

## Elemente de terapie oncologică la animale

### Elements of oncological therapy animals

Andreea Bianca Chirilă, Eugenia Dumitrescu, Florin Muselin, Romeo T. Cristina

Facultatea de Medicină Veterinară Timișoara

Correspondență: [chirilaandrea@yahoo.com](mailto:chirilaandrea@yahoo.com)

**Cuvinte cheie:** animale, terapie oncologică, principii, metode.

**Key words:** animals oncologic therapy, principles, methods.

#### Rezumat

În prezentul referat bibliografic se încearcă o rememorare a principalelor elemente de terapie oncologică aplicabile și în medicina veterinară. Sunt prezentate: principiile farmacologice în chimioterapie, radioterapie, chirurgia oncologică, nanoterapia precum și unele metode moderne (terapia fotodinamică, crioterapia, electrochimioterapie, agenții de întrerupere vasculară). Ultimul capitol este dedicat fitoterapiei, ca terapie alternativă în oncologie cu prezentarea a celor mai importante plante cunoscute și folosite în terapia cancerului la animale.

#### Abstract

This bibliographic essay is an attempt to recall the main elements applicable in the oncologic therapy useful also in veterinary medicine. In the paper are presented: the pharmacological principles of chemotherapy, radiotherapy, oncologic surgery, nanoterapia and some modern methodologies (photodynamic therapy, cryotherapy, electrochimioterapie, vascular disruption agents). The last chapter is dedicated to phytotherapy, as alternative therapy in oncology with the presentation of the main plants known and used in cancer therapy in animals.

#### Introducere

Tratamentul cancerului este de obicei unul polimodal, care include: chirurgie, radioterapie, chimioterapie sau orice combinație a acestora.

Pentru a alege o procedură terapeutică corectă, și potrivită fiecărui pacient, trebuie cunoscute următoarele:

- rezultatul examenului histologic,
- stadiul de malignitate,
- istoricul medical al pacientului și
- posibilitățile financiare ale proprietarului [19, 30].

Se cere o bază de date minimă asupra stării de sănătate/boală a pacientului, ceea ce se obține prin examen de sânge (biochimia și hematologia) și examen de urină.

Pentru stadializarea corespunzătoare și emiterea unui prognostic corect se vor efectua radiografii (simple sau/și cu contrast), ecografii sau examinare prin CT (computer tomograf).

O dată pus diagnosticul este importantă definirea obiectivelor și așteptărilor de la tratamentul aplicat [19, 30].

Creșterea tumorală prezintă o fază de dezvoltare exponențială, iar apoi intră rapid într-o fază de platou.

Răspunsul la chimioterapie depinde de punctul în care se află pe curba de dezvoltare (dacă sunt puține celule în diviziune atunci și fracțiunea distrusă de chimioterapie va fi mică).

În concluzie, tumorile mici cu fracțiune de creștere mare sunt mai sensibile la chimioterapie pentru că au un număr mai mare de celule în faza proliferativă [4, 12].

Cel mai mare obiectiv este acela de a prelungii viața pacientului, fără a afecta/compromite calitatea acesteia [19].

La majoritatea pacienților din medicina veterinară, obiectivul este de a ajunge la o remisie completă.

Remisia completă se poate exprima prin dispariția tumorii și semnelor clinice, dar aceasta nu înseamnă că nu există celule canceroase în organism.

Când pe lângă excizia chirurgicală se folosește și chimioterapia, aceasta se recunoaște ca terapie adjuvantă pentru boala micrometastazică [4, 12, 19, 30].

Chimioterapia este folosită și pentru a micșora volumul tumoral pentru îmbunătățirea condițiilor de viață (terapie paleativă) sau înainte de excizia chirurgicală (terapie neoadjuvantă) [4, 12, 19, 30].

Efectele secundare parțiale cele mai frecvent întâlnite sunt:

- **acute**, vomă și diaree;
- **cumulative**, supresia măduvei osoase;
- **idiosincrazice**, cistita hemoragică (ciclofosamidă) [19].

Chimioterapia se adresează în principal animalelor de companie și se administrează sistemic fiind deocamdată considerată a fi cea mai eficientă modalitate de terapie pentru unele neoplasme sensibile la acest tip de tratament (limfoame, leucemii), sau ca terapie adjuvantă după exciziile chirurgicale ale tumorilor cu indice metastazic crescut (osteosarcoame) și a micro-metastazelor, pentru prevenirea recurențelor, pentru micșorarea tumorilor cu volum mare în scop paleativ sau înainte de extirparea chirurgicală și pentru sensibilizarea țesuturilor înainte de radioterapie.

Unele chimioterapice acționează sinergic cu radiațiile și îmbunătățesc distrugerea celulelor tumorale [4, 12, 19, 30].

Administrarea lor se face sistemic, intravenos, dar se pot administra și intratumoral, intracavitar sau inhalator în neoplasme unde administrarea sistemică nu ar duce la concentrații destul de crescute pentru a avea un efect favorabil.

Raționamentul pentru care chimioterapicele se administrează intratumoral este de a obține o concentrație mai mare în țesutul tumoral și de a-l proteja pe cel sănătos.

Acest procedeu se utilizează frecvent în carcinom scvamocelular și în cazul melanoamelor bucale și epulidelor acantomatoase la animalele de companie.

Ca medicație se utilizează în special: **cisplatinul, carboplatinul, 5-fluorouracilul, metotrexatul și carmustinul.** [4, 12, 19, 30]

Alegerea agentului chimioterapic se face în funcție de specie, tipul de cancer, disponibilitate și eventual experiența medicului veterinar, având în vedere că pentru medicamentele mai des folosite se cunosc dozele exacte și intervalele de administrare.

Intervalele de administrare trebuie astfel stabilite încât să nu fie prea apropiate pentru că induc toxicitate, dar nici prea îndepărtate pentru că apare rezistența și repopularea cu celule tumorale.

Acestea au enzime reparatoare mai puțin eficiente decât cele ale celulelor normale, deci tratamentele se programează astfel încât celulele sănătoase să aibă timp să își revină, dar cele tumorale nu, și pe lângă acest aspect trebuie urmărită și starea de sănătate a pacientului, respectiv dacă este foarte alterată se întârzie tratamentul [12, 19].

Obiectivul oncologilor veterinari care utilizează chimioterapia este de a controla cancerul și de a prelungi durata de supraviețuire și în acelaș timp de a menține o calitate corespunzătoare a vieții pacientului [4].

Asocierile medicamentoase asigură distrugerea crescută a celulelor tumorale, limitând toxicitatea individuală a medicamentelor.

Utilizarea combinată a medicamentelor, care au mecanisme diferite de acțiune, ajută la reducerea dezvoltării rezistenței în populațiile heterogene de celule tumorale.

Cele mai bune șanse în tratarea cancerului sunt reprezentate de efectuarea unei chimioterapii combinate, prin administrarea chimioterapicelor la dozele cele mai apropiate de cele toxice, dar care să nu aibă efecte toxice care se suprapun și, ideal, ar fi ca, în mod singular, să aibă acțiune asupra tumorii.

Aceste combinații au ca obiective creșterea numărului de celule distruse și menținerea toxicității la nivele acceptabile, lărgirea spectrului de acțiune asupra populațiilor celulare heterogene sau rezistente din tumori și prevenirea sau încetinirea apariției rezistenței [4, 19, 30].

Selecția agenților chimioterapici se face pe baza eficacității dovedite asupra anumitor tumori și posibilitatea de a fi administrate la intervale consecvente, intervalul fiind cel mai scurt posibil necesar recuperării celor mai sensibile țesuturi din organism (măduva).

În **tabelul 1** sunt prezentate câteva protocoale terapeutice pentru sarcoame și carcinoame ale sistemului tegumentar. **Tumorile sistemului tegumentar sunt mai ușor tratabile prin chirurgie sau radioterapie [12, 19, 30].**

## 1. Principii farmacologice în chimioterapie

Farmacocinetica agenților chimioterapici este importantă deoarece arată distribuția medicamentului și a metabolizilor prin organism și biodisponibilitatea lui de a distruge celulele canceroase, deci efectul terapeutic [12, 19].

Prin administrarea intravenoasă se presupune o biodisponibilitate 100%, dar

pentru alte tipuri de administrări (p.o., i.m. sau s.c.) aceasta poate fi parțială. Dintre factorii care afectează biodisponibilitatea se pot menționa vascularizația organelor țintă, difuzia substanței active din patul vascular, legarea lor la proteine și liposolubilitatea, interacțiunea cu alte substanțe medicamentoase, produse din plante, diferențele genetice între rase și indivizi (ex. gena MDR la rasa Collie) [12, 19].

Eficacitatea terapeutică este bazată pe administrarea dozei maxime de medicament care să cauzeze toxicitate minimă.

Pentru majoritatea chimioterapicelor limita dintre terapeutic și toxic este foarte mică.

Dozele se calculează în  $\text{mg}/\text{m}^2$  sau în  $\text{mg}/\text{kg}$ , dar s-a observat că la câinii de talie mică și la pisici calcularea dozei după suprafața corporală produce adesea toxicitate, mai ales în cazul doxorubicinei, cisplatinului și a carboplatinului. Astfel la câini mici și la pisici se recomandă utilizarea calculării dozei în funcție de greutatea corporală ( $\text{mg} / \text{kg}$ ) [4, 12, 19].

**Tabelul 1.**

### Protocoale terapeutice utilizate în sarcoame și carcinoame ale sistemului tegumentar (după Villalobos) [30]

Sarcom - câine	1. Sarcomul celulelor fusiforme	<i>Doxorubicină</i> 30 $\text{mg}/\text{m}^2$ , i.v., la 3 săptămâni <i>Dacarbazine</i> 1000 $\text{mg}/\text{m}^2$ , i.v. perfuzie timp de 6-8h, repetată la 3 săptămâni <i>Sulfa-trimetoprim</i> 15 $\text{mg}/\text{kg}$ , p.o., 2x1/zi
	2. Alte sarcoame (ciclu terapeutic: 21 de zile)	<i>Doxorubicină</i> 30 $\text{mg}/\text{m}^2$ , i.v., ziua 1 <i>Vincristina</i> 0.75 $\text{mg}/\text{m}^2$ , iv., în zilele 8, 15 <i>Ciclofosfamidă</i> 200-300 $\text{mg}/\text{m}^2$ , p.o., ziua 10 <i>Sulfa-trimetoprim</i> 15 $\text{mg}/\text{kg}$ p.o., 2x1/zi
	1. <i>Carboplatin</i> 300 $\text{mg}/\text{m}^2$ , i.v., la 3-4 săptămâni	
Sarcom - pisică	2. Ciclu terapeutic 21 de zile	<i>Doxorubicină</i> 1 $\text{mg}/\text{kg}$ , i.v., ziua 1 <i>Ciclofosfamidă</i> 100-150 $\text{mg}/\text{m}^2$ în ziua 10 și 11
	3. Ciclu terapeutic 28 de zile	<i>Doxorubicină</i> 1 $\text{mg}/\text{kg}$ , i.v., ziua 1 <i>Vincristina</i> 0.5-0.75 $\text{mg}/\text{m}^2$ , i.v., ziua 8, 15, 22 <i>Ciclofosfamidă</i> 100-150 $\text{mg}/\text{m}^2$ în ziua 10 și 11
	4. Ciclu terapeutic 21 de zile	<i>Mitoxantron</i> 4-6 $\text{mg}/\text{m}^2$ , i.v. perfuzie în 4 h, ziua 1 <i>Ciclofosfamidă</i> 200-300 $\text{mg}/\text{m}^2$ , p.o., în ziua 10
	5. Ciclu terapeutic 21 de zile	<i>Mitoxantron</i> 4-6 $\text{mg}/\text{m}^2$ , i.v. perfuzie în 4 h, ziua 1 <i>Vincristină</i> 0.5-0.6 $\text{mg}/\text{m}^2$ , i.v., în ziua 8 și 15 <i>Ciclofosfamidă</i> 200-300 $\text{mg}/\text{m}^2$ , p.o., în ziua 10
	1. <i>Carboplatin</i> 300 $\text{mg}/\text{m}^2$ , i.v., la 3-4 săptămâni	
Carcinom - câine	2. <i>5-fluorouracil</i> 150 $\text{mg}/\text{m}^2$ , i.v., săptămânal <i>Ciclofosfamidă</i> 50 $\text{mg}/\text{m}^2$ , p.o., 4 zile pe săptămână sau o dată la două zile <i>Metotrexat</i> 2.5 $\text{mg}/\text{m}^2$ , p.o., de 2 sau 3 ori pe săptămână	
	3. <i>Doxorubicină</i> 30 $\text{mg}/\text{m}^2$ , i.v., ziua 1 <i>5-fluorouracil</i> 150 $\text{mg}/\text{m}^2$ , i.v., ziua 8 și 15 <i>Ciclofosfamidă</i> 200-300 $\text{mg}/\text{m}^2$ , p.o., ziua 10 <i>Sulfa-trimetoprim</i> 15 $\text{mg}/\text{kg}$ , p.o., 2x1/zi, pe toată durata tratamentului	
	4. <i>Cisplatin</i> 60-70 $\text{mg}/\text{m}^2$ , i.v. în perfuzie, la 3 săptămâni, înainte de administrare diureză intensă	
	5. <i>Vincristină</i> 0.75 $\text{mg}/\text{m}^2$ , i.v., ziua 8, 15 <i>Doxorubicină</i> 30 $\text{mg}/\text{m}^2$ , i.v., ziua 1	

Carcinom - piscă	5-fluorouracil 150 mg/m <sup>2</sup> ziua 1, 8 și 15	
	6. Doxorubicină 30 mg/m <sup>2</sup> , i.v., ziua 1 Vincristina 0.75 mg/m <sup>2</sup> , iv., în zilele 8, 15 Ciclofosamidă 200-300 mg/m <sup>2</sup> , p.o., ziua 10 Sulfa-trimetoprim 15 mg/kg p.o., 2x1/zi, pe toată durata tratamentului	
	7. 5-fluorouracil 150 mg/m <sup>2</sup> , i.v., o dată pe săptămână Ciclofosamidă 50 mg/m <sup>2</sup> , p.o., 4 zile pe săptămână, sau o dată la două zile	
	1. Carboplatin 200-240 mg/m <sup>2</sup> , i.v., la 3-4 săptămâni	
	2. Ciclu terapeutic de 28 de zile	Doxorubicina 1 mg/kg, i.v. ziua 1 Ciclofosamidă 100-150 mg/m <sup>2</sup> , în ziua 10 și 11
	3. Ciclu terapeutic de 28 de zile	Doxorubicină 1 mg/kg, i.v., ziua 1 Vincristina 0.5-0.75 mg/m <sup>2</sup> , i.v., ziua 8, 15 și 22 Ciclofosamidă 100-150 mg/m <sup>2</sup> , în ziua 10 și 11
	4. Vincristină 0.5 mg/m <sup>2</sup> , i.v., o dată pe săptămână Ciclofosamidă 50 mg/m <sup>2</sup> , p.o., 4 zile pe săptămână sau o dată la două zile	
	5. Ciclu terapeutic de 21 de zile	Mitoxantron 4-6 mg/m <sup>2</sup> , i.v., perfuzie în 4 h, în ziua 1 Ciclofosamidă 200-300 mg/m <sup>2</sup> , p.o., în ziua 10
	6. Ciclu terapeutic de 21 zile	Mitoxantron 4-6 mg/m <sup>2</sup> , i.v., perfuzie în 4 h, în ziua 1 Ciclofosamidă 200-300 mg/m <sup>2</sup> , p.o., în ziua 10 Vincristina 0.5-0.6 mg/m <sup>2</sup> , i.v., în ziua 8 și 15
	! 5-fluorouracilul este toxic pentru pisici, dă semne nervoase grave, adesea fatale. Cisplatinul este de asemenea toxic, dă toxicitate pulmonară acută la pisici	

### Ciclul celular

Fazele ciclului celular sunt:  $F = 2$  (sinteza ADN-ului),  $F = 1$  (sinteza ARN -ului și a proteinelor),  $F = 4$  (mitoza) și  $F = 3$  (o a doua perioadă de sinteză a ARN-ului și a proteinelor). Celulele în repaus sunt în faza  $G_0$  [4, 12].

Ciclul celular prezintă importanță deoarece chimioterapicele afectează o anumită fază a acestuia, de exemplu alcaloizii tip *vinca* (vincristina, vinblastina) afectează faza de mitoză (M), sau pot acționa în orice fază a acestuia, exemplu agenții *alchilanți* [4, 12, 19].

### Toxicitatea

Ținta agenților chimioterapici sunt celulele cu diviziune rapidă, cum sunt și celulele neoplazice, dar vulnerabile sunt și celulele normale cu diviziune rapidă, cum sunt cele din măduva osoasă sau tractul gastrointestinal. Majoritatea protocoalelor terapeutice oncologice sunt bine tolerate de animalele de companie.[4, 19]. Cele mai frecvente efecte secundare sunt:

**1. Hematologice.** Celulele măduvei osoase sunt sensibile la acțiunea distructivă a chimioterapicelor, deoarece prezintă rată mare de diviziune. În majoritatea cazurilor, neutrofilele circulante sunt afectate primele, iar mai apoi trombocitele. La pacienții supuși terapiilor îndelungate cu aceste substanțe

poate apărea anemia ușoară. Neutropenia este frecventă și este un factor limitant al dozei de chimioterapic. Valoarea minimă a neutropeniei apare după 7-10 zile și revine la limitele fiziologice, de obicei, după 4-5 zile de la întreruperea tratamentului. De aici importanța examenului hematologic, mai ales al numărului total de leucocite.

La pacienții cu neutropenie gravă (sub  $3.0 \times 10^9/l$ ) se impune întârzierea următoarei ture de tratament, și repetarea examenului hematologic, până când valorile sunt acceptabile.

Dacă valorile sunt puțin scăzute și pacientul nu prezintă semne clinice de boală, nu are febră, nu este necesară întârzierea următoarei doze de chimioterapic, dar tratamentul va fi făcut sub monitorizare atentă.

Pacienții cu număr total de leucocite scăzut, care prezintă și modificări clinice, febră, necesită administrarea de antibiotice.

La cazurile grave, cu număr leucocitar sub  $1,5 \times 10^9/l$  se impune spitalizarea și aplicarea unui tratament de susținere și antibioticoterapie i.v., plus se poate administra factorul de creștere a coloniilor de granulocite 1-2 doze s.c. de 2,5-10  $\mu\text{m}/\text{kg}$ . Pe lângă acestea se recomandă reducerea dozei de chimioterapic cu 10-20% și, dacă nici acest lucru nu are efect, se schimbă medicația [4, 19, 30].

### 2. Digestive

**a) Voma.** Este un efect secundar comun care se datorează acțiunii directe al agentului chemoterapeutic asupra centrului vomei din bulb, sau prin acțiunea iritantă asupra tractului gastrointestinal. Voma apare acut la maxim 8 h de la administrarea medicației antitumorale (stimularea directă a centrului vomei), sau cel mai frecvent după 2-5 zile. Centrul vomei este responsabil pentru mecanismul motor al emezei și primește informații de la receptorii specifici agenților chemoterapeutici, vestibul și tractul gastrointestinal. Receptorii sunt reprezentați de H<sub>1</sub> pentru histamină și 5-HT<sub>3</sub>

pentru 5-hidroxitriptamină, și se găsesc atât în centrul vomei, cât și în tractul gastrointestinal. De cele mai multe ori (în urma administrării chemoterapeuticelor) voma este autolimitantă, iar la pacienții la care nu cedează se recomandă antiemetice (**tabelul 2**) și tratament de susținere, deoarece produce deshidratare gravă, deficiențe nutriționale, eventual amânarea următoarei doze de medicament. Se mai poate administra profilactic, cu 3-5 zile înainte, un antiemetic, metoclopramid, sau se va recurge la reducerea dozei de chemoterapeutic [4, 19].

**Tabelul 2**

**Antiemetice folosite în medicina veterinară**  
(după North și Banks)[19].

Medicamentul	Locul acțiunii	Indicații	Doza
<b>Metoclopramid</b>	Acționează central asupra centrului vomei, la doze mari are activitate anti-dopaminergică și anti-serotonergică. Crește tonusul sfincterului esofagian și relaxează pilorul. Contraindicat la pacienții cu obstrucție intestinală	Este cel mai des utilizat în cazul vomitării ușoare spre moderate	0.2-0.4 mg/kg, p.o. 3x1/zi sau 4x1/zi 1-2 mg/kg/zi în perfuzie cu ritm constant
<b>Citrat de maropitant (Cerenia)</b>	Blochează receptorii NK-1 din centrul vomei	O medicație nouă atât pentru voma de natură centrală, cât și pentru cea periferică	Injectabil 1mg/kg s.c. 1x1/zi Tablete: 2 mg./ kg 1x1/zi Se pot utiliza ambele formulări pentru maximum 5 zile
<b>Fenotiazine ex. clorpromazina</b>	Antagonist central de dopamină	Are efect în noseea ușoară	0.5 mg/kg i.m. sau s.c. 3x1/zi sau 4x1/zi
<b>Butorfanolul</b>	Agonist/antagonist opioid, are efect asupra centrului vomei din bulb	Se utilizează în principal înainte de terapia cu cisplatin	0.2-0.6 mg/kg s.c., i.m.
<b>Antagoniștii de serotonină (ondansetron)</b>	Inhibă receptorul 5- hidroxitriptamină din centrul vomei	Indicat la pacienții cu vomă severă	0.1-0.5 mg/kg i.v., p.o., 2x1/zi Oral se poate administra până la 1 mg/kg

**b. Diareea** este un efect secundar des întâlnit, și este și ea de obicei autolimitantă. Dar în cazul tratamentelor cu doxorubicină diareea poate fi severă, necesitând spitalizare și tratament de susținere. Se recomandă dietă până la oprirea diareei și amânarea următorului ciclu de tratament până la vindecarea clinică și reducerea dozei [4, 19].

### 3. Dermatologice

**a) Alopecia**, în cazul medicinei veterinare, este dependentă de rasă și apare de cele mai multe ori la rasele la care părul crește continuu - Caniche, Bichon, Old English Sheepdog, terieri, Lhasa Apso, ShiTzu. Localizarea este cu predilecție pe cap, inclusiv pierderea mustăților (pisici), iar la câinii cu păr mai lung, pe picioare (Golden

Retriever, Setteri, Cockeri etc.) se pierde părul mai lung, fără alte zone specifice. Părul de pe zonele tunse sau rase poate crește mai lent la loc, poate avea culoare sau textură diferită. Medicația care dă cel mai adesea acest efect secundar este doxorubicina și ciclofosfamida [4, 19, 30].

**b) Reacțiile alergice** idiosicrazice pot apărea la oricare agent chimioterapeutic, dar cel mai frecvent la L-asparaginază (în caz de tratamente repetate) și doxorubicină. Semnele clinice care apar sunt tremurul capului, urticaria, eritemul, neliniștea, vomitarea, edemul și, în caz de reacții severe, hipotensiunea, care duce la colaps și moarte, motiv pentru care se recomandă administrarea preventivă înainte de tratament a clorfeniraminei. Dacă apar



reacții alergice se sistează tratamentul și se administrează: difenhidramină 0.2-0.5 mg/kgc i.v. lent, clorfeniramină 2.5-10 mg i.m., dexametazonă 0.5-2 mg/kgc i.v., fluidoterapie i.v. și adrenalină [12, 19, 30].

**4. Extravazarea.** Majoritatea chimioterapicelor se administrează intravenos printr-un cateter introdus în condiții aseptice. Este necesară plasarea strict intravenoasă și verificarea plasării corecte prin irigarea cu soluție salină înainte de administrarea medicației antitumorale. Majoritatea chimioterapicelor provoacă distrugerii semnificative dacă sunt administrate perivenos sau dacă extravazează, cea mai periculoasă fiind doxorubicina [12, 19, 30].

**5. Nefrotoxice.** Cel mai frecvent asociat cu nefrotoxicitatea este cisplatinul, dar utilizarea lui s-a redus datorită apariției carboplatinului. La pacienții tratați cu cisplatin se induce diureză cu soluție salină înainte de începerea tratamentului, deoarece în medii cu concentrații crescute de ioni de clor se reduce toxicitatea cisplatinului. Pe lângă diureză, North și Banks [19] recomandă administrarea dexametazonei în doză de 0,025 mg/kg i.v., butorfanolului 0.1 mg/kgc i.v. și a clorpromazinei 0,5 mg/kgc i.m., iar imediat după administrarea cisplatinului se administrează manitol 0,5 g/kgc i.v. și continuarea diurezei cu soluție salină timp de 6-8h. După și înainte de fiecare ciclu de tratament se recomandă examenul urinei și a parametrilor renali. **Cisplatinul este fatal pentru pisici**, iar doxorubicina este toxică și ar trebui administrată cu precauție la pisicile cu disfuncții renale [19, 30].

**a) Cistita hemoragică sterilă** este un potențial efect secundar al ciclofosfamidei și al ifosfamidei, de aceea se recomandă administrarea concomitentă a 2-mercaptoetan-sulfonatului. Majoritatea cazurilor apar după o utilizare îndelungată a acestor medicații. Ca patogeneză, cistita rezultă în urma iritației mucoasei vezicii urinare de către metabolitul acroleină. Semnele clinice se traduc prin hematurie uneori severă, polakisurie și strangurie. Se recomandă

efectuarea uroculturii pentru a exclude infecțiile urinare. Dacă apare acest efect secundar tratamentul va fi întrerupt și se administrează antiinflamatoare. De obicei, răspunsul la oprirea tratamentului este bun, dar remiterea totală a semnelor clinice se realizează în mai multe săptămâni. Folosirea ulterioară a ciclofosfamidei este contraindicată și se va substitui cu un alt agent alchilant, de exemplu clorambucil. Pentru prevenirea apariției cistitei hemoragice sterile se va administra furosemid și apă la discreție pentru a favoriza eliminarea acroleinei [19, 30].

**6. Neurotoxice.** Apare rar în medicina veterinară, și mai des în urma administrării vincristinei, cisplatinului și 5-fluorouracilului. În cazul cisplatinului s-au semnalat apariția convulsilor și a unor cazuri de orbire. Vincristina poate cauza neuropatie periferică, greu detectabilă cu slăbirea membrelor pelvine, alergarea/mușcarea cozii sau un comportament anormal care nu poate fi altfel explicat, în acest caz se recomandă întreruperea tratamentului și substituirea cu vinblastină. Pe lângă aceste efecte secundare, vincristina mai poate provoca ileus paralytic, care se manifestă prin anorexie, dureri abdominale, constipație și vomă, uneori se pot recupera în 24-48 de ore. Se impune fluidoterapia și managementul durerii. Efectul vincristinei poate fi cumulativ, se reduce doza, iar dacă semnele clinice nu se îmbunătățesc se întrerupe tratamentul. 5-fluorouracilul este contraindicat la pisici deoarece dă semne clinice neurologice uneori fatale, iar la câine semnele neurologice sunt mai puțin severe [19, 30].

**7. Carcinogeneze.** Medicația citostatică pe lângă beneficiile pe care le are, poate avea și efect carcinogenic, putând induce cancer secundar. Acest aspect este mai frecvent observat la agenții alchilanți, cum ar fi ciclofosfamida. În medicina veterinară carcinogeneza secundară apare mai rar, poate datorită faptului că majoritatea pacienților oncologici sunt reprezentanți de animale cu vârstă înaintată. La animalele tinere, la care se așteaptă să aibe o durată

de viață relativ normală, posibilitatea apariției unor tumori secundare, fără legătură cu problema inițială, nu trebuie neglijată. De ex. se pot aminti carcinoamele celulelor de tranziție în urma tratamentului îndelungat cu ciclofosfamide [19].

**8. Hepatotoxice.** Sunt cel mai frecvent asociate cu tratamentul cu lomustin. Pacienților care urmează acest tratament le trebuie monitorizată frecvent funcția hepatică, iar dacă apar modificări, tratamentul trebuie întrerupt [12, 19].

**9. Cardiotoxice.** Sunt asociate frecvent cu doxorubicina, mai ales la câine. Se datorează unui efect cumulativ care poate duce la cardiomiopatie dilatativă, rezultatul final fiind insuficiența cardiacă congestivă. Efectele toxicității acute asupra cordului sunt aritmiile, de obicei trecătoare. Toxicitatea este dată de acțiunea radicalilor liberi asupra miocardului, deoarece acesta dispune de un nivel limitat de enzime protectoare, deci este expus deteriorării oxidative. Câinii par a fi mai sensibili, în această situație doza cumulativă nu ar trebui să depășească 220-240mg/m<sup>2</sup>. O dată apărute semnele cardiotoxicității acestea sunt ireversibile. Pacienților cu antecedente cardiace și raselor predispuse la cardiopatii dilatative se recomandată efectuarea unui ECG înainte de începerea tratamentului și a fiecărui ciclu de tratament. Pacienților cu probleme cardiace li se va substitui tratamentul cu mitoxantron [12, 19, 30].

### 1.1. Evaluarea eficacității tratamentului

Remisia completă (totală) reprezintă dispariția totală a unei tumori (remisie clinică) sau a celulelor canceroase (remisie moleculară) și a simptomelor după administrarea chimioterapiei și este obiectivul tratării tumorilor vizibile.

Cel mai important indicator al răspunsului complet este rata de supraviețuire fără recidivă după terminarea tratamentului. [4, 12, 19].

Răspunsului parțial totalizează reducerea de minim 50% a volumului tumoral și de peste

30% a diametrului, la unii pacienți acesta este de ajuns pentru îmbunătățirea calității vieții.

Se măsoară cele mai lungi diametre ale leziunii tumorale la patru săptămâni după tratament și se vede diferența.

Se consideră un răspuns favorabil dacă diferența depășește 30% de la începutul tratamentului [4, 12, 19].

În cazul în care boala devine stabilă nu există reducere măsurabilă a volumului tumoral, iar estimarea eficacității tratamentului este dificilă. În acest caz nu există nici răspuns parțial, nici semnele unei progresii la măsurarea leziunii după patru săptămâni de la începerea tratamentului.

Alte estimări ar fi timpul mediu de răspuns și timpul mediu de supraviețuire, atunci când jumătate din pacienți au avut o recidivă sau au murit și jumătate sunt încă în remisie.

Nu se consideră eficient tratamentul până când mai mult de jumătate din pacienți au prezentat remisie completă. [4, 12, 19].

### 1.2. Mecanismele rezistenței

Chiar dacă obiectivul este tratarea afecțiunii, realitatea poate fi foarte diferită datorită rezistențelor care apar.

Celulele cu diviziune rapidă au de obicei un răspuns rapid la chimioterapice, dar dezvoltă la fel de repede rezistență [4, 19].

În cazul tumorilor cu volum mare doar 5% din celule sunt susceptibile la acțiunea chimioterapicelor, iar cele aflate în faza G<sub>0</sub>, adică în repaus, care contribuie la volumul tumoral sunt, de obicei, rezistente la acțiunea chimioterapicelor [4].

Dezvoltarea rezistenței ține de mai mulți factori, de aceea un protocol terapeutic corect ar trebui să fie compus din chimioterapice cu mecanisme de acțiune diferite, altfel rezistența va duce la eșecul tratamentului [19].

Cauzele intrinseci sunt reprezentate de tipul tumorii, unele având de la început un răspuns slab la agentul chimioterapic, deci nu sunt tratabile cu acest tip de terapie.

În medicina veterinară, în această categorie intră melanoamele, sarcoamele țesuturilor moi și carcinoamele gastrice [12, 19].

În cazul rezistenței dobândite, răspunsul inițial la tratament este bun, dar în cele din urmă se observă o recidivă, ceea ce duce la necesitatea schimbării protocolului terapeutic. Rezistența anatomică, de exemplu bariera hematoencefalică, împiedică distribuția medicamentului și, implicit, duce la eșecul tratamentului, chiar dacă în mod normal tumora ar fi sensibilă la acțiunea chimioterapicului [19].

Un număr de pompe de eflux legate la membrana celulară influențează distribuția substanțelor citotoxice.

O formă comună de rezistență dobândită se datorează glicoproteinei P (P-170) care este cea mai bine cunoscută și este codificată de gena MDR-1 (multidrug resistance) [4, 12, 19].

Funcția naturală a glicoproteinei P este de a proteja organismul contra agenților xenobiotici și se găsește distribuită în tractul gastrointestinal, hepatocite, canalul biliar și tubulii renali.

Creșterea producției de glicoproteină P favorizează efluxul citotoxicelor derivate din produse naturale, cum ar fi alcaloizii vinca, antraciclinele și actinomicina D [4, 12, 19].

Genă MDR-1 a fost legată de toxicitatea crescută a unor chimioterapice la rasa Collie.

La animalele testate pozitiv pentru gena MDR-1 se observă toxicitate gastrointestinală crescută la citostaticele amintite.

Mutațiile genei p53 sunt alte mecanisme prin care apare rezistența. Deci se poate spune că mecanismul instalării rezistenței este multifactorial [4, 19].

Regimul metronomic folosește agenți chimioterapici standard la doze mai mici într-un program continuu, fără pauze, în loc de administrări de doze mari la intervale mari.

Scopul acestui mod de administrare este de a afecta pe lângă celulele tumorale și vasele sanguine tumorale, care sunt într-o continuă dezvoltare, deci sunt sensibile la acțiunea citotoxicelor, iar celulele endoteliale vasculare normale sunt stabile genetic, nu prezintă defecte caracteristice celor tumorale.

Efectul acestui tip de tratament este mai mult stabilizator decât curativ [4, 19].

În timp s-au dezvoltat agenți anti-angiogeneză: inhibitori de metalproteinază matriceală, agenți care au ca țintă factorii pro-angiogenetici (factorii de creștere vasculară endotelială și factorul de creștere a fibroblastelor bazale) și agenți care inhibă celulele endoteliale (angiostatin) [19, 30].

Acest tip de tratament este considerat unul citostatic, deci reducerea completă s-ar putea să nu fie obiectivul acestuia, iar terapia se menține pe un timp îndelungat [19, 30].

Tirozinkinazele sunt enzime importante în comunicarea celulară, iar atunci când acționează sub influența mutațiilor oncogenice duc la creșterea celulară anormală, deci la formarea unui neoplasm [19, 30].

Ele inhibă reacția dintre ATP și proteinele din substrat prevenind fosforilarea substratului și rezultă de aici inhibarea transmiterii semnalelor în aval.

Imatinib mezilatul este un inhibitor de tirozinkinază care acționează asupra unor gene responsabile de producerea unor neoplasme, cum ar fi leucemia mielogenă cronică.

Acest inhibitor a avut un răspuns favorabil și în tumorile de la locul de injectare al vaccinului la pisici și în tumorile mastocitare la câine [19, 30].

Lipozomii sunt particule coloidale care se auto-asamblează, și sunt formate dintr-un strat lipidic dublu care încapsulează o fracțiune din mediul lichid înconjurător. Se găsesc sub formă de lipozomi convenționali, lipozomi polimorfici sau cationici și lipozomi non-reactivi sau pegilați.

Lipozomii non-reactivi sunt formați dintr-un strat bilipidic care conține glicolipide sau polietilen glicol. Agenții chimioterapici încapsulați au timp de înjumătățire crescut și traversează mai ușor vasele sanguine tumorale [4].

Doxorubicina pegilată încapsulată în liposomi (Doxil) are timp de înjumătățire plasmatic mai mare, clearance plasmatic mai mic și volum de distribuție mai mic față de doxorubicina clasică [4, 19, 30].

Prin folosirea formei încapsulate se va îmbunătăți acumularea lui în țesuturi și se reduce toxicitatea cardiacă, dar poate produce



hipotensiune. A fost utilizat cu succes în tumori la câine, incluzând hemangiosarcomul, limfomul cutanat prin administrări intravenoase și intraperitoneale. Se administrează în doză de 1 mg/kg intravenos, la trei săptămâni [4, 19, 30].

În tabelul 3 sunt prezentați câțiva agenți chimioterapici, mecanismul lor de acțiune, precauțiile, indicațiile, precum și dozele acestora

Tabelul 3

### Principalii agenți chimioterapici utilizați în medicina veterinară

Sinteză după Chun [4], Gustafson [12], North și Banks [19], Villalobos [30]

Agent chimioterapic	Mecanism de acțiune	Metabolizare	Toxicitate	Precauții	Doze	Indicații
Ciclofosfamida	Alchilarea ADN-ului	Hidrolizare microzomală la forma activă, hidroliză la acroleină, excreție ca produs inactiv prin urină	Mielosupresie, cistită hemoragică sterilă, alopecie,	Tabletele nu se divizează, manevrarea corespunzătoare a pulberii liofilizate	Câini: 200-250 (300) mg/m <sup>2</sup> Pisici: 10 mg/kg	Limfom, leucemie, mielom multiplu, plasmocitom, carcinoame și sarcoame
Clorambucil	Alchilarea ADN-ului	Descompunerea în produși activi și eliminare sub formă inactivă prin urină și fecale	Mielosupresie cu afectarea trombocitelor, nosee, vomă	Tabletele nu se divizează	Câini: 0.1-0.2 mg/kg 1x1/ zi Pisici: 2 mg, 1x2/zi	Leucemie limfocitară cronică, limfom, mielom multiplu
Melfalan	Alchilarea ADN-ului	Se hidrolizează rapid în plasmă și se elimină prin urină și fecale	Mielosupresie cu nadir întârziat 4-6 săptămâni	Tabletele nu se divizează	Câini: 0,1 mg/kg zilnic pentru 10 zile, apoi 0,05 mg/kg/zi 1x2/zi	Mielom multiplu, limfom
Ifosfamid	Alchilarea ADN-ului, izomer al ciclofosfamidei	Excretat prin tractul urinar	Mielosupresie, cistită hemoragică severă, uro-protecție cu 2-mercaptoetan-sulfonat (MESNA)	La fel ca ceilalți agenți alchilanți	Câini: 350-375 mg/m <sup>2</sup> , i.v. la 3 săptămâni	Sarcom, hemangiosarcom cutanat și leiomiocitom
Lomustin (CCNU)	Nitrozourea alchilează ADN-ul și ARN-ul, nu produce rezistență încrucișată cu alți agenți alchilanți	Metabolizat în ficat, metaboliții sunt excretați prin urină	Mielosupresie severă la doze mari, toxic renal și hepatic	Se recomandă reducerea dozelor la pacienții cu probleme hepatice și renale	Câine: 60-90 mg/m <sup>2</sup> , p.o., o dată la 3 săpt. Pisică: 50-60 mg/kg, p.o., la 3 săpt.	Limfom, mastocitom, sarcoame histiocitare în combinație cu radioterapia și în gliom
Carmustin (BCNU)	Nitrozourea, alchilează ADN-ul ca Lomustinul	Liposolubilitate crescută, după administrarea i.v. se obțin concentrații bune în LCR, excreția se prin urină	Mielosupresie severă, nosee, vomă, pneumonie interstițială	La oameni se asociază cu fibroza pulmonară	Câini: 50 mg/m <sup>2</sup> i.v. o dată la 6 săptămâni	Se utilizează rar în MV, traversează bariera hemato-encefalică
Busulphan	Agent alchilant	Metabolizat în mai multe produse excrete prin urină	Mielosupresie și trombocitopenie prelungită Leucopenie și trombocitopenie instalată târziu, semne gastro-intestinale anorexie, vomă, diaree	Tabletele nu se divid	Câine: 2mg/m <sup>2</sup> p.o.	Leucemie mieloidă cronică
Procarbazine	Alchilarea ADN-ului, inhibarea ADN și ARN-ului și a sintezei de proteine	Metabolizat de ficat, excretat de rinichi	Mielosupresie, hepatotoxicitate, anorexie, nosee, vomă, alopecie, anafilaxie	Capsulele orale nu se divizează	Câine: 50mg/m <sup>2</sup> zilnic, timp de 14 zile	Protocol de rezervă pentru limfom
Dacarbazin	Mecanismul exact este necunoscut, dar în parte acționează ca agent de alchilare	Metabolizat în ficat, și excretat prin tubulii renali	Mielosupresie, hepatotoxicitate, anorexie, nosee, vomă, alopecie, anafilaxie	Efect vezicant și necrozant dacă ajunge extravascular, incompatibil cu hidrocortizonul hemisuccinat	Câine: 200 mg/m <sup>2</sup> iv. în bolus lent, 1x1/zi timp de 5 zile sau 1000 mg/m <sup>2</sup> la 3 săptămâni i.v. lent (în 8-10 h) sau combinat cu doxorubicina sau lomustin	Protocol de rezervă pentru limfom
Vincristina	Inhibă polimerizarea tubulinei în faza mitotică	Metabolizare hepatică, cu excreție biliară, eliminare prin fecale	Poate produce ileus, constipație, neuropatie periferică	Administrat perivascular este vezicant, necrozant. Nu se administrează la	Câine: 0.5-0.75 mg/m <sup>2</sup> i.v. Pisici: 0,25 mg/m <sup>2</sup> - 0,75 mg/m <sup>2</sup> i.v.	Leucemii, limfom, carcinoame și sarcoame, tumori mastocitare

Vinblastina	Inhibă polimerizarea tubulinei, specifică pe faza celulară (metafază)	Metabolizare hepatică, cu excreție biliară, eliminare prin fecale	Neutropenie, trombocitopenie, semne gastro-intestinale	animalele cu disfuncții hepatice Dacă se administrează perivascular este vezicant	Câini și pisici: 2mg/m <sup>2</sup> i.v. la 1-2 săptămâni	Limfom, leucemie, tumori mastocitare
	Derivat semisintetic al vinblastinei (acționează în metafază)	Metabolizat hepatic, eliminat prin fecale	Neutropenie, neuropatie periferică mai accentuată decât la vincristină, constipație	Nu la animalele cu disfuncții hepatice, administrat perivascular este vezicant	Câine: 15-18 mg/m <sup>2</sup> i.v. la 1-2 săptămâni	Carcinoame
Doxorubicina	Are efecte multiple: Inhibiția topoizomerazei II a ADN-ului Acționează ca radical liber Produce apoptoză	Metabolizat în ficat, metabolitul principal doxorubicinolul, substanța activă se elimină în principal calea biliară, prin fecale Se poate lega de ADN și cardioplină în țesuturi, de unde disociază lent	Mielosupresie, toxicitate gastrointestinală și cardiacă, alopecie. Dacă extravazează – necroze. Reacții de hipersensibilizare (prurit, urticarie, vomă, neliniște, dispnee)	Leagă heparina și formează agregate. Cardiomiopatie legată de doză, nefrotoxicitate, necesitatea de a reduce doza în cazul pacienților cu afecțiuni hepatice	Câine: 30 mg/m <sup>2</sup> i.v. la interval de 2-3 săptămâni La câinii sub 10 kg 1 mg/kg Pisici: 20-25 mg/m <sup>2</sup> sau 1 mg/kg la interval de 3 săptămâni	Leucemie, limfom, carcinoame, sarcoame (hemangiosarcoame)
	Are efecte multiple similare doxorubicinei, fiind un stereoisomer semisintetic al acesteia	Substanța activă se elimină pe căile cunoscute de eliminare, în principal calea biliară	Ca la doxorubicină, dar mai toxic gastrointestinal și mai puțin toxic cardiac	Incompatibil cu heparina Vezicant dacă extravazează	Câini: 30 mg/m <sup>2</sup> i.v. la 3 săptămâni	Substituit pentru doxorubicină.
Mitoxantron	Antibiotic antitumoral sintetic, inhibă topoizomeraza II	Este metabolizat în ficat și eliminat prin urină și fecale	Mielosupresie, vomă și diaree și dă mai puține reacții alergice și cardiotoxice	Incompatibil cu heparina. Efect vezicant mediu	Câini: 5.0-5.5mg/m <sup>2</sup> la 3 săptămâni Pisici: 5.0-6.5 mg/m <sup>2</sup> la 3-4 săptămâni	Carcinom scvamocelular, limfom, carcinoame. Adjuvant în radioterapie Medicație de rezervă pentru pacienții cu limfom. Poate fi de ajutor pentru pacienții cu leucemie limfoblastică acută
Actinomicina D sau Dactinomycin	Antibiotic antitumoral produs de muceți din specie Streptomyces	Este foarte puțin metabolizat, excreție prin urină și fecale	Mielosupresie, efecte gastrointestinale (nosee și vomă, diaree)	Dacă extravazează provoacă durere, edem și necroze, este vezicant	Câine: 0.5-0.7 (0.9) mg/m <sup>2</sup> o dată la 2-3 săptămâni	
Cisplatin	Conține platină, se leagă covalent la ADN, inhibă sinteza proteinelor	Este inactivat intracelular. Eliminare: în proporție marie prin excreție renală	Nefrotoxic, ototoxic, nosee și vomă, mielosupresie, neuropatie periferică, hipersensibilizare! Edem pulmonar <b>fatal</b> la pisică	Sunt necesare diureza agresivă și terapia antiemetică. Monitorizarea creatininei și examenul urinii. Nu se administrează cu alte substanțe nefrotoxice	Câine: 50-70 mg/m <sup>2</sup> <b>! Nu se administrează la pisici</b>	Osteosarcoame, mezoteliom intracavitar, carcinoame, sarcom
	Compus ce conține platină, se leagă la ADN, inhibă sinteza proteinelor	Este excretat în proporție de 90% prin urină	Mielosupresie, nosee, vomă. La pacienții cu probleme renale, posibil nefrotoxic	La pacienții cu antecedente renale se recomandă diureza înainte de tratament. Monitorizarea parametrilor renali	Câini: 300mg/m <sup>2</sup> i.v. Pisici: 180-210 (260) mg/m <sup>2</sup> i.v. La 3-4 săptămâni	Osteosarcom, carcinom scvamocelular, sarcom
Citarabin/citozinarabin ozidă	Inhibă ADN polimeraza. Este incorporat în ADN și termină elongarea lanțului ADN Este un analog al pirimidinei și acțiunea ei depinde de ciclul celular (faza 2)	Este bine metabolizat și se elimină prin urină. Ajunge la nivel terapeutic în LCR	Leucopenie, trombocitopenie, anemie, vomitare, diaree	Incompatibil cu heparina. Acționează sinergic cu L-asparaginaza Poate fi antagonist al metotrexatului	Câine și pisică: 100-150 mg/m <sup>2</sup> s.c., divizat în două doze la 24h distanță, sau 600 mg/m <sup>2</sup> i.v. sau s.c. O dată pe săptămână	Limfom, meningoencefalită granulomatoasă
Metotrexat	Inhibă reductaza acidului dihidrofolic, deci interferează cu	Administrat oral se metabolizează parțial în intestin, dar metabolizarea	Mielosupresie, denudarea mucoasei intestinale,	Nu se administrează împreună cu AINS, sulfamide	Câini și pisici: 0.5-0.8 mg/kg i.v., p.o.	Limfom, tumori venerice transmisibile, tulburări

	sinteza ADN-ului, repararea și replicația celulară.	se face predominant în ficat, iar eliminarea prin rinichi	diaree, nosee, vomă, anorexie, hepatotoxicitate, nefrotoxicitate, alopecie	și tetracicline, cresc toxicitatea L-asparaginaza reduce toxicitatea și activitatea antitumorală	mieloproliferative
<b>Gemcitabin</b>	Analog al deoxicitidinei, se activează intracelular este încorporat în ADN., specific pe faza celulară	75% din substanță este excretat prin urină în 24h	Toxic gastrointestinal, provoacă mielosupresie		Câine: 100-400 mg/m <sup>2</sup> i.v., perfuzie săptămânal timp de 3 săptămâni sau 650 mg/m <sup>2</sup> i.v. la două săptămâni Carcinom gastric, limfom, melanom malign, carcinom scvamocelular perianal
<b>L-asparaginaza</b>	Enzimă de origine bacteriană degradează aminoacidul asparagină, inhibă sinteza de proteine	Se elimină prin urină și fecale	Scade sinteza de proteine, poate produce pancreatită, <b>șoc anafilactic</b> , crește nivelul enzimelor hepatice	Se administrează cu precauție la pacienții cu disfuncții hepatice sau pancreatice Produce rapid rezistență.	Limfom Câine: 400 UI/kg i.m. sau 1000 UI/m <sup>2</sup> i.m. Pisică: 400 UI/kg
<b>Hidroxiurea</b>	Inhibă conversia ribonucleotidelor în deoxiribonucleoti de prin distrugerea ribonucleozid difosfat reductazei	Este metabolizat în ficat și eliminat prin rinichi	Mielosupresie, paronichie, semne gastrointestinale - vomă, diaree	Contraindicat pacienților cu tulburări renale	Leucemie mielogenă cronică, policitemie, acționează sinergic cu radioterapia Câine: 50 mg/kg p.o. 2x1/zi sau 1x1/zi apoi 1x2/zi Pisică: 10 mg/kg, 1x1/zi
<b>5-fluorouracil 5-FU</b>	Interferează cu sinteza de ADN, acționează specific inhibând faza S	Metabolizat intracelular, eliminat prin plămâni și rinichi	Toxic gastrointestinal slab, neurotoxic puternic la depășirea dozei sau ingerat în doză mai mare de 20 mg/kg	În cazul administrării topice a nu se ingera de către animale La pisică produce neurotoxicitate fatală	Carcinoame, sarcoame Câine: 150 mg/m <sup>2</sup> i.v. 1 pe săptămână

## 2. Elemente de radioterapie

Managementul pacienților cu cancer este complex și alegerea celei mai bune metode de tratament este adesea dificilă.

În cazul tumorilor solide se pune problema controlului tumoral loco-regional și controlul posibilelor metastaze.

Pentru tratamentul local opțiunile de tratare includ de obicei chirurgia și radioterapia, iar dacă se pune problema metastazării acestea se pot combina cu chimioterapia [14, 15, 19, 30].

Alegerea unei alternative dintre tratamentul chirurgical sau radioterapie sau chimioterapiei se face în funcție de:

- dorințele proprietarului,
- probabilitatea de a controla local sau loco-regional neoplasmul,
- rezultatele posibile ale tratamentului și,
- eventual, alte boli concurente pe care le are pacientul [14, 15, 19, 30].

Medicul veterinar are obligația de a prezenta toate alternativele, beneficiile și riscurile tratamentelor propuse.

Dacă o masă tumorală poate fi excizată cu un prognostic bun, fără afectarea funcțională a organelor și țesuturilor remanente, cu un rezultat cosmetic (afrontarea plăgii operatorii) bun, atunci tratamentul chirurgical ar trebui să fie cel electiv [14, 15, 19, 30].

Acest tip de tratament se poate aplica la majoritatea tumorilor orale, la sarcoamele țesuturilor moi de pe trunchi și extremități și unele tumori mastocitare.

În cazul **sarcoamelor** de dimensiuni mari cu localizare pe membre, care ar necesita amputarea membrului pentru a elimina în totalitate neoplasmul se poate combina chirurgia oncologică cu radioterapia post excizională, fără amputarea membrului.

Radioterapia se poate aplica și înainte de excizie pentru reducerea masei tumorale.

Deci, radioterapia ca tratament unic este rară în medicina veterinară și, de obicei, va fi

folosită ca tratament adjuvant, mai ales pentru tumorile celulelor mastocitare și a sarcoamelor [14, 15, 19, 30].

Următoarele tumori ale pielii sunt susceptibile la acțiunea radiațiilor:

- tumorile celulelor mastocitare,
- sarcoamele,
- sarcoamele induse de vaccin la pisici,
- fibrosarcoamele,
- carcinoamele scvoamocelulare,
- adenocarcinoamele (sudoripare/sebacee),
- melanoamele,
- plasmocitoamele [15, 19, 30].

Tumorile cu localizare orală răspund bine la radioterapie (figura 2).

Radioterapia se pretează pentru această regiune deoarece regiunea are o structură anatomică complexă și adesea o intervenție chirurgicală ar fi foarte dificilă și ar lăsa disfuncții funcționale.

Astfel se tratează sarcoamele, fibrosarcoamele și carcinoamele cu localizare mai rostrală.

Melanomul malign cu localizare orală metastazează frecvent atât local, cât și la distanță, deci necesită pe lângă radioterapie și chimioterapie. Melanoamele răspund la radioterapia fracționată [14, 15].

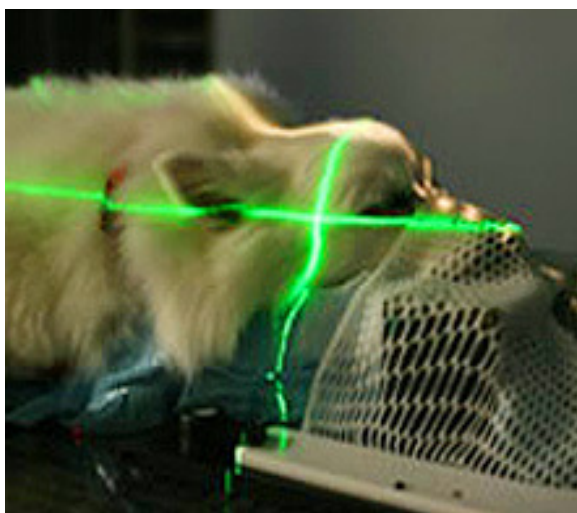


Figura 2. Aplicarea radioterapiei la câine [43].

Tumorile cu localizare trunchală și pe extremități sunt tratabile prin excizie chirurgicală (cele mici) și / sau radioterapie.

Combinarea celor două metode de tratament îmbunătățește rezultatul terapeutic și pe cel funcțional.

Pentru tumorile care nu pot fi excizate chirurgical, radioterapia, ca metodă terapeutică unică, are de obicei un rezultat bun [19, 30]. Cele mai frecvente tumori sunt:

- hemangiopericitoamele,
- sarcoamele,
- fibrosarcoamele, de obicei invazive.

Dacă există posibilitatea unei excizii complete și „curate” se rezolvă chirurgical, dar dacă există dubii în această privință se intervine prin radioterapie.

Radioterapia este folosită cel mai des ca terapie adjuvantă, mai ales în cazul exciziei unor tumori fără posibilitatea garantării unor margini „curate” și imposibilitatea de a mai interveni chirurgical [19, 30].

În cazul tumorilor cu volum mare se apelează la radioterapie pentru reducerea volumului tumoral în vederea excizării acesteia [14, 15, 19].

Mastocitoamele cutanate se tratează cu succes prin radioterapie.

Sarcoamele asociate cu vaccinarea prezintă o problemă la pisici, și tind să nu răspundă la tratamentele doar prin radiație sau doar prin chirurgie.

Prin combinarea celor două metode, totuși, s-au obținut rezultate, cu un timp mediu de supraviețuire de aproximativ 1 an [14,15].

Radioterapia se utilizează și în scopuri paleative. Volumul tumoral se va reduce în urma tratamentului și astfel durerea sau incompatibilitatea funcțională pe care o dă va fi diminuată sau abolită.

Radioterapia paleativă se aplică mai ales la pacienții care din cauza bolii avansate și a eventualelor metastastaze ar avea un deces timpuriu. Majoritatea pacienților vor fi tratați cu megavoltaj, prin doze fracționate în decurs de săptămâni în funcție, de beneficiile și riscurile tratamentului [14, 15, 19, 30].

## 2.1. Principiile de bază ale radioterapiei

Radiațiile ionizante distrug celulele prin afectarea directă a ADN-ului, care va duce la moartea celulară. Efectul poate fi și unul

indirect deoarece se acționează și asupra apei din celulă și a oxigenului, rezultând radicali liberi de hidroxil care afectează ADN-ul.

Efectul acestor fenomene este de a face incapabilă diviziunea sau moartea celulară datorită aberațiilor cromozomale care apar [14, 15, 19, 30].

Sunt sensibile la radiații celulele cu rată mare de diviziune (atât cele tumorale, cât și cele normale), deci efectele nu sunt specifice doar pentru celulele tumorale.

Efectele radiațiilor asupra țesuturilor normale cu proliferare rapidă apar în cursul sau imediat după ședința de radioterapie, acestea fiind țesuturi cu răspuns acut sau timpuriu.

Sunt afectate și celulele cu diviziune lentă sau cele care nu se divid (celule osoase și nevoase), dar schimbările produse de radiații apar lent, cu răspuns întârziat [14, 15, 19].

**Dozele de radiații se calculează în unități Gray (Gy), care reprezintă cantitatea de energie absorbită de țesuturi.** O unitate Gy este echivalentă cu 1 Joule/kg de țesut sau 100 rad (unitate de măsură folosită).

Doza totală administrată trebuie să aibă posibilitate scăzută de a afecta țesuturile cu răspuns întârziat, în regiunea iradiată.

Dar răspunsul acestor țesuturi depinde de mărimea fracțiunii. O fracțiune de mărime mai mică permite administrarea unei doze totale mai mari fără a crește posibilitatea afectării țesuturilor cu răspuns întârziat.

În medicina veterinară o fracțiune se va încadra între 2,7-4 Gy, timp de 3-5 ori pe săptămână, timp de 3-6 săptămâni.

Doza totală mai mare permite un efect mai bun asupra tumorii, dar dacă se întinde pe o perioadă de timp destul de lungă încât să permită repopularea tumorală, rezultatele nu vor fi satisfăcătoare.

Doza totală se stabilește în funcție de țesuturile adiacente zonei iradiate (creierul și măduva spinării sunt mai sensibile, iar mușchii și oasele sunt mai rezistente), volumele mari de țesuturi sunt mai sensibile la iradiții decât volumele mici [14, 15, 30].

Doza totală de radiații depinde de probabilitatea afectării țesuturilor cu răspuns întârziat, obiectivul radioterapiei fiind acela de

a distruge capacitatea de multiplicare a celulelor tumorale, fără a afecta grav țesuturile normale adiacente.

Doza totală se calculează în așa fel încât să nu fie nici doza minimă, care ar acționa asupra tumorii, dar nici doza maximă, care ar putea afecta iremediabil țesuturile cu reacție întârziată.

Deci, dacă tumoarea ar fi sensibilă la o terapie cu 50-55 Gy și s-ar administra doar 40 Gy, animalul s-ar afla la limita minimă a toxicității, iar dacă ar primi 60 Gy s-ar afla la limita maximă și animalul ar fi dispus la o toxicitate maximă.

Dozele de radiații sunt în general între 30-60 Gy. Acest lucru este realizabil prin fracționarea dozei totale de radiații într-o anumită perioadă de timp. Pentru a avea succes trebuie să se țină cont de relația dintre timp, doză și fracțiune [14, 15, 30].

Fracționarea se referă la împărțirea dozei totale de radiații în fracțiuni mai mici. S-a observat că această administrare permite o doză totală mai crescută, iar rezultatele obținute sunt mai bune, atât în ceea ce privește răspunsul tumorii cât și cel al țesuturilor sănătoase [14, 15].

Fracționarea permite regenerarea țesuturilor normale între administrări, dar nu și a celor tumorale. S-a observat că celulele sunt capabile de regenerare în 24 de ore de la expunerea la radiații, dacă s-au produs deteriorări subletale. Regenerarea depinde de celulele stem disponibile, de aceea în cazul neoplasmelor este mai lentă [14, 15, 19, 30].

Dozele fracționate permit regenerarea și repopularea țesuturilor cu răspuns imediat, dar dacă se prelungeste timpul dintre iradiții se vor regenera și cele neoplazice.

Celulele se vor redistribui prin ciclul celular în așa fel încât cele care au rezistat la un ciclu de iradiere se sincronizează în faza S.

**Cea mai sensibilă** fază a ciclului celular la radiații este mitoză, de aceea dozele standard de radiații afectează doar celulele în diviziune.

**Cea mai rezistentă** este faza S, prin fracționare radiațiile acționează asupra mai multor celule în faza de mitoză pentru că acestea au timp să se redistribuie și să intre în faza de diviziune.



Pentru a acționa asupra celulelor din faza S se administrează doze mari de radiații [14, 15, 19, 30].

Datorită creșterii rapide și vascularizației anormale, tumorile sunt adesea hipoxice. Hipoxia protejează celulele tumorale de acțiunea iradierii, aceasta putând fi o problemă deoarece rezultă deteriorarea mai slabă a ADN-ului. Prin fracționare, tumorile se reoxigenează, deoarece sunt distruse celulele oxigenate, iar la acțiunea următoarei doze de radiații vor fi sensibile [14, 15, 19].

Timpul dintre administrări este important, datorită repopulării celulare. Iradierile se efectuează în doze mici pe mai multe fracțiuni pe zi, dar la o distanță de **minim 6 ore** între ele pentru a permite repararea ADN-ului celulelor normale [14, 15].

Radiațiile ionizante se pot aplica din surse externe (teleterapia), aplicarea sursei interstițial (brahiterapia) sau administrare sistemică de izotopi radioactivi (Iod-131).

Radioterapia externă prin Ortovoltaj, Cobalt-60 - megavoltaj, Accelerator linear (Linac) - megavoltaj.

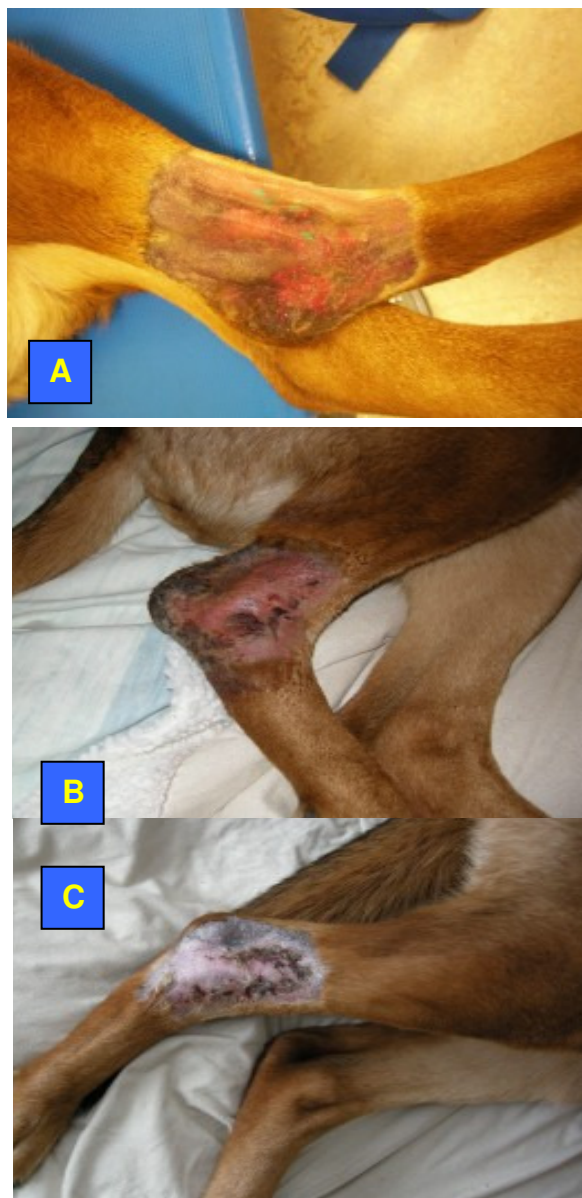
Brahiterapia cu Iridiu-192, Stronțiu-90, se utilizează rar în medicina veterinară deoarece necesită introducerea unor implante [19, 30].

Efectele secundare ale radiațiilor se pot clasifica în efecte secundare acute și întârziate. Cele acute se observă în timpul tratamentului și trebuie tratate simptomatic, iar dacă sunt severe tratamentul cu radiații se amână [15, 19, 30].

Cele mai frecvente manifestări (figura 3) sunt inflamația locală, descuamarea uscată sau umedă și alopecia (durează mai multe luni), hiper sau hipopigmentarea (afectarea melanocitelor) în cazul pielii.

Mai pot apărea inflamația mucoasei orale, jetaj, conjunctivită, keratoconjunctivită sicca, căderea unghiilor, colită.

Efectele acute ale iradiei sunt observate cel mai frecvent pe țesuturile cu diviziune rapidă, mai ales pe epitelii, de aceea dacă leziunile au apărut pe o suprafață foarte motrică (pielea de pe articulația cotului, jaretului etc.), vindecarea va fi dificilă [15, 19, 30].



**Figura 3.** Câine cu (A) alopecie și hiperemie, (B) descuamare umedă și (C) descuamare uscată [52].

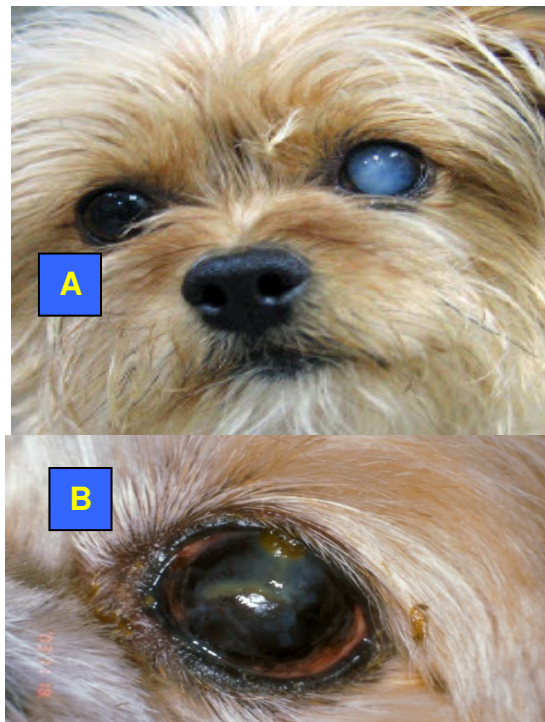
Efectele secundare întârziate pot fi declanșate acut, dar semnele clinice pot întârzia să apară luni sau ani după terminarea tratamentului. Unul dintre efectele secundare la nivelul pielii este leucotrichia sau melanotrichia (figura 4), care are importanță mai mult estetică decât medicală, altele ar fi fibroza sau ulcerele fără tendință de vindecare [15, 19, 30].

Efectele secundare mai grave depind de regiunea tratată și tipul tumorii. Pentru tumorile mastocitare și sarcoame aflate pe extremități există posibilitatea necrozei osoase, care se poate manifesta prin fracturi după câțiva ani,

sau apariția unor tumori secundare. La ochi pot apărea cataracta, (fig 5A), cheratoconjunctivita sicca (fig. B) sau afectări ale retinei.



**Figura 4.** (A) leucotrichie la un Labrador și (B) melanotrichie la un Pudel după radioterapie [51].



**Figura 5.** (A) cataractă (44) și (B) cheratoconjunctivită sicca [47].

Se mai pot constata **encefalopatii, neuropatii, mielopatii, pneumonii**. Nu sunt de neglijat nici apariția tumorilor secundare datorate iradierii, deoarece se cunoaște că radiațiile sunt carcinogene. Acestea apar mai frecvent la animalele tinere care au fost tratate prin radiații (deoarece acestea au o durată de viață mai lungă). Pentru a fi clasificat ca efect secundar întârziat al radioterapiei, neoplasmul trebuie să apară în zona iradiată dar, din țesut normal, la un timp suficient de lung, de obicei peste un an de la tratament, iar histologic trebuie să fie diferit față de tumora veche [15, 19, 30].

### 3. Chirurgia oncologică

Excizia chirurgicală completă a tumorilor localizate tratează mai mulți pacienți cu cancer decât orice altă formă de tratament. Prin această metodă se tratează pacienții care au tumori singulare localizate, sau cu potențial metastazic scăzut [9, 31]. Chirurgia oncologică va avea un rol sau altul la majoritatea pacienților oncologici: diagnostic prin biopsie, rezecția tumorii pentru terapie, paleativ sau reducerea unor simptome sau reducerea volumului tumoral [9, 19, 30, 31].

Majoritatea pacienților oncologici sunt bătrâni, dar termenul bătrân este unul relativ, deoarece ar trebui știută vârsta fiziologică a pacientului și funcționalitatea organelor. În concluzie, unui pacient căruia funcțiile organelor sunt în limite fiziologice nu ar trebui să i se refuze tratamentul doar pentru că, cronologic vorbind, este bătrân [9, 30, 31].

În cazul în care se dorește realizarea tratamentului prin chirurgie trebuie avute în vedere următoarele: tipul, stadiul și gradul cancerului, dacă vor apărea efecte sistemice sau locale, dacă există alte opțiuni alternative de tratament [9, 19, 30, 31].

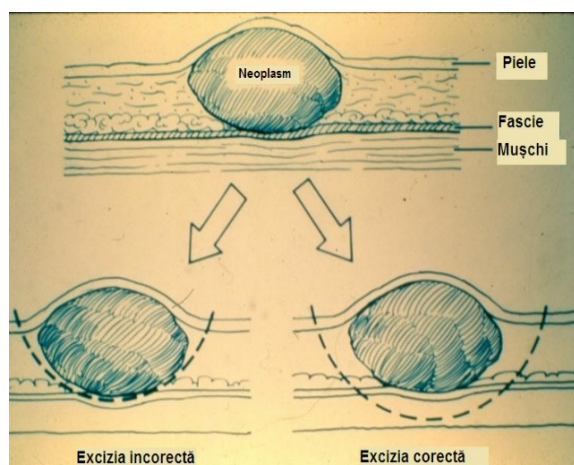
Se consideră că prima intervenție chirurgicală are cele mai bune șanse de reușită în tratament, deoarece tumorile netratate au avut timp mai puțin pentru metastazare decât cele recurente și vor avea structuri anatomice aproape normale, pe când cele recurente la locul de excizie vor afecta și alte planuri anatomice [9, 19, 30, 31].



Pacienții cu tumori recurente vor avea mai puțin țesut sănătos necesar închiderii plăgii.

Tehnica chirurgicală va fi adaptată în funcție de locația, dimensiunea și stadiul de dezvoltare al tumorii. Orice locație pentru biopsie trebuie poziționată în așa fel încât să poate fi ulterior excizată în cadrul operației de eliminare a tumorii [9, 19, 30, 31].

Se vor practica ligaturi vasculare pentru a preveni răspândirea celulelor tumorale. În cazul cancerelor maligne este necesară excizia unei margini de țesut sănătos din jur. Tumorile cu probabilitate mare de recurență necesită rezecția largă a marginilor din jur (dacă se poate marginea să fie la fel de mare ca tumora, dacă nu măcar de 2-3cm în trei dimensiuni, (figura 6).



**Figura 6.** Excizia incorectă și corectă a neoplasmelor [50].

Tumorile nu sunt plate deci rezecția într-un singur plan nu asigură eliminarea completă [9, 19, 30, 31].

Tumorile ar trebui manipulate cu grijă deoarece majoritatea sunt foarte friabile.

Dacă se elimină mai multe mase tumorale din regiuni corporale diferite se va folosi instrumental chirurgical steril pentru fiecare tumoră în parte [9, 31].

În medicina veterinară, chirurgia oncologică se utilizează în combinație cu chimioterapia, cel mai des, chiar dacă unele chimioterapice încetinesc vindecarea plăgii. Se recomandă o pauză de 7-10 zile după operație până la începerea tratamentului cu chimioterapice. În cazul folosirii radioterapiei se recomandă sistarea acesteia cu 3-4

săptămâni înainte de operație deoarece aceasta afectează celule sănătoase într-un mod mai distructiv decât chimioterapia.

Reluarea radioterapiei se poate face după 10-14 zile. Pentru „sterilizarea” plăgii chirurgicale și a planurilor anatomice rămase după excizia tumorii se poate face lavaj cu chimioterapice (administrare intracavitară) sau radioterapie [9, 30, 31].

**Chirurgia oncologică** în scop paliativ încearcă îmbunătățirea vieții pacientului și nu vindecarea acestuia sau prelungirea duratei de viață. Tratamentele aplicate au rolul de a reduce durerea, disconfortul sau de a reda pe cât posibil funcționalitatea [9, 30, 31].

**Chirurgia citoreductivă** (pt. reducerea volumului tumoral) se referă la excizia incompletă a neoplasmului, fiind rar indicată și niciodată folosită ca metodă unică și se efectuează pt. a crește efectivitatea altor tratamente oncologice:

- radioterapie,
- chimioterapie,
- criochirurgie [9, 30, 31].

## 4. Alte metode de terapie în oncologie

### 4.1. Terapia fotodinamică

Terapia fotodinamică este o terapie fără efecte termice. Distrucția tisulară intervine în urma administrării unui agent fotosensibilizant și activarea luminoasă a acestuia.

**Agentul fotosensibilizant** este mai bine reținut în neoplasme decât în țesuturile sănătoase. Acest proces inițiază necroza și apoptoza celulelor țintă prin formarea oxigenului molecular și a radicalilor liberi. Stresul oxidativ acționează de asemenea și asupra microvasculaturii tumorale, producând ischemie. În ultimii ani, ca agent fotosensibilizant s-a utilizat **acidul 5-aminolevulinic**, care este un precursor al protoporfirinei IX, sau verteporfinul, care este un fotosensibilizant de generația a doua.

După administrarea ac. 5-aminolevulinic celulele generează protoporfirină IX pe calea sintezei hemului.

Efectul este de scurtă durată, nu mai mult de 48 de ore, ceea ce reprezintă un avantaj.

Eficacitatea e limitată de caracterul hidrofil al moleculei, ceea ce duce la penetrarea mai slabă a unor țesuturi [1, 2, 7, 20].

#### 4.2. Crioterapia

Este numită și crio-chirurgie sau crioablație. Este un tratament minimal invaziv, care îngheață leziunile, utilizând temperaturi de  $-40^{\circ}\text{C}$ . Se utilizează în cazul leziunilor localizate, de dimensiuni mici și fără metastaze. Are aplicabilitate bună în tumorile pielii, leziunile precanceroase, noduli, efelide etc, dar și pentru tumori localizate în corp (pe rinichi, ficat, plămâni, prostată etc.) [2, 48].

Pentru înghețarea țesuturilor dorite se utilizează azotul sau argonul lichid aplicat prin tamponare, spray-ere sau cu ajutorul unor criosonde pe piele (figura 7).

Înainte de începerea procedurii terapeutice se recomandă administrarea de analgezice, pentru a reduce eventualele disconforturi, și antibioticoterapie pentru prevenirea infecțiilor. Distrugerea țesuturilor se realizează prin înghețarea apei intracelulare (spargerea celulei datorită formării cristalelor de gheață) și a celei extracelulare (deshidratarea celulei). În urma înghețării la temperaturi de  $-40^{\circ}\text{C}$  vascularizația tumorală este întreruptă, vasele tumorale de dimensiuni mici îngheață și se formează trombi intravasculari [2, 48].



Figura 7. Sonde de crioterapie (49)

Atingerea temperaturii de îngheț se va face brusc, iar dezghețarea țesuturilor lent. În urma ciclului îngheț-dezgheț rezultă necroză tisulară, care va fi resorbită mai apoi de organism prin celulele sanguine din linia albă.

Cele mai bune rezultate se obțin atunci când manopera este repetată de două ori la distanță de o săptămână [2, 48].

#### 4.3. Electrochimioterapia

Este o metodă terapeutică care combină administrarea unui chimioterapic și favorizarea pătrunderii acestuia în celula canceroasă prin impulsuri electrice (electroporare) cu ajutorul unei sonde speciale. Impulsurile electrice modifică permeabilitatea celulelor canceroase.

Metoda este utilizată în tumorile pielii, cum ar fi tumorile celulelor bazale sau scuamoase, melanomul, sarcomul Kaposi, alte cancere cu localizare pe piele [2, 26, 41].

Administrarea chimioterapicului (cisplatin sau bleomicin) se realizează topic, intratumoral sau intravenos într-o doză mai mică decât în mod normal, deoarece prin electroporare se favorizează difuzia medicamentului în celule. În cazul administrării topice și intratumorale, injecția va fi precedată de administrarea locală a unui anestezic, iar apoi a impulsurilor electrice [2, 26, 41].

La administrarea intravenoasă se așteaptă circa 20-30 de minute după care se administrează anestezia locală și impulsurile electrice. În cazul animalelor cu caracter dificil, sau zonelor mai sensibile (planul nazal, pleoape) se recomandă anestezia generală [2, 26, 41].

Sonda are dimensiunea unui pix și conține un electrod care va lua contact cu pielea. În funcție de numărul de tumori, durata tratamentului poate fi între 10 și 60 de minute. Ca efecte secundare poate apărea senzația de disconfort sau durere la locul de acțiune, sau contracții musculare slabe [2, 26, 41].

#### 4.4. Agenți de întrerupere vasculară (Vascular disrupting agents)

Angiogeneza tumorală este foarte activă fiind necesară dezvoltării și metastazării tumorale. Angiogeneza se află sub influența factorilor de creștere endotelială vasculară, factorilor de creștere derivați din trombocite, factorilor de creștere a fibroblastelor și a metaloproteinazelor matriceale și este inhibată de factori de necroză tumorală, serotonină, oxidul nitric, angiostatin sau endostatin. Toți acești factori sunt eliberați de celulele tumorale și de celulele gazdă.

Agenții de întrerupere vasculară blochează selectiv sau distrug vasele sanguine preexistente din tumori, ceea ce duce la moartea celulelor tumorale prin hipoxie și lipsa nutrienților. Țintesc preferențial vasele sanguine tumorale de neoformație deoarece acestea diferă structural față de cele deja existente în organismul sănătos.

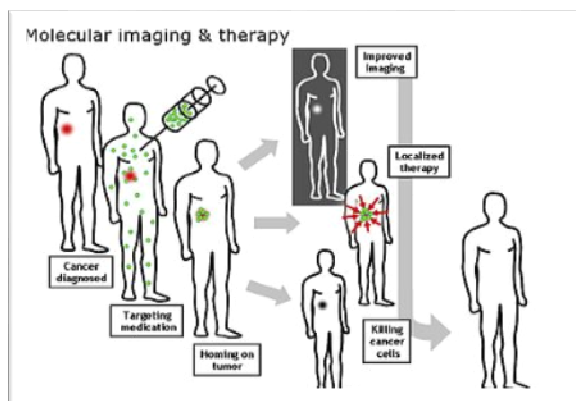
Există agenți de întrerupere vasculară la care se atașează un antigen sau un factor de creștere specific pentru a se lega la endoteliul vaselor tumorale.

**Acidul dimetilxantenon acetic-DMXAA** produce colabarea vaselor tumorale după 30 de minute (tumori la rozătoare), **Combretastatin A<sub>4</sub>** acționează asupra tubulinei din vasele sanguine, producând retracție celulară gonflarea membranei și reorganizarea citoscheletului, ceea ce duce la creșterea permeabilității vasculare și la creșterea presiunii lichidului interstițial, care va duce la colabarea vaselor intratumorale.

Alți derivați sintetici din combrestatin cu o acțiune asemănătoare sunt **ZD6126**, **AVE8062A** sau **OXi4503** (11, 18).

## 5. Nanoterapia în cancer

Dimensiunile mici ale nanoparticulelor le înzestreaază cu proprietăți care pot fi foarte folositoare în oncologie, mai ales în imagistică și transportul și eliberarea de medicamente direct la locul de acțiune dorit (figura 8). Sistemele de administrare a substanțelor medicamentoase prin nanoparticule îmbunătățesc indicele terapeutic și reduc toxicitatea substanțelor administrate [28, 53].



**Figura 8.** Ilustrarea utilizării nano-particulelor în terapia și diagnosticul imagistic al cancerului [53].

Nanoparticulele pot fi încărcate cu substanțe active prin încapsulare sau prin atașarea unor grupări funcționale la suprafața lor. Suprafața este mai mare raportată la volum, ceea ce permite atașarea multor grupări funcționale la nanoparticule, care apoi caută să se lege la anumite celule tumorale.

Dimensiunea mică a nanoparticulelor (de la 10 la 100nm) le permite acumularea preferențială în tumori (pentru că tumorile nu au un sistem limfatic efectiv). Efectul de permeabilitate și retenție îmbunătățit al nanoparticulelor se bazează pe abilitatea nanoparticulelor din patul vascular de a extravaza în localizări cu permeabilitate vasculară crescută. Având în vedere că tumorile sunt bine vascularizate, dar pereții vasculari tumorali sunt foarte permeabili, nanoparticulele vor avea posibilitatea să acumuleze în tumori [13, 28, 53].

Nanoparticulele, care funcționează ca și „*carrieri = transportatori*” de medicamente:

- permit utilizarea medicamentelor care altfel ar fi insolubile sau instabile;
- cresc concentrația agenților farmaceutici la locul de acțiune, prezintă eficacitate crescută;
- scad toxicitatea sistemică și concentrația medicamentului în țesuturile sănătoase, datorită acumulării preferențiale în țesuturile bolnave;
- au clearance redus în comparație cu substanța mamă, deci pot asigura o eliminare susținută a substanței active pe durata a mai multor zile [13, 28].

Eliberarea substanței medicamentoase de pe/sau din nanoparticule se poate face în urma:

- descompunerii/dezintegrării enzimactice a nano-particulei;
- difuziunii din nanoparticula întregă;
- eliberării de pe suprafața nanoparticulei;
- fuziunii nanoparticulei cu membrana celulară și eliberarea ulterioară în celulă a substanței active;
- endocitozei și apoi eliberare ulterioară în reticulul endoplasmatic;
- eliberării condiționate unui factor extern câmp magnetic, temperatură, pH [13, 28].



La unii indivizi, după administrarea diferitelor forme de nanoterapie, pot apărea efecte secundare cum ar fi șocul anafilactic, hepatotoxicitatea, nefrotoxicitatea, inflamații și formarea de granuloame [16, 28].

**Oxizii metalelor** acționează toxic în culturile celulare fibroblastice, (oxizii de fier determină apariția radicalilor liberi). În cazul nanotuburilor de carbon, într-un test efectuat pe șoareci, s-a observat apariția fibrozelor și granuloamelor [16, 28].

**Punctele quantice (Quantum dots)** sunt nanoparticule semi-conductoare de aproximativ 2-10 nm, utilizate în imagistică (MRI-ul), pot produce imagini excepționale ale localizării tumorale. Aceste nanoparticule sunt mult mai luminoase decât coloranții organici, sunt fluorescente când sunt iluminate, în funcție de dimensiunea pe care o au schimbându-se și culoarea pe care o emit. Acest lucru înseamnă că particulele cuantice fluorescente pot produce o imagine de contrast mai bună [13, 28, 53].

Terapia anticancerosă fotodinamică se bazează pe distrucția celulelor canceroase cu ajutorul oxigenului atomic generat de laser, care este citotoxic. Celula canceroasă preia o cantitate mai mare, față de celulele sănătoase, din colorantul special care se folosește pentru obținerea oxigenului atomic, deci doar celulele canceroase vor fi distruse.

Din nefericire, moleculele de colorant rămase migrează în piele și ochi și produc reacții de sensibilizare la expunerea solară, timp de aproape șase săptămâni [21, 24, 53].

Pentru evitarea acestui efect secundar, varianta hidrofobică a acestui colorant este închisă într-o nanoparticulă poroasă. Colorantul rămâne în nanoparticulă, nu se împrăștie în tot organismul, dar nici nu își pierde capacitatea de a produce oxigen atomic, care va fi eliberat prin pori de 1 nm [24].

Halas și West, 2005 citat de Freitas [10], de la Rice University Houston, au dezvoltat un sistem de transportare a substanțelor medicamentoase numit nanoshell – nanosfere (figura 9) de 120 nm din metal dielectric (siliciu acoperit cu aur).

Aceste nanosfere încorporate în polimeri de hidrogel ce conțin medicamente anti-tumorale, sunt injectate în organism și se acumulează lângă celulele tumorale.

Când sunt încălzite cu un laser infraroșu, nanosferele (puțin mai mari decât virusul poliomielitei) absorb selectiv o frecvență specifică de infraroșii, topesc polimerul și eliberează substanța activă într-un loc specific [6, 10, 53].

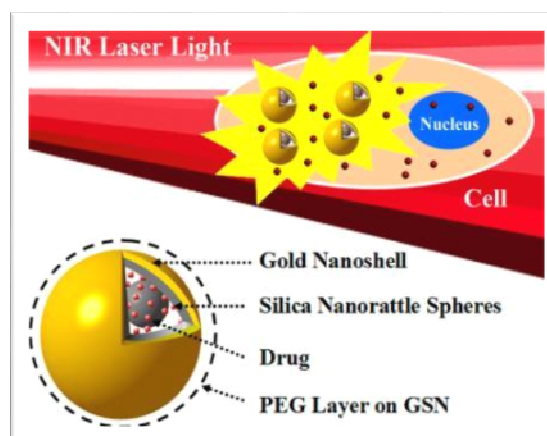


Figura 9. Nanosfere de aur [34].

Dendrimerele (figura 10) sunt molecule sintetice de forma stelată cu diametrul de 5-20 nanometri, formate din structuri ramificate.

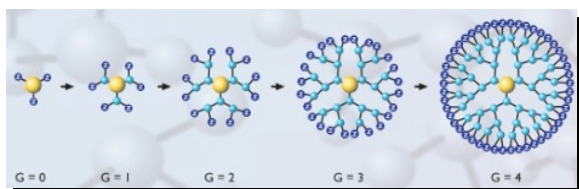
Baker și Tomalia, 2005 citat de Freitas [10], sintetizează nanodispozitive multi-componente numite tectodendimere [6, 10].

Acestea au în mijloc un dendrimer de care se atașează alte tipuri de module dendrimerice, fiecare tip fiind proiectat pentru a îndeplini funcții necesare formării unui nanodispozitiv terapeutic inteligent. Un număr mare de combinații se pot realiza pentru a fabrica (produce) nanodispozitivul dintr-o „bibliotecă” de componente dendrimerice, care îndeplinesc următoarele funcții: recunoașterea celulelor bolnave, diagnosticul bolilor, transportul de substanțe medicamentoase, determinarea locației [6, 10].

Acest schelet poate fi modificat pentru a fi utilizat împotriva unui tip anumit de cancer prin substituirea dendrimerele pentru recunoaștere tumorală, creând un dispozitiv „personalizat” pentru a distruge doar un anumit tip de cancer, evitând celulele sănătoase [6, 10].

Nano-dispozitive sintetizate utilizând generația 5 de dendrimere din poliamidoamidă

cu centrul din etilendiamină, cu acid folic, fluoresceină și metotrexat atașat covalent la suprafața, țintesc celula tumorală, ajută în imagistică și au capacitatea de a livra intracelular substanța medicamentoasă (livrarea țintită a îmbunătățit răspunsul citotoxic al celulelor la metotrexat de 100 de ori față de cel liber) [6, 10].



**Figura 10.** Dendrimere de la generația 0-4 [42].

Câteva tipuri de celule canceroase au fost asociate cu cel puțin o proteină unică pe care dendrimerele de localizare ar putea să le folosească pentru identificarea celulelor canceroase și, datorită progresiei genomice, este foarte probabil să se identifice proteine unice pentru fiecare tip de tumoră. Același tip de recunoaștere a proteinelor de suprafață ar putea fi utilizat împotriva celulelor infectate cu virusuri sau paraziți [6, 10].

Hipertermia produsă de fluide magnetice, este bazată pe faptul că particulele magnetice biocompatibile produc căldură prin diverse tipuri de pierdere energetică în timpul aplicării unui câmp magnetic sau unei surse de lumină laser. Este o metodă promițătoare în terapia cancerului, datorită faptului că țesuturile se încălzesc la 42-46 °C, ceea ce reduce, în general, viabilitatea celulelor canceroase și le crește sensibilitatea la chimioterapie și radiații [23, 53].

Spre deosebire de chimioterapie și radioterapie, hipertermia are mai puține efecte secundare [23, 53].

Pentru tratamentul prin hipertermie au fost utilizate diferite tipuri de nanoparticule magnetice biocompatibile, cum ar fi fluide magnetice stabilizate cu dextran, alte tipuri de fluide magnetice biocompatibile, nanoparticule modificate cu aminosilan, magnetolipozomi cationici sau magneto-lipozomi cu afinitate [13, 23, 28].

Se folosesc nanosfere (nanoshells), nano-dispozitive din aur în formă de cuști (nano-

cages), nanoparticule de aur sau nanoparticule magnetice (particule din oxid de fier) acoperite cu polimeri naturali sau sintetici pentru a preveni aglomerarea particulelor [13, 23, 28].

Bolile hiperproliferative ale pielii nu se limitează doar la tumori, ci și la leziunile precanceroase. Mai multe medicații anticanceroase și antiproliferative au fost transportate cu ajutorul dendrimerele și a nanoparticulelor printre care 5-fluorouracilul, podofilotoxina, paclitaxelul sau acidul 5 aminolevulinic [21].

Acidul 5 aminolevulinic și metilaminolevulinatul induc producția de protoporfirină în celulele pielii.

Terapia fotodinamică este utilizată în cheratoza actinică și cancere nemelanomice ale pielii [1, 7, 21].

Battah și col.2001 citat de Prow [21] a utilizat dendrimere conjugate la acidul 5 aminolevulinic (ALA) pentru a atenua caracterul hidrofob al acestuia și a îmbunătăți sinteza de porfirină și efectul de fotosensibilizare. Acest conjugat nu a fost utilizat topic deoarece nu penetrează pielea suficient, dar a fost utilizat sistemic, ceea ce a dus la fotosensibilizare generalizată [1, 7, 21].

Di Venosa și col. în 2006 au administrat topic dendrimere conjugate la acidul 5 aminolevulinic, trei molecule de ALA la un dendron (3m-ALA) în soluție salină și dimetil sulfoxid. Cele în soluție salină au avut niveluri intracelulare mai ridicate și producție mai bună de protoporfirină. S-a observat că își fac efectul maxim cu o oră mai târziu, probabil datorită faptului că fiind lipofile sunt reținute în stratul cornos [1, 7, 21].

Podofilotoxina este o substanță antiproliferativă cu administrare topică extrasă din rizomii de *Podophyllum species*.

Această substanță s-a utilizat la fabricarea gelului Condyllox 0,5% pentru papiloamele produse de HPV (Human Papiloma Virus) prin inhibarea dezvoltării celulelor epiteliale infectate, dar prezintă efecte toxice grave după absorbție [3, 21].

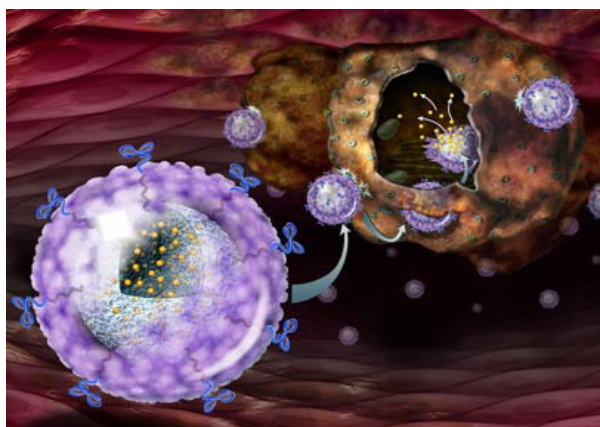
Chen și col. [3], au reușit încapsularea podofilotoxinei în nanoparticule lipidice solide (SLN - solid lipid nanoparticle, figura 12)

pentru reducerea toxicității și urmărirea gradului de penetrare al pielii. Nanoparticulele lipidice solide pot încapsula o cantitate relativ mare de substanță activă față de alte nanostructuri. Se pot administra oral, topic și intravenos. SLN asigură eliminarea controlată a medicamentului mai multe zile, aderă la suprafața mucoaselor și pot traversa bariera hemato-encefalică [3, 21, 28].

Ca modele experimentale Chen și col. au utilizat pielea porcine de pe abdomenul unui singur individ. Pielea a fost curățată de păr, țesut adipos și a fost secționată. Toate experimentele de permeabilitate au fost repetate de trei ori. Ca etalon s-a luat permeabilitatea tincturii de podofilotoxină 0,15%. Cantitatea de SLN cu podofilotoxină și cea de tinctură de podofilotoxină s-a măsurat după 8 ore.

Din studiu a reieșit că permeabilitatea SLN-podofilotoxină este de 3,84 de ori mai bună decât cea a tincturii (SLN-podofilotoxină 23,38  $\mu\text{g}$ , tinctură 6,08  $\mu\text{g}$ ), iar ca localizare în piele: SLN-podofilotoxina se localizează în **epidermă și în foliculii piloși**, ceea ce îi limitează absorbția sistemică și toxicitatea, iar tinctura se găsește în straturile pielii [3, 21].

Venuganti și col., (2008) citat de Prow [21] a folosit dendrimere de poliamidoamină (PAMAM) cu 5-fluorouracil (5-FU) pentru a observa permeabilitatea acestora în piele. Studiul a utilizat modele experimentale pe piele porcine, pe mai multe loturi [21, 29].



**Figura 11.** Nanoparticule lipidice solide [46].

Lotul martor a fost tratat cu 5-FU în următoarele soluții: soluție tampon fosfat, ulei mineral și miristat de izopropil, pentru lotul

martor. S-au mai utilizat un lot care a fost tratat cu 5-FU conjugat pe dendrimere în aceeași soluție și un lot la care s-a făcut pre-tratare cu dendrimere, iar apoi s-a aplicat 5-FU. Lotul tratat simultan cu dendrimere și 5-FU în ulei mineral și miristat de izopropil a prezentat un flux crescut, cel în soluție tampon fosfat nu a prezentat modificări față de lotul martor [21, 29].

Cele în vehicule lipofile au avut coeficient de partiție mai ridicat și au crescut solubilitatea 5-FU în piele. La lotul pretratat cu dendrimere s-a observat creșterea permeabilității 5-FU de 4 ori la cel în ulei mineral, de 2,5 ori la cel în miristat de izopropil și la cel în soluție tampon fosfat s-a observat scăderea la jumătate a permeabilității față de lotul martor.

Studiul a arătat că dendrimerele au crescut permeabilitatea pielii pentru 5-FU din soluția lipofili prin alterarea barierei hidrolipidice a pielii [21, 29].

Zhao și col. 2009 citat de Prow [21] a utilizat nanoparticule de Realgar. **Realgarul** este o substanță utilizată în medicina tradițională chinezească, dar fiind foarte puțin hidrosolubil și foarte toxic, utilizarea lui în medicină este dificilă. Are ca substanță activă tetrasulfid tetrarsenicul ( $\text{As}_4\text{S}_4$ ). Particulele au dimensiunea de 150 nm și au fost obținute prin „crio-măcinare” și încorporate într-un unguent, și au fost capabile să inhibe proliferarea celulelor canceroase în melanom la șoareci. S-au utilizat două loturi experimentale unul pentru aplicare topică (livrare transdermală a medicamentului), iar celălalt lot pentru administrarea prin injecție intraperitoneală a 25 mg nanoparticule realgar pentru fiecare, plus un lot de control tratat doar cu unguent [21, 32].

Celulele tumorale au fost injectate în șoareci intradermic în zona dorsală și s-au lăsat să se dezvolte până la un volum de 40-60  $\text{mm}^3$ . Tratamentele s-au făcut timp de 14 zile, o dată la două zile. Lotul de control a dezvoltat tumori cu un volum de aproximativ 500  $\text{mm}^3$ , lotul tratat i.p. a dezvoltat tumori cu un volum de aproximativ 300  $\text{mm}^3$ , iar la cei tratați cu unguent cu nanoparticule de realgar s-a observat reducerea dezvoltării tumorale, volumul fiind de aproximativ 100  $\text{mm}^3$  [21, 32].



Moartea celulelor tumorale s-a produs prin apoptoză și necroză, iar la doze de până la 5μM a indus reducerea viabilității celulare la aproximativ 45%. Rezultatele obținute pentru unguentul cu nanoparticule de realgar sugerează că administrarea topică are efecte mult mai benefice decât administrarea intraperitoneală [21, 32].

## 6. Fitoterapia ca terapie alternativă în oncologie

Fitoterapia în oncologie oferă pacienților beneficii **antitumorale**, **antioxidante**, **antiinflamatorii** și **analgezice**, plantele fiind o importantă sursă naturală în terapia oncologică. Această terapie poate avea un efect paleativ prin ajutorul în vindecarea plăgilor, efect anxiolitic sau antiemetic [5, 18, 22].

Medicina tradițională chinezească se bazează mult pe utilizarea diferitelor plante. Se menționează adesea efectele anticanceroase ale ciupercilor asiatice, ale bosweliei, curcuminului, sanguinariei, ceaiului verde sau a ciulinului, și multe altele. Aceste plante au capacitatea de a inhiba proliferarea, de a induce apoptoza, de a reduce angiogeneza, de a întârzia metastazarea și chiar de a îmbunătăți activitatea unor chimioterapice. Dar, pe de altă parte, unele plante utilizate pentru creșterea imunității pot reduce efectul chimioterapicelor prin diverse mecanisme, de exemplu usturoiul favorizează efluxul de chimioterapice din celule prin activarea sistemului de transport al glicoproteinei P; sau alt exemplu **ginsengul**, **trifoiul roșu**, **rădăcina de angelică** au activitate anticoagulantă, favorizând sângerarea, când pacienții cărora li se administrează chimioterapice sunt trombocitopenici sau mielosupresați în foarte multe cazuri [22].

### 6.1. Plante mai frecvent utilizate în terapia anticanceroasă

*Berberis amurensis* este o plantă originară din China, are ca principiu activ berbamina un alcaloid bis-benzilizo-chinolonice care produce apoptoza celulelor canceroase [18].

*Colchium autumnale* (brândușa de toamnă) este sursa pentru colchicină, care are efecte antimitotice. Este foarte toxică, de aceea s-au produs compuși sintetici ai acesteia cu efecte bune asupra tumorilor solide [18].

*Boswellia sacra* sau arborele de tămâie (figura 12). Acidul boswelic este un antiinflamator puternic, are efecte antiproliferative și induce apoptoză [22].



Figura 12. *Boswellia sacra* [33].

*Curcuma longa* (figura 13) are ca substanță activă curcumina, un compus polifenolic. Are ca efecte inducerea enzimelor detoxifiante, inhibare proliferării celulelor tumorale, scăderea activității factorilor de creștere, a activatorilor de proteine și a factorilor de transcripție, efecte antiangiogeneze și îmbunătățește efectele citotoxice ale unor chimioterapice [18, 22].



Figura 13. *Curcuma longa* [45].

*Silybum marianum* sau ciulinul (figura 14) se folosește ca supliment alimentar cu efecte hepatoprotectoare, dar s-a observat că acesta reduce toxicitatea cisplatinului asupra rinichiului și toxicitatea doxorubicinului asupra cordului.

Administrat topic sau oral reduce volumul tumoral, și dezvoltarea acesteia prin inhibarea markerilor inflamației și angiogenezei. Are ca și componentă activă, silimarina [8, 22].

*Sanguinaria canadensis* sau macul canadian (figura 15) are efecte caustice. Se utilizează topic.

Sanguinarina din macul canadian are efecte antioxidante, antiinflamatoare, antiproliferative și induce apoptoza, dar în doze mari induce necroza cheratinocitelor normale.

Injectat intratumoral produce necroze și inflamații grave care pot duce la complicații post excizionale [8, 22].

Familia *Curcubitaceae* conține un compus triterpenoid tetraciclic, numit curcubitacin. Are efect antiproliferativ, inhibă dezvoltarea celulelor tumorale și favorizează apoptoza.

Datorită insolubilității în apă se include în miceliile polimerice [18].



Figura 14. *Silybum marianum* [40].



Figura 15. *Sanguinaria canadensis* (37)

*Combretum caffrum* sau salcia africană (figura 16), este un arbust care are ca principiu activ combretastatinul A-4, care acționează asupra vaselor sanguine, prin afectarea structurii tubulinei din celulele endoteliale ale vaselor sanguine tumorale [5, 11, 18, 27].

*Catharanthus roseus* sau brebenoc de Madagascar (figura 17) este principala sursă pentru alcaloizii vinca din care se sintetizează Vincristina, Vinblastina și Vinorelbina.

Alcaloizii vinca inhibă proliferarea celulară, afectează dinamica microtubulară în mitoză și o blochează pe aceasta provocând apoptoză [5, 18].



Figura 16. *Combretum caffrum* [38].





Figura 17. *Catharanthus roseus* [35].

*Podophyllum peltatum* este sursa pentru podofilotoxină, un citotoxic care se extrage din rădăcinile plantei. Derivații semisintetici etoposid și teniposid sunt utilizați în terapie diferitelor cancere. Este utilizat ca tratament în cancere ale pielii și în papilomatoză [5, 18, 27].

*Camptotheca acuminata* sau arborele fericirii (figura 18), este sursă pentru camptotecin, un alcaloid citotoxic. În stare naturală, acesta este puțin solubil, de aceea s-au sintetizat compușii topotecan și irinotecan, aminocamptotecin. Aceștia acționează prin inhibarea topoizomerazei I a ADN-ului și, astfel blochează replicarea și transcripția [5, 18, 27].

*Euphorbia peplus* are ca principiu activ igenolul, iar derivatul acestuia 3-angelat igenol produce necroza celulelor tumorale. Se studiază pentru tratamentul cheratozei actinice și a carcinomului celulelor bazale [18].

*Daucus carotta* (morcovul) are efecte asupra tumorilor de piele induse de radiațiile UV, substanțele active fiind reprezentate de fracțiunile fenolice libere și legate și de betacaroten.

Are activitate inhibitoare asupra tirozinazei, este antiproliferativ și prezintă efecte antioxidative foarte bune [17].

*Camellia sinensis* sau ceaiul verde (figura 19) este sursă pentru polifenolul epigallocatechin-3-galat (EGCG), care are efecte citotoxice în diferite tumori ale pielii.

EGCG inhibă semnificativ viabilitatea celulelor canceroase, proliferarea și creșterea acestora și angiogeneza. Are efecte antiinflamatorii prin reducerea nivelelor de COX-2 și PGE<sub>2</sub> [8, 25].



Figura 18. *Camptotheca acuminata* [39].



Figura 19. *Camellia sinensis* [36].

## Bibliografie

1. **Battah S., O'Neill S. et al. (2006)** - Enhanced porphyrin accumulation using dendritic derivatives of 5-aminolaevulinic acid for photodynamic therapy: An in vitro study, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 38 (2006), p. 1382–92
2. **Baust J.G., Gage A.A. (2013)** - Mechanisms of cryoablation: Clinical consequences on malignant tumors, *Cryobiology* 68 p.1–11

3. **Chen H, Chang X, Du D. et al. (2005)** - Podophyllotoxin-loaded solid lipid nanoparticles for epidermal targeting, *Journal of Controlled Release* 110, p. 296 – 306
4. **Chun R., Garrett LD., Vail DM. (2007)** - Cancer Chemotherapy in Eds. Withrow S.J., Vail D.M. - *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* ed. IV, p. 163-192, Editura Saunders-Elsevier, St. Louis, Missouri
5. **Cragg GM., Newman DJ. (2005)** - Plants as a source of anti-cancer agents, *Journal of Ethnopharmacology* 100 (2005), p. 72–79
6. **Cristina RT. (2009)** - Noutăți în nanomedicină, <http://www.veterinarypharmacon.com/docs/585-NANOMEDICINA.pdf>
7. **Di Venosa G.M., Casas A.G., Battah S. (2006)**. Investigation of a novel dendritic derivative of 5-aminolaevulinic acid for photodynamic therapy, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 38, p. 82–91
8. **Dinkova-Kostova AT. (2008)** Phytochemicals as Protectors Against Ultraviolet Radiation: Versatility of Effects and Mechanisms, *Planta Med*; 74(13), p. 1548-59.
9. **Farese JP., Withrow SJ. (2013)**. Surgical Oncology in Eds. Withrow S.J., Vail D.M. - *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* ed. V, p. 149-156, Saunders-Elsevier, St. Louise Missouri
10. **Freitas RA. (2005)** - What Is Nanomedicine? - *Disease-a-Month*, 51(6), p. 325–341
11. **Gaya AM., Rustin GJS. (2005)**. Vascular Disrupting Agents: A New Class of Drug in Cancer Therapy, *Clinical Oncology* 17, p. 277–290
12. **Gustafson DL., Page RL. (2013)**. Cancer Chemotherapy in Eds. Withrow S.J., Vail D.M. - *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* Ed. V, p. 157-179, Saunders-Elsevier, St. Louis, Missouri
13. **Kleinstreuer C., Childress E., Kennedy A. (2013)**. Targeted Drug Delivery: Multifunctional Nanoparticles and Direct Micro-Drug Delivery to Tumors, in Eds. Becker S., Kuznetsov A. - *Transport in Biological Media*, p. 391–416.
14. **LaRue SM., Gillette EL. (2007)** - Radiation Therapy in Eds. Withrow SJ., Vail DM. *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* ed. IV, p. 193-210, Saunders-Elsevier, St. Louis, Missouri
15. **LaRue SM., Gordon IK. (2013)**. Radiation Therapy in Eds. Withrow SJ., Vail DM. *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* ed. V, p. 180-197, Editura Saunders-Elsevier, St. Louis, Missouri
16. **Merwe D., Pickrell JA. (2012)**. Toxicity of nanomaterials, in Eds. Gupta, Ramesh. *Veterinary Toxicology (Sec. Ed.)*, p. 383–390
17. **Natarajamurthy SH., Dharmesh SM. (2013)**. Protective effect of *Daucus carota* against UV–DMBA induced skin cancer in mice, *Chemico-Biological Interactions* 219, p. 48–56
18. **Nirmala MJ., Samundeeswari A, Deepa Sankar P. (2011)**. Natural plant resources in anti-cancer therapy-A review, *Res Plant Biol*, 1(3), p. 01-14
19. **North S., Banks T. (2009)** - Introduction to Small Animal Oncology, Saunders-Elsevier, London UK.
20. **Ota J., Giuliano EA. (2007)**. Local photodynamic therapy for equine squamous cell carcinoma: Evaluation of a novel treatment method in a murine model, *The Veterinary Journal* 176, p. 170–176
21. **Prow TW., Grice JE. (2011)**. Nanoparticles and microparticles for skin drug delivery - *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63(6), 30, p. 470-491
22. **Robinson NG. (2013)**. Complementary and Alternative Medicine for Cancer: The Good, the Bad, and the Dangerous in Eds. Withrow S.J., Vail D.M. - *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* ed. V, p. 280-292, Saunders-Elsevier, St. Louis, Missouri
23. **Šafařík I., Horská K., Šafaříková M. (2011)**. Magnetic Nanoparticles for Biomedicine, *Intracellular Delivery Fundamental Biomedical Technologies* Vol. 5, 2011, p 363-372.
24. **Salata OV. (2004)**. Applications of nanoparticles in biology and medicine, *J Nanobiotech*, 2 (3).
25. **Singh T., Katiyar SK. (2013)**. Green tea polyphenol, (–)-epigallocatechin-3-gallate, induces toxicity in human skin cancer cells by targeting  $\beta$ -catenin signaling, *Toxicology and Applied Pharmacology* 273 (2013), p. 418–424
26. **Spugnini EP., Vincenzi B. (2007)**. Electrochemotherapy for the treatment of squamous cell carcinoma in cats: A

- preliminary report, *The Veterinary Journal* 179, p.117–120.
27. **Srivastava V., Negi AS. (2005).** Plant-based anticancer molecules: A chemical and biological profile of some important leads, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 13, p. 5892–5908
28. **Underwood C., van Eps AW. (2012).** Nanomedicine and veterinary science: The reality and the practicality, *The Veterinary Journal* 193 (2012), p. 12–23.
29. **Venuganti VVK., Perumal OP. (2008).** Effect of poly(amidoamine) (PAMAM) dendrimer on skin permeation of 5-fluorouracil, *International Journal of Pharmaceutics* 361, p. 230–238.
30. **Villalobos A., Kaplan L. (2007)** - Canine and Feline Geriatric Oncology, Blackwell Publ., Iowa, USA
31. **Withrow SJ. (2007).** Surgical Oncology in Eds. Withrow S.J., Vail D.M. Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, ed. a IV-a, p.157-162, Editura Saunders-Elsevier, St. Louis, Missouri.
32. **Zhao Q. H., Zhang Y., Liu Y. et al. (2009)** - Anticancer effect of realgar nanoparticles on mouse melanoma skin cancer in vivo via transdermal drug delivery, *Medical Oncology*, 27(2), pp 203-212.
- Surse web**
33. [http://en.wikipedia.org/wiki/Boswellia#mediaview/File:Boswellia\\_sacra\\_-\\_K%C3%B6hler%E2%80%93s\\_Medizinal-Pflanzen-022.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/Boswellia#mediaview/File:Boswellia_sacra_-_K%C3%B6hler%E2%80%93s_Medizinal-Pflanzen-022.jpg)
34. [http://english.cas.cn/Ne/CASE/201101/t20110121\\_64693.shtml](http://english.cas.cn/Ne/CASE/201101/t20110121_64693.shtml)
35. <http://luirig.altervista.org/photos-search/index.php?title=Catharanthus+roseus>
36. <http://urbanherbology.org/wp-content/uploads/2011/05/camellia-sinensis-tea-plant.jpg>
37. <http://wisplants.uwsp.edu/scripts/detail.asp?SpCode=sancan1>
38. <http://www.bellenews.com/2011/09/20/science-tech/zybrestat-could-help-thyroid-cancer-patients-to-live-longer/>
39. [http://www.bhfroee.com/ZC/index.php?main\\_page=product\\_info&products\\_id=925](http://www.bhfroee.com/ZC/index.php?main_page=product_info&products_id=925)
40. <http://www.biolib.cz/cz/image/id128053/>
41. <http://www.cancerresearchuk.org/cancer-help/about-cancer/cancer-questions/electrochemotherapy-for-cancers-affecting-the-skin>
42. <http://www.chemheritage.org/discover/online-resources/chemistry-in-history/themes/microelectronics-and-nanotechnology/tomalia.aspx>
43. <http://www.csuanimalcancercenter.org/varian-radiation-machine>
44. <http://www.dog-health-handbook.com/dog-eye-cataracts.html>
45. <http://www.itmonline.org/arts/turmeri3.htm#figure>
46. <http://www.jhunewsletter.com/wp-content/uploads/2012/09/b7nanoparticles.jpg>
47. <http://www.merckmanuals.com/vet/multimedia/v4733690.html?Ref=n&ItemId=v4733690&RefId=x&Speed=256&Plugin=WMP&Error=?qt=&sc=&alt=>
48. <http://www.radiologyinfo.org/en/info.cfm?pg=cryo>
49. <http://www.radiologyinfo.org/en/photocat/gallery3.cfm?pid=1&image=cryo-ir-probes.jpg&pg=cryo>
50. <http://www.veterinarycancer.com/mastcelltumors2.html>
51. [http://www.veterinarycancer.com/nasal\\_tumors.html](http://www.veterinarycancer.com/nasal_tumors.html)
52. <http://www.vetoncology.org/2011/06/22/radiation-therapy-skin-side-effects/>
- [Nanomedicine – Wikipedia, http://en.wikipedia.org/wiki/Nanomedicine, 2013](http://en.wikipedia.org/wiki/Nanomedicine)