

Principi di chemioterapia antineoplastica in oncologia clinica canina e felina

Stefanello D. DVM

Dipartimento di Scienze Veterinarie e Sanità Pubblica. Università degli Studi di Milano

SUMMARY

Basic information of cancer chemotherapy in canine and feline clinical oncology

Veterinary cancer chemotherapy is now of established value and a highly specialized field and it's one of the most important treatment strategy for spontaneous malignant neoplasia in dogs and cats. Many different drugs have been identified as having anti-cancer activity and they can be used as single agent or in association with other antineoplastic drugs. These agents can be divided into groups on the basis of their mode of action (cell cycle phase specific or non specific), anti-tumour activity and toxicity. Alkylating agents, anti-tumour antibiotics and some of the miscellaneous agents interfere with the replication and transcription of DNA. Antimetabolites interfere with the synthesis of DNA or RNA by enzyme inhibition or by causing the synthesis of non-functional molecules. The vinca alkaloids are antimitotic, acting specifically on the mitotic spindle and causing a metaphase arrest. Thus all these agents act on the processes of cell growth and division and therefore cytotoxic drugs are most effective against growing or dividing cells. For the correct management of cancer patient clinicians must know the characteristic of the single drugs, the possible synergistic activities as well as the possible side effects that must be prevented, categorized and monitored to ensure the best quality of life of the canine and feline patients. The development of chemotherapy resistance should also be considered as the possible cause of failure in canine and feline oncology.

KEY WORDS

chemotherapy, dog, cat, medical oncology, side effect

DEFINIZIONI E MECCANISMI D'AZIONE DEI CHEMIOTERAPICI ANTIBLASTICI

La chemioterapia antineoplastica rappresenta con la chirurgia e la radioterapia uno dei tre strumenti terapeutici a disposizione per il trattamento delle malattie oncologiche sia dell'uomo, sia del cane e del gatto. La ricerca scientifica, in particolare quella farmacologica oggi consente di disporre sia per l'oncologo umano sia per quello veterinario di un'innumerabile quantità di presidi terapeutici che possono essere utilizzati nel trattamento clinico delle neoplasie spontanee. L'oncologia medica delle neoplasie canine e feline non può avvalersi del medesimo supporto in termini di ricerca scientifica, trials clinici e investimenti economici che caratterizzano l'oncologia umana ma sicuramente la sempre maggior richiesta di investire nel trattamento dei tumori del cane e del gatto oggi consente di avere a disposizione un bagaglio di esperienza clinica e scientifica tale da indurre i medici veterinari a specializzarsi proprio in questa disciplina con l'intento di

utilizzare in "scienza e coscienza" i presidi chemioterapici antineoplastici a disposizione.

Lo scopo di quest'articolo è di concentrarsi prevalentemente sulle nozioni teorico-pratiche essenziali della chemioterapia antineoplastica tradizionale con particolare riferimento ai meccanismi d'azione e di chemioresistenza nonché agli effetti collaterali dei diversi principi attivi in uso in oncologia canina e felina. I farmaci ad azione antineoplastica, esclusi quelli di recente introduzione come i farmaci a bersaglio (piccole molecole ad attività inibente e gli anticorpi monoclonali), possono essere considerati farmaci "non intelligenti" in quanto non esclusivamente diretti contro le cellule tumorali e che esplicano la loro capacità antineoplastica contrastando la crescita cellulare tramite l'inibizione in modo aspecifico o specifico delle differenti fasi del ciclo cellulare. ^(4,10)

La cellula tumorale origina da una cellula sana a seguito di una serie di mutazioni che consentono alla cellula neoplastica e alla sua progenie di disporre delle seguenti abilità: autoproduzione di recettori per

fattori di crescita, insensibilità ai segnali di inibizione della crescita, abilità ad evadere l'apoptosi ed a guadagnare la relativa immortalità, potenziale replicativo illimitato, favorire l'angiogenesi ed acquisire la capacità di invasione dei tessuti e la diffusione metastatica. I sei punti qui citati, oggi rappresentano i principali argomenti di ricerca per l'identificazione di target terapeutici per la lotta contro i tumori sia canini, sia felini, sia dell'uomo. ^(4,10)

Le neoplasie sono costituite da un numero elevato di cellule (1 cm³ di neoplasia contiene circa un milione di cellule neoplastiche) che hanno una loro attività cellulare non perfettamente sincrona e per lo più eterogena all'interno del ciclo cellulare, che caratterizza ogni istotipo e che si può tradurre anche in un comportamento biologico differente. Le fasi del ciclo cellulare sono: la fase G1 (intensa attività metabolica), la fase S (sintesi del DNA), la fase G2 (fase di sintesi degli elementi richiesti per la mitosi cellulare) e la fase M (mitosi). ^(4,10)

La chemioterapia tradizionale si avvale di presidi antineoplastici che possono interagire con le fasi ciclo cellulare in modo specifico, cioè inibendo singole fasi cellulari (es. inibizione della fase mitotica da parte di vincristina/vinblastina), oppure inibendo in modo aspecifico il ciclo cellulare (es. doxorubicina). Il mancato utilizzo di protocolli già consolidati a favore di un utilizzo inappropriato di chemioterapici antineoplastici o di protocolli formulati senza alcun criterio farmacologico-farmacocinetico può favorire l'insuccesso terapeutico in quanto vengono a mancare i presupposti insiti nella validità terapeutica della chemioterapia antineoplastica, basti pensare all'errato utilizzo di farmaci ciclo cellulare specifici in monochemioterapia. In questi casi l'impiego per esempio di vincristina in una neoplasia ad elevato indice mitotico produce sicuramente ottimi risultati all'inizio della terapia, quando l'elevato numero di cellule in mitosi è bersaglio elettivo del farmaco, che però perde di efficacia, quando per la selezione operata da lui stesso, altre cellule non colpite perché in una fase del ciclo cellulare diversa, possono comodamente crescere esitando in una remissione parziale oppure in una malattia progressiva. ⁽¹⁰⁾

La definizione di monochemioterapia e di polichemioterapia utilizzata per catalogare i protocolli chemioterapici si basa proprio sulle modalità con cui un chemioterapico antineoplastico esprime la sua tossicità nei confronti del ciclo cellulare. Il protocollo di monochemioterapia si avvale solo di un presidio chemioterapico generalmente ciclo cellulare fase aspecifico (ad esempio: doxorubicina; carboplatino; cisplatino; gemcitabina; lomustina) e sono utilizzati perlopiù nel trattamento adiuvante degli osteosarcomi dello scheletro appendicolare.⁽¹¹⁾ L'utilizzo di farmaci fase specifica in modalità monochemioterapica deve prevedere dosi frazionate oppure infusioni endovenose continue.⁽⁹⁾ Per protocollo polichemioterapico, invece, s'intende una combinazione di farmaci a ciclo cellulare fase specifico e aspecifici correttamente combinati in funzione del picco di insorgenza degli effetti col-

laterali e sono per esempio ampiamente utilizzati nel trattamento dei linfomi multicentrici del cane sia alla prima presentazione sia in presenza di recidiva. ^(1,16)

La monochemioterapia si caratterizza per la più bassa probabilità di insorgenza di effetti collaterali rispetto al protocollo polichemioterapico e per un impegno in termini di tempo e costi più bassi per il proprietario. ⁽¹⁵⁾ Non è detto che la monochemioterapia soprattutto quando basata su evidenze scientifiche sia da intendere come meno efficace rispetto alla polichemioterapia, tuttavia per i linfomi multicentrici ad alto grado ad immunofenotipo B l'uso in monochemioterapia della doxorubicina si è rilevato molto meno efficace dei protocolli in cui lo stesso chemioterapico è stato utilizzato in modalità di polichemioterapia con l'associazione di vincristina, ciclofosfamida e prednisone.

I protocolli polichemioterapici sono più complessi da gestire e richiedono la conoscenza approfondita dei singoli presidi e le potenziali sovrapposizioni di effetti collaterali, per questo oltre a un impegno economico e di tempo a cui il proprietario deve essere preparato, il medico veterinario deve essere pronto alla gestione degli effetti collaterali. Sicuramente il protocollo chemioterapico offre un effetto antineoplastico più completo nei confronti della popolazione cellulare neoplastica rispetto alla monochemioterapia proprio per la sinergia d'azione tra chemioterapici antineoplastici ciclo cellulare aspecifico e specifico, ed è per questo che sempre più spesso nella recente letteratura i protocolli di chemioterapia antineoplastici sono in modalità polichemioterapica.

La chemioterapia antineoplastica può rappresentare l'unica terapia impiegata dall'oncologo veterinario come spesso avviene per linfomi e leucemie, oppure la chemioterapia può essere di supporto alla chirurgia e alla radioterapia come accade per alcune neoplasie (es. mastocitomi, osteosarcomi, melanomi). L'introduzione della chemioterapia nei protocolli di radioterapia e chirurgia si spiega con la necessità di contrastare una potenziale o attiva presenza di diffusione metastatica loco-regionale o a distanza così come di indurre una riduzione delle dimensioni del tumore per agevolare la rimozione (intento cito-riduttivo), oppure per favorire un sinergismo d'azione (chemioterapia associata a radioterapia) per neoplasie non chirurgiche in cui il controllo locale è fortemente a rischio.^(2,19) L'introduzione della chemioterapia prima dell'atto chirurgico/radioterapico viene denominata neoadiuvante, mentre l'introduzione dopo l'atto chirurgico/radioterapico viene definita adiuvante.

Nell'impiego clinico dei presidi chemioterapici antineoplastici è fondamentale conoscere i diversi regimi di somministrazioni quali: regime dose-intenso, dose-denso e metronomico.

Il *regime dose-intenso* si prefigge di somministrare il farmaco alla Massima Dose Tollerata (MTD) senza aumentare l'intervallo intersomministrazione.⁽¹⁰⁾ Questo perché numerosi chemioterapici hanno una curva dose-risposta ripida, ovvero all'aumentare della dose aumenta molto anche l'efficacia d'azione e viceversa.

Diminuendo la dose somministrata del 20% si assiste ad una diminuzione dell'azione antiblastica finanche al 50%.^(4,10) Questo approccio è risultato molto valido per i tumori con elevata frazione di accrescimento come linfomi e leucemie, mentre può essere applicato in misura minore ai tumori solidi, tipicamente eterogenei e con bassa percentuale di cellule in proliferazione (Fig.1).

Il principale limite dei regimi dose-intensi riguarda gli effetti sui tessuti sani in rapida proliferazione; ciò si manifesta con i tipici effetti collaterali gastroenterici e di mielosoppressione e con la necessità di intervallare le somministrazioni in modo da permettere a questi tessuti di rigenerare, rendendo così la terapia sostenibile per il paziente. Il *regime dose-denso* prevede invece una riduzione degli intervalli di somministrazione allo scopo di somministrare una maggior quantità di farmaco nell'unità di tempo.⁽¹⁰⁾ Esistono diverse ragioni che hanno portato la ricerca, primariamente in Oncologia Umana, a ragionare sul "less is more".⁽⁵⁾ Prima di tutto l'evidenza che anche i più recenti regimi chemioterapici ad alte dosi non hanno prodotto i risultati sperati, soprattutto quando impiegati su pazienti umani con neoplasie solide metastatiche; mentre l'impiego di regimi dose-densi ha dimostrato chiari benefici per la stessa categoria di pazienti.^(3,13) Questi risultati hanno portato la comunità scientifica a ragionare sul fatto che accorciando l'intervallo intersomministrazione le cellule tumorali fossero continuamente soggette all'azione del farmaco chemioterapico, e che quindi l'efficacia del trattamento fosse amplificata (Fig.1.). Tuttavia il regime dose-denso, come già spiegato, utilizza alte dosi di farmaco, cercando di mantenerle vicine alla MDT, e accorciando i tempi di sospensione con il potenziale

rischio di aumentare l'incidenza degli effetti collaterali relativi alla terapia potenzialmente condizionando così la qualità di vita del paziente. Da qualche tempo si è sviluppata una nuova strategia terapeutica in campo oncologico, che prevede l'utilizzo di dosi di farmaco sicuramente inferiori alla MDT, ma somministrate continuamente senza rispettare il periodo di sospensione. Questo tipo di regime è stato chiamato in diversi modi come *Chemioterapia a basse dosi* o *Chemioterapia anti-angiogenetica*, ma la denominazione più comune è quella di chemioterapia metronomica, termine che compare per la prima volta nel 2000 in un lavoro di Hanahan *et al.*⁽⁵⁾ La Chemioterapia Metronomica è così chiamata perché, così come un metronomo mantiene sempre costante il proprio ritmo. Questo protocollo prevede la somministrazione di basse dosi di farmaco ad intervalli regolari, con l'intento di diminuire al massimo l'intervallo tra le dosi (idealmente annullandolo).^(12,13)

Se i meccanismi con cui i tradizionali chemioterapici antiblastici sono importanti lo sono altrettanto i meccanismi di chemioresistenza che sono la causa del fallimento della chemioterapia.

La resistenza ai farmaci con attività antineoplastica rappresenta uno dei maggiori ostacoli all'efficacia clinica della chemioterapia.⁽¹⁷⁾ I farmaci con attività antineoplastica sviluppano la loro attività agendo con meccanismi differenti sulle cellule tumorali e la mancata capacità di un determinato chemioterapico antineoplastico a sviluppare una tossicità e conseguentemente la morte della cellulare viene definita resistenza. E' importante ricordare che la resistenza alla chemioterapia antineoplastica è un processo che coinvolge uno specifico farmaco, uno specifico tumore e uno specifico paziente.⁽¹⁷⁾

La chemioresistenza ai farmaci antineoplastici può essere semplicemente distinta in chemioresistenza innata/fisiologica e chemioresistenza acquisita. La chemioresistenza innata/fisiologica si riferisce a tumori che già al momento della loro diagnosi ancor prima di essere stati trattati sono resistenti.⁽¹⁷⁾ La chemioresistenza acquisita può essere invece dovuta a diversi fattori come la cinetica cellulare, le cause biochimiche e quelle farmacologiche. A oggi l'input che ingenera la chemioresistenza, in particolare quella acquisita è poco conosciuto ma è lecito pensare che l'instabilità genetica a cui sottostanno i tumori può indurre mutazioni che producono farmacoresistenze fenotipiche. Inoltre l'ampia fluttuazione della porzione o del numero assoluto di cellule neoplastiche farmacoresistenti o un'aumento dei cloni resistenti possono essere responsabili di una chemioresistenza acquisita.⁽⁴⁾

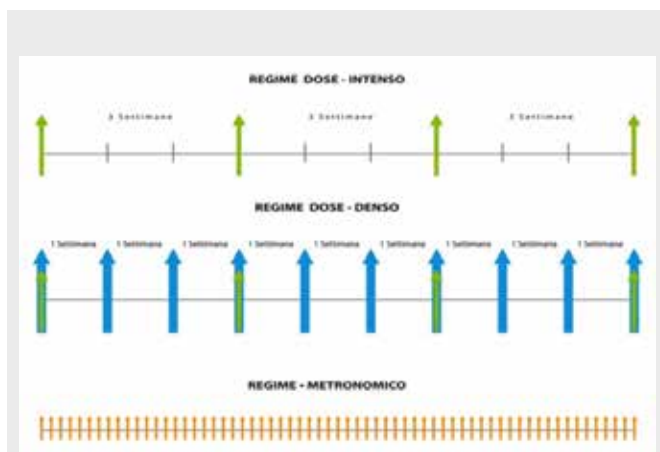


Fig.1. Rappresentazione schematica della differenza tra i diversi regimi chemioterapici. L'altezza delle frecce è proporzionale alla dose di farmaco impiegata. Il regime metronomico si distingue per l'impiego di dosi di farmaco molto inferiori alla massima dose somministrata e per l'accorciamento degli intervalli di somministrazione

PRINCIPI ATTIVI UTILIZZATI IN CHEMIOTERAPIA ANTINEOPLASTICA CANINA E FELINA

ANTIMETABOLITI ^(4,10)

Sono molecole molto simili alle basi puriniche e pirimidiniche, ciclo cellulare fase aspecifico (fase S)

durante la quale determinano una inibizione degli enzimi necessari alla sintesi e alla riparazione del DNA. Il loro effetto tossico si può esplicare incorporandosi direttamente nel DNA causando una interruzione del ciclo cellulare soprattutto delle cellule in attiva replicazione favorendo l'inibizione della sintesi o della riparazione del DNA. Appartengono a questa categoria gli antagonisti pirimidinici (citosina arabinosio, gemcitabina, 5-fluorouracile), gli antagonisti purinici (aziotioprina, cadribina, fludarabina 6- tioguanina, 6-mecaptopurina, capecitabina), gli antagonisti dei folati (metotrexate) e gli antagonisti della ribonucleotidoreduttasi (idrossiurea). Gli antimetaboliti sono dei profarmaci che richiedono la conversione mediante reazioni enzimatiche che possono essere snodi importanti per lo sviluppo di resistenza. Per quanto attiene ai meccanismi di chemioresistenza gli antimetaboliti non sono substrato della proteina Pg-170 responsabile della eliminazione di chemioterapico dalla cellula neoplastica contro il gradiente di concentrazione.

AGENTI ANTIMICROTUBULARI (INIBITORI DEL FUSO MITOTICO) ^(4,10)

Interferiscono con la polimerizzazione e la depolimerizzazione di microtubuli, inibendo non solo la fase mitotica ma tutte le funzioni cellulari a cui microtubuli partecipano, come mantenimento della forma cellulare, secrezione, neurotrasmissione, comunicazione tra superficie cellulare e nucleo. Appartengono a questa categoria gli alcaloidi della vinca (vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina) e i tassani (Docetaxel, Paclitaxel).

Gli alcaloidi della vinca sono fase specifica e agiscono in fase M arrestando le cellule in metafase e promuovendo in ultimo l'apoptosi. Tra gli alcaloidi della vinca è necessario sottolineare che la vincristina può essere causa di grave tossicità midollare e non solo nei cani che hanno ricevuto una dose corretta di questo farmaco per attività recessiva o dominante del gene ABCB1-1. Infatti, nei cani in cui il gene ABCB1-1 è alterato o sovra espresso la glicoproteina P di cui la vincristina è substrato attivo è malfunzionante pertanto la clearance biliare e renale viene ridotta e l'attività della vincristina persiste nel paziente aumentando la probabilità di effetti tossici. Ne sono colpite in particolare alcune razze (collie, border collie, Pastore Australiano, Pastore Inglese).⁽⁸⁾ Gli alcaloidi della vinca sono substrato della glicoproteina Pg-170 che espelle il chemioterapico contro il gradiente di concentrazione. In umana si sa per certo che alcuni tumori la esprimono già alla loro nascita (linfomi, leucemie, tumori dell'intestino e del rene).

I tassani rispetto agli alcaloidi della vincristina inducono la polimerizzazione e il disassemblaggio dei microtubuli. Si legano prevalentemente con -tubulina. Agiscono in fase M-G2 e sono innanzitutto citostatici. Sono principi poco impiegati in campo veterinario anche se nuove formulazioni che riducono il rischio di shock anafilattico stanno per essere introdotte.⁽¹⁴⁾ Anche i tassani sono substrato della glicoproteina

Pg-170, inoltre la farmaco resistenza può essere riscontrata in presenza di alterazioni della - tubulina.

AGENTI ALCHILANTI ^(4,10)

Sono molecole fase aspecifiche e sono agenti citotossici. Sono agenti alchilanti che contengono gruppi alchilici che formano legami covalenti mono o bifunzionali con il DNA e in entrambe i casi hanno azione citotossica mediante rottura o distruzione del DNA, che a sua volta interrompe le informazioni necessarie per la divisione cellulare. Tra gli agenti alchilanti annoveriamo le mostarde azotate (mecloretamina, melphalan, clorambucile, ciclofosamide, ifofosamide), le nitrosouree (lomustina, carmustina, fotemusina, streptozotocina), gli alchilsulfonati (busulfan), le aziridine (tiotepa, mitomicina c), le idrazine e derivati (dacarbazina, temozolomide) e in fine gli agenti alchilanti non classici (procarbazine).

La Pg-170 non è substrato per gli agenti alchilanti tranne che per la Mitocina C. Il meccanismo di resistenza agli agenti alchilanti si esplica grazie alla rimozione dalle catene di DNA di nucleotidi alchilati. Tale attività di rimozione e quindi di riparazione è attuata dalla 6-alchilguanintransferasi (6-GT) che è in grado di rimuovere l'alchilazione dalla posizione O⁶. Per questo motivo le cellule ad alto contenuto di 6-GT sono resistenti agli agenti alchilanti in modo particolare alle nitrosouree. Il gene p53 riconosce le cellule con DNA mutato e rotto. Le cellule riconosciute si arrestano e vengono avviate al processo di apoptosi. La mutazione del gene p53 è una delle cause più comuni di farmaco-resistenza ad agenti alchilanti. Ulteriore meccanismo di resistenza tipico degli agenti alchilanti è l'aumentata detossificazione intracellulare ad opera della glutatione-S-transferasi.

SALI DEL PLATINO ^(4,10)

Sono annoverati in questa categoria il cisplatino, carboplatino, lobaplatino. Sono agenti fase-aspecifici e formano legami covalenti stabili con DNA, RNA e proteine. L'azione citotossica si esplica con lo spostamento di atomi nucleofili in posizione N⁷ con conseguenza formazione di ponti intercatena e intracatena. Per questa loro caratteristica i sali del platino sono paraogonati agli agenti alchilanti. Oltre ad essere radiosensibilizzanti mostrano sinergismo d'azione con 5-fluorouracile, gemcitabina, bleomicina e citosina arabinosio.

Molteplici i meccanismi di resistenza tra cui la ridotta assunzione intracellulare, inibizione della apoptosi grazie all'azione protettiva di alcune proteine in ambiente extracellulare (fibroconnettiva, collagene tipo IV, laminina) e non ultima l'inattivazione intracellulare a seguito del legame tra sali del platino e glutatione e metallotioneina.

ANTIBIOTICI ANTITUMORALI^(4,10)

Sono inclusi in questa categoria la bleomicina D-actinomicina, la plicamicina le antracicline e antracendioni (daunorubicina, doxorubicina, doxorubicina

incapsulata in liposomi, epirubicina, idrubicina, mitoxantrone).

BLEOMICINA –ANTIBIOTICO POLIPEPTIDICO

Agente fase specifico sia nella fase M-G2 che nella fase S-G2. La bleomicina ha come bersaglio il DNA. La degradazione del DNA si rende possibile per la presenza di ioni Fe^{++} e Cu^{++} e la presenza di ossigeno. La bleomicina presenta terminali amminici che si orientano e si legano agli ioni creando reazioni di trasporto di elettroni con formazione di radicali liberi che danneggiano il DNA. L'enzima bleomicinidrolasi elimina i gruppi amminici importanti per legare gli ioni metallici inducendo una inefficacia del chemioterapico stesso. La bleomicina non è substrato della glicoproteina Pg-170.

D-ACTINOMICINA

Agente fase aspecifico radiosensibilizzante. Si lega in modo tenace alla doppia e singola elica di DNA e inibisce la sintesi RNA. Inibendo la topoisomerasi II può provocare la rottura di catene di DNA. Mostra attività immunosoppressiva e ipocalcemizzante. Substrato della Pg 170 come altre antracicline, alcaloidi della vinca ed epipodofillotossine

PLICAMICINA (MITRAMICINA)

Agente fase aspecifico utilizzando per le sue proprietà ipocalcemizzanti. (Attualmente è sostituita da bifosfonati con il quale condivide l'inibizione degli osteoclasti e la liberazione di PTH). La sua azione citotossica si esplica creando legami tenaci con la catena di DNA, prevalentemente guanina e citosina e impedendo la sintesi di RNA. Forse substrato dell Pg-170.

ANTRACICLINE E ANTRACENDIONI

(daunorubicina, doxorubicina, doxorubicina incapsulata in liposomi, epirubicina, idrubicina, mitoxantrone)

Sono fase aspecifici e creano il loro effetto citotossico mediante numerosi meccanismi d'azione. A dosi non cliniche, quindi tossiche le antracicline si intercalano nella doppia elica di DNA con il quale formano legami covalenti con ponti di idrogeno. Tale struttura altera l'aspetto tridimensionale della doppia elica di DNA impedendo che possa attivarsi per lo stampo di RNA. Alle dosi cliniche l'intercalazione non esplica alcuna inattivazione (campo elettrostatico attivo) degli enzimi quali DNA polimerasi, RNA polimerasi. A dosaggio clinico la doxorubicina inibisce l'attività della topoisomerasi II. Questo enzima presente in ambiente nucleare garantisce al DNA di distendersi per favorire l'attività di trascrizione e replicazione. A sua volta la doxorubicina è in grado di inibire la topoisomerasi II formando un legame: doxorubicina-DNA-topoisomerasi comportando una rottura di catena e il blocco della mitosi.

Le antracicline possono provocare danni al DNA in modi differenti:

a) modificano la capacità dell'enzima elicasi di dissociare la catena di DNA

b) durante l'intercalazione con il DNA e il legame con la topoisomerasi II in presenza di ossigeno vanno incontro a riduzione con la produzione di sostanze ossidanti (superossidi). In assenza di ossigeno c'è un riarrangiamento molecolare che genera radicali liberi. Le cellule normali (escluse quelle cardiache) generano sistemi protettivi contro la produzione di superossidi e radicali liberi quali: superossidodismutasi catalasi, glutatione perossidasi.

c) Libera ferro da ferritina chelandolo. Il composto ferro-antracicline senza creare sostanze intercalanti si lega al DNA danneggiandolo.

Il mitoxantrone esprime il suo meccanismo d'azione come la doxorubicina soltanto che ha una minor attività antiossidante, ed inibisce il metabolismo epatico ad opera del citocromo p-450 e inibisce l'aggregazione piastrinica.

I meccanismi di resistenza si esplicano attraverso la Pg-170 che espelle il chemioterapico dalla cellula neoplastica contro il gradiente di concentrazione, oppure la presenza di alterazioni della topoisomerasi II impedendo il legame tra l'enzima e le antracicline

INIBITORI DI TOPOISOMERASI II: EPIPODOFIL- LOTOSSINE^(4,10)

Sono fase specifica sia per le topoisomerasi I (fase S) che per le topoisomerasi II (S-G2). Tra gli inibitori topoisomerasi II abbiamo: Etoposide (VP-16), Etoposide fosfato, Teniposide (VM-26). I potenziali meccanismi di resistenza sono: ridotto accumulo intracellulare, substrato della Pg-170, effetti ossidativi che ne inibiscono l'attività e mutazioni della topoisomerasi.

L-ASPARAGINASI^(4,10)

Enzima che crea una deplezione di L-asparagina che è di valore vitale per alcune cellule che non sono in grado di produrla (prive dell'enzima L asparaginasintetasi) come linfomi e leucemie che induce una ritardata sintesi di RNA e DNA. E agente fase specifico (G1). I meccanismi di resistenza si esplicano con una aumentata produzione di L-asparaginasintetasi o di anticorpi.

DIAGNOSI E GESTIONE DEGLI EFFETTI COLLATERALI

Il paziente oncologico è potenzialmente un paziente che può accedere alla terapia intensiva sia per gli effetti collaterali delle terapie oncologiche ricevute (chirurgia-chemioterapia-radioterapia) sia per le alterazioni dirette e indirette che il tumore può causare come nel caso delle sindromi paraneoplastiche.

Le terapie oncologiche possono essere decisamente aggressive siano esse chemioterapie, radioterapie, chirurgie, applicate in monoterapia o con terapie congiunte (es.: chemioterapia + radioterapia). Sicuramente gli effetti collaterali della chirurgia sono più prevedibili e quantificabili mentre gli effetti della chemioterapia possono essere differenti per intensità e gravità e variare da paziente a paziente. Il momento della loro

insorgenza solitamente coincide con il raggiungimento della massima dose del chemioterapico nella biofase ad un range di tempo fisso che è distinto da antitumorale ad antitumorale ma che nella maggior parte dei casi è prevedibile. La categorizzazione degli effetti collaterali e la classificazione delle gravità deve essere eseguita sulla base di un documento condiviso a livello internazionale che consente di uniformare le reazioni avverse ai differenti chemioterapici utilizzati nel trattamento delle neoplasie del cane e del gatto. Questo documento è stato redatto e pubblicato nel 2004 dal Veterinary Co-Operative Oncologic Group - Common Terminology Criteria for Adverse Events. ⁽²⁰⁾ Gli effetti collaterali delle chemioterapie sono molteplici. È importante ricordare che in genere gli effetti collaterali sono più probabili con l'utilizzo di protocolli di polichemioterapia o quando si fa uso di protocolli combinati di chemioterapia e radioterapia. In genere gli effetti collaterali in corso di chemioterapia possono essere gestiti in modo conservativo a casa e solo raramente richiedono l'obbligo di ospedalizzazione, la sospensione delle terapie o la loro sostituzione. Saranno pertanto trattati solo quelli più frequenti e che possono necessitare della terapia intensiva.

Gli effetti collaterali soprattutto quelli ematologici e gastroenterici possono verificarsi anche in assenza di una dose minima e massima e il più delle volte alla prima dose somministrata a differenza della cardiotoxicità da chemioterapia o dall'insufficienza renale che spesso è secondaria a somministrazioni ripetute. A questo proposito si ricorda che il danno renale acuto seppur infrequente è documentato nel cane dopo non corretta gestione della somministrazione di cisplatino e nel gatto dopo la somministrazione di doxorubicina o di carboplatino.

Per la tossicità ematologica e gastroenterica è opportuno ricordare quali sono i giorni in cui i singoli che-

mioterapici hanno la massima probabilità di sviluppare tali effetti collaterali. (Tab.1)

TOSSICITÀ EMATOLOGICHE IN CORSO DI CHEMIOTERAPIA/ RADIOTERAPIA

Le tossicità midollari sono prevalentemente indotte dalla chemioterapia tanto che il loro monitoraggio durante il protocollo è obbligatorio e ripetitivo. In radioterapia è possibile riscontrare tossicità ematologiche soprattutto quando vengono irradiate ampie superficie e si usano protocolli di chemioterapia in aiuto alla radioterapia.

Tra le tossicità ematologiche rivestono maggior importanza le neutropenie e le piastrinopenie che insorgono più di frequente rispetto alle anemie e alla ipoplasia del midollo osseo. Infatti le ricadute su midollo osseo e globuli rossi si avvertono nelle fasi iniziali dei trattamenti chemioterapici di linfomi e leucemie acute a causa del già grave coinvolgimento midollare da parte del tumore oppure in corso di trattamenti chemioterapici protratti (superiori ai 120 giorni) o con protocolli combinati di radioterapia e chemioterapia.

Nel monitoraggio delle tossicità ematologiche riveste di notevole importanza pratica la verifica della neutropenia e della piastrinopenia soprattutto nel trattamento delle malattie ematologiche con interessamento degli organi ematopoietici. Il momento in cui eseguire il monitoraggio dovrebbe essere suggerito dal singolo farmaco in cui è prevista la sua massima tossicità (es. doxorubicina tra il 10° e il 14° giorno) anche se in protocolli a cadenza settimanale viene fatto al momento del controllo e quindi appena prima la successiva somministrazione e viene anticipato solo se richiesto per l'insorgenza di astenia, grave depressione del sensorio o presenza di altre tossicità.

La gravità della neutropenia non dipende solo dal grado ma anche dalla durata. Effettivamente gravi neutropenie (grado 3-4) se di durata inferiore alle 48

Principio attivo	Effetti collaterali -giorni
vincristina-vinblastina	3°-5 ° giorno
ciclofosfamide	2°-10° giorno
doxorubicina	7°-10° giorno
mitoxantrone	7°-10° giorno
carboplatino-cisplatino	7°-10° giorno- 14°-21° giorno
gemcitabina	10°-14° giorno
lomustina	14°-21° giorno

Tab.1. Massima probabilità di insorgenza degli effetti collaterali di chemioterapici antineoplastici comunemente utilizzati nella pratica clinica.

	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4
Midollo osseo	cellularità < 25%	cellularità >25-<50%	cellularità >50%	
Emoglobina	CN:10g/dl-LLN	CN:<10-8.0 g/dl	CN:<8.0-6.5g/dl	CN:<6.5g/dl
	GT: 8.0g/dl-LLN	GT: <8.0-6.5 g/dl	GT:< 6.5-5.0 g/dl	GT:<5.0 g/dl
Ematocrito	CN: 30%<-LLN	CN:25-<30%	CN:<20-<25%	CN:<20%
	GT:25%<LLN	GT: 20-<25%	GT15-<25%	GT: <15%
Neutropenia	1500/μL-LLN	1000-1499/μL	500-999/μL	< 500/μL
Piastrinopenia	100.000/μL-LLN	50.000-99.000 μL	25,000-49.000 μL	< 25.000 μL

Tab.2. Gradi di tossicità ematologica ⁽²⁰⁾

ore hanno solitamente una risoluzione abbastanza rapida purché opportunamente trattate (Tab.2).

In termini generali con neutropenie di grado 1 in assenza di altre tossicità sia ematologiche che non, solitamente si prosegue con il protocollo di chemioterapia soprattutto se in trattamento ci sono neoplasie ematopoietiche. In presenza di altre tossicità soprattutto piastrinopenia di grado 2 e gastroenterica, come vomito/diarrea, dal grado 2 in poi, si prevede sempre terapia antibiotica, se necessaria per via endovenosa oppure intramuscolo, e concomitante idratazione per un periodo di osservazione non superiore alle 24 ore. Con neutropenia di grado 2 e paziente non febbrile si posticipa la chemioterapia e si provvede a istituire una terapia antibiotica per via orale (amoxicillina + clavulanico + enrofloxacin) per 7 giorni e valutazione giornaliera del solo emocromocitometrico con formula fino al rientro della neutropenia.

Con neutropenia di grado 3 il paziente se non febbrile e asintomatico viene ammesso a terapia antibiotica per via parenterale (cefazolina + enrofloxacin) e monitorato in clinica con emocromocitometrico ogni 24 ore e se necessario ogni 12 ore.

Invece con neutropenie di grado 4 il paziente è sempre ricoverato con terapie antibiotiche per via endovenosa, fluidoterapia (ove necessario ossigenoterapia), monitoraggio con emocromocitometrico ogni 12 ore fino alla remissione della neutropenia.

Le neutropenie di grado 3-4 sono sempre da ritenersi urgenti e gravi in quanto spesso possono associarsi a sintomi gastroenterici (prevalentemente diarrea) che possono esitare anche in setticiemie mortali. In assenza di risposte sarebbe necessario programmare emocolture e solo in casi limite e in assenza di piastrinopenie utilizzare citochine per stimolare il midollo osseo (filgrastim 5 μg/Kg die per 2 massimo 3 giorni). Le piastrinopenie sono meno frequenti delle neutropenie se si escludono quelle da perdite secondarie dovute a microemorragie neoplastiche (milza, fegato, intestino). Generalmente la momentanea sospensione del protocollo o il suo ritardo è più che sufficiente per far rientrare nei range di normalità le piastrinopenie di grado 1-3 grado. Con piastrinopenia di 4 grado se

di durata limitata nel tempo (<24 ore) generalmente non viene trattata, in caso contrario si provvede alle emotrasfusioni e se disponibile alla somministrazione di plasma fresco previo monitoraggio dei test coagulativi.

TOSSICITÀ GASTROENTERICHE

Tra le tossicità gastroenteriche sicuramente il vomito e la diarrea sono spesso meglio riconosciute dal proprietario rispetto alla nausea e per questo sono spesso motivo più frequente di visita in corso di trattamento. L'assenza di appetito se perdura per non più di 48 ore e non è associata ad altri sintomi come diarrea oppure ad ipertermia non desta mai particolari preoccupazioni soprattutto se il paziente assume acqua spontaneamente. Tuttavia è consigliabile in pazienti che presentano anoressia, ridotta assunzione del cibo pretrattare con antinausea e vomito con maropitant a 2 mg/kg per via orale (oppure 1 mg/kg SC) ogni 24 ore per al massimo 5 giorni. In presenza di nausea può essere utilizzata anche metoclorpramide (meno che nel gatto) e in alternativa anche ondasetron (0.1-1 mg/kg SC) principio ad uso umano decisamente più costoso soppiantato nella pratica clinica da prodotti simili ad uso veterinario. In assenza di una ripresa spontanea dell'assunzione di cibo prima di provvedere ad alimentazione forzata si può stimolare l'appetito con ciproptadina (GT 0,3-1 mg/kg SID-BID per 2 giorni PO; CN 0,1-02 mg/kg SID-BID per 2 giorni PO). In presenza di vomito si consiglia sempre di trattare anche in presenza di tossicità gastroenterica di grado 1. Ad oggi è possibile con maropitant somministrare l'antiemetico preventivamente in modo da ridurre il rischio di vomito nel periodo di potenziale sviluppo della massima tossicità del chemioterapico. In alternativa con vomito di grado 2 è sempre consigliabile istituire una fluidoterapia nell'intento di evitare una grave disidratazione. Tale accortezza è sempre da suggerire in presenza di diarrea e con concomitante neutropenia anche di grado 1. (Tab.3)

Per quanto riguarda la diarrea solitamente la sua incidenza è abbastanza bassa e il più delle volte la sintomatologia è autolimitante. Tuttavia oltre al rischio di disidratazione esiste il potenziale rischio di

	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4
Nausea	Perdita di appetito	Salivazione eccessiva < 12 ore	Salivazione eccessiva > 12- 24 ore	Salivazione eccessiva > 24 ore
Vomito	<3 episodi in 24 h	3-5 episodi in 24h; <3episodi in 24 h per>2 gg ma <5gg	>5 episodi in 24 h ; vomito>4 gg. Fluido terapia IV + antiemetici	Rischio di collasso cardiocircolatorio
Diarrea	>2 atti defecatori rispetto al normale	2-6 atti defecatori. Somministrazione di fluidi IV-SC < 24 ore	> 6 atti defecatori; Fluidoterapia IV > 24 ore	Rischio di collasso cardiocircolatorio
Perdita di peso	5-10%	>10-20%	>20%	Prognosi infausta

Tab.3. Gradi di tossicità gastroenterica⁽²⁰⁾

setticemia in presenza di contemporanea neutropenia grave (grado 3-4). Per questo motivo in concomitanza con neutropenia (dal grado 2 al grado 4) è sempre suggerita una terapia antibiotica per via parenterale associata a fluidoterapia. In rarissimi casi può esserci grave ematochezia che può dopo adeguate valutazioni portare all'impiego di emotrasfusioni.(Tab.3)

TOSSICITÀ UROGENITALI

Tra le tossicità urogenitali quella che sicuramente merita di essere ricordata è la cistite emorragica sterile secondaria a somministrazione di ciclofosfamide. Ad oggi è sempre meno documentata dato che alla somministrazione di questo chemioterapico viene sempre suggerito un pretrattamento con furosemide (1-2mg/kg) oppure l'aumento dell'assunzione di acqua nella giornata di somministrazione con una serie di piccoli accorgimenti (salare cibi e acqua di abbeverata – favorire la minzione con più uscite soprattutto per i cani che vivono in appartamento) nell'intento di ridurre il contatto dei cataboliti della ciclofosfamide (acroleina) con l'urotelio. In presenza di ematuria generalmente questa è autolimitante tuttavia si può provvedere ad un trattamento con FANS e antibiotico terapia. Nei casi meno responsivi si può somministrare sempre antidolorifici e provvedere alla irrigazione della vescica con soluzioni di formalina al 1% oppure con DMSO al 25-50%. Prima di queste procedure è sempre importante valutare mediante ecografia con vescica

repleta la parete vescicale e ove necessario e possibile una cistoscopia nell'intento di valutare la necessità di curettage chirurgico atto ad evitare rotture spontanee di vescica.

TOSSICITÀ NEUROLOGICHE

Sono rare e non sempre ben documentate. Di recente è stato segnalato un caso in cane di razza collie con mutazione omozigote del gene ABCB1 determinata mediante specifiche analisi.⁽⁸⁾

È di fondamentale importanza ricordare che la gestione in terapia intensiva di pazienti precedentemente trattati con chemioterapia richiede le dovute cautele per ridurre i rischi da contaminazione derivanti dalla manipolazione di sangue e urine. A questo proposito due recenti lavori hanno messo in evidenza che a 7 giorni dalla somministrazione dei chemioterapici (vincristina, vinblastina, ciclofosfamide e doxorubicina) non sono presenti residui nel sangue. Nelle urine invece le concentrazioni minime sono state identificate per tutti i chemioterapici analizzati nei primi 3 giorni con eccezione per vinblastina riscontrata a 7 giorni e per doxorubicina individuata a 21 giorni. La gestione delle urine sia con sistemi di raccolta chiusi che l'impiego di dispositivi individuali di protezione dedicati (in particolare guanti) e la pulizia dei ricoveri con sali di ammonio quaternario sono più che sufficienti per ridurre al minimo i rischi di contaminazione.^(6,7)

BIBLIOGRAFIA

1. Alvarez F.J., Kisseberth W.C., Gallant S.L., Couto C.G.: Dexamethasone, melphalan, actinomycin D, cytosine arabinoside (DMAC) protocol for dogs with relapsed lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2006, 20, 1178 - 1183.
2. Carlsten K.S., London C.A., Haney S., Burnett R., Avery A.C., Thamm D.H.: Multicenter prospective trial of hypofractionated radiation treatment, toceranib, and prednisone for measurable canine mast cell tumors. *Journal Veterinary Internal Medicine*, 2012, 26, 135 - 141.
3. Citron M.L., Berry D.A., Cirrincione C., Hudis C., Winer EP, Grisham W.J., Davidson N.E., Martino S., Livingston R., Ingle J.N., Perez E.A., Carpenter J., Hurd D., Holland J.F., Smith B.L., Sartor C.I., Leung E.H., Abrams J., Schilsky R.L., Muss H.B., Norton L.: Randomized trial of dose-dense versus conventionally scheduled and sequential versus concurrent chemotherapy as postoperative adjuvant treatment of node-positive primary breast cancer: first report of Intergroup Trial C9741/Cancer and Leukemia Group B Trial 9741. *Journal of Clinical Oncology*, 2003, 21, 1431- 1439.

4. DeVita, V.T., Lawrence T.S., Rosenberg S.A. Devita, Hellman & Rosenberg's *Cancer: Principles & Practice of Oncology*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2008, 343-346.
5. Hanahan D.J., Bergers G., Bergsland E. Less is more, regularly: metronomic dosing of cytotoxic drugs can target tumor angiogenesis in mice.: *Journal of Clinic Investigation*, 2000, 105, 1045-1047.
6. Knobloch A., Mohring S.A., Eberle N., Nolte I., Hamscher G., Simon D.; Cytotoxic drug residues in urine of dogs receiving anticancer chemotherapy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2010, 24, 384 - 390.
7. 7Knobloch A., Mohring S.A., Eberle N., Nolte I., Hamscher G., Simon D.. Drug residues in serum of dogs receiving anticancer chemotherapy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2010, 24, 379 - 383.
8. Krugman L., Bryan J.N., Mealey K.L., Chen A.: Vincristine-induced central neurotoxicity in a collie homozygous for the ABCB1 mutation. *Journal of Small Anim Practice*, 2012, 53, 185-187.
9. Marconato L., Bonfanti U., Stefanello D., Lorenzo M.R., Romanelli G., Comazzi S., Zini E.: Cytosine arabinoside in addition to VCAA-based protocols for the treatment of canine lymphoma with bone marrow involvement: does it make the difference? *Veterinary Comparative Oncology*, 2008, 6, 80 - 89.
10. Marconato L. *Principi di Chemioterapia*. In: Marconato L, Amadori D, eds: *Oncologia medica veterinaria e comparata*. Poletto editore, Vermezzo 2012, 160-161.
11. Morello E., Martano M., Buracco P.: Biology, diagnosis and treatment of canine appendicular osteosarcoma: similarities and differences with human osteosarcoma. *Veterinary Journal*, 2011, 189, 268 - 277.
12. Mutsaers A.J. *Metronomic Chemotherapy: Topics in Companion Animal Medicine*, 2009, 24, 137 - 143.
13. Nieto Y. *The verdict is not yet. Analysis of the randomized trials of high-dose chemotherapy for breast cancer.*: *Haematologica*, 2003, 88, 201 -211.
14. Rivera P., Akerlund-Denneberg N., Bergvall K., Kessler M., Rowe A., Willmann M., Persson G., Kastengren Fröberg G., Westberg S., von Euler H.: Clinical efficacy and safety of a water-soluble micellar paclitaxel (Paccal Vet) in canine mastocytomas. *Journal of Small Animal Practice*, 2013, 54, 20 - 27.
15. Simon D., Moreno S.N., Hirschberger J., Moritz A., Kohn B., Neumann S., Jurina K., Scharvogel S., Schwedes C., Reinacher M., Beyerbach M., Nolte I.: Efficacy of a continuous, multiagent chemotherapeutic protocol versus a short-term single-agent protocol in dogs with lymphoma. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 2008 15, 232, 879 - 885.
16. Simon D., Nolte I., Eberle N., Abbrederis N., Killich M., Hirschberger J.: Treatment of dogs with lymphoma using a 12-week, maintenance-free combination chemotherapy protocol. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2006, 20, 948 - 954.
17. keel R.T.: *Handbook of cancer chemotherapy*, Lippincott Willimas&Wilkins, Philadelphia, 1999, 15-18.
18. Skipper H.E., Schabel F.M., Mellet L.B.: Implications of biochemical, cytokinetic, pharmacological and toxicologic relationships in the design of optimal therapeutic schedules. *Cancer Chemotherapy Reports*, 1970, 54, 431 - 450.
19. Stanclift R.M., Gilson S.D. Evaluation of neoadjuvant prednisone administration and surgical excision in treatment of cutaneous mast cell tumors in dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 2008, 232, 53 - 62.
20. Veterinary Co-operative Oncology Group (VCOG) *Veterinary cooperative oncology group .: Common terminology criteria for adverse events (VCOG-CTCAE) following chemotherapy or biological antineoplastic therapy in dogs and cats v1.1.* *Vet Comp Oncol*. 2011 doi: 10.1111/j.1476-5829.2011.00283.x.