi:htths://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2011.00265.x

28. Sumanasekera W., Nethery W., Tran L., Pillai G. Low molecular weight heparin as a therapeutic tool for cancer; special emphasis on breast cancer. *Biomedical Journal of Scientific and Technical Research*. 2018. Vol. 11. P. 8351–8358. Doi:htths://doi.org/10.26717/BJSTR.2018.11.002064

29. LMWH Bemiparin and ULMWH RO-14 reduce the endothelial angiogenic features elicited by leukemia, lung cancer, or breast cancer cells / A. Vignoli et al. *Cancer Investigation*. 2011. Vol. 29. P. 153–161. Doi:htths://doi.org/10.3109/07357907.2010.543217

30. Mammary carcinoma cell derived cyclooxygenase 2 suppresses tumor immune surveillance by enhancing intratumoral immune checkpoint activity / N. Markosyan et al. *Breast Cancer Research*. 2013. Vol. 15 (5). 75 p. Doi:htths://doi.org/10.1186/bcr3469

31. Molecular investigation of the direct anti-tumour effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in a panel of canine cancer cell lines / R. Yoshitake et al. *The Veterinary Journal*. 2017. Vol. 221. P. 38–47. Doi:htths://doi.org/10.1016/j.tvjl.2017.02.001

32. Synergistic growth inhibitory effect of deracoxib with doxorubicin against a canine mammary tumor cell

line, CMT-U27 / T. Bakirel et al. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2016. Vol. 78. P. 657–668. Doi:htths://doi.org/10.1292/jvms.15-0387

33. Response of cultured normal canine mammary epithelial cells to deracoxib-oxorubicin combination / T. Bakirel et al. *Acta Veterinaria Hungarica*. 2017. Vol. 65 (3). P. 366–381.

34. Üstün Alkan F., Bakirel T., Üstüner O., Yardibi H. In vitro effects of doxorubicin and deracoxib on oxidative-stress-related parameters in canine mammary carcinoma cells. *Acta Veterinaria Hungarica*. 2014. Vol. 62 (3). P. 372–385.

35. Hil'ovská L., Jendželovský R., Fedoročko P. Potency of non-steroidal anti-inflammatory drugs in chemotherapy (Review). *Molecular and Clinical Oncology*. 2015. Vol. 3. P. 3–12. Doi:htths://doi.org/10.3892/mco.2014.446

36. Salehifar E., Hosseinimehr S.J. The use of cyclooxygenase-2 inhibitors for improvement of efficacy of radiotherapy in cancers. *Drug Discovery Today*. 2016. Vol. 21 (4). P. 654–662. Doi:htths://doi.org/10.1016/j.drudis.2016.02.019

37. Rossi F., Sabattini S., Vascellari M., Marconato L. The impact of toceranib, piroxicam and thalidomide with or without hypofractionated radiation therapy on clinical outcome in dogs with inflammatory mammary carcinoma. *Veterinary and Comparative Oncology*. 2018. Vol. 16 (4). P. 497–504. Doi:htths://doi.org/10.1111/vco.12407

38. The long-acting COX-2 inhibitor mavacoxib (Trocoxil™) has anti-proliferative and pro-apoptotic effects on canine cancer cell lines and cancer stem cells *in vitro* / L.Y. Pang et al. *BMC Veterinary Research*. 2014. Vol. 10. 184 p. Doi:htths://doi.org/10.1186/s12917-014-0184-9

39. Inflammatory mammary carcinoma in 12 dogs: clinical features, cyclooxygenase-2 expression, and response to piroxicam treatment / C.H. de M Souza et al. *The Canadian Veterinary Journal*. 2009. Vol. 50 (5). P. 506–510.

40. Arenas C., Peña L., Granados-Soler J.L., Pérez-Alenza M.D. Adjuvant therapy for highly malignant canine mammary tumours: Cox-2 inhibitor versus chemotherapy: a case-control prospective study. *The Veterinary Record*. 2016. Vol. 179 (5). 25 p. Doi:htths://doi.org/10.1136/vr.103398

REFERENCES

1. Gray, M., Meehan, J., Martínez-Pérez, C., Kay, C., Turnbull, A.K., Morrison, L.R., Pang, L.Y., Argyle, D. (2020). Naturally-occurring canine mammary tumors as a translational model for human breast cancer. *Frontiers in Oncology*. Vol. 10, Article 617. Available at:htths://doi.org/10.3389/fonc.2020.00617

2. Abadie, J., Nguyen, F., Loussouarn, D., Peña, L., Gama, A. (2018). Canine invasive mammary carcinomas as models of human breast cancer. Part 2: immunophenotypes and prognostic significance. *Breast Cancer Research and Treatment*. Vol. 167 (2), pp. 459–468. Available at:htths://doi.org/10.1007/s10549-017-4542-8

3. Burton, J., Khanna, C. (2014). The role of clinical trials in veterinary oncology. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*. Vol. 44 (5), pp. 977–987. Available at:htths://doi.org/10.1016/j.cvsm.2014.05.006

4. Klopffleisch, R., Kohn, B., Gruber, A.D. (2016). Mechanisms of tumour resistance against chemotherapeutic agents in veterinary oncology. *Veterinary Journal*. Vol. 207, pp. 63–72. Available at:htths://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.06.015

5. Sahabi, K., Rajendren, S.K., Foong, J.N., Selvarajah, G.T. (2018). Mammary gland tumours in the dog, a spontaneous tumour model of comparative value to human breast cancer. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*. Vol. 41 (2), pp. 541–574.
6. Pinho, S.S., Carvalho, S., Cabral, J., Reis, C.A., Gärtner, F. (2012). Canine tumors: a spontaneous animal model of human carcinogenesis. *Translational Research: The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. Vol. 159 (3), pp. 165–172. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2011.11.005>
7. Kim, T.M., Yang, I.S., Seung, B.J., Lee, S., Kim, D., Ha, Y.J., Seo, M.K., Kim, K.K., Kim, H.S., Cheong, J.H., Sur, J.H., Nam, H., Kim, S. (2020). Cross-species oncogenic signatures of breast cancer in canine mammary tumors. *Nature Communications*. Vol. 11 (1), 3616 p. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17458-0>
8. Gupta, S.C., Sung, B., Prasad, S., Webb, L.J., Aggarwal, B.B. (2013). Cancer drug discovery by repurposing: teaching new tricks to old dogs. *Trends in Pharmacological Sciences*. Vol. 34 (9), pp. 508–517. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2013.06.005>
9. Shah, K., Rawal, R.M. (2019). Genetic and epigenetic modulation of drug resistance in cancer: challenges and opportunities. *Current Drug Metabolism*. Vol. 20 (14), pp. 1114–1131. Available at: <https://doi.org/10.2174/1389200221666200103111539>
10. Raduly L., Cojocneanu-Petric R., Sarpataki O., Chira S., Atanasov A.G., Braicu C., Berindan-Neagoe I., Marcus I. (2018). *Canis lupus familiaris* as relevant animal model for breast cancer – a comparative oncology review. *Animal Science Papers & Reports*. Vol. 36 (2), pp. 119–148.
11. Queiroga, F.L., Perez-Alenza, M.D., Silvan, G., Peña, L., Lopes, C., Illera, J.C. (2005). Cox-2 levels in canine mammary tumors, including inflammatory mammary carcinoma: clinicopathological features and prognostic significance. *Anticancer research*. Vol. 25(6B), pp. 4269–4275.
12. Clemente, M., De Andrés, P.J., Peña, L., Pérez-Alenza, M.D. (2009). Survival time of dogs with inflammatory mammary cancer treated with palliative therapy alone or palliative therapy plus chemotherapy. *Veterinary Record*. Vol. 165, pp. 78–81. Available at: <https://doi.org/10.1136/vetrec.165.3.78>
13. Marcinczyk, N., Jarmoc, D., Leszczynska, A., Zakrzewska, A., Kramkowski, K., Strawa, J., Gromotowicz-Poplawska, A., Chabielska, E., Tomczyk, M. (2017). Antithrombotic Potential of Tormentil Extract in Animal Models. *Frontiers Pharmacology*. Vol. 8, 534 p. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00534>
14. Smith, S.A. (2012). Antithrombotic therapy. *Topics in companion animal medicine*. Vol. 27(2), pp. 88–94. Available at: <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2012.08.002>
15. Sharp, C.R., de Laforcade, A.M., Koenigshof, A.M., Lynch, A.M., Thomason, J.M. (2019). Consensus on the Rational Use of Antithrombotics in Veterinary Critical Care (CURATIVE): Domain 4-Refining and monitoring antithrombotic therapies. *Journal of veterinary emergency and critical care*. Vol. 29(1), pp. 75–87. Available at: <https://doi.org/10.1111/vec.12794>
16. Harris, R.E. (2009). Cyclooxygenase-2 (cox-2) blockade in the chemoprevention of cancers of the colon, breast, prostate, and lung. *Inflammopharmacology*. Vol. 17(2), pp. 55–67. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10787-009-8049-8>
17. Szweda, M., Rychlik, A., Babińska, I., Pomianowski, A. (2019). Significance of cyclooxygenase-2 in onco-genesis. *Journal of Veterinary Research*. Vol. 63 (2), pp. 215–224. Available at: <https://doi.org/10.2478/jvetres-2019-0030>
18. de Groot, D.J.A., de Vries, E.G.E., Groen, H.J.M., de Jong, S. (2007). Non-steroidal anti-inflammatory drugs to potentiate chemotherapy effects: From lab to clinic. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. Vol. 61 (1), pp. 52–69. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2006.07.001>
19. Moris, D., Kontos, M., Spartalis, E., Fentiman, I.S. (2016). The role of NSAIDs in breast cancer prevention and relapse: current evidence and future perspectives. *Breast Care (Basel)*. Vol. 11 (5), pp.339–344. Available at: <https://doi.org/10.1159/000452315>
20. Tsuchiya, H., Mizogami, M. (2020). Membrane interactivity of non-steroidal anti-inflammatory drugs: a literature review. *Journal of Advances in Medicine and Medical Research*. Vol. 31 (9), pp. 1–30. Available at: <https://doi.org/10.9734/jammmr/2019/v31i930320>
21. Hurst, E.A., Pang, L.Y., Argyle, D.J. (2019). The selective cyclooxygenase-2 inhibitor mavacoxib (Trocoxil) exerts anti-tumour effects in vitro independent of cyclooxygenase-2 expression levels. *Veterinary Comparative Oncology*. Vol. 17, pp. 194–207. Available at: <https://doi.org/10.1111/vco.12470>
22. Tamura, D., Saito, T., Murata, K., Kawashima, M., Asano, R. (2015). Celecoxib exerts antitumor effects in canine mammary tumor cells via COX-2-independent mechanisms. *International Journal of Oncology*. Vol. 46, pp. 1393–1404. Available at: <https://doi.org/10.3892/ijo.2015.2820>
23. Fecker, L.F., Stockfleth, E., Nindl, I., Ulrich, C., Forschner, T., Eberle, J. (2007). The role of apoptosis in therapy and prophylaxis of epithelial tumours by nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *The British Journal of Dermatology*. Vol. 156 (3), pp. 25–33. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2007.07856.x>
24. Rai, N., Sarkar, M., Raha, S. (2015). Piroxicam, a traditional non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) causes apoptosis by ROS mediated Akt activation. *Pharmacological Reports*. Vol. 67, pp. 1215–1223. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2015.05.012>
25. Iturriaga, M.P., Paredes, R., Arias, J.I., Torres, C.G. (2017). Meloxicam decreases the migration and invasion of CF41.Mg canine mammary carcinoma cells. *Oncology Letters*. Vol. 14 (2), pp. 2198–2206. Available at: <https://doi.org/10.3892/ol.2017.6400>
26. Yin, T., Wang, G., Ye, T., Wang, Y. (2016). Sulindac, a non-steroidal anti-inflammatory drug, mediates breast cancer inhibition as an immune modulator. *Scientific Reports*. Vol. 6, pp. 19534. Available at: <https://doi.org/10.1038/srep19534>
27. Chon, E., McCartan, L., Kubicek, L.N., Vail, D.M. (2012). Safety evaluation of combination toceranib phosphate (Palladia®) and piroxicam in tumour-bearing dogs (excluding mast cell tumours): a phase I dose-finding study. *Veterinary and Comparative Oncology*. Vol. 10 (3), pp. 184–193. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2011.00265.x>
28. Sumanasekera, W., Nethery, W., Tran, L., Pillai, G. (2018). Low molecular weight heparin as a therapeutic tool for cancer; special emphasis on breast cancer. *Biomedical*

Journal of Scientific and Technical Research. Vol. 11, pp. 8351–8358. Available at: <https://doi.org/10.26717/BJSTR.2018.11.002064>

29. Vignoli, A., Marchetti, M., Russo, L., Cantalino, E., Diani, E., Bonacina, G., Falanga, A. (2011). LMWH Bemiparin and ULMWH RO-14 reduce the endothelial angiogenic features elicited by leukemia, lung cancer, or breast cancer cells. *Cancer Investigation*. Vol. 29, pp. 153–161. Available at: <https://doi.org/10.3109/07357907.2010.543217>

30. Markosyan, N., Chen, E.P., Evans, R.A., Ndong, V., Vonderheide, R.H., Smyth, E.M. (2013). Mammary carcinoma cell derived cyclooxygenase 2 suppresses tumor immune surveillance by enhancing intratumoral immune checkpoint activity. *Breast Cancer Research*. Vol. 15 (5), 75 p. Available at: <https://doi.org/10.1186/bcr3469>

31. Yoshitake, R., Saeki, K., Watanabe, M., Nakaoka, N., Ong, S. M., Hanafusa, M., Choisunirachon, N., Fujita, N., Nishimura, R., Nakagawa, T. (2017). Molecular investigation of the direct anti-tumour effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in a panel of canine cancer cell lines. *The Veterinary Journal*. Vol. 221, pp. 38–47. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2017.02.001>

32. Bakirel, T., Alkan, F.Ü., Üstüner, O., Çinar, S., Yildirim, F., Erten, G., Bakirel, U. (2016). Synergistic growth inhibitory effect of deracoxib with doxorubicin against a canine mammary tumor cell line, CMT-U27. *Journal of Veterinary Medical Science*. Vol. 78, pp. 657–668. Available at: <https://doi.org/10.1292/jvms.15-0387>

33. Bakirel, T., Ustun Alkan, F., Ustuner, O., Çinar, S., Anlas, C., Bilge Sari, A. (2017). Response of cultured normal canine mammary epithelial cells to deracoxib-oxorubicin combination. *Acta Veterinaria Hungarica*. Vol. 65 (3), pp. 366–381.

34. Üstün Alkan, F., Bakirel, T., Üstüner, O., Yardibi, H. (2014). In vitro effects of doxorubicin and deracoxib on oxidative-stress-related parameters in canine mammary carcinoma cells. *Acta Veterinaria Hungarica*. Vol. 62 (3), pp. 372–385.

35. Hřřovská, L., Jendřelovský, R., Fedoročko, P. (2015). Potency of non-steroidal anti-inflammatory drugs in chemotherapy (Review). *Molecular and Clinical Oncology*. Vol. 3, pp. 3–12. Available at: <https://doi.org/10.3892/mco.2014.446>

36. Salehifar, E., Hosseinimehr, S.J. (2016). The use of cyclooxygenase-2 inhibitors for improvement of efficacy of radiotherapy in cancers. *Drug Discovery Today*. Vol. 21 (4), pp. 654–662. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2016.02.019>

37. Rossi, F., Sabattini, S., Vascellari, M., Marconato, L. (2018). The impact of toceranib, piroxicam and thalidomide with or without hypofractionated radiation therapy on clinical outcome in dogs with inflammatory mammary carcinoma. *Veterinary and Comparative Oncology*. Vol. 16 (4), pp. 497–504. Available at: <https://doi.org/10.1111/vco.12407>

38. Pang, L.Y., Argyle, S.A., Kamida, A., Morrison, K.O., Argyle, D.J. (2014). The long-acting COX-2 inhibitor mavacoxib (Trocoxil™) has anti-proliferative and pro-apoptotic effects on canine cancer cell lines and cancer stem cells *in vitro*. *BMC Veterinary Research*. Vol. 10, 184 p. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12917-014-0184-9>

39. de M Souza, C.H., Toledo-Piza, E., Amorin, R., Barboza, A., Tobias, K.M. (2009). Inflammatory mammary

carcinoma in 12 dogs: clinical features, cyclooxygenase-2 expression, and response to piroxicam treatment. *The Canadian Veterinary Journal*. Vol. 50 (5), pp. 506–510.

40. Arenas, C., Peña, L., Granados-Soler, J.L., Pérez-Alenza, M.D. (2016). Adjuvant therapy for highly malignant canine mammary tumours: Cox-2 inhibitor versus chemotherapy: a case-control prospective study. *The Veterinary Record*. Vol. 179 (5), 125 p. Available at: <https://doi.org/10.1136/vr.103398>

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

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

Проблема лечения опухолей у собак остаётся актуальной, что обусловлено сложностью патогенетических каскадов, отсутствием единых методологических подходов к диагностике и лечению онкобольных пациентов, недостаточным количеством животных в группах, описательным характером представленных результатов, некорректностью «механического» переноса терапевтических протоколов из гуманной медицины. Предложенные схемы лечения не обеспечивают получение желаемых результатов, регистрируется стойкая тенденция к увеличению количества мелких домашних животных с опухолями молочной железы. Поэтому актуальным является поиск альтернативных методов лечения сук с опухолями молочной железы, среди которых, прежде всего, необходимо выделить применение нестероидных противовоспалительных средств, которые обеспечивают положительный эффект за счёт угнетения экспрессии циклооксигеназы-2, активации апоптоза и ингибирования миграции раковых клеток. Потенциально эффективными методами являются электропорация и электрохимиотерапия, которые позволяют существенно увеличить концентрацию химиотерапевтического средства в раковых клетках на фоне минимальной токсичности для здоровых тканей. Важная роль гиперкоагуляции в механизмах развития и прогрессирования новообразований молочной железы у собак обосновывает целесообразность использования антитромбической терапии у онкобольных пациентов, прежде всего низкомолекулярных гепаринов, которые позволяют увеличить эффективность терапевтических протоколов и профилактировать метастазирование опухолей. Показано, что указанные методы в составе комплексных схем лечения увеличивает эффективность общепринятых протоколов химио- и лучевой терапии, а также хирургического лечения. Однако, необходимы дальнейшие исследования патогенетических аспектов действия указанных методов лечения опухолей молочной железы у сук и определение возможности их комбинации с другими терапевтическими схемами.

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

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

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

The problem of treating tumors in dogs remains relevant due to the complexity of pathogenetic cascades, lack of

common methodological approaches to diagnosis and treatment of cancer patients, insufficient number of animals in groups, the described nature of the results, incorrect "mechanical" borrowing of therapeutic protocols from human medicine. The proposed treatment regimens do not provide the desired results, there is a steady trend to increase the number of small pets with breast tumors. Therefore, it is important to find alternative treatments for dogs with breast neoplasms, among which, first of all, should be noted the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, which cause a positive effect by inhibiting the expression of cyclooxygenase-2, activating apoptosis and inhibiting cancer cell migration. Potentially effective therapeutic methods are electroporation and electrochemotherapy, which can significantly increase the concentration of chemotherapeutic agents in cancer cells against the background of minimal toxicity

to healthy tissues. The important role of hypercoagulation in the mechanisms of development and progression of breast tumors in dogs justifies the use of antithrombotic therapy in cancer patients, especially low molecular weight heparins, which can improve the effectiveness of therapeutic protocols and prevent tumor metastasis. It is shown that these methods as part of complex treatment regimens increase the effectiveness of conventional protocols of chemotherapy and radiation therapy, as well as surgery. However, further studies of the pathogenetic aspects of these treatments for breast tumors in bitches and the possibility of combining them with other therapeutic regimens are needed.

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



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



Білий Д.Д.
Рубленко М.В.
Самойлюк В.В.
Спіцина Т.Л.

ID <https://orcid.org/0000-0003-3896-0384>
ID <https://orcid.org/0000-0001-9690-9531>
ID <https://orcid.org/0000-0001-8400-8904>
ID <https://orcid.org/0000-0002-8047-7305>