

Nuovi farmaci e tecniche in chemioterapia veterinaria

(chemioterapia metronomica, inibitori delle tirosin-chinasi, elettrochemioterapia, utilizzo dei port in chemioterapia sistemica ed intracavitaria)

Spugnini E.P.

DMV, PhD, Diplomate ACVIM (Oncology), Diplomate ECVIM-CA (Oncology), Istituto Nazionale Tumori Regina Elena, Roma

Valentini F.

DVM, MS, MRCVS, ECVIM (Oncology) Resident, Clinica Veterinaria Cetego, Roma

LA CHEMIOTERAPIA METRONOMICA

Valentini F.

Per tanto tempo il razionale della chemioterapia è stato quello di utilizzare la massima dose tollerata dal paziente al minimo intervallo possibile tra due somministrazioni. La durata di questo intervallo dipende molto dal tipo di farmaco usato e dalla reazione soggettiva del paziente a quel determinato principio attivo.

Da qualche tempo, tuttavia, sta prendendo piede una nuova strategia terapeutica in campo oncologico; il razionale, questa volta, è quello di utilizzare dosi di farmaco nettamente inferiori al dosaggio standard ma somministrate in maniera continuativa nel tempo e non rispettando il break di 3-4 settimane richiesto per somministrazioni a dosaggio pieno. Questo tipo di regime è stato chiamato in diverse maniere come chemioterapia continua a basse dosi o chemioterapia anti-angiogenetica. La denominazione più nota però è quella di chemioterapia metronomica in quanto rende bene l'idea del concetto di regolarità e continuità degli intervalli di tempo, esattamente come lavora un metronomo per battere il tempo in musica.

Questo regime terapeutico ha grandi vantaggi come il basso costo, la bassa tossicità e la possibilità di essere somministrata per via orale dagli stessi proprietari senza bisogno di accessi venosi o lunghe infusioni.

In campo onco-ematologico il regime della massima dose tollerata ha, effettivamente, dimostrato di essere estremamente efficace (linfomi e leucemie di alto grado); tuttavia, molti tumori solidi presentano un microambiente non riproducibile in vitro, costituito da cellule stromali, vasi sanguigni, cellule immunitarie che influenzano il comportamento biologico della neoplasia e la risposta di questa alla terapia. Eliminando i lunghi intervalli di tempo tra le dosi presenti nei regimi a massima dose tollerabile, le cellule neoplastiche sarebbero continuamente esposte all'agente citotossico.

Non bisogna però confondere il regime metronomico con il regime dose-denso in cui si riducono gli

intervalli di somministrazione ma per avere come obiettivo quello di somministrare una quantità maggiore di chemioterapico nell'unità di tempo.

Lo scopo della chemioterapia metronomica invece è quello di ridurre drasticamente o quasi eliminare l'intervallo di tempo tra le dosi.

I tumori solidi hanno continuo bisogno di mantenere efficiente il microambiente che li circonda ed in particolare hanno bisogno di reclutare nuovi vasi sanguigni in grado di garantire ossigeno e nutrienti essenziali alla cellula neoplastica. Questo fenomeno è noto con il termine di "neoangiogenesi neoplastica". Per questo motivo l'oncologia moderna ha spinto molto verso la sintesi di farmaci che neutralizzassero fattori di crescita pro-angiogenici o che promuovessero fattori inibitori dell'angiogenesi. Di fatto molti dei comuni chemioterapici hanno insita la capacità anti-angiogenetica in quanto le cellule endoteliali dei capillari che nutrono un tumore hanno un rapido turn-over mitotico. Il problema è che in un regime a massima dose tollerata, l'intervallo tra una dose e la successiva permette al tumore di far ripartire il meccanismo di neo-vascularizzazione. Il potenziale anti-angiogenetico veniva quindi potenziato se si annullavano gli intervalli tra le varie dosi. Questo nuovo tipo di target (cellule endoteliali) ha diversi potenziali vantaggi: le cellule endoteliali normali hanno grande stabilità genetica rispetto alle cellule tumorali e difficilmente sono in grado di indurre chemio-resistenza.

Si è visto quindi che il regime metronomico agisce a livello angiogenetico attraverso tre diversi meccanismi:

- a) Effetto citotossico diretto nei confronti delle cellule endoteliali già a dosaggi dell'ordine delle picomoli (gli stessi effetti tossici in cellule non endoteliali si avevano con dosaggi da 10 a 100.000 volte superiori). In questo, i farmaci che hanno dimostrato maggiore efficacia sono stati quelli aventi come bersaglio i microtubuli cellulari (alcaloidi della vinca e tassani).
- b) Squilibrio tra fattori pro-angiogenici ed anti-angiogenici a vantaggio di questi ultimi: diversi studi hanno dimostrato che al regime metronomico sono

associati alti livelli di *trombospondina-1*, importante fattore anti-angiogenetico endogeno.

- c) Azione sulle cellule progenitrici endoteliali del midollo osseo: recentemente sono state identificate nel midollo osseo delle cellule progenitrici endoteliali capaci di migrare in risposta a stimoli pro-angiogenici e di contribuire attivamente alla formazione di una neo-vascularizzazione. Queste cellule sono state quindi considerate un valido "target" per la terapia anti-angiogenetica. Bisogna dire, però, che queste cellule sarebbero sensibili anche ad un regime a massima dose tollerata. Il problema risiede tuttavia nel fenomeno di "rebound" compensatorio durante la fase di break in cui tali cellule hanno tempo e risorse per ripristinare il loro numero e capacità. Questo rebound compensatorio sarebbe superabile, invece, con un regime metronomico riducendo gli intervalli di somministrazione ed intensificando l'esposizione delle cellule al farmaco.

Un altro aspetto interessante della chemioterapia metronomica risiede nella capacità di modificare la risposta immunitaria in senso anti-neoplastico. In particolare si è visto che basse dosi di ciclofosfamide erano in grado di ridurre i livelli di cellule T regolatorie CD4+CD25+ in pazienti umani portatori di cancro. Queste cellule regolatorie hanno normalmente il ruolo di contro-bilanciare l'attività cito-tossica e tumoricida dei linfociti T citotossici, helper e delle cellule NK.

Molecole che si stanno rivelando efficaci in senso anti-angiogenico sono alcuni FANS come il piroxicam ed il celecoxib, la talidomide ed il pioglitazone. Sembra che l'inibizione di COX1 e COX2 possa interferire in qualche modo con la formazione delle cellule endoteliali e con la produzione di VEGF. Studi sulla ciclofosfamide a diversi regimi terapeutici, hanno evidenziato come, solo la somministrazione continua a basse dosi era associata ad una persistente e non temporanea attività anti-angiogenetica ed ad un buon controllo della malattia. Anche l'attività della *trombospondina-1* è stata associata ad un maggior danno endoteliale.

In medicina umana numerosi sono i trials clinici di fase II nei confronti di diverse tipologia tumorali. In campo veterinario ne sono stati al momento pubblicati due in regime adiuvante nei confronti di soft tissue sarcoma (ciclofosfamide/piroxicam) ed emangiosarcoma (ciclofosfamide/piroxicam/etoposide) con risultati sicuramente promettenti. Sembra che l'HSA si sviluppi da cellule endoteliali trasformate in senso neoplastico e che quindi possa essere un tumore suscettibile alla terapia anti-angiogenetica. Inoltre gli HSA sono già di per se molto vascularizzati e quindi potrebbero rispondere ad inibitori di cellule endoteliali. Un altro studio recente ha indagato l'uso in prima linea di chemioterapia metronomica a base di celecoxib e ciclofosfamide su malattia metastatica canina.

In futuro potrebbe essere estremamente utile, oltre che valutare l'andamento clinico della malattia, monitorare l'andamento di markers associati ad angiogenesi (*trombospondina-1* o il VEGF), studiare la densità della micro vascularizzazione neoplastica o investigare la dinamica della rete capillare associata alla guarigione delle ferite. Nonostante il razionale della chemioterapia metronomica ed i risultati preliminari siano incoraggianti,

ancora non è prudente che essa venga completamente sostituita alla chemioterapia tradizionale. Ha senso, invece, utilizzare i due regimi in combinazione in modo che siano colpiti contemporaneamente due bersagli, le cellule tumorali e la rete vascolare che le nutre. Molti lavori e ricerche sono in corso per capire ed investigare in pieno il ruolo del regime metronomico associato o meno alla chemioterapia tradizionale; per questo motivo, tuttavia, la chemioterapia metronomica deve essere considerata ancora un terapia "sperimentale" e non una terapia già standardizzata.

BIBLIOGRAFIA CONSIGLIATA

1. Bocci G., Francia G., Man S., Lawler J., Kerbel R.S. *Thrombospondin-1, a mediator of the antiangiogenic effects of low-dose metronomic chemotherapy. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America, 2003, 100, 12917-12922.*
2. Elmslie R.E., Glawe P., Dow S.W. *Metronomic therapy with cyclophosphamide and piroxicam effectively delays tumor recurrence in dogs with incompletely resected soft tissue sarcomas. Journal of Veterinary Internal Medicine, 2008, 22, 1373-1379.*
3. Lana S., U'ren L., Plaza S., Elmslie R., Gustafson D., Morley P., Dow S. *Continuous Low-Dose Oral Chemotherapy for Adjuvant Therapy of Splenic Hemangiosarcoma in Dogs. Journal of Veterinary Internal Medicine, 2007, 21, 764-769.*
4. Marchetti V., Giorgi M., Fioravanti A., Finotello R., Citi S., Canu B., Orlandi P., Di Desiderio T., Danesi R., Bocci G. *First-line metronomic chemotherapy in a metastatic model of spontaneous canine tumours: a pilot study. Investigational New Drugs, 2012, 30, 1725-1730.*
5. Mutsaers A.J. *Metronomic Chemotherapy. Topics in Companion Animal Medicine, Vol.24, No.3, August 2009.*
6. Mutsaers A.J., Mohammed S.I., De Nicola D.B. et al. *"Metronomic" chemotherapy in veterinary oncology, a pilot study. Proceedings of the 21st Veterinary Cancer Society Conference. Baton Rouge, LA, 2001.*
7. Pierini A, Bocci G, Giorgi M, Owen H and Marchetti V. *From humans to dogs and back: the translational lesson of metronomic chemotherapy. American Journal of Animal and Veterinary Science, 2012, 7, 198-212.*

IMPIANTO DI ACCESSI VASCOLARI PERMANENTI IN CHEMIOTERAPIA VETERINARIA (VAPS)

Valentini F.

Il port è una camera totalmente impiantabile connessa ad un catetere venoso centrale che permette l'infusione di farmaci, chemioterapici, antibiotici, nutrienti, sangue ed emo-derivati. Permette, inoltre, il prelievo ematico. L'impianto di un port è indicato in pazienti sottoposti a terapie a lungo termine con farmaci dannosi se somministrati per via periferica. Esistono diverse tipologie di port (monocamera con catetere a punta aperta, monocamera con catetere a punta chiusa, bicamere con catetere bilume a punta aperta). Nella maggior parte delle terapie infusionali vengono utilizzati i port monocamera con catetere a punta aperta. La gestione del catetere a punta aperta prevede sempre il lavaggio finale con soluzione eparinizzata mentre quelli a punta chiusa (più recenti) vengono lavati semplicemente con soluzione fisiologica. I materiali più comunemente utilizzati per i port sono il titanio e la plastica. Quest'ultima è un materiale leggero,

economico e compatibile con la risonanza magnetica, tuttavia, durata e biocompatibilità sono inferiori rispetto al titanio che però è più costoso e interferisce con la risonanza magnetica. I materiali più utilizzati per i cateteri, invece, sono il silicone e il poliuretano. Il silicone ha un'ottima biocompatibilità, è chimicamente molto stabile e morbido (non danneggia il vaso durante l'introduzione); è costoso. Il poliuretano, a dispetto di un minor costo, ha una biocompatibilità inferiore ed è più rigido. L'utilizzo del port è strettamente connesso con quello degli aghi di Huber. L'utilizzo dei comuni aghi ipodermici può portare al distacco di piccoli frammenti di silicone dal setto; ciò può portare alla fuoriuscita del farmaco o all'occlusione del catetere. Gli aghi di Huber, invece, preservano l'integrità del setto in silicone garantendone l'efficienza anche dopo un numero elevato di punture. Anche il diametro dell'ago influenza la durata del setto. Esistono aghi dritti o angolati a seconda dell'uso e dei tempi di somministrazione. Di solito, per gli agenti citotossici che hanno una viscosità media, si utilizzano aghi di 20-22 G di diametro. Tra i vantaggi nell'uso degli aghi di Huber vi è la maggior facilità di inserimento poichè è richiesta minor forza per attraversare il setto, sono più facili da estrarre e meno dolorosi per il paziente. In medicina umana i port vengono innestati in anestesia locale; in veterinaria, invece, in anestesia generale rispettando tutti i criteri di asepsi. Paziente in decubito laterale, tricotomia della regione giugulare estesa fino alla sede di impianto del port (regione interscapolare) e disinfezione chirurgica. Nella regione sovrastante la scapola viene creata una tasca sottocutanea a forma di semi-luna che accoglierà il port. Viene inserito in vena giugulare esterna (in medicina umana viene usata la vena giugulare interna), per via per cutanea, un ago per venipuntura da 18 G all'interno del quale viene inserita una guida flessibile in acciaio con punta a J; inserita la guida, viene rimosso l'ago e sostituito da un introduttore/dilatatore "peel-away". Successivamente viene rimossa la guida metallica ed inserito il catetere centimetrato fino al terzo-quarto spazio intercostale (la punta del catetere va posizionata nella giunzione tra vena cava craniale e atrio destro). Viene rimosso l'introduttore "peel-away" e fissato momentaneamente il catetere al valore centimetrico desiderato. Si congiunge la tasca d'impianto all'emergenza del catetere giugulare tramite un tunnellizzatore in acciaio al cui terminale gommato viene inserita l'estremità del catetere che viene quindi trasportata a ritroso lungo il tunnel sottocutaneo fino alla tasca di impianto. A questo punto il port ed il catetere vengono fissati tramite un connettore ed il port fissato ai muscoli tramite punti nodosi staccati. Si copre l'impianto con il lembo di cute della tasca e si sutura come di routine. Si eseguono lavaggi prima con soluzione fisiologica e poi eparinizzata.

Subito dopo l'impianto si esegue un controllo radiografico per valutare il posizionamento del Catetere. I VAP (Vascular Access Port) consentono prelievi ed infusioni ripetute in soggetti in terapie di lunga durata; hanno un impatto positivo sul paziente poichè si evita il contenimento e si riduce il

danno continuo alle vene periferiche utilizzate per la somministrazione di chemioterapici. Le complicanze più frequenti sono legate all'anestesia, all'errata tecnica chirurgica, trombosi e sepsi. Le infezioni possono essere legate alla patologia, alla presenza di neutropenia, ad una batteriemia in atto o al sito di inserimento contaminato; inoltre, in medicina umana, l'accesso dalla vena femorale sembra associato ad un rischio maggiore di infezione rispetto alla vena succlavia e giugulare. Il port viene tollerato molto bene e permette al paziente di avere una vita normale; anche le procedure di somministrazione dei chemioterapici vengono agevolate in termini di tempo e di rischio. Le vene periferiche non subiscono più danni sclerosanti ed infiammatori e questo giova alla qualità di vita del paziente. La complicazione di maggior impatto, limitatamente alla casistica personale, sembra essere quella settica. Per migliorare ulteriormente la precisione nel posizionamento del catetere può essere di supporto una guida ecografica intra-operatoria oppure un intensificatore di brillantezza.

BIBLIOGRAFIA CONSIGLIATA

1. Aubert I., Abrams-Ogg A.C.G., Sylvestre a.M., Dyson D.H., Allen D.G., Johnstone I.B. The use of vascular access ports for blood collection in feline blood donors. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 2001, 75, 25-34.
2. Cahalane A.K., Rassnick K.M., Flanders, J.A. Use of vascular access ports in femoral veins of dogs and cats with cancer. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2007, 231, 1354-1360.
3. Donald F.D. Placement and management of long-term central venous access catheters and ports. *American Journal of Radiology*, 1993, 161, 385-393.
4. Graham M.L., Rieke E.F., Dunning, M. Mutch L.A., Craig, A.M., Zolondek E.K., Hering B.J., Schuurman H.J., Bianco R.W. A novel alternative placement site and technique for totally implantable vascular access ports in non-human primates. *Journal of Medical Primatology*, 2009, 38, 204-212.
5. Graham M.L., Rieke E.F., Wijkstrom M., Dunning, M., Aasheim T.C., Graczyk M.J., Pilon, K.J., Hering, B.J Risk factors associated with surgical site infection and the development of short-term complications in macaques undergoing indwelling vascular access port placement. *Journal of Medical Primatology*, 2008, 37, 202-209.
6. Henry C.J., Russel L.E., Tyle, J.W., Buss M.S., Seguin, B., Cambridg, A.J. Comparison of hematologic and biochemical values for blood samples obtained via jugular venipuncture and via vascular access ports in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2002, 220, 482-485.
7. Massari F., Romanelli G. Clinical experience with subcutaneous implant systems for intravenous therapies. *Veterinaria*, 2008, 22,43-50.
8. Taketoh J., Komatsu S., Adachi K., Takai R., Asanuma, K. Application of an indwelling vascular access port for intravenous administration in a repeated and intermittent dose toxicity study in rats. *The Journal of toxicological Sciences*, 2009, 34, 39-52.
9. Valentini F., Fassone F., Pozzebon A., Gavazza A., and Lubas G. Use of totally implantable vascular access port with mini-invasive Seldinger technique in 12 dogs undergoing chemotherapy. *Research in Veterinary Science*, 2013, 94, 152-157.

STRATEGIE DI CHEMIOTERAPIA LOCO-REGIONALE

Spugnini E.P.

La chemioterapia sistemica è ancora oggi la strategia terapeutica più comunemente usata nel trattamento dei tumori solidi, nonostante alcune sue limitazioni (in particular modo la tossicità) che ne ostacolano l'

efficacia. La strategia più frequentemente adottata prevede la somministrazione pulsatile di farmaci citostatici usando la massima dose tollerata (MDT). Purtroppo gli intervalli, spesso lunghi, tra le somministrazioni permettono non solo il recupero del paziente dagli effetti collaterali (specialmente la mielosoppressione), ma anche il recupero da parte delle cellule neoplastiche. Inoltre la terapia sistemica non è sempre efficiente nel far pervenire i farmaci nei siti affetti da malattia tumorale nonché nel mantenere un' adeguata concentrazione terapeutica nei siti medesimi. Fattori limitanti per una corretta veicolazione del farmaco nell' organo(i) bersaglio sono: il ruolo del sistema circolatorio e delle proteine plasmatiche che possono legarsi ai farmaci antitumorali, il ruolo dello spazio interstiziale, ruolo dei capillari nel rimuovere il farmaco dal suo bersaglio ed infine, ma non ultimi per importanza, il ruolo della struttura e della composizione del tessuto che influenza grandemente la distribuzione ultima del farmaco. Di conseguenza, spesso solo una frazione del chemioterapico somministrato raggiunge le cellule tumorali, cosa che influenza negativamente, la sua efficacia. Tra le strategie volte ad implementare l' efficacia degli antitumorali vanno annoverate la chemioterapia intracavitaria e l' elettrochemioterapia.

Chemioterapia intracavitaria

La chemioterapia intracavitaria è stata inizialmente concepita, in oncologia umana, per il trattamento di tumori intracavitari incurabili. Più recentemente è stata usata con intento curativo per neoplasie localmente aggressive quali il carcinoma ovarico od il mesotelioma. Gli effetti collaterali di tale strategia terapeutica possono essere fastidio o dolore dovuti all' inoculazione di grandi volumi di fluidi, irritazione chimica od infezione opportunista. I vantaggi di tale approccio sono: 1) possibilità di raggiungere concentrazioni maggiori di farmaco in pazienti affetti da versamento neoplastico 2) una più uniforme distribuzione del farmaco indipendentemente dalla vascolarizzazione del tumore 3) possibilità di ottenere concentrazioni plasmatiche simili a quelle ottenute per via endovenosa, ottenendo una concentrazione fino a 3 volte maggiore negli strati più superficiali della neoplasia cavitaria. In uno studio su 20 cani sani si è osservato che la somministrazione di cisplatino intraperitoneale otteneva una maggiore concentrazione di farmaco a livello di omento, piccoli intestino e diaframma, rispetto a quella ottenuta per somministrazione endovenosa. Nell'adozione della modalità di somministrazione intracavitaria, bisogna assicurarsi di diluire il farmaco in un volume adeguato di fluidi in modo da ottenere una distribuzione adeguata così da raggiungere una concentrazione di farmaco efficace su tutte le superfici della cavità trattata. In oncologia veterinaria tale metodica è stata prevalentemente utilizzata per il trattamento/palliazione di effusioni maligne secondarie a mesotelioma e carcinomatosi addominale. Farmaci di elezione sono stati i platinati, in particolar modo il cisplatino (per pazienti canini) ed il carboplatino (per pazienti canini con insufficienza renale o per pazienti felini che non possono ricevere cisplatino a causa del rischio di edema polmonare fulminante). Moore e colleghi riportano la

riuscita palliazione di effusione pleurica od addominale secondaria a malignità in 5 pazienti su 6. Un risultato simile è stato ottenuto alternando mitoxantrone e carboplatino nel trattamento di 12 cani affetti da carcinomatosi, sarcomatosi e mesotelioma. In un case report di Olsen e colleghi, viene riportata un periodo di 6 mesi di remissione completa in una cagna trattata con cisplatino intracavitario per metastasi intracelomatiche di carcinoma ovarico. Più recentemente doxorubicina incapsulata in liposomi è stata usata per via intracavitaria nel trattamento dell' emangiosarcoma splenico in 14 cani, la terapia è stata ben tollerata e la via cavitaria ha permesso concentrazioni ematiche sovrapponibili a quelle ottenute con somministrazione endovenosa, purtroppo tale strategia non ha prevenuto la disseminazione metastatica della neoplasia. Dei pazienti arruolati nello studio due sono deceduti per altre cause mentre gli altri 12 sono morti per metastasi epatiche ed emoperitoneo. Gli effetti collaterali sono risultati essere tossicità cardiaca grado I in 1 cane, peritonite chimica in 2 cani, trattata con corticosteroidi ed antinfiammatori ed un caso di eritrodismetria palmoplantare. Infine, un report descrive la riuscita associazione di piroxicam con platinati nel trattamento di mesotelioma in cani e gatti, studio effettuato sulla base di risultati ottenuti in modelli murini. L'altro distretto cavitario ove tale terapia è stata impiegata è la vescica in pazienti affetti da carcinoma transizionale. Tale patologia neoplastica, nonostante il suo consistente potenziale metastatico, induce la morte nel 50% dei pazienti in seguito ad ostruzione delle vie urinarie. In generale la terapia intravesicale è stata usata come palliativo per malattia avanzata o come strategia per ottenere un maggior controllo dopo chirurgia incompleta, tenendo presente che il chemioterapico, quale che esso sia, esercita la sua azione antitumorale nei primi due millimetri di tessuto vescicale. Attualmente, diversamente da quanto accaduto con la terapia intracavitaria addominale ed intratoracica, sono stati fatti solo alcuni studi preliminari usando la mitomicina C ed il paclitaxel ma non sono ancora disponibili dati sull'efficacia della terapia, che probabilmente verranno generati nel corso di studi futuri. In generale, va esercitata la massima cautela nell'effettuare tali metodiche, sia tenendo conto dello stato di malattia avanzata nel quale versano la maggior parte dei pazienti, sia considerando il rischio di esposizione ai chemioterapici per il personale sanitario ed anche per i proprietari.

BIBLIOGRAFIA CONSIGLIATA

1. Abbo A.H., Jones D.R., Masters A.R., Stewart J.C., Fourze L., Knapp D.W. Phase I clinical trial and pharmacokinetics of intravesical mitomycin C in dogs with localized transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2010, 24, 1124-30.
2. Bijelic L., Sugarbaker P.H., Stuart O.A. Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy with melphalan: a summary of clinical and pharmacological data in 34 patients. *Gastroenterology Research and Practice*, 2012, 2012, 27534.
3. Charney S.C., Bergman P.J., McKnight J.A., Farrelly J., Novosad C.A., Leibman N.F., Camps-Palau M.A.. Evaluation of intracavitary mitoxantrone and carboplatin for treatment of carcinomatosis, sarcomatosis and mesothelioma, with or without malignant effusions: A retrospective analysis of 12 cases (1997-2002). *Veterinary Comparative Oncology*, 2005, 3,

- 171-81.
4. Clifford C.A., Mackin A.J., Henry C.J. *Treatment of canine hemangiosarcoma: 2000 and beyond. Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2000, 14, 479-85.
 5. Hu L., Wientjes M.G., Li J., Au J.L. *Bladder tissue pharmacokinetics of intravesical mitomycin C and suramin in dogs. The American Association of Pharmaceutical Scientists Journal*, 2010, 12, 586-91.
 6. Lu Z., Yeh T.K., Wang J., Chen L., Lyness G., Xin Y, Wientjes M.G., Bergdall V., Couto G., Alvarez-Berger F, Kosarek C.E., Au J.L. *Paclitaxel gelatin nanoparticles for intravesical bladder cancer therapy. Journal of Urology*, 2011, 185, 1478-83.
 7. Moore A.S., Kirk C., Cardona A. *Intracavitary cisplatin chemotherapy experience with six dogs. Journal of Veterinary Internal Medicine*, 1991, 227-231.
 8. Olsen J., Komtebedde J., Lackner A., Madewell B.R. *Cytoreductive Treatment of Ovarian Carcinoma in a Dog. Journal of Veterinary Internal Medicine*, 1994, 8, 33-135.
 9. Sugarbaker P.H., Chang D., Stuart A.O. *Hyperthermic Intraoperative Thoracoabdominal Chemotherapy. Gastroenterology Research and Practice*, 2012; 2012:623417.
 10. Sugarbaker P.H., Bijelic L. *Adjuvant bidirectional chemotherapy using an intraperitoneal port. Gastroenterology Research and Practice*, 2012; 2012:752643.
 11. Sorenmo K., Samluk M., Clifford C, Baez J., Barrett J.S., Poppenga R, Overley B., Skorupski K., Oberthaler K, Van Winkle .T, Seiler G., Shofer F. *Clinical and pharmacokinetic characteristics of intracavitary administration of pegylated liposomal encapsulated doxorubicin in dogs with splenic hemangiosarcoma. Journal Of Veterinary Internal Medicine*, 2007, 21, 1347-54.
 12. Van der Speeten K., Govaerts K., Stuart O.A., Sugarbaker P.H. *Pharmacokinetics of the perioperative use of cancer chemotherapy in peritoneal surface malignancy patients. Gastroenterology Research and Practice*, 2012; 2012:378064.
 13. Van der Speeten K., Stuart O.A., Sugarbaker P.H. *Pharmacology of perioperative intraperitoneal and intravenous chemotherapy in patients with peritoneal surface malignancy. Surgical oncology clinics of North America*, 2012, 21, 577-97.
 14. Spugnini E.P., Crispi S., Scarabello A, Caruso G., Citro G., Baldi A. *Piroxicam and intracavitary platinum-based chemotherapy for the treatment of advanced mesothelioma in pets: preliminary observations. Journal of experimental & clinical cancer research : CR*, 2008, 27:6.
 15. Zauderer M.G., Krug L.M. *The Evolution of Multimodality Therapy for Malignant Pleural Mesothelioma. Current Treatment Options in Oncology*, 2011; 12: 163–172.

Elettrochemioterapia

L'elettrochemioterapia è una metodica di veicolazione del farmaco antitumorale che trae vantaggio dall'azione permeabilizzante esercitata da alcuni tipi di impulso elettrico sulla membrana citoplasmatica. Essendo la maggioranza dei farmaci chemioterapici molecole lipofobiche, la membrana citoplasmatica rappresenta il maggior ostacolo alla diffusione degli antitumorali nella cellula tumorale. Il fatto che tali molecole entrino per diffusione (ad esempio: cisplatino) oppure mediante carrier di membrana (metotressato, bleomicina) e che la cellula tumorale spesso ostacoli tale passaggio mediante pompe di membrana (ad esempio la glicoproteina gp-170), fa sì che spesso non si raggiungano concentrazioni terapeutiche di farmaco a livello di bersaglio molecolare.

L'applicazione di impulsi permeabilizzanti (quadratici o, più spesso, bifasici), induce il riarrangiamento dei lipidi di membrana e, soprattutto, cambia la struttura ternaria e quaternaria delle proteine con conseguente raggruppamento e formazione di pseudo canali e pori transienti che permettono una captazione di molecole terapeutiche maggiorata fino a 700 volte. I primi studi sull'elettrochemioterapia in oncologia veterinaria sono del 2001 e del 2003, rispettivamente. Il primo studio

ha valutato impulsi ad onda quadra e cisplatino nel trattamento di neoplasie dei tessuti molli nel cane, il secondo ha valutato la bleomicina impiegando impulsi ad onda bifasica. Entrambi gli studi hanno riportato una percentuale di risposte parziali e totali pari ad 80%. Negli anni successivi l'elettrochemioterapia è stata utilizzata con successo nel trattamento diretto di tumori perianali, melanoma, sarcomi di sticker, linfomi cutanei (in pazienti selezionati), ganglio neuroblastoma, carcinoma delle ghiandole apocrine e carcinomi attinici del setto nasale. Più recentemente tale metodica è stata usata anche nel trattamento del mastocitoma in una piccola coorte di cani. Localmente l'elettrochemioterapia induce morte apoptotica delle cellule con flogosi secondaria e migrazione di granulociti, linfociti e plasmacellule nel focolaio tumorale, a questo fa seguito una massiccia sclerosi tissutale con cicatrizzazione.

Tuttavia, considerando che la componente sclerotica delle neoplasie rappresenta il principale ostacolo ad una efficiente elettroporazione, l'elettrochemioterapia trova la sua massima espressione in modalità adiuvante, cioè per sterilizzare il letto operatorio dopo l'escissione di neoplasie solide. L'elettrochemioterapia adiuvante viene di solito impiegata 7-10 dopo l'escissione chirurgica della neoplasia e ripetuta dopo 2 settimane. In alcuni pazienti con neoplasia a crescita rapida la prima sessione di elettrochemioterapia è stata effettuata in modalità intraoperatoria per timore di recidiva precoce. Tale metodica è stata impiegata nel trattamento di sarcomi felini e canini e mastocitomi, impiegando cisplatino o bleomicina iniettati localmente e poi seguiti dall'applicazione di impulsi elettrici permeabilizzanti. Tale strategia terapeutica è risultata in un'alta percentuale di controllo a lungo termine, specialmente il mastocitoma sembra essere responsivo a tale terapia con una percentuale di controllo dell' 85%. Fattori prognostici identificati in uno studio sul sarcoma felino trattato con elettrochemioterapia sono risultati essere: 1) precedenti trattamenti terapeutici 2) dimensioni del letto tumorale da trattare.

Alcuni case reports suggeriscono un possibile impiego in modalità neoadiuvante in pazienti selezionati che non possono essere trattati chirurgicamente a causa della volumetria tumorale. Una citoriduzione mediante elettrochemioterapia ha talora permesso delle chirurgie conservative in pazienti con malattia oncologica avanzata. Tale approccio va impiegato con cautela a causa del rischio di sindrome da lisi tumorale acuta o di rilascio di fattori pro-trombogeni e anticoagulativi da parte di neoplasie di dimensioni ragguardevoli. Tale rischio è legato alla dimensione della massa tumorale indipendentemente dalla strategia farmacologica citoriduttrice adottata. Infine, un recente studio nel quale il cisplatino è stato impiegato come farmaco antitumorale in una coorte di gatti affetti da fibrosarcoma, senza effetti collaterali a breve o lungo termine, suggerisce che questa metodica possa essere adottata per favorire la reintroduzione di farmaci con un indice terapeutico ristretto negli schemi terapeutici correntemente adottati.

In conclusione, l'elettrochemioterapia rappresenta una nuova strategia antitumorale con ampi campi di

applicazione e tossicità contenute che merita ulteriori investigazioni cliniche, cautela va esercitata nel valutare la sua associazione con la radioterapia alla luce di un caso di radiation recall riportato in letteratura veterinaria.

BIBLIOGRAFIA CONSIGLIATA

- Kodre V., Cemazar M., Pecar J., Sersa G., Cor A., Tozon N. Electrochemotherapy compared to surgery for treatment of canine mast cell tumours. *In Vivo*, 2009, 23, 55-62.
- Spugnini E.P., Baldi F., Mellone P., Feroce F., D'Avino A., Bonetto F., Vincenzi B., Citro G., Baldi A. Patterns of tumor response in canine and feline cancer patients treated with electrochemotherapy: preclinical data for the standardization of this treatment in pets and humans. *Journal of Translational Medicine*, 2007, 5:48.
- Spugnini E.P., Baldi A., Vincenzi B., Bongiorno F., Bellelli C., Citro G., Porrello A. Intraoperative versus postoperative electrochemotherapy in high grade soft tissue sarcomas: a preliminary study in a spontaneous feline model. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2007, 59, 375-381
- Spugnini E.P., Citro G., Dotsinsky I., Mudrov N., Mellone P., Baldi A. Ganglioneuroblastoma in a cat: a rare neoplasm treated with electrochemotherapy. *Veterinary Journal*, 2008, 178, 291-293.
- Spugnini E.P., Citro G., Mellone P., Dotsinsky I., Mudrov N., Baldi A. Electrochemotherapy for localized lymphoma: a preliminary study in companion animals. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*, 2007, 26, 343-346.
- Spugnini EP, Dotsinsky I, Mudrov N, Cardosi G, Citro G, D'Avino A, Baldi A. Biphasic pulses enhance bleomycin efficacy in a spontaneous canine perianal tumors model. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*, 2007, 26, 483-7
- Spugnini E.P., Dotsinsky I., Mudrov N., Bufalini M., Giannini G., Citro G., Feroce F., Baldi A. Adjuvant electrochemotherapy for incompletely excised anal sac carcinoma in a dog. *In Vivo*, 2008, 22, 47-49.
- Spugnini E.P., Dotsinsky I., Mudrov N., Citro G., Caruso G, Cardelli P., Baldi A. Electrochemotherapy-induced radiation recall in a cat. *In Vivo*, 2008, 22, 751-753.
- Spugnini E.P., Dotsinsky I., Mudrov N., Citro G., D'Avino A, Baldi A. Biphasic pulses enhance bleomycin efficacy in a spontaneous canine genital tumor model of chemoresistance: Sticker sarcoma. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*, 2008, 27, 58.
- Spugnini E.P., Dotsinsky I., Mudrov N., De Luca A., Codini C., Citro G., D'Avino A., Baldi A. Successful rescue of an apocrine gland carcinoma metastatic to the cervical lymph nodes by mitoxantrone coupled with trains of permeabilizing electrical pulses (electrochemotherapy). *In Vivo*, 2008, 22, 51-53.
- Spugnini E.P., Dragonetti E., Vincenzi B, Onori N. Citro G., Baldi A. Pulse-mediated chemotherapy enhances local control and survival in a spontaneous canine model of primary mucosal melanoma. *Melanoma Research*, 2006, 16, 23-27.
- Spugnini E.P., Fanciulli M, Citro G, Baldi A. Preclinical models in electrochemotherapy: the role of veterinary patients. *Future Oncology*, 2012, 8, 829-837.
- Spugnini E.P., Filipponi M, Romani L., Dotsinsky I., Mudrov N., Citro G., Baldi A. Electrochemotherapy treatment for bilateral pleomorphic rhabdomyosarcoma in a cat. *Journal of Small Animal Practice*, 2010, 51, 330-332.
- Spugnini E.P., Filipponi M., Romani L, Dotsinsky I, Mudrov N, Baroni A., Ruocco E., Laieta M.T, Montesarchio V., Cassandro R., Citro G., Baldi A. Local control and distant metastasis after electrochemotherapy of a canine anal melanoma. *In Vivo*, 2007, 21, 897-899.
- Spugnini E.P., Porrello A. Potentiation of chemotherapy in companion animals with spontaneous large neoplasms by application of biphasic electric pulses. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*, 2003, 22, 571-580.
- Spugnini E.P., Renaud S.M., Buglioni S., Carocci F., Dragonetti E, Murace R., Cardelli P., Vincenzi B., Baldi A., Citro G. Electrochemotherapy with cisplatin enhances local control after surgical ablation of fibrosarcoma in cats: an approach to improve the therapeutic index of highly toxic chemotherapy drugs. *Journal of Translational Medicine*, 2011, 9, 152.
- Spugnini E.P., Vincenzi B., Baldi F., Citro G., Baldi A. Adjuvant electrochemotherapy for the treatment of incompletely

resected canine mast cell tumors. *Anticancer Research*, 2006 26(6B), 4585-4589.

- Spugnini E.P., Vincenzi B., Betti G., Cordahi F., Dotsinsky I., Mudrov N., Citro G., Baldi A. Surgery and electrochemotherapy of a high-grade soft tissue sarcoma in a dog. *Veterinary Record*, 2008, 162, 186-188.
- Spugnini E.P., Vincenzi B., Citro G., Dotsinsky I., Mudrov T., Baldi A. Evaluation of Cisplatin as an electrochemotherapy agent for the treatment of incompletely excised mast cell tumors in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2011, 25, 407-411.
- Spugnini E.P., Vincenzi B., Citro G., Santini D., Dotsinsky I., Mudrov N., Montesarchio V., Laieta M.T., Esposito V., Baldi A. Adjuvant electrochemotherapy for the treatment of incompletely excised spontaneous canine sarcomas. *In Vivo*, 2007, 21, 819-22.
- Spugnini E.P., Vincenzi B., Citro G, Tonini G., Dotsinsky I., Mudrov N., Baldi A. Electrochemotherapy for the treatment of squamous cell carcinoma in cats: a preliminary report. *Veterinary Journal*, 2009, 179, 117-20.
- Tozon N., Kodre V., Sersa G., Cemazar M. Effective treatment of perianal tumors in dogs with electrochemotherapy. *Anticancer Research*, 2005, 25:839-845.
- Tozon N., Sersa G., Cemazar M. Electrochemotherapy: potentiation of local antitumour effectiveness of cisplatin in dogs and cats. *Anticancer Research*, 2001, 21, 2483-8.

NUOVE TECNICHE DI SOMMINISTRAZIONE INTRACAVITARIA: IL PORT PLEURICO

Valentini F.

I port pleurici sono dispositivi totalmente impiantabili connessi ad un catetere in silicone fenestrato e radiopaco finalizzati ad ottenere ripetuti e semplici accessi alla cavità pleurica. Questo sistema permette la somministrazione di chemioterapici per via intracavitaria in maniera estremamente sicura ed di drenare versamenti pleurici in maniera estremamente efficiente. Il port pleurico è indicato in quei pazienti affetti da versamenti toracici maligni cronici che richiedono frequenti toracocentesi ed in soggetti oncologici sottoposti a chemioterapia intracavitaria.

Il sistema è costituito da due componenti principali: un port sottocutaneo in titanio avente un setto in silicone ed un catetere in silicone radio-opaco fenestrato. L'impianto del port viene fatto in anestesia generale con il paziente in decubito laterale; dopo aver provveduto ad una disinfezione chirurgica del campo operatorio, viene fatta una piccola incisione cutanea (1-2 cm) nel terzo dorsale del torace all'altezza della decima costa. La punta del catetere viene tunnelizzata sotto la cute per mezzo di una pinza emostatica per 2-3 spazi intercostali in direzione craniale. A questo punto la pinza emostatica viene posizionata perpendicolarmente al torace e quindi viene applicata una pressione per entrare nello spazio pleurico. Una volta dentro, la pinza emostatica viene mantenuta lievemente aperta per permettere l'inserimento progressivo di tutta la componente fenestrata del catetere nello spazio pleurico. Sul margine dorsale della scapola viene creata una tasca sottocutanea a forma di semi-luna disseccando i tessuti per via smussa. Si procede quindi a creare un tunnel sottocutaneo dalla tasca a semiluna fino all'ingresso del port pleurico. La punta del catetere viene collegata al tunnelizzatore al quale viene fatto ripercorrere il percorso sottocutaneo a ritroso fino al sito d'ingresso del port. A questo punto il catetere viene collegato al

port. Il port viene accolto nella tasca sottocutanea ed assicurato alla fascia sottocutanea per mezzo di punti nodosi staccati di materiale monofilamento. A questo punto viene testata la pervietà e funzionalità del port utilizzando un ago di Huber ed iniettando 10 ml di soluzione eparinizzata. Successivamente l'incisione viene chiusa come di routine. Esiste anche una tecnica mini-invasiva o di Seldinger per l'applicazione dei port pleurici che utilizza un introduttore peel-away ed una guida metallica.

In due cani affetti da effusione neoplastica l'inserimento del port pleurico ha permesso di somministrare chemioterapia intracavitaria (carboplatino ogni 3 settimane) e facilitare il drenaggio del versamento ogni due settimane circa. Il tempo richiesto per il drenaggio è risultato nettamente inferiore rispetto alla normale toracocentesi in rapporto anche all'efficacia della procedura; ogni procedura effettuata con il port pleurico ha determinato minimo stress all'animale rispetto alle stesse procedure con tecnica tradizionale. L'intervallo tra due successivi drenaggi pleurici è risultato più lungo utilizzando il port rispetto alla tecnica standard. La chemioterapia intracavitaria è stata somministrata con il massimo della chemio-sicurezza sia per l'operatore che per il paziente. Nessuna complicazione a breve o lungo termine è stata rilevata o segnalata dal proprietario che in entrambi i casi è rimasto entusiasta della qualità di vita del proprio animale. Il port pleurico si è rivelato uno strumento estremamente utile ed efficace nel trattamento palliative dei versamenti maligni. Il port pleurico permette al veterinario di effettuare procedure di chemioterapia intracavitaria nella massima sicurezza in pazienti con versamenti neoplastici arrecando il minimo stress al paziente.

BIBLIOGRAFIA CONSIGLIATA

1. Valentini F. *Impianto di port vascolari e pleurici in chirurgia veterinaria. Atti del 73° Congresso Nazionale SCIVAC: La chirurgia che i libri non ci raccontano, 2012, 26-28 ottobre 2012 Arezzo.*

FARMACI A BERSAGLIO MOLECOLARE

Valentini F.

Negli ultimi decenni, grazie ai progressi della biologia molecolare, si è fatta strada una nuova strategia per combattere i tumori nota col nome di terapia a bersaglio molecolare. Rispetto alla chemioterapia "tradizionale" che vede nel DNA e nelle fasi della divisione cellulare i principali targets su cui agire, questi nuovi farmaci agiscono a monte di pathways molecolari responsabili della trasduzione del segnale. Il grande vantaggio di questi trattamenti è la capacità di "risparmiare" le cellule sane evitando così i classici effetti collaterali riscontrati invece in corso di chemioterapia. Purtroppo, nella realtà, questo non sempre è vero e molti delle molecole a bersaglio non sono esenti dal provocare effetti avversi. Nello specifico, i bersagli presi di mira dalla target therapy, possono essere costituiti da recettori, fattori di crescita, enzimi, deputati alla sopravvivenza del tumore (crescita e/o metastasi). Sono due le tipologie di farmaci a bersaglio molecolare:

1. Piccole molecole ad attività inibente (agiscono su bersagli endocellulari).
2. anticorpi monoclonali (agiscono a livello membranario od extra-cellulare).

Tra i farmaci della prima categoria, ricordiamo come esempio, l'imatinib (Gleevec) che, bloccando l'attività del recettore c-kit, ha rivoluzionato, in medicina umana, il trattamento e la prognosi della leucemia mieloide cronica e dei GIST (tumori stromali dell'apparato gastroenterico).

Nella seconda categoria, ricordiamo, sempre come esempio riferito alla medicina umana, ed in particolare al tumore mammario della donna, l'anticorpo monoclonale trastuzumab (Herceptin) che blocca l'attività del recettore HER2.

Le piccole molecole ad attività inibente possono essere assunte per via orale mentre gli anticorpi monoclonali devono essere assunti per via parenterale. L'estrema selettività di questi farmaci, purtroppo, non permette a tutti i pazienti di beneficiare del trattamento; solamente coloro che esprimono il bersaglio per cui il farmaco è stato "progettato" possono accedere alla terapia con possibilità di successo. Molti tumori riescono a progredire attraverso la sovraespressione di più segnali deputati alla proliferazione, invasività e metastasi ed è per questo che spesso l'azione su un solo bersaglio molecolare non è sufficiente. Oggi, infatti, vengono usate spesso delle "associazioni" tra un farmaco a bersaglio e chemioterapia tradizionale.

In medicina veterinaria, al momento, sono due i farmaci a bersaglio disponibili nel mercato e registrati per il trattamento del mastocitoma cutaneo canino non resecabile o metastatico:

1. Masitinib (Masivet, AB Science)
2. Toceranib (Palladia, Pfizer Animal Health)

Il primo inibisce la forma mutata di c-Kit, ed è stato approvato per il trattamento dei mastocitomi canini non resecabili (grado 2 o 3). Inibisce inoltre il PDGF e il recettore del fattore di crescita dei fibroblasti (FGFR3). Il secondo possiede sia attività antitumorale diretta sia attività anti-angiogenica ed agisce sul recettore del fattore di crescita endoteliale vascolare 2 (VEGFR2), sul recettore del fattore di crescita di derivazione piastrinica (PDGFR) e sul recettore del fattore della cellula staminale (c-Kit).

BIBLIOGRAFIA CONSIGLIATA

1. Hahn K.A., Legendre A.M., Shaw N.G., Phillips B., Ogilvie G.K., Prescott D.M., Atwater S.W., Carreras J.K., Lana S.E., Ladue T., Rusk A., Kinet J.P., Dubreuil P., Moussy A., Hermine O.
2. Evaluation of 12- and 24-month survival rates after treatment with masitinib in dogs with nonresectable mast cell tumors. *American Journal of Veterinary Research*, 2010, 71, 1354-61.
3. London C.A., Malpas P.B., Wood-Follis S.L., Boucher J.F., Rusk A.W., Rosenberg M.P., Henry C.J., Mitchener K.L., Klein M.K., Hintermeister J.G., Bergman P.J., Couto G.C., Mauldin G.N., Michels G.M. Multi-center, placebo-controlled, double-blind, randomized study of oral toceranib phosphate (SU11654), a receptor tyrosine kinase inhibitor, for the treatment of dogs with recurrent (either local or distant) mast cell tumor following surgical excision. *Clinical Cancer Research*, 2009, 15, 3856-65.
4. Marconato L., Amadori D. *Oncologia Medica Veterinaria e Comparata, Capitolo 17, Poletto Editore, Milano, 2012, 216-218.*
5. Strebhardt K., Ullrich A. *Paul Ehrlich's magic bullet concept: 100 years of progress. Nature Reviews. Cancer*, 2008, 8:473-80.