

Elemente de chimioterapie si radioterapie la animale

Elements of chemotherapy and radiotherapy in animals

Romeo T. Cristina, Eugenia Dumitrescu*, Andreia B. Chirilă

Facultatea de Medicină Veterinară Timisoara

cris_tinab@yahoo.com

Cuvinte cheie: chimioterapie, radioterapie, animale
Key words: chemotherapy, radiotherapy, animals

Rezumat

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. În acest sens, 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 radiografiile (simple sau/și cu contrast), ecografiile sau examinarea prin CT (computer tomograf). O dată pus diagnosticul este importantă definirea obiectivelor și așteptărilor de la tratamentul aplicat. 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. În prezentul referat bibliografic sunt prezentate principalele elemente ale chimioterapiei și radioterapiei la animale.

Abstract

Cancer treatment is usually a polymorphic one, which includes: surgery, radiotherapy, chemotherapy or any combination of these. In order to choose a correct and appropriate therapeutic procedure for each patient, the following should be noted: the result of the histological examination, the malignancy status, the patient's medical history and the financial possibilities of the owner. In this regard, a minimum database on the health / illness of the patient is required, which is obtained by a blood test (biochemistry and hematology) and a urine test. For proper staging and correct prognosis, X-rays (simple or / and contrast), ultrasound or CT scan (CT) will be performed. Once the diagnosis is made, it is important to define the goals and expectations of the treatment applied. Tumor growth presents an exponential development phase, and then quickly enters a plateau phase. Response to chemotherapy depends on where it is on the development curve (if there are few cells in the division then the fraction destroyed by chemotherapeutics will be small). In conclusion, small tumors with high growth fraction are more sensitive to chemotherapeutics because they have a larger number of cells in the proliferative phase. In this bibliographic reference are presented the main elements of chemotherapy and radiotherapy in animals.

Introducere

Cel mai mare obiectiv al terapiei este acela de a prelungi viața pacientului, fără a afecta / compromite calitatea acesteia. 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.

1. Elemente de chimioterapie la animale

Chimioterapia este folosită și pentru a micșora volumul tumoral pentru îmbunătățirea condițiilor de viață (terapie paliativă) sau înainte de excizia chirurgicală (terapie neoadjuvantă).

Efectele secundare parțiale cele mai frecvent întâlnite sunt:

- acute (vomă și diaree);
- cumulative (supresia măduvei osoase);
- idiosincrazice, (cistita hemoragică la ciclofosamidă).

Chimioterapia se adresează în principal animalelor de companie și se administrează sistemic.

Ea este 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 micrometastazelor, pentru prevenirea recurențelor, pentru micșorarea tumorilor cu volum mare în scop paliativ sau înainte de extirparea chirurgicală și pentru sensibilizarea țesuturilor înainte de radioterapie.

Unele chimioterapice acționează sinergic cu radiațiile și îmbunătățesc distrugerea celulelor tumorale. 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.

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.

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

În tabelul 1. sunt prezentate câteva Asocierile medicamentoase asigură protocoale terapeutice pentru sarcoame și distrugerea crescută a celulelor tumorale, carcinoame ale sistemului tegumentar. limitând toxicitatea individuală a Tumorile sistemului tegumentar sunt mai medicamentelor. ușor tratabile prin chirurgie sau radioterapie.

Tabelul 1.

Protocoale terapeutice în sarcoamele și carcinoamele sistemului tegumentar
(după Villalobos, 2007).

Sarcom - câine	1. Sarcomul celulelor fusiforme	<i>Doxorubicină</i> 30 mg/m ² , i.v., la 3 săptămâni <i>Dacarbazine</i> 1000 mg/m ² , i.v. perfuzie timp de 6-8h, repetată la 3 săptămâni <i>Sulfa + trimetoprim</i> 15 mg/kg, p.o., 2x1/zi
	2. Alte sarcoame (ciclu terapeutic: 21 zile)	<i>Doxorubicină</i> 30 mg/m ² , i.v., ziua 1 <i>Vincristina</i> 0.75 mg/m ² , iv., în zilele 8, 15 <i>Ciclofosamidă</i> 200-300 mg/m ² , p.o., ziua 10 <i>Sulfa + trimetoprim</i> 15 mg/kg p.o., 2x1/zi
Sarcom - pisică	1. <i>Carboplatin</i> 300 mg/m ² , i.v., la 3-4 săptămâni	
	2. Ciclu terapeutic 21 de zile	<i>Doxorubicină</i> 1mg/kg, i.v., ziua 1 <i>Ciclofosamidă</i> 100-150 mg/m ² în ziua 10 și 11 <i>Doxorubicină</i> 1mg/kg, i.v., ziua 1
	3. Ciclu terapeutic 28 de zile	<i>Vincristina</i> 0.5-0.75 mg/m ² , i.v., ziua 8, 15, 22 <i>Ciclofosamidă</i> 100-150 mg/m ² în ziua 10 și 11
	4. Ciclu terapeutic 21 de zile	<i>Mitoxantron</i> 4-6 mg/m ² , i.v. perfuzie în 4 h, ziua 1 <i>Ciclofosamidă</i> 200-300 mg/m ² , p.o., în ziua 10 <i>Mitoxantron</i> 4-6 mg/m ² , i.v. perfuzie în 4 h, ziua 1
	5. Ciclu terapeutic 21 de zile	<i>Vincristină</i> 0.5-0.6 mg/m ² , i.v. în ziua 8 și 15 <i>Ciclofosamidă</i> 200-300 mg/m ² , p.o., în ziua 10
Carcinom - câine	1. <i>Carboplatin</i> 300 mg/m ² , i.v., la 3-4 săptămâni	
	2. <i>5-fluorouracil</i> 150 mg/m ² , i.v., săptămânal <i>Ciclofosamidă</i> 50 mg/m ² , p.o., 4 zile pe săptămână sau o dată la două zile <i>Metotrexat</i> 2.5 mg/m ² , p.o., de 2 sau 3 ori pe săptămână	
	3. <i>Doxorubicină</i> 30 mg/m ² , i.v., ziua 1 <i>5-fluorouracil</i> 150 mg/m ² , i.v., ziua 8 și 15 <i>Ciclofosamidă</i> 200-300 mg/m ² , p.o., ziua 10 <i>Sulfa-trimetoprim</i> 15 mg/kg, p.o., 2x1/zi, pe toată durata tratamentului	
	4. <i>Cisplatin</i> 60-70 mg/m ² , i.v. în perfuzie, la 3 săptămâni, înainte de administrare diureză intensă	
	5. <i>Vincristină</i> 0.75 mg/m ² , i.v., ziua 8, 15 <i>Doxorubicină</i> 30 mg/m ² , i.v., ziua 1 <i>5-fluorouracil</i> 150 mg/m ² ziua 1, 8 și 15	
	6. <i>Doxorubicină</i> 30 mg/m ² , i.v., ziua 1 <i>Vincristina</i> 0.75 mg/m ² , iv., în zilele 8, 15 <i>Ciclofosamidă</i> 200-300 mg/m ² , p.o., ziua 10 <i>Sulfa-trimetoprim</i> 15 mg/kg p.o., 2x1/zi, pe toată durata tratamentului	
	7. <i>5-fluorouracil</i> 150 mg/m ² , i.v., o dată pe săptămână <i>Ciclofosamidă</i> 50 mg/m ² , p.o., 4 zile pe săptămână, sau o dată la două zile	
Carcinom - pisică	1. <i>Carboplatin</i> 200-240 mg/m ² , i.v., la 3-4 săptămâni	
	2. Ciclu terapeutic de 28 de zile	<i>Doxorubicina</i> 1 mg/kg, i.v. ziua 1 <i>Ciclofosamidă</i> 100-150 mg/m ² , în ziua 10 și 11 <i>Doxorubicină</i> 1 mg/kg, i.v., ziua 1
	3. Ciclu terapeutic de 28 zile	<i>Vincristina</i> 0.5-0.75 mg/m ² , i.v., ziua 8, 15 și 22 <i>Ciclofosamidă</i> 100-150 mg/m ² , în ziua 10 și 11
	4. <i>Vincristină</i> 0.5 mg/m ² , i.v., o dată pe săptămână <i>Ciclofosamidă</i> 50 mg/m ² , p.o., 4 zile pe săptămână sau o dată la două zile	
	5. Ciclu terapeutic 21 de zile	<i>Mitoxantron</i> 4-6 mg/m ² , i.v., perfuzie în 4 h, în ziua 1 <i>Ciclofosamidă</i> 200-300 mg/m ² , p.o., în ziua 10 <i>Mitoxantron</i> 4-6 mg/m ² , i.v., perfuzie în 4 h, în ziua 1
	6. Ciclu terapeutic de 21 zile	<i>Ciclofosamidă</i> 200-300 mg/m ² , p.o., în ziua 10 <i>Vincristina</i> 0.5-0.6 mg/m ² , 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	

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.

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

1.1. Principii farmacologice în chimioterapie

Farmacocinetica agenților chimioterapici este importantă deoarece arată distribuția medicamentului și a metaboliților săi prin organism și biodisponibilitatea lui de a distruge celulele canceroase, deci efectul terapeutic.

Prin administrare intravenoasă se presupune biodisponibilitate 100%, dar pentru alte tipuri de administrări (per os,

intramuscular sau subcutanat) 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 (gena MDR la Collie).

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 mg/m^2 sau în mg/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 câinii sub 15 kg și la pisici se recomandă utilizarea calculării dozei în funcție de greutatea corporală (mg/kg).

Ciclul celular

Fazele ciclului celular sunt:

- F = 1 (sinteza ARN -ului și a proteinelor),
- F = 2 (sinteza ADN-ului),
- F = 3 (o a doua perioadă de sinteză a ARN-ului și a proteinelor).
- F = 4 (mitoza) și

Celulele în repaus sunt în faza G_0 . 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*.

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.

Cele mai frecvente **efecte secundare** sunt:

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 terapiei 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 următoarelor 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 $\mu m/kgc$.

Pe lângă acestea se recomandă reducerea dozei de chimioterapic cu 10-20% și, dacă nici acest lucru nu are efect, se schimbă medicația.

Digestive

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 8h 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 chemoterapici, vestibul și tractul gastrointestinal.

Receptorii sunt reprezentați de H_1 pentru histamină și $5-HT_3$ 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.

Tabelul 2.

Antiemetice folosite în medicina veterinară
(după North și Banks, 2009)

Medicamentul	Locul acțiunii	Indicații	Doza
Metoclopramid	Acționează central asupra centrului vomei, la doze mari are activitate anti-dopaminergică și antiserotonergică. Crește tonusul sfîcterului esofagian și relaxează pilorul. Este 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
Citrat de maropitant (Cerenia)	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
Fenotiazine ex. clorpromazina	Antagonist central de dopamină	Are efect în noseea ușoară	0.5 mg/kg i.m. sau s.c. 3x1/zi sau 4x1/zi
Butorfanol	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.
Antagoniști de serotonină (ondansetron)	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

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.

Dermatologic

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.

b. Reacțiile alergice idiosincrazice pot apărea la oricare agent chimioterapic, 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/kg i.v. lent, clorfeniramină - 2.5-10 mg i.m., dexametazonă - 0.5-2 mg/kg i.v., fluidoterapie i.v. și adrenalină (epinefrină).

c. 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.

Reacțiile 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, recomandă administrarea dexametazonei în doză de 0.025 mg/kg i.v., butorfanolului 0.1 mg/kg i.v. și a clorpromazinei 0.5 mg/kg i.m., iar imediat după administrarea cisplatinului se administrează manitol 0.5 g/kg 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.

Cistita hemoragică sterilă este un potențial efect secundar al ciclofosfamidei și al ifosfamidei, de aceea se recomandă administrarea concomitentă a 2-mercapto-etansulfonatului.

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 anti-inflamatoare. 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

Neurotoxice

Apar rar în medicina veterinară, cel mai adesea 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 membrilor pelvine, alergarea/mușcarea cozii sau un comportament anormal care nu poate fi altfel explicat, în acest caz se recomandă întreruperea tratamentului și substituția cu vinblastină.

Pe lângă aceste efecte secundare, vincristina mai poate provoca ileus paralic, 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.

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 reprezentați 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. Ca exemplu se pot aminti carcinoamele celulelor de tranziție în urma

tratamentului îndelungat cu ciclofosfamide.

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.

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 220-240 mg/m².

O dată apărute semnele cardiotoxicității acestea sunt ireversibile. Pacienților cu antecedente cardiace și raselor predispușe 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.

1.2. Evaluarea eficacității chimioterapiei

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.

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 **răspuns favorabil** dacă diferența depășește 30% de la începutul tratamentului.

În cazul în care boala devine stabilă și nu există o reducere măsurabilă a volumului tumoral, estimarea eficacității tratamentului este dificilă. În acest caz dacă nu există un răspuns parțial, după patru săptămâni de la începerea tratamentului se consideră că evoluția este rezistentă la terapie.

Nu se consideră eficient tratamentul până când mai mult de jumătate din pacienți au prezentat remisie completă.

1.3. 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. În cazul tumorilor cu volum mare doar 5% din celule sunt susceptibile la acțiunea chimioterapicelor, iar cele aflate în faza G₀, adică în repaus, care contribuie la volumul tumoral sunt, de obicei, rezistente la acțiunea chimioterapicelor.

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.

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.

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 hemato-encefalică, împiedică distribuția medicamentului și, implicit, duce la eșecul tratamentului, chiar dacă în mod normal tumora ar fi sensibilă la acțiunea chimioterapicului.

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)**.

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.

Gena 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.

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. 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).**

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.

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. 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.

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.

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. 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.

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

Alii agenți chimioterapici utilizați în medicina veterinară
(după Chun, Gustafson, North și Banks și Villalobos)

Terapeutic	Mecanism de acțiune	Metabolizare	Toxicitate	Precauții	Doze	Indicații
Ciclofosfamida	Alchilarea ADN-ului	Hidrolizare microzomală în ficat la forma activă, hidroliză la acroleină, excreție ca produs inactiv prin urină	Mielosupresie, cistită hemoragică sterilă, alopecie	Tabletele nu se divizează, manevrarea corespunzătoare a pudrei liofilizate	Câini: 200-250 (300) mg/m ² Pisici: 10 mg/kg	Limfom, leucemie, mielom multiplu, plasmocitom, carcinoame și sarcom
Clorambucil	Alchilarea ADN-ului	Descompunerea chimică în produși activi și eliminarea 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 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 zilnic 1x2/zi	Mielom multiplu
Ifosfamid	Alchilarea ADN-ului, izomer al ciclofosfamidei	Excretat prin tractul urinar	Mielosupresie, cistită hemoragică severă, uroprotecție cu 2-mercapto-etansulfonat (MESNA)	La fel ca ceilalți agenți alchilanți	Câini: 350-375 mg/m ² , i.v. la 3 săptămâni	Sarcom, hemangiosarcom cutanat și leiom
Flustin (CCNU)	Nitrozoureea 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 ² , p.o., o dată la 3 săptămâni Pisică: 50-60 mg/kg, p.o., la 3 săptămâni	Limfom, mastocitom, sarcoame histiocitice, combinație cu radioterapia și
Flustin (BCNU)	Nitrozoureea, alchilează ADN-ul ca Lomustinul	Liposolubilitate crescută, după administrarea i.v. se obțin concentrații bune în LCR, excreția se realizează prin urină	Mielosupresie severă, nosee, vomă, pneumonie interstițială	La oameni se asociază cu fibroza pulmonară	Câini: 50 mg/m ² i.v. o dată la 6 săptămâni	Se utilizează rareori, traversează bariera hemato-encefalică
Busulphan	Agent alchilant	Metabolizat în mai multe produse excrete prin urină	Mielosupresie și trombocitopenie prelungită	Tabletele nu se divid	Câine: 2mg/m ² p.o.	Leucemie mielocitară cronică
Procarbazin	Alchilarea ADN-ului, inhibarea ADN și ARN-ului și a sintezei de proteine	Metabolizat de ficat, excretat de rinichi	Leucopenie și trombocitopenie instalată târziu, semne gastro-intestinale anorexie, vomă, diaree	Capsulele orale nu se divizează	Câine: 50mg/m ² zilnic, timp de 14 zile	Protocol de rezistență pentru limfom
Dacarbazin	Mecanismul exact este	Metabolizat în ficat, și	Mielosupresie,	Efect vezicant și	Câine: 200 mg/m ² iv. în	Protocol de rezistență

	necunoscut, dar în parte acționează ca agent de alchilare	excretat prin tubulii renali	hepatotoxicitate, anorexie, nosee, vomă, alopecie, anafilaxie	necrozant dacă ajunge extravascular, incompatibil cu hidrocortizonul hemisuccinat	bolus lent, 1x1/zi timp de 5 zile sau 1000 mg/m ² la 3 săpt. i.v. (în 8-10 h) sau combinat cu doxorubicina sau lomustin	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 animalele cu disfuncții hepatice	Câine: 0,5-0,75 mg/m ² i.v. Pisici: 0,25 mg/m ² - 0,75 mg/m ² i.v.	Leucemii, limfocarcinoame și sarcoame, tumori mastocitare
Vinblastina	Inhibă polimerizarea tubulinei, specifică pe faza celulară (metafază)	Metabolizare hepatică, cu excreție biliară, eliminare prin fecale	Neutropenie, trombocitopenie, semne gastrointestinale	Dacă se administrează perivascular este vezicant	Câini și pisici: 2mg/m ² i.v. la 1-2 săptămâni	Limfom, leucemii, tumori mastocitare
Vinorelbina	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 ² 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 cardioliipină 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 ² i.v. la interval de 2-3 săptămâni La câinii sub 10 kg 1 mg/kg Pisici: 20-25 mg/m ² sau 1 mg/kg la interval de 3 săptămâni	Leucemie, limfocarcinoame, sarcoame (hemangiosarcom)
Epirubicina	Are efecte multiple similare doxorubicinei, fiind un stereozomer semisintetic al acesteia	Substanța activă se elimină pe căile cunoscute de eliminare, în principal calea biliară	Ca la doxorubicină, dar mai toxic gastro-intestinal și mai puțin toxic cardiac	Incompatibil cu heparina. Vezicant dacă extravazează	Câini: 30 mg/m ² 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 da mai puține reacții alergice și cardiotoxice	Incompatibil cu heparina. Efect vezicant mediu	Câini: 5.0-5.5mg/m ² la 3 săptămâni Pisici: 5.0-6.5 mg/m ² la 3-4 săptămâni	Carcinom scvamocelular, carcinoame. Adjuvant în radioterapie
Dactinomicina D Sau Dactinomycin	Antibiotic antitumoral produs de miceti 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 ² o dată la 2-3 săptămâni	Medicație de rezervă pentru pacienții cu limfom. Poate fi folosit și ca ajutor pentru pacienții cu leucemie limfocitară acută
Cisplatin	Conține platină, se leagă covalent la ADN, inhibă sinteza proteinelor	Este inactivat intracelular. Eliminare: în proporție mare prin excreție renală	Nefrotic, ototoxic, nosee și vomă, mielosupresie, neuropatie periferică, hipersensibilizare.	Sunt necesare diureza agresivă și terapia antiemetică. Monitorizarea creatininei și examenul urinei. Nu se	Câine: 50-70 mg/m ² ! Nu se administrează la pisici	Osteosarcom, mezoteliom, carcinoame, sarcoame, leucemie, leucosarcom, leucosarcom, leucosarcom

			! Edem pulmonar fatal la pisică	administra cu alte substanțe nefrotice		
Carboplatin	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 nefrotic	La pacienții cu antecedente renale se recomandă diureza înainte de tratament. Monitorizarea parametrilor renali	Câini: 300mg/m ² i.v. Pisici: 180-210 (260) mg/m ² i.v. La 3-4 săptămâni	Osteosarcom, scvamocelular
Citarabin/ arabinozidă	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 ² s.c., divizat în două doze la 24h distanță, sau 600 mg/m ² i.v. sau s.c. O dată pe săptămână	Limfom, meningoencefal granulomatos
Metotrexat	Inhibă reductaza acidului dihidrofolic, deci interferează cu sinteza ADN-ului, reparația și replicația celulară.	Administrat oral se metabolizează parțial în intestin, dar metabolizarea se face predominant în ficat, iar eliminarea prin rinichi	Mielosupresie, denudarea mucoasei intestinale, diaree, nosee, vomă, anorexie, hepatotoxicitate, nefrotoxicitate, alopecie	Nu se administrează împreună cu AINS, sulfamide și tetraciline cresc toxicitatea L-asparaginaza reduce toxicitatea și activitatea antitumorală	Câini și pisici: 0.5-0.8 mg/kg i.v., p.o.	Limfom, tumori transmisibile, tumori mieloproliferative
Gemcitabin	Analog al deoxicitidinei, se activează intracelular este incorporat în ADN., specific pe faza celulară	75% din substanță este excretat prin urină în 24h	Toxic gastrointestinal, provoacă mielosupresie		Câine: 100-400 mg/m ² i.v., perfuzie săptămânal timp de 3 săpt. Sau 650 mg/m ² i.v. la două săpt.	Carcinom gastric, limfom, melanom malign, carcino scvamocelular
Asparaginaza	Enzimă de origine bacteriană degradează aminoacidul asparagină, inhibă sinteza de proteine	Se elimină prin urină și fecale	Scade sinteza de proteine, poate produce pancreatită, șoc anafilactic, crește nivelul enzimelor hepatice	Se administrează cu precauție la pacienții cu disfuncții hepatice sau pancreatice. Produce rapid rezistență.	Câine: 400 UI/kg i.m. sau 1000 UI/m ² i.m. Pisică: 400 UI/kg	Limfom
Hidroxiurea	Inhibă conversia ribonucleotidelor în deoxiribonucleotide prin distrugerea ribonucleozid difosfat reductazei	Este metabolizat în ficat și eliminat prin rinichi	Mielosupresie, paronichie, semne gastrointestinale - vomă, diaree	Contraindicat pacienților cu tulburări renale	Câine: 50 mg/kg p.o. 2x1/zi sau 1x1/zi apoi 1x2/zi Pisică: 10 mg/kg, 1x1/zi	Leucemie mielocronică, policitemie acționează sinergic cu radioterapia
Fluorouracil 5-FU	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	Câine: 150 mg/m ² i.v. 1 pe săptămână	Carcinoame, sarcom

2. Elemente de radioterapie oncologică

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.

Alegerea unei **alternative** dintre tratamentul chirurgical sau radioterapie sau chimioterapie se face în funcție de dorințele proprietarului, probabilitatea de a controla local sau locoregional neoplasmul, rezultatele posibile ale tratamentului și, eventual, alte boli concurente pe care le are pacientul.

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 activ.

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.

Următoarele tumori ale pielii sunt susceptibile la acțiunea radiațiilor: **tumorile celulelor mastocitare, sarcoamele, sarcoamele induse de vaccin la pisici, fibrosarcoamele, carcinoamele scvoamocelulare, adenocarcinoamele glandelor sudoripare și sebacee, melanoamele, plasmocitoamele.**

Tumorile cu localizare orală răspund bine la radioterapie. 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. Se tratează astfel **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 bine la radioterapia fracționată.

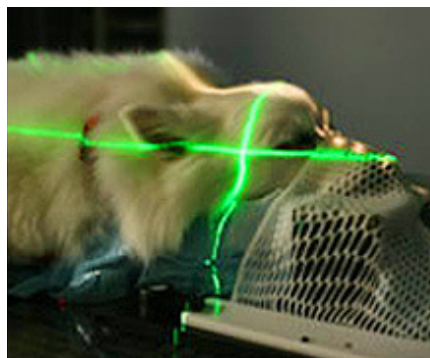


Figura 1. Aplicarea radioterapiei la câine
 Sursa: <http://www.csuanimalcancercenter.org/varian-radiation-machine>

Tumorile cu localizare truncană 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.

Cele mai frecvente tumori sunt hemangiopericitoamele, sarcoamele, fibrosarcoamele, care de obicei sunt invazive local.

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.

În cazul tumorilor cu volum mare se apelează la radioterapie pentru reducerea volumului tumoral în vederea excizării acesteia.

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. 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 metastaze ar avea un deces timpuriu.

Majoritatea pacienților vor fi tratați cu megavoltaj, prin doze fracționate în decurs de câteva săptămâni în funcție, de beneficiile și riscurile tratamentului.

2.1. Principii 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.

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 (celulele osoase și nevoase), dar schimbările produse de radiații apar lent, aceste țesuturi fiind cu răspuns întârziat.

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 iradiații decât volumele mici.

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 de Gy, animalul s-ar afla la limita

minimă a toxicității, iar dacă ar primi 60 de 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.

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.

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. Dozele fracționate permit regenerarea și repopularea țesuturilor cu răspuns imediat, dar dacă se prelungeste timpul dintre iradiații 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 mitoza, 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.

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 mai sensibile.

Timul 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.

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

Radioterapie externă prin Ortovoltaj, Cobalt-60 - megavoltaj, Accelerator linear (Linac) - megavoltaj. Brahiterapie cu Iridiu-192, Stronțiu-90, se utilizează rar în medicina

veterinară deoarece necesită introducerea unor implante.

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 se amână tratamentul cu radiații.

Cele mai frecvente manifestări (fig. 2.) sunt inflamația locală, descuamarea uscată sau umedă și alopecia (durează mai multe luni), hiper sau hipopigmentarea (afectarea melanocitelor) în cazul pielii.

Mai pot apare:

- 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.

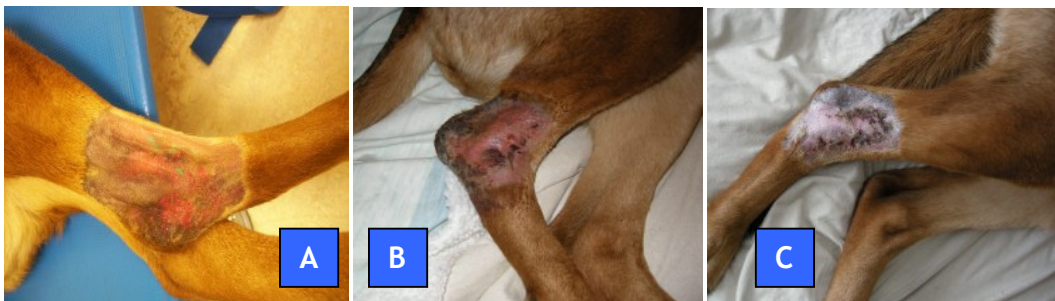


Figura 2. Câine cu (A) alopecie și hiperemie, (B) descuamare umedă și (C) descuamare uscată

Sursa: <http://www.vetoncology.org/2011/06/22/radiation-therapy-skin-side-effects/>

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 (fig. 3), care are importanță mai mult estetică decât medicală, altele ar fi fibroza sau ulcerale fără tendință de vindecare.

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 (A) (fig. 4), cheratoconjunctivita sicca (B) sau afectări ale retinei.

Se mai pot constata encefalopatii, neuropatii, mielopatii, pneumonii. Nu sunt 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.

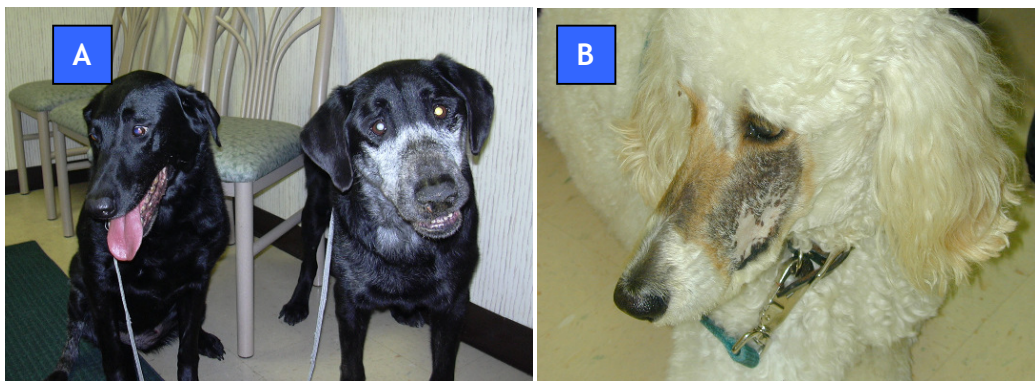


Figura 3. (A) leucotrichie la un Labrador și (B) melanotrichie la un Pudel după radioterapie
Sursa: http://www.veterinarycancer.com/nasal_tumors.html

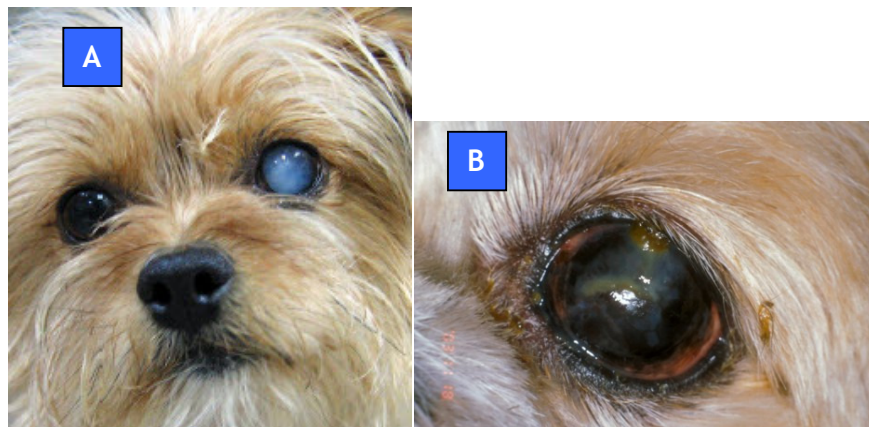


Figura 4. (A) cataractă și (B) cheratoconjunctivită sicca

Sursa: <http://www.dog-health-handbook.com/dog-eye-cataracts.html>
<http://www.merckmanuals.com/vet/multimedia/v4733690.html?Ref=n&ItemId=v4733690&RefId=x&Speed=256&Plugin=WMP&Error=?qt=&sc=&alt>

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.

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.

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. 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.

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.

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. Tumorile nu sunt plate deci rezecția într-un singur plan nu asigură eliminarea completă. 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. 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 operației deoarece aceasta afectează celulele 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.

Chirurgia oncologică în scop paleativ 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. Chirurgia citoreductivă (pentru reducerea volumului tumoral) se referă la excizia incompletă a neoplasmului, fiind rar indicată și niciodată folosită ca metodă unică și se efectuează pentru a crește efectivitatea altor tratamente oncologice: radioterapie, chimioterapie, crio-chirurgie.

3. Alte metode de terapie în oncologie

3.1. 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 acidului 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 este totuși limitată de caracterul hidrofил al moleculei, ceea ce duce la penetrarea mai slabă a unor țesuturi.

3.2. Crioterapia

Este numită și crio-chirurgie sau crioablație. Este un tratament minimal invaziv, care îngheață leziunile, utilizând temperaturi de -40°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.).

Pentru înghețarea țesuturilor dorite se utilizează azotul sau argonul lichid aplicat prin tamponare, spray-ere sau cu ajutorul unor criosonde pe piele (fig. 5).

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°C vascularizația tumorală este întreruptă, vasele tumorale de dimensiuni mici îngheață și se formează trombi intravasculari.



Figura 5. Sonde de crioterapie

Sursa:

<http://www.radiologyinfo.org/en/photocat/gallery3.cfm?pid=1&image=cryo-ir-probes.jpg&pg=cryo>

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 o săptămână.

3.3. 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.

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 anesteziec, iar apoi a impulsurilor electrice.

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.

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.

3.4. Agenții 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 A₄ 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.

3.5. Materialele magnetice

Familia largă a materialelor controlabile prin câmp magnetic, includ atât nano-, cât și microparticule, structuri (nanotuburi, nanofire), pelicule subțiri.

Pot servi ca exemple:

- ferofluidelor (fluidele magnetice),
- fluidele magnetoreologice,
- polimerii magnetici,
- materiale anorganice magnetice,
- structurile biologice modificate magnetic,
- particule magnetice cu biomolecule legate.

În multe cazuri materialele composite sensibile magnetic, constau din particule magnetice mici (cel mai adesea formate din magnetită, maghemită sau diverși feriti), de la scară nanometrică la cea micrometrică, dispersați în polimeri, biopolimeri sau matrice anorganică; ca metodă alternativă particulele magnetice pot fi adsorbite pe suprafața externă a unei particule diamagnetice (nu conține electroni desperecheați și deci nu este atras de câmpul magnetic).

În majoritatea cazurilor s-au dezvoltat nano-/ microparticule sintetice sensibile magnetic, dar s-au produs cu succes și particule magnetice biologice (magnetozomi produși de o bacterie magnetotactică) care au fost utilizați cu succes în bioaplicații.

Sinteza nanoparticulelor magnetice

Multe proceduri chimice s-au utilizat pentru a sintetiza nano-/microparticule magnetice pentru bioaplicații, de exemplu:

- co-precipitarea clasică,
- reacțiile în medii constrânse (microemulsii),
- sintezele sol-gel,
- reacțiile sono-chimice,
- microunde,
- reacții hidrotermale,
- hidroliză și
- termoliza precursorilor.

Cea mai simplă și eficientă cale chimică de a obține particule magnetice este tehnica coprecipitării. Oxizii de fier, sub forma magnetitei (Fe_3O_4) sau maghemitei (Fe_2O_3), sunt preparați prin „îmbătrânirea” amestecurilor stoichiometrice de săruri feroase și ferice în mediu apos alcalin. (stoichiometria = ramură a chimiei care studiază raporturile cantitative dintre elemente, în combinații sau în reacții



Magnetita (Fe_3O_4) nu este foarte stabilă și este sensibilă la oxidare ceea ce duce la formarea maghemitei (Fe_2O_3). Principalul avantaj al procesului de coprecipitare este că se pot sintetiza o cantitate mare de nanoparticule; totuși controlul distribuției dimensiunilor particulelor este limitat.

Adăugarea de anioni organici chelatanți (carboxilați, ioni de -hidroxicarboxilați, acid citric, a.gluconic sau oleic) sau agenți de suprafață complexanți (dextran, carboxidextran, amidon, polivinilalcool), în timpul formării magnetitei, poate ajuta controlul dimensiunii nanoparticulelor.

Potrivit raportului molar dintre ioni organici și sărurile de fier, chelația acestor ioni organici pe suprafața ionilor de oxid de fier, poate preveni nucleația și duce la formarea nanoparticulelor mai mari, sau inhibă creșterea nucleilor de cristal și duce la formarea nanoparticulelor mici.

Metoda de coprecipitare clasică generează o distribuție largă a dimensiunilor. Sinteza unor nanoparticule de oxid de fier cu dimensiuni uniforme se poate face în nanoreactori sintetici și biologici, ca structuri micelare în solvenți non-polari, cuști de proteine de apoferitină, dendrimere, ciclodextrine și lipozomi.

Sinteza hidrotermală a nanoparticulelor de magnetită este efectuată în medii apoase în reactoare sau autoclave, unde presiunea poate fi mai mare de 2,000 psi (cca 13,8 Mpa), iar temperatura mai mare de 200 °C. În acest proces, condițiile de reacție, cum ar fi solventul, temperatura și timpul de obicei au efect asupra produsului.

Dimensiunea, particulelor din pudrele de magnetită, a crescut odată cu prelungirea timpului de reacție și o cantitate mai mare de apă a rezultat în urma reacției de precipitare a particulelor mari de magnetită.

Procesul sol-gel este o cale umedă adecvată pentru sinteza oxizilor metalici nanostructurați.

Acest proces se bazează pe hidroxilarea și condensarea precursorilor moleculari în soluții rezultând o soluție de particule nanometrice mai departe condensarea și polimerizarea anorganică duce la o rețea tridimensională de oxizi metalici de gel umed.

Pentru că aceste reacții se efectuează la temperatura camerei, sunt necesare viitoare tratamente termice pentru a dobândi forma finală cristalină.

Principalii parametri care afectează cinetica, reacția de creștere, hidroliza, reacțiile de condensare și prin urmare, structura și proprietățile gelului sunt: solventul, temperatura, natura și concentrația sărurilor precursore folosite, pH-ul și agitația.

Procesul polioli este o abordare chimică versatilă pentru sinteza nanoparticulelor și microparticulelor cu forme bine determinate și dimensiuni controlate.

Polioli selectați (polietilenglicolii) folosiți ca solvenți prezintă constante dielectrice mari și pot dizolva compuși anorganici.

Datorită punctului de fierbere relativ înalt, oferă o gamă largă de temperaturi de operare pentru prepararea compușilor anorganici.

Polioli pot servi ca agenți reducători și deasemenea ca stabilizatori pentru controlul creșterii particulelor și prevenirea agregării interparticulare.

Nanoparticulele de magnetită neagregate (7 nm diametru) au fost sintetizate în timpul reacției trietilenglicolului cu Fe, la o temperatură ridicată.

Recent a fost dezvoltată o nouă metodă de sinteză a nanoparticulelor de magnetită – sinteza prin injectare în flux (**FIS = flux injection syntesis**).

Tehnica constă în amestecarea continuă sau segmentară a reagenților în regim de flux laminar într-un reactor capilar.

Prezintă următoarele avantaje: reproductibilitate mare și cauza curgerii în bloc și condițiilor laminare, omogenitate mare

și oportunitate pentru un control extern precis al procesului.

Nanoparticulele de magnetită obținute au dimensiuni cuprinse între 2-7 nm.

Pirolizele (pyrolysis) cu spray și laser sunt reprezentanți tipici ai tehnologiei cu aerosoli, sunt procese chimice continue care permit rata mare de producție a nanoparticulelor.

Prin piroliza cu spray, o soluție de săruri ferice și un agent reducător în solvent organic este spray-at într-o serie de reactori, unde soluția de aerosoli condensează și solventul se evaporă. Erezidul uscat rezultat este format din particule ale căror dimensiuni depinde de mărimea inițială a picăturilor originale.

Particulele de magnetită cu dimensiuni între 5-60 nm cu diferite forme au fost obținute utilizând diferiți precursori de săruri de fier în soluții alcoolice. S-au studiat o gamă largă de reacții chimice accelerate prin iradiere cu microunde a reactanților.

Recent s-a dezvoltat o metodă cu microunde, simplă, rapidă și eficientă pentru prepararea nanoparticulelor de magnetită relativ uniforme (80 ± 5 nm) direct din săruri de Fe^{2+} , formarea acestora necesită de la câteva secunde la câteva minute.

Deasemenea utilizând această procedură se pot obține nanoparticule de magnetită „umplute” cu nanoparticule de argint.

Pulberi de nanoparticule de magnetită se mai pot sintetiza pe cale mecano-chimică.

Măcinarea cu ajutorul morii cu bile a cloridului feros și feric cu hidroxid de sodiu a dus la o mixtură de magnetită și clorură de sodiu.

Pentru a evita aglomerarea excesul de NaCl este adăugat precursorului înainte de

moară. Pentru obținerea particulelor de diferite dimensiuni, pulberile măcinate au fost reîncălzite la temperaturi de la 100°C la 800°C timp de o oră.

Stabilizarea particulelor magnetice

Pentru a obține materiale sensibile magnetic biocompatibile de obicei este necesar să se stabilizeze nanoparticulele de oxid de fier prin modificarea suprafeței lor sau prin încorporarea în matrici biocompatibile corespunzătoare.

Nanoparticulele magnetice modificate ar trebui să fie stabile contra agregării în mediul biologic și în câmpul magnetic.

Mai mulți compuși cu grupări funcționale de carboxil, fosfat și sulfat sunt cunoscute că se leagă de particulele de magnetită și le stabilizează.

Acidul citric poate fi utilizat cu succes pentru stabilizarea fluidelor magnetice pe bază de apă prin coordonarea prin una sau două grupări reziduale de carboxil; acesta lasă cel puțin o grupare de acid carboxilic să fie expus solventului, care ar trebui să fie responsabil pentru a face suprafața cu încărcarea negativă și hidrofilică. Alte ferifluide pot stabilizate prin interacțiuni ionice, utilizând de exemplu acid percloric sau hidroxid de tetrametilamoniu.

În majoritatea cazurilor biopolimeri biocompatibili sunt utilizați pentru stabilizarea și modificarea particulelor magnetice.

Materialele polimerice naturale sau sintetice utilizate pentru stabilizarea particulelor ar trebui să aibe proprietățile: **să fie biocompatibile, biodegradabile, netoxice, netrombogenice, non-imunogenice și ieftine.**

Nanoparticulele ideale, compozite polimer biocompatibile sensibile magnetic trebuie să aibe următoarele proprietăți:

- diametrul particulelor sub 100 nm,
- stabilitate în sânge,
- să nu activeze neutrofilele,
- să nu agregheze trombocitele,
- să evite sistemul reticuloendotelial,
- comportament neinflamator,
- timp de circulație prelungit,
- posibila imobilizare a compușilor biologici corespunzători (anticorpi) și
- producție ieftină.

Dextranul este un polimer de polizaharid compus exclusiv din unități de D-glucopironil cu diverse lungimi de lanț și ramificații; a fost utilizat ca înveliș de polimer mai ales pentru biocompatibilitatea excelentă.

Formarea magnetitei în prezența dextranului 40.000 a fost raportată pentru prima dată în 1982.

Această procedură s-a utilizat pentru prepararea agentului de contrast pentru MRI Ferumoxtran-10; acest material are un diametru hidrodinamic de dimensiuni mici, 15-30 nm și prezintă rezistență în sânge, ceea ce permite acestor particule foarte mici să acceseze macrofagele localizate adânc în țesuturile patologice.

Alți biopolimeri care servesc ca înveliș sunt formați din dextran carboximetilat, carboxidextran, amidon, arabinogalactan sau glicozaminogalactan, iar ca polimeri sintetici biocompatibili avem polietilen glicolul (PEG) și polivinil alcoolul (PVA).

Nanoparticulele magnetice adesea formează o parte magnetică dintr-un compozit

de microparticule sensibile magnetic format din diferiți polimeri sintetici, biopolimeri, materiale anorganice, celule microbiale sau materiale vegetale.

Microparticulele superparamagnetice monodisperse compuse dintr-o matrice de polistiren cu nanoparticule de maghemită (cca. 8 nm diametru), cunoscute ca Dynabeads (Invitrogen), au fost utilizate la un număr mare de bioaplicații, mai ales în biologia moleculară, biologia celulară, microbiologie și izolarea proteinelor.

Progresele recente

Particulele sensibile magnetic au deja multe aplicații stabilite sau potențiale în variate domenii din bioștiințe, biotehnologie și tehnologiile mediului înconjurător.

Aplicațiile referitoare la biomedicină sunt bazate în special pe utilizarea unor proprietăți selectate, cum ar fi separarea magnetică, țintirea magnetică, producerea de căldură, creșterea contrastului MRI.

Proprietățile magnetice a asemenea materiale au permis utilizarea lor în numeroase domenii:

- nano-/microparticulele pot fi separate din probele complexe utilizând un câmp magnetic extern (un separator magnetic, magnet permanent sau un electromagnet). Această proprietate este importantă pentru că majoritatea materialelor biologice au proprietăți diamagnetice care permit separarea selectivă eficientă a materialelor magnetice.

- particulele magnetice pot fi conduse și menținute la un loc anume utilizând un câmp magnetic extern.
- supuse unui câmp magnetic alternativ cu frecvență înaltă, particulele magnetice, sunt capabile să genereze căldură. Acest fenomen este utilizat în special în timpul hipertermiei pe bază de fluide magnetice în tratamentul cancerului (de exemplu).
- nanoparticulele de oxid de fier magnetic generează un contrast T_2 negativ în timpul RMN-ului, au rol de agent de contrast
- pot fi utilizate pentru modificarea diamagnetică a materialelor biologice (materiale derivate din celule sau plante), polimeri organici și materiale organice, pentru etichetarea magnetică a compușilor biologici activi (anticorpi, enzime, aptameri).

Diagnoza medicală și transportul adecvat și eficient al medicației sunt domeniile medicale unde particulele nanometrice și-au găsit aplicația practică.

Sunt multe alte propuneri interesante pentru utilizarea instrumentelor nanomecanice în domeniul cercetărilor medicale și practică clinică.

Nanodispozitivele din științele medicale ar putea înlocui celule, care funcționează defectiv sau necorespunzător, de exemplu **respirocitele** propuse de Freitas.

Aceste eritrocite artificiale teoretic sunt capabile să furnizeze (asigure) oxigen mai eficient decât un eritrocit natural.

Ar putea înlocui celulele roșii defecte din circulația sanguină.

Aplicațiile respirocitelor ar putea include înlocuitori de transfuzii de sânge, tratamentul parțial al anemiei, probleme neonatale/prenatale și tulburări pulmonare.

Nanodispozitivele ar putea administra medicamente direct în corpul pacientului.

Asemenea nanostructuri ar putea transporta medicamente în locuri bine determinate, realizând un tratament mai precis.

Mecanisme similare cu „arme” specifice ar putea fi utilizate pentru îndepărtarea obstacolelor din sistemul circulator sau în identificarea și distrugerea celulelor tumorale.

Nanoroboții care funcționează în corp, ar putea monitoriza nivelul diferiților compuși și înregistra informația într-o memorie internă.

Pot fi utilizați rapid în examinarea unui anumit țesut, prin controlarea caracteristicilor biochimice, biomecanice și histometrice ale acestuia.

Biotehnologia își extinde sfera și eficacitatea privind opțiunile tratamentelor disponibile din nanomateriale.

Nanotehnologia moleculară va dezvolta eficacitatea, confortul și viteza viitoarelor tratamente medicale și în același timp le va scădea semnificativ riscul, costul și invazivitatea. Biotehnologia permite fabricarea personalizată, biofarmaceutică și biotehnologică a medicamentelor pentru a învinge problemele asociate cum ar fi solubilitatea slabă, stabilitate chimică slabă după administrate *in vivo* și *in vitro* (perioada de înjumătățire scurtă), biodisponibilitate slabă și potențiale efecte secundare.

Nanoparticulele transportoare au fost dezvoltate ca o soluție pentru a depăși

problemele de transport – nanocristale de substanțe medicamentoase, nanoparticule solide de lipide (SLN), transportoare lipidice nanostructurate (NLC), nanoparticule din conjugate medicament-lipid (LDC).

Transportorii (cărăușii), după cum a arătat **Muller și col. (cit.de Herbert Ernest și Shetty Rahul)**, sunt adecvați pentru a rezolva problemele de livrare a medicamentelor cu solubilitate diferită.

Quantum Dot (punctul cuantic) cu nanoparticule de o culoare specifică, poate oferi o verificare ieftină și ușoară, a unei probe de sânge, pentru prezența în același timp a diferte virusuri.

În ceea ce privește cercetarea, capacitatea de a eticheta mai multe biomolecule, atât în exteriorul cât și în interiorul celulei, ar putea permite cercetătorilor să vadă schimbări celulare complexe și evenimente asociate cu boala, furnizând indicii valoroase pentru dezvoltarea viitoarelor produse farmaceutice și terapeutice.

Prima nanosită artificială cu porți voltaice a fost fabricată de **Charles R. Martin și col. la Colorado State University în 1995.**

Membrana lui Martin conține o matrice din nanotubi cilindrici de aur cu diametrul de 1,6 nm.

Când tubii sunt încărcăți pozitiv, sunt excluși ionii pozitivi și pot trece cei negativi, iar când membrana primește voltaj negativ, pot trece doar cei pozitivi.

Pentru a obține un nanodispozitiv similar, dar cu specificitate moleculară semnificativă, ar putea combina porțile voltaice cu

dimensiunile și forma porilor pentru a obține control asupra ionilor transportați.

Domeniul multidisciplinar al aplicațiilor nanotehnologice pentru descoperirea de noi molecule și manipularea celor disponibile în mod natural, ar putea fi orbitoare în potențialul său de a îmbunătăți îngrijirea sănătății.

Pe viitor, ne putem imagina o lume în care nanodispozitivele medicale sunt implantate în mod curent sau chiar injecta în circulația sanguină pentru a monitoriza sănătatea și a participa automat în repararea sistemelor care au deviat de la funcționarea normală. Avansarea continuă în domeniul nanobiotehnologiei biomedicale este stabilirea și colaborarea grupurilor de cercetare din domeniile complementare.

Asemenea colaborări trebuie menținute nu doar la nivelul domeniilor de specialitate ci și la nivel internațional.

Ar trebui menționat faptul că nanotehnologia însăși nu este o disciplină unică în curs de dezvoltare ci mai degrabă un punct de întâlnire a științelor tradiționale cum ar fi chimia, fizica, biologia pentru a aduce împreună cunoștințe colective și expertiza necesară dezvoltării acestei noi tehnologii.

În **tabelul 5.** se regăsesc câteva domenii de aplicare ale nanotehnologiei.

Abilitatea de a structura materiale și dispozitive la nivel molecular aduce beneficii imediate și va revoluționa cercetarea și practica medicală. S-au început experimente teoretice și practice asupra biocompatibilității nanomaterialelor și nanodispozitivelor.

Tabelul 6. oferă o privire de ansamblu asupra acestui domeniu în plină evoluție.

Tabelul 5.

Aplicabilitatea nanotehnologiei

(după: Ernest H, Shetty R., 2005)

Nanomateriale brute	Simulare și diagnostic celular	Cercetare biologică
Învelișul nanoparticulelor	Chip-uri celulare	Nanobiologie
Materiale nanocristaline	Simulatoare celulare	Nanoștiința în științele vieții
Materiale nanostructurate	Manipulare ADN, secvențializare, diagnostic	Transportul medicamentelor
Peptide ciclice	Testări genetice	Descoperirea de medicamente
Dendrimere	Micro-matrice ADN	Biofarmaceutice
Agenți detoxifianți	Secvențiere ADN ultra-rapidă	Încapsularea de medicamente
Fulerene	Manipulare și control ADN	Medicamente "inteligente"
Transportori de medicamente	Instrumente și diagnosticare	Medicină moleculară
Nanoparticule pt. Scanare MRI	Sisteme de detectare bacteriană	Terapie genetică
Nano-coduri de bare	Bio-chip-uri	Farmacogenomice
Nano-emulsii	Imagistică biomoleculară	Enzime artificiale și controlul lor
Nano-fibre	Biosenzori și biodetectare	Manipularea și controlul enzimelor
Nano-particule	Aplicații de diagnostic și apărare	Nanoterapeutice
Nanoshell	Roboți de endoscopie și microscopie	Nanoparticule antibacteriene și antivirale
Nano-tubi de carbon	Senzori bazați pe fulerene	Farmaceutice bazate pe fulerene
Nano-tubi noncarbon	Imagistică	Terapie fotodinamică
puncte cuantice (quantum dots)	Laborator pe un chip	Radiofarmaceutice
Locuri artificiale de fixare	Monitorizare	
Anticorpi artificiali	Nanosenzori	Biologie sintetică și nano-dispozitive primitive
Enzime artificiale	Micro-matricea proteinelor	Tecto-dendrimere
Receptori artificiali	Scanare microscopică prin sondare	Nanoplatforme dinamice "nanozomi"
Polimeri imprimați molecular		Celule și lipozomi artificiali
Controlul suprafețelor	Dispozitive intracelulare	Micelii polimerice
Adezivi de suprafață artificiali	Analize (teste) intracelulare	Biotehnologie și biorobotică
Suprafețe biocompatibile	Biocomputere intracelulare	Terapie virală biologică
Suprimarea biofilmului	Senzori/reporteri intracelulari	Hibridi bazați pe virusi
Suprafețe prelucrate	Implante în celule	Celule stem și clonarea
Suprafețe model	BioMEMS (micro-electro-mechanical systems)	Ingineria țesuturilor
Înveliș filmat	Materiale și instrumente implantabile	Organe artificiale
	BioMEMS, chip-uri, și electrozi implantați	Nanobiotehnologia
Nanopori	Protetică bazată pe MEMS /nanomateriale	Biorobotică și bioboți
	Ajutoare senzoriale (retină artificială)	
	Micromatrice	Nanorobotică
Imunozolare	Senzori bazați pe micro-structuri	Nanoroboți și dispozitive ADN
Site și canale moleculare	Microfluide	Nanoroboți bazați pe diamante
Membrane nanofiltrante	Micro-ace	Dispozitive de reparare a celulei
Nanopori	MEMS medical	
Separare	Instrumente chirurgicale MEMS	

Tabelul 3.6.

Lista aplicabilitatea nanotehnologiei în științele biomedicale

(după Freitas Jr., 2004)

Nano-aplicații
Biodetectarea patogenilor
Detectarea proteinelor
Cercetarea structurii ADN-ului
Ingineria țesuturilor
Distrugerea prin căldură a tumorilor (hipertermia)
Studii fagocinetice
Intensificarea contrastului MRI
Separarea și purificarea biomoleculilor și celulelor
Markeri biologici fluorescenți
Transportul de medicamente și gene
Celule artificiale
Construcția de proteine pentru transportul eficient de electroni, sau cu proprietăți mecanice
Biosenzori
Nanobiomotori
Biomineralizare
Nanorobotică
Nanocomputere

3.5.1. Aplicații principale - Terapia în cancer

Dimensiunile mici ale nanoparticulelor îi înzestrează cu proprietăți care pot fi foarte folositoare în oncologie, mai ales în imagistică.

Punctele quantice (nanoparticule cu proprietăți de confinare cuantică, ca de exemplu emisia luminoasă ajustabilă după dimensiune), utilizate în legătură cu MRI-ul, pot produce imagini excepționale ale localizării tumorale.

Aceste nanoparticule sunt mult mai luminoase decât coloranții organici și necesită doar o sursă luminoasă pentru excitație.

Acest lucru înseamnă că particulele cuantice fluorescente pot produce o imagine de contrast mai bună.

O altă proprietate a acestora este suprafața mare raportată la volum, care permite atașarea multor grupări funcționale la nanoparticule, care apoi caută și se conectează la anumite celule tumorale.

Dimensiunea mică a nanoparticulelor (10 la 100nm) le permite acumularea preferențială la localizarea tumorală (pentru că tumorile nu au un sistem limfatic eficient).

Terapia anticancerosă fotodinamică se bazează pe distrucția celulelor canceroase cu ajutorul oxigenului atomic generat de laser, care este citotoxic.

Celula cancerosă 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 (fig. 6).

Din nefericire moleculele de colorant rămase migrează în piele și ochi și produc

reacții de sensibilizare la expunerea solară, timp de aproape 6 săptămâni.

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.

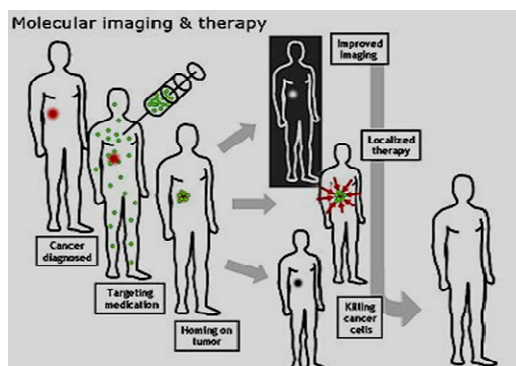


Figura 6. Utilizarea nanoparticulelor în terapia și diagnosticul imagistic al cancerului

Sursa: <http://en.wikipedia.org/wiki/Nanomedicine>

Halas și West de la Rice University din Houston, au dezvoltat un sistem de transportare a substanțelor medicamentoase numit **nanoshell – nanosfere** din metal dielectric (siliciu acoperit cu aur).

Aceste nanosfere încorporate în polimeri hidrogel care conțin substanțe medicamentoase anti-tumorale, sunt injectate în organism și se acumulează lângă celulele tumorale (fig. 7).

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.