

УДК: 617.583.1-001.6-089:636.7

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.392

МОЛЕКУЛЯРНО-ОРИЕНТИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ ОПУХОЛЕЙ ЛЁГКОГО У ЖИВОТНЫХ ПРИ BRAF МУТАЦИЯХ – ВОЗМОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Назарова А.В.* – канд. ветеринар. наук, асс. каф. общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0000-0003-4726-6204); **Кузнецова Т.Ш.** – канд. биол. наук, доц. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0000-0002-8981-0696); **Семенов Б.С.** – д-р ветеринар. наук, проф., проф. каф. общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0000-0003-0149-9360); **Колодяжный П.А.** – студ. (ORCID 0009-0009-4166-662X).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

* anna.v.nazarova@mail.ru

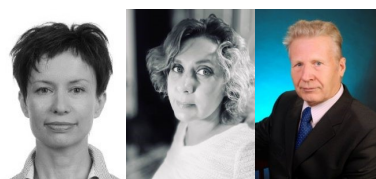
Ключевые слова: опухоль лёгкого, рак лёгкого, химиотерапия, молекулярно-ориентированная терапия, иммунотерапия, таргетные препараты, BRAF, ERK, MEK.

Key words: lung neoplasia, lung cancer, chemotherapy, molecular-oriented therapy, immunotherapy, targeted drugs, BRAF, ERK, MEK.

Поступила: 19.01.2024

Принята к публикации: 25.03.2024

Опубликована онлайн: 02.04.2024



РЕФЕРАТ

Понятие «рак лёгкого» (РЛ) объединяет различные по происхождению, гистологической структуре, клиническому течению и результатам лечения злокачественные эпителиальные опухоли. РЛ занимает первое место по заболеваемости мужчин в России и по смертности — в мире. У животных РЛ диагностируется гораздо реже, однако с ростом количества животных, содержащихся в городах, заболеваемость РЛ увеличивается, так как животные-компаньоны подвергаются тем же факторам риска, что и люди. Нами был проведён ретроспективный анализ историй болезни 43 животных (28 кошек и 15 собак), поступивших на лечение в ветеринарные клиники «ВЕГА» в период с 2020 по 2023 года. Критерием включения животных в исследование был диагностированный по результатам инструментальных и лабораторных исследований неопластический процесс в грудной полости и лёгких. Рекомендуемая у человека высокодозная внутривенная химиотерапия неэффективна при лечении РЛ у животных, поэтому необходимы поиск, разработка и внедрение в клиническую практику таргетных препаратов, которые будут эффективны у животных. Поскольку наиболее широко применяемой в медицине человека группой таргетных препаратов являются низкомолекулярные ингибиторы киназ, воздействующие на соответствующую молекулярную мишень в опухоли, в ветеринарной медицине актуальными являются разработка методов молекулярно-генетических исследований опухолевых клеток у животных, которые сде-

лают их доступными для практического применения ветеринарными онкологами. Выбор методов лечения и прогноз зависят от стадии болезни, поэтому вопрос о внедрении в ветеринарную практику биомаркеров различных типов и стадий онкологических процессов заслуживает проведения исследований. Также для повышения эффективности лечения рекомендовано проведение исследований и разработка шкалы стадирования рака лёгкого для кошек.

ИСПОЛЬЗУЕМАЯ ТЕРМИНОЛОГИЯ / TERMINOLOGY

Иммунотерапия — медикаментозная стимуляция иммунной системы онкологического больного для лечения рака.

Молекулярно-ориентированная (таргетная) терапия — терапия онкологических заболеваний с использованием противоопухолевых препаратов, взаимодействующих с определёнными молекулярными мишенями, имеющими важное значение для возникновения и развития конкретной опухоли.

Сигнальный путь ERK — один из ключевых сигнальных путей *MAPK* (англ. *mitogen-activated protein kinase*), центральной *MAP*-киназой которого является *ERK* (англ. *extracellular signal-regulated kinase*).

Таргетные препараты — препараты, действие которых направлено на онкогенные белки организма, которые оказывают влияние на канцерогенез и способность опухоли к росту и метастазированию.

MEK — митоген-активируемая протеинкиназа, которая является компонентом сигнального пути *ERK*.

RAF-киназы — ферменты, необходимые для передачи сигналов внутри клетки.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Рак лёгкого (РЛ) — собирательное понятие, объединяющее различные по происхождению, гистологической структуре, клиническому течению и результатам лечения злокачественные эпителиальные опухоли. Развиваются они из покровного эпителия слизистой оболочки бронхов, бронхиальных слизистых желез бронхиол и легочных альвеол [1].

По заболеваемости у человека рак лёгкого занимает первое место среди злокачественных опухолей у мужчин в России, а по смертности — первое место в мире [8]. В отличие от человека частота пер-

вичного рака лёгких у животных-компаньонов, поступающих на вскрытие, составляет менее 1%, а показатели заболеваемости у собак варьируют от 4,2 на 10 000 собак в год до 15 на 100 000 собак в год [3]. Возможно, именно различие в инцидентности РЛ у животных и человека является причиной сравнительно небольшого количества исследований этого заболевания и отсутствия клинических рекомендаций по лечению РЛ у собак и кошек, в то время как для человека многочисленные клинические рекомендации обновляются каждые три года и включают результаты исследований с высоким уровнем убедительности рекомендаций и уровнем достоверности доказательств [5].

Этиология и патогенез РЛ у человека достаточно хорошо изучены. У подавляющего большинства пациентов, страдающих РЛ (85–90%) развитие заболевания связано с курением, как активным, так и пассивным. Кроме того, к факторам риска относят облучение (проведенную ранее лучевую терапию (ЛТ) по поводу других опухолей внутригрудной локализации), воздействие радона, асбеста, мышьяка [2, 22].

У собак и кошек на настоящий момент достоверно не доказано наличие определенных факторов риска. Но была обнаружена связь между вдыханием загрязненного воздуха и раком лёгких у собак с антракозом (вдыхание угольной пыли, вызывающее развитие фиброза). Цитологический анализ жидкости после бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) выявил повышенный уровень антракоза у собак, подвергшихся пассивному воздействию табачного дыма. В экспериментальных условиях у подопытных собак, которым сигаретный дым вводился через трахеостому (при наличии или отсутствии воздействия асбеста), рак лёгких развивался

с большей частотой, чем у собак контрольной группы.

Экспериментально индуцированное воздействие радиации, также значительно увеличивает риск развития рака лёгких у лабораторных собак при вдыхании таких веществ, как плутоний.

Таким образом, нахождение в городской и воздействие пассивного курения считаются потенциальными причинами рака лёгких у собак, что в условиях постоянного повышения количества животных, которые содержатся в домашних условиях, вызывает также повышение заболеваемости этим видом рака у животных-компаньонов и делает актуальным поиск, разработку и адаптацию новых методов лечения РЛ у животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводилось на базе Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины, а также сети ветеринарных клиник ВЕГА г. Санкт-Петербурга.

Проведён ретроспективный анализ историй болезни 43 животных с выявленными новообразованиями в лёгких, поступивших на лечение в ветеринарные клиники «ВЕГА» в период с 2020 по 2023 года.

В нашем исследовании приняли уровень значимости равным 95% ($p=0,05$). Статистическую обработку полученных

данных выполнили в программе BioStat, AnalystSoft Inc., версия 7.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Исходные данные включённых в исследование животных представлены в таблице 1, с указанием 95%-го доверительного интервала (95% ДИ).

Проанализировав породную принадлежность кошек, включённых в исследование, мы получили следующие результаты: европейские короткошёрстные кошки — 18 кошек (64,3%), британская — 2 кошки (7,1%), шотландская вислоухая, абиссинская, донской сфинкс, корниш-рекс, мейн-кун, ориентальная и сиамская породы — по одной кошке (по 3,6%).

Проанализировав породную принадлежность собак, включённых в исследование, мы получили следующие результаты: собаки смешанной породы — пять собак (33,3%), йоркширский терьер — три собаки (20,0%), по одной собаке (по 6,7%) пород бультерьер, джек-рассел-терьер, кокер-спаниель, такса, тойтерьер, чихуахуа, шотландский сеттер.

Критерием включения животных в исследование был диагностированный по результатам инструментальных (рентгенография, компьютерная томография) и лабораторных (цитологическое и гистологическое) исследований неопластический процесс в грудной полости / лёгких.

Таблица 1 – Исходные данные включённых в исследование пациентов

Показатель	Кошки	Собаки
Количество животных	28	15
Вид животных	Felis domestica (Felis catus)	Canis lupus familiaris
Пол животных	Самцов 13 (53,6%) Самок 15 (53,6%)	Самцов 7 (46,7%) Самок 8 (53,3%)
Репродуктивный статус	Интактные 12 (42,9%) Кастрированы 16 (57,1%)	Интактные 11 (73,3%) Кастрированы 4 (26,7%)
Средний возраст (95% ДИ для возраста)	11,4 лет (9,8–13,1 лет)	12,4 лет (10,5–14,3 лет)
Средний вес (95% ДИ для веса)	4,8 кг (4,0–5,5 кг)	12,6 кг (6,7–18,5 кг)

Полученные нами результаты не противоречат литературным данным, согласно которым средний возраст заболевших собак составляет 9,3–11,5 лет, а кошек — 12–13 лет [31].

Наше исследование не выявило породной предрасположенности. Наибольшая представленность европейских короткошерстных кошек в выборке наиболее вероятно связана с тем, что большинство кошек, содержащихся в домашних условиях, являются представителями именно этой аборигенной породы.

В литературе отмечается породная предрасположенность к развитию РЛ у персидских кошек, а также возможная породная предрасположенность с собак пород боксер, доберман, австралийская овчарка (ауси), ирландский сеттер и бернский зенненхунд [3]. В этой группе особого внимания при проведении химиотерапии требуют австралийские овчарки, которые могут быть носителями мутаций гена MDR, что является противопоказанием для применения многих химиотерапевтических препаратов.

Выбор методов лечения и прогноз зависят от стадии болезни как у человека, так и у животных. У собак для стадирования используется шкала Canine lung carcinoma stage classification (CLCSC), адаптированная для собак из Human lung carcinoma stage classification (HLCSC) [13, 19]. Для кошек на настоящий момент отдельная шкала стадирования не разработана.

Также является актуальным для ветеринарной медицины поиск биомаркеров, ассоциированных с канцерогенезом. В частности, белок ядерного матрикса-22 (NMP-22, *Nuclear Matrix Protein*) — это особый протеин, который вырабатывают раковые клетки, широко используется в медицине человека в качестве прогностического и диагностического инструмента при различных карциномах. Было выявлено, что в экзосомах мочи у собак с уротелиальной карциномой, уровень NMP-22 значительно повышен по сравнению со здоровыми собаками. Таким образом, NMP-22 экзосом мочи может рассматриваться как один из инструментов жид-

костной биопсии для диагностики уротелиальной карциномы у собак [25].

Комбинированная высокодозная внутривенная химиотерапия (ХТ) у человека рекомендуется как в адъювантном, так и в неoadъювантном режимах, а также в качестве паллиативного лечения при немелкоклеточном раке лёгкого (НМРЛ) IV стадии. В схемы ХТ включаются препараты платины (карбоплатин, цисплатин), а также *анти-тубулиновые агенты* (винорелбин, паклитаксел, доцетаксел) и *антиметаболиты* (гемцитабин). Несмотря на то, что эти препараты используются у животных при лечении разных видов рака, была исследована и доказана их неэффективность при РЛ у собак как при монотерапии, так и при комбинированном использовании [21]. Здесь нужно отметить, что в этом же исследовании был применён и разработанный для ветеринарного применения мультикиназный ингибитор *тоцераниб*, который так же не показал эффективности при его применении в адъювантном режиме. *Ломустин*, который применялся при первичной гистиоцитарной саркоме лёгкого, также не показал свою эффективность [14, 20]. Была отмечена ограниченная эффективность ингаляционной ХТ у собак с первичными и метастатическими опухолями лёгких. Общая частота ответов на паклитаксел (как при саркомах, так и при карциномах) и на доксорубицин (только при саркомах) составила не более 27% (из них полный ответ наблюдался только в 4,5% случаев).

Эффективность комбинированной метронуемой ХТ циклофосфамидом (6–10 мг/м²), пироксикамом (0,3 мг/кг каждые 24 или 48 часов) и талидомидом (5 мг/кг 1 раз в сутки на ночь) была отмечена у собак с неоперабельными формами рака и/или метастатическим поражением лимфатических узлов [23].

Всё вышесказанное указывает на необходимость изучения и внедрения молекулярно-ориентированной (таргетной) терапии в протоколы лечения животных с раком лёгкого. Благодаря повышенному вниманию к этой теме

в медицине человека в последние десятилетия в ДНК опухолевых клеток были обнаружены различные мутации, способствующие активации сигнальных путей, влияющих на инвазию, пролиферацию, ангиогенез и малигнизацию опухолевых клеток [6].

В этой работе мы рассмотрим только низкомолекулярные таргетные препараты. Поскольку эти препараты получают с помощью химического синтеза, а не биотехнологий, они обладают умеренной специфичностью, что позволяет применять их как у человека, так и у животных. Благодаря малым размерам молекул, рассматриваемые таргетные препараты могут проникать внутрь клетки и действовать на широкий спектр онкогенных белков-мишеней. Также низкомолекулярные таргетные препараты могут преодолевать ГЭБ, что позволяет использовать их для профилактики и лечения метастазов в головном мозге. Возможность перорального пути введения делает их использование удобным при длительной терапии.

Наиболее широко применяемой группой таргетных препаратов являются *низкомолекулярные ингибиторы киназ*, которые, будучи структурными аналогами АТФ, конкурентно связываются с каталитическим центром белка-мишени и прерывают каскад реакций фосфорилирования, передающих сигнал от рецептора в ядро клетки.

Согласно исследованиям последних лет, первичный рак лёгких у собак напоминает рак лёгких человека по гистопатологическим характеристикам и профилям экспрессии генов [26], что позволяет использовать ингибиторы киназ при лечении РЛ у животных. В медицине человека основными мишенями таргетной терапии являются белки BRAF+, EGFR+, ALK/ROS1+ сигнальных путей.

Наиболее перспективным направлением в таргетной терапии различных видов рака у животных является применение BRAF ингибиторов, а также совместное применение BRAF/MEK ингибиторов, так как результаты многих исследований последних лет показывают, что

активация сигнальных путей BRAF/MEK, RAS/MAPK и/или PI3K/AKT/mTOR характерна для обоих видов — человека и собаки [30].

Активация одного или обоих путей передачи сигнала BRAF/MEK и RAS/MAPK опосредует онкогенность нескольких видов рака собаки и человека, включая меланому [18, 32], рак мочевого пузыря и предстательной железы [9, 11], гистиоцитарную саркому [28], рак лёгкого [10, 26].

B-Raf (серин/треониновая протеинкиназа B-raf, BRAF) — цитозольная протеинкиназа семейства MAP3K, участвует в формировании и регуляции MAPK/ERK сигнальных путей, которые влияют на клеточное деление, дифференцировку и секрецию. У человека выявлено более 30 мутаций гена BRAF, которые связаны со злокачественными опухолями разных типов. В 90% случаев раковый процесс связан с заменой тимина на аденин в нуклеотиде 1799 гена BRAF, что приводит к замене валина на глутаминовую кислоту в кодоне 600 (V600E) активирующего региона. Мутации типа V600E переводят фермент BRAF в постоянно активированное состояние, что приводит к непрерывной стимуляции клеточной пролиферации, не зависящей от внешних факторов. У человека эта мутация особенно часто наблюдается при папиллярной карциноме щитовидной железы, колоректальном раке, меланоме и немелкоклеточном раке лёгкого [24].

При возникновении мутации в гене BRAF V600E, кодирующем данные ферменты, необходимые для передачи сигналов внутри клетки, происходит нарушение их строения, что приводит к постоянным бесконтрольным сигналам роста и деления клетке. Такое нарушение является одной из причин трансформации нормальной клетки в опухолевую.

Мутация BRAF V595E у собак соответствует мутации BRAF V600E человека [15, 16]. Однако, несмотря на схожесть мутаций, в исследованиях L. Küchler [17] показано, что при лечении карциномы мочевыводящих путей у собак, реакция

раковых клеток с мутацией BRAF V595E на применение таргетной терапии отличается от реакции человеческих клеток с мутацией BRAF V600E. Мутантные клеточные линии собак были более чувствительны к *сорафенибу* по сравнению с *вемурафенибом*.

MEK — митоген-активируемые протеинкиназы, которые являются важнейшими компонентами сигнального пути ERK (киназы, регулируемой внеклеточным сигналом). При меланоме и других видах рака этот путь часто активируют мутированные формы гена BRAF, что в свою очередь активирует MEK и стимулирует рост опухолевых клеток.

Скрининг лекарственных средств с использованием клеток гистиоцитарной саркомы, полученных от собак с новообразованиями, выявил, что эти клетки особенно чувствительны к ингибитору MEK траметинибу [28]. Поскольку собаки — единственный вид животных, у которого гистиоцитарная саркома спонтанно развивается с заметной частотой, собака может представлять ценность в качестве системы трансляционной модели.

В исследовании чувствительности к ингибитору MEK1/2 траметинибу 12 из 33 линий раковых клеток собак (из десяти типов рака) были чувствительны к траметинибу [10].

Препараты *дабрафениба* (ингибитор BRAF) и *траметиниба* (высокоселективный аллостерический ингибитор активации митоген-активируемых протеинкиназ 1 (MEK1) и 2 (MEK2)) усиливают эффективность друг друга и поэтому рекомендуется их совместное применение [12, 27].

Взаимная перекрестная активация между BRAF/MEK и RAS/MAPK путями может быть источником лекарственной устойчивости, преодолеть которую позволяет применение траметиниба, что подтверждают исследования как у человека [4], так и у животных [30].

У человека при РЛ таргетная терапия рекомендуется всем пациентам, имеющим в опухоли соответствующую молекулярную мишень. Но если в медицине

человека молекулярно-генетические исследования опухолевых клеток стали рутинной практикой в клиниках [6], то в ветеринарной медицине этот вопрос остаётся открытым.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Исследования выявили, что высокодозная внутривенная химиотерапия неэффективна при лечении РЛ у животных, что делает актуальным поиск, разработку и внедрение в клиническую практику таргетных препаратов, которые будут эффективны у животных.

Актуальными являются разработка методов молекулярно-генетических исследований опухолевых клеток у животных, которые сделают их доступными для практического применения ветеринарными онкологами, что позволит значительно повысить эффективность терапии различных видов рака у животных.

Вопрос о внедрении в ветеринарную практику биомаркеров различных типов и стадий онкологических процессов является актуальными и заслуживает проведения исследований.

Для повышения эффективности лечения также рекомендована разработка шкалы стадирования рака лёгкого для кошек.

MOLECULAR-ORIENTED THERAPY OF LUNG CANCER IN ANIMALS WITH BRAF MUTATIONS – THE POSSIBILITIES AND LIMITATIONS OF THE METHOD

Nazarova A.V. – Candidate of Veterinary Sciences, Assistant of the Department of Surgery (ORCID: 0000-0003-4726-6204); **Kuznetsova T.Sh.** – Candidate of Biological Sciences, docent of the Department of Genetic and Reproductive Biotechnologies (ORCID: 0000-0002-8981-0696); **Semenov B.S.** – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Professor of the Department of Surgery (ORCID: 0000-0003-0149-9360); **Kolodyazhny P.A.** – student (ORCID: 0009-0009-4166-662X)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* anna.v.nazarova@mail.ru

ABSTRACT

Lung cancer (LC) is malignant epithelial tumors that differ in origin, histological structure, clinical course, and treatment results. Lung cancer ranks first in terms of male morbidity in Russia, and in terms of mortality in the world. In animals, LC is diagnosed much less frequently, but with an increase in the number of animals kept in cities, the incidence of LC increases, since companion animals are exposed to the same risk factors as humans. We conducted a retrospective analysis of the medical records of 43 animals (28 cats and 15 dogs) admitted to the VEGA veterinary clinics for treatment in the period from 2020 to 2023. The criterion for the inclusion of animals in the study was a tumor process in the thoracic cavity and lungs, diagnosed by instrumental and laboratory methods. High-dose intravenous chemotherapy, which is used in humans, is ineffective in the treatment of LC in animals, therefore, it is necessary to search, develop and introduce into clinical practice targeted drugs that will be effective in animals. Since the most widely used group of targeted drugs in human medicine are low-molecular kinase inhibitors that act on the corresponding molecular target in the tumor, the development of molecular genetic methods available for practical use by veterinary oncologists for the study of tumor cells in animals is relevant in veterinary medicine. The choice of treatment methods and prognosis depend on the stage of the disease, therefore, the issue of introducing biomarkers of various types and stages of oncological processes into veterinary practice deserves research. Also, to improve the effectiveness of treatment, it is recommended to conduct research and develop a lung cancer staging scale for cats.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Клинические рекомендации – Злокачественное новообразование бронхов и легкого – МЗ РФ / АОР – 2021-2022-2023 (31.05.2021) – Утверждены Минздравом РФ
2. Клинические рекомендации – Злокачественное новообразование бронхов и легкого – «Ассоциация онкологов России» и

«Российское общество клинической онкологии» (RUSSCO) – Одобрено на заседании научно-практического совета Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол от 25.12.2020 № 17-4/4884)

3. Быченко, Д. Современные методы диагностики, лечения и степень выживаемости при первичной неоплазии легких у собак / Д. Быченко, Е. Д. Зиньков // Научно-исследовательские исследования как основа инновационного развития общества: сборник статей Международной научно-практической конференции, Калуга, 27 ноября 2021 года. – Уфа: Общество с ограниченной ответственностью "ОМЕГА САЙНС", 2021. – С. 280-283.

4. Мустафин, Р. Н. Роль мутаций в гене NF1 в спорадическом канцерогенезе / Р. Н. Мустафин // Успехи молекулярной онкологии. – 2021. – Т. 8, № 3. – С. 25-33. – DOI 10.17650/2313-805X-2021-8-3-25-33.

5. Назарова, А. В. Актуальность повышения уровня доказательности клинических исследований в ветеринарии / А. В. Назарова, Т. Ш. Кузнецова, Б. С. Семенов, В. Н. Виденин, А. Ю. Нечаев // Материалы Международной научно-практической конференции «Теория и практика ветеринарной фармакологии, экологии и токсикологии в АПК», посвященной 100-летию кафедры фармакологии и токсикологии СПбГУВМ. – 2021. – С. 171–173.

6. Тюлядин, С. А. Таргетная терапия: двадцать лет успехов и поражений / С. А. Тюлядин // Практическая онкология. – 2019. – Т. 20, № 4. – С. 274-288. – DOI 10.31917/2004274.

7. Феланюк, Е. Ю. Сердечно-сосудистые осложнения у больных немелкоклеточным раком легких: современное состояние проблемы / Е. Ю. Феланюк, Н. Г. Ложкина, А. А. Филиппов // Медико-фармацевтический журнал Пульс. – 2023. – Т. 25, № 1. – С. 56-65. – DOI 10.26787/puls-2686-6838-2023-25-1-56-65.

8. Щапкова, М. М. Современные представления о лечении рака легких / М. М. Щапкова, В. А. Кондрашов, М. Г. Пугачева // Роль научных кризисов в развитии

- современного общества. Современная медицина. Теория и практика : Материалы международной научно-практической конференции, Санкт-Петербург, 23–26 октября 2018 года. – Санкт-Петербург: Общество с ограниченной ответственностью "Центр профессионального менеджмента "Академия Бизнеса", 2018. – С. 94–95.
- 9.Cronise KE, Hernandez BG, Gustafson DL, Duval DL. Identifying the ErbB/MAPK Signaling Cascade as a Therapeutic Target in Canine Bladder Cancer. *Mol Pharmacol*. 2019 Jul;96(1):36–46. doi: 10.1124/mol.119.115808.
- 10.Das S, Idate R, Cronise KE, Gustafson DL, Duval DL. Identifying Candidate Drugable Targets in Canine Cancer Cell Lines Using Whole-Exome Sequencing. *Mol Cancer Ther*. 2019 Aug;18(8):1460–1471. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-18-1346.
- 11.Elbadawy M, Sato Y, Mori T, Goto Y, Hayashi K, Yamanaka M, Azakami D, Uchide T, Fukushima R, Yoshida T, Shibutani M, Kobayashi M, Shinohara Y, Abugomaa A, Kaneda M, Yamawaki H, Usui T, Sasaki K. Anti-tumor effect of trametinib in bladder cancer organoid and the underlying mechanism. *Cancer Biol Ther*. 2021 Jun 3;22(5–6):357–371. doi: 10.1080/15384047.2021.1919004.
- 12.Ellens H, Johnson M, Lawrence SK, Watson C, Chen L, Richards-Peterson LE. Prediction of the Transporter-Mediated Drug-Drug Interaction Potential of Dabrafenib and Its Major Circulating Metabolites. *Drug Metab Dispos*. 2017 Jun;45(6):646–656. doi: 10.1124/dmd.116.073932.
- 13.Ichimata Masanao Prognosis of primary pulmonary adenocarcinoma after surgical resection in small-breed dogs: 52 cases (2005–2021) May 2023 *Journal of Veterinary Internal Medicine* 37(4) DOI:10.1111/jvim.16739
- 14.Kagawa Y, Nakano Y, Kobayashi T, Asano K, Takagi S. Localized pulmonary histiocytic sarcomas in Pembroke Welsh Corgi. *J Vet Med Sci*. 2016 Jan;77(12):1659–61. doi: 10.1292/jvms.15-0284.
- 15.Kobayashi K, Takemura RD, Miyamae J, Mitsui I, Murakami K, Kutara K, Saeki K, Kanda T, Okamura Y, Sugiyama A. Phenotypic and molecular characterization of novel pulmonary adenocarcinoma cell lines established from a dog. *Sci Rep*. 2023 Oct 5;13(1):16823. doi: 10.1038/s41598-023-44062-1.
- 16.Kobayashi M, Onozawa M, Watanabe S, Nagashima T, Tamura K, Kubo Y, Ikeda A, Ochiai K, Michishita M, Bonkobara M, Kobayashi M, Hori T, Kawakami E. Establishment of a BRAF V595E-mutant canine prostate cancer cell line and the antitumor effects of MEK inhibitors against canine prostate cancer. *Vet Comp Oncol*. 2023 Jun;21(2):221–230. doi: 10.1111/vco.12879.
- 17.Küchler L, Posthaus C, Jäger K, Guscetti F, van der Weyden L, von Bomhard W, Schmidt JM, Farra D, Aupperle-Lellbach H, Kehl A, Rottenberg S, de Brot S. Artificial Intelligence to Predict the BRAF V595E Mutation in Canine Urinary Bladder Urothelial Carcinomas. *Animals (Basel)*. 2023 Jul 25;13(15):2404. doi: 10.3390/ani13152404.
- 18.Lee BH, Neela PH, Kent MS, Zehnder AM. IQGAP1 is an oncogenic target in canine melanoma. *PLoS One*. 2017 Apr 26;12(4):e0176370. doi: 10.1371/journal.pone.0176370.
- 19.Lee BM, Clarke D, Watson M, Laver T. Retrospective evaluation of a modified human lung cancer stage classification in dogs with surgically excised primary pulmonary carcinomas. *Vet Comp Oncol*. 2020 Dec;18(4):590–598. doi: 10.1111/vco.12582.
- 20.Marlowe KW, Robat CS, Clarke DM, Taylor A, Touret M, Husbands BD, Vail DM. Primary pulmonary histiocytic sarcoma in dogs: A retrospective analysis of 37 cases (2000–2015). *Vet Comp Oncol*. 2018 Dec;16(4):658–663. doi: 10.1111/vco.12437.
- 21.McPhetridge JB, Scharf VF, Regier PJ, Toth D, Lorange M, Tremolada G, Dornbusch JA, Selmic LE, Bae S, Townsend KL, McAdoo JC, Thieman KM, Solari F, Walton RA, Romeiser J, Tuohy JL, Oblak ML. Distribution of histopathologic types of primary pulmonary neoplasia in dogs and outcome of affected dogs: 340 cases (2010–2019). *J Am Vet Med Assoc*. 2021 Nov 30;260(2):234–243. doi: 10.2460/javma.20.12.0698.
- 22.Non-Small Cell Lung Cancer, Version

- 3.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. J Natl Compr Canc Netw. 2022 May;20(5):497-530. doi: 10.6004/jnccn.2022.0025.
23. Polton G., Finotello R., Sabattini S. Survival analysis of dogs with advanced primary lung carcinoma treated by metronomic cyclophosphamide, piroxicam and thalidomide. Vet. Comp. Oncol. 2018 Sep;16(3):399-408.
24. Shan KS, Rehman TU, Ivanov S, Domingo G, Raez LE. Molecular Targeting of the BRAF Proto-Oncogene/Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) Pathway across Cancers. Int J Mol Sci. 2024 Jan 3;25(1):624. doi: 10.3390/ijms25010624.
25. Shin JH, An JH, Park SM, Lim GH, Seo KW, Youn HY. Changes in Urinary Exosomal Nuclear Matrix Protein-22 in Dogs With Urothelial Carcinoma: A Pilot Study. In Vivo. 2024 Jan-Feb;38(1):190-195. doi: 10.21873/in vivo.13425.
26. Shiota Sato Y, Elbadawy M, Suzuki K, Tsunedomi R, Nagano H, Ishihara Y, Yamamoto H, Azakami D, Uchide T, Fukushima R, Tanaka R, Yoshida T, Mori T, Abugomaa A, Kaneda M, Yamawaki H, Shinohara Y, Aboubakr M, El-Asrag ME, Usui T, Sasaki K. Derivation of a new model of lung adenocarcinoma using canine lung cancer organoids for translational research in pulmonary medicine. Biomed Pharmacother. 2023 Sep;165:115079. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115079.
27. Sorf A, Vagiannis D, Ahmed F, Hofman J, Ceckova M. Dabrafenib inhibits ABCG2 and cytochrome P450 isoenzymes; potential implications for combination anticancer therapy. Toxicol Appl Pharmacol. 2022 Jan 1;434:115797. doi: 10.1016/j.taap.2021.115797.
28. Takada M, Hix JML, Corner S, Schall PZ, Kiupel M, Yuzbasiyan-Gurkan V. Targeting MEK in a Translational Model of Histiocytic Sarcoma. Mol Cancer Ther. 2018 Nov;17(11):2439-2450. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-17-1273.
29. Wei BR, Hoover SB, Peer CJ, Dwyer JE, Adissu HA, Shankarappa P, Yang H, Lee M, Peat TJ, Figg WD, Simpson RM. Efficacy, Tolerability, and Pharmacokinetics of Combined Targeted MEK and Dual mTORC1/2 Inhibition in a Preclinical Model of Mucosal Melanoma. Mol Cancer Ther. 2020 Nov;19(11):2308-2318. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-19-0858.
30. Wei BR, Peer CJ, Richardson WJ, Hewitt SM, Figg WD, Simpson RM. Pharmacokinetics and tolerability of the dual TORC1/2 inhibitor sapanisertib in combination with the MEK inhibitor trametinib in dogs. Front Vet Sci. 2022 Dec 14; 9:1056408. doi: 10.3389/fvets.2022.1056408.
31. Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology 6th Edition 6th Edition - June 5, 2019 Editors: David M. Vail, Douglas H. Thamm, Julius M. Liptak Hardback ISBN: 9780323594967 eBook ISBN: 9780323594974
32. Yamamoto M, Fujiwara N. Protein phosphatase 6 regulates trametinib sensitivity, a mitogen-activated protein kinase kinase (MEK) inhibitor, by regulating MEK1/2-ERK1/2 signaling in canine melanoma cells. J Vet Med Sci. 2023 Sep 7;85(9):977-984. doi: 10.1292/jvms.23-0274.

REFERENCES

1. Clinical recommendations – Malignant neoplasm of bronchi and lung – Ministry of Health of the Russian Federation / AOR – 2021-2022-2023 (05/31/2021) – Approved by the Ministry of Health of the Russian Federation
2. Clinical recommendations – Malignant neoplasm of bronchi and lungs – "Association of Oncologists of Russia" and "Russian Society of Clinical Oncology" (RUSSCO) – Approved at a meeting of the Scientific and Practical Council of the Ministry of Health of the Russian Federation (Protocol No. 17-4/4884 dated 12/25/2020)
3. Bychenko, D. Modern methods of diagnosis, treatment and degree of survival in primary lung neoplasia in dogs / D. Bychenko, E. D. Zinkov // High-tech research as a basis for innovative development of society : collection of articles of the International scientific and practical Conference, Kaluga, November 27, 2021. – Ufa: OMEGA SCIENCES Limited Liability Company, 2021. – pp. 280-283.

4. Mustafin, R. N. The role of mutations in the NF1 gene in sporadic carcinogenesis / R. N. Mustafin // *Successes of molecular oncology*. – 2021. – Vol. 8, No. 3. – pp. 25-33. – DOI 10.17650/2313-805X-2021-8-3-25-33.
5. Nazarova, A.V. The relevance of increasing the evidence-based level of clinical trials in veterinary medicine / A.V. Nazarova, T.S. Kuznetsova, B.S. Semenov, V.N. Videnin, A.Yu. Nechaev // *Materials of the International scientific and practical conference "Theory and practice of veterinary pharmacy, ecology and toxicology in agriculture"*, dedicated to 100-the anniversary of the Department of Pharmacology and Toxicology of St. Petersburg State Medical University. – 2021. – pp. 171-173.
6. Tyulyandin, S. A. Targeted therapy: twenty years of successes and defeats / S. A. Tyulyandin // *Practical oncology*. – 2019. – Vol. 20, No. 4. – pp. 274-288.
7. Felanyuk, E. Y. Cardiovascular complications in patients with non-small cell lung cancer: the current state of the problem / E. Y. Felanyuk, N. G. Lozhkina, A. A. Filipov // *Medico-pharmaceutical journal Pulse*. – 2023. – Vol. 25, No. 1. – pp. 56-65.
8. Shchapova, M. M. Modern ideas about the treatment of lung cancer / M. M. Shchapova, V. A. Kondrashov, M. G. Pugacheva // *The role of scientific crises in the development of modern society. Modern medicine. Theory and Practice : Proceedings of the International Scientific and Practical conference, St. Petersburg, October 23-26, 2018*. – St. Petersburg: Limited Liability Company "Center for Professional Management "Academy of Business", 2018. – pp. 94-95.
9. Cronise KE, Hernandez BG, Gustafson DL, Duval DL. Identifying the ErbB/MAPK Signaling Cascade as a Therapeutic Target in Canine Bladder Cancer. *Mol Pharmacol*. 2019 Jul;96(1):36-46.
10. Das S, Idate R, Cronise KE, Gustafson DL, Duval DL. Identifying Candidate Drugable Targets in Canine Cancer Cell Lines Using Whole-Exome Sequencing. *Mol Cancer Ther*. 2019 Aug;18(8):1460-1471.
11. Elbadawy M, Sato Y, Mori T, Goto Y, Hayashi K, Yamanaka M, Azakami D, Uchida T, Fukushima R, Yoshida T, Shibutani M, Kobayashi M, Shinohara Y, Abugomaa A, Kaneda M, Yamawaki H, Usui T, Sasaki K. Anti-tumor effect of trametinib in bladder cancer organoid and the underlying mechanism. *Cancer Biol Ther*. 2021 Jun 3;22(5-6):357-371.
12. Ellens H, Johnson M, Lawrence SK, Watson C, Chen L, Richards-Peterson LE. Prediction of the Transporter-Mediated Drug-Drug Interaction Potential of Dabrafenib and Its Major Circulating Metabolites. *Drug Metab Dispos*. 2017 Jun;45(6):646-656. doi: 10.1124/dmd.116.073932.
13. Ichimata Masanao Prognosis of primary pulmonary adenocarcinoma after surgical resection in small-breed dogs: 52 cases (2005-2021) May 2023 *Journal of Veterinary Internal Medicine* 37(4) DOI:10.1111/jvim.16739
14. Kagawa Y, Nakano Y, Kobayashi T, Asano K, Takagi S. Localized pulmonary histiocytic sarcomas in Pembroke Welsh Corgi. *J Vet Med Sci*. 2016 Jan;77(12):1659-61. doi: 10.1292/jvms.15-0284.
15. Kobayashi K, Takemura RD, Miyamae J, Mitsui I, Murakami K, Kutara K, Saeki K, Kanda T, Okamura Y, Sugiyama A. Phenotypic and molecular characterization of novel pulmonary adenocarcinoma cell lines established from a dog. *Sci Rep*. 2023 Oct 5;13(1):16823. doi: 10.1038/s41598-023-44062-1.
16. Kobayashi M, Onozawa M, Watanabe S, Nagashima T, Tamura K, Kubo Y, Ikeda A, Ochiai K, Michishita M, Bonkobara M, Kobayashi M, Hori T, Kawakami E. Establishment of a BRAF V595E-mutant canine prostate cancer cell line and the antitumor effects of MEK inhibitors against canine prostate cancer. *Vet Comp Oncol*. 2023 Jun;21(2):221-230. doi: 10.1111/vco.12879.
17. Kuchler L, Posthaus C, Jäger K, Guscetti F, van der Weyden L, von Bomhard W, Schmidt JM, Farra D, Aupperle-Lellbach H, Kehl A, Rottenberg S, de Brot S. Artificial Intelligence to Predict the BRAF V595E Mutation in Canine Urinary Bladder Urothelial Carcinomas. *Animals (Basel)*. 2023 Jul 25;13(15):2404. doi: 10.3390/ani13152404.
18. Lee BH, Neela PH, Kent MS, Zehnder AM. IQGAP1 is an oncogenic target in ca-

- nine melanoma. PLoS One. 2017 Apr 26;12(4):e0176370. doi: 10.1371/journal.pone.0176370.
- 19.Lee BM, Clarke D, Watson M, Laver T. Retrospective evaluation of a modified human lung cancer stage classification in dogs with surgically excised primary pulmonary carcinomas. Vet Comp Oncol. 2020 Dec;18(4):590-598. doi: 10.1111/vco.12582.
- 20.Marlowe KW, Robat CS, Clarke DM, Taylor A, Touret M, Husbands BD, Vail DM. Primary pulmonary histiocytic sarcoma in dogs: A retrospective analysis of 37 cases (2000-2015). Vet Comp Oncol. 2018 Dec;16(4):658-663. doi: 10.1111/vco.12437.
- 21.McPhetridge JB, Scharf VF, Regier PJ, Toth D, Lorange M, Tremolada G, Dornbusch JA, Selmic LE, Bae S, Townsend KL, McAdoo JC, Thieman KM, Solari F, Walton RA, Romeiser J, Tuohy JL, Oblak ML. Distribution of histopathologic types of primary pulmonary neoplasia in dogs and outcome of affected dogs: 340 cases (2010-2019). J Am Vet Med Assoc. 2021 Nov 30;260(2):234-243. doi: 10.2460/javma.20.12.0698.
- 22.Non-Small Cell Lung Cancer, Version 3.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. J Natl Compr Canc Netw. 2022 May;20(5):497-530. doi: 10.6004/jncn.2022.0025.
- 23.Polton G., Finotello R., Sabattini S. Survival analysis of dogs with advanced primary lung carcinoma treated by metronomic cyclophosphamide, piroxicam and thalidomide. Vet. Comp. Oncol. 2018 Sep;16(3):399-408.
- 24.Shan KS, Rehman TU, Ivanov S, Domingo G, Raez LE. Molecular Targeting of the BRAF Proto-Oncogene/Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) Pathway across Cancers. Int J Mol Sci. 2024 Jan 3;25(1):624. doi: 10.3390/ijms25010624.
- 25.Shin JH, An JH, Park SM, Lim GH, Seo KW, Youn HY. Changes in Urinary Exosomal Nuclear Matrix Protein-22 in Dogs With Urothelial Carcinoma: A Pilot Study. In Vivo. 2024 Jan-Feb;38(1):190-195. doi: 10.21873/in vivo.13425.
- 26.Shiota Sato Y, Elbadawy M, Suzuki K, Tsunedomi R, Nagano H, Ishihara Y, Yamamoto H, Azakami D, Uchide T, Fukushima R, Tanaka R, Yoshida T, Mori T, Abugomaa A, Kaneda M, Yamawaki H, Shinohara Y, Aboubakr M, El-Asrag ME, Usui T, Sasaki K. Derivation of a new model of lung adenocarcinoma using canine lung cancer organoids for translational research in pulmonary medicine. Biomed Pharmacother. 2023 Sep; 165:115079. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115079.
- 27.Sorf A, Vagiannis D, Ahmed F, Hofman J, Ceckova M. Dabrafenib inhibits ABCG2 and cytochrome P450 isoenzymes; potential implications for combination anticancer therapy. Toxicol Appl Pharmacol. 2022 Jan 1; 434:115797. doi: 10.1016/j.taap.2021.115797.
- 28.Takada M, Hix JML, Corner S, Schall PZ, Kiupel M, Yuzbasiyan-Gurkan V. Targeting MEK in a Translational Model of Histiocytic Sarcoma. Mol Cancer Ther. 2018 Nov;17(11):2439-2450. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-17-1273.
- 29.Wei BR, Hoover SB, Peer CJ, Dwyer JE, Adissu HA, Shankarappa P, Yang H, Lee M, Peat TJ, Figg WD, Simpson RM. Efficacy, Tolerability, and Pharmacokinetics of Combined Targeted MEK and Dual mTORC1/2 Inhibition in a Preclinical Model of Mucosal Melanoma. Mol Cancer Ther. 2020 Nov;19(11):2308-2318. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-19-0858.
- 30.Wei BR, Peer CJ, Richardson WJ, Hewitt SM, Figg WD, Simpson RM. Pharmacokinetics and tolerability of the dual TORC1/2 inhibitor sapanisertib in combination with the MEK inhibitor trametinib in dogs. Front Vet Sci. 2022 Dec 14; 9:1056408. doi: 10.3389/fvets.2022.1056408.
- 31.Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology 6th Edition 6th Edition - June 5, 2019 Editors: David M. Vail, Douglas H. Thamm, Julius M. Liptak Hardback ISBN: 9780323594967 eBook ISBN: 9780323594974
- 32.Yamamoto M, Fujiwara N. Protein phosphatase 6 regulates trametinib sensitivity, a mitogen-activated protein kinase kinase (MEK) inhibitor, by regulating MEK1/2-ERK1/2 signaling in canine melanoma cells. J Vet Med Sci. 2023 Sep 7;85(9):977-984. doi: 10.1292/jvms.23-0274.