

# TRATTAMENTO CON TAMOXIFENE A BASSO DOSAGGIO NELLA CAGNA

C. DE FANTI, S. BRANCHI, M.L. BERGONZONI, G. SARLI°, O. CAPITANI\*

Dipartimento Clinico Veterinario, Sezione Ostetrica-Ginecologica; °Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Sezione di Patologia Generale e Anatomia Patologica - Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Bologna  
\*Istituto di Patologia ed Igiene Veterinaria - Sezione Chirurgica - Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Padova

## Riassunto

Al fine di valutare la comparsa di manifestazioni pro-estrogeniche a livello utero-vaginale in seguito a trattamento con tamoxifene (Nolvadex®) impiegato a basso dosaggio, un gruppo di 20 cagne operate per tumore mammario accertato su base istologica, è stato sottoposto a cicli mensili (0,5 mg/kg per 10 giorni seguiti da 20 giorni di sospensione) per un anno e confrontato con un altro gruppo, sempre di 20 soggetti con le stesse caratteristiche, ma trattati solo con mastectomia, in cui nell'arco di un anno post-mastectomia è stata registrata l'eventuale comparsa di patologie uterine. Nei due gruppi è stata valutata e confrontata anche la percentuale di recidiva (locale o a distanza) del tumore e/o la formazione *ex novo* di un altro tumore nelle mammelle rimaste *in loco*, cioè al fine di valutare l'effetto protettivo in tal senso noto per il tamoxifene nella donna.

Manifestazioni collaterali negative pro-estrogeniche (perdite vulvari ematiche, piometra, idrometra), imputabili verosimilmente al trattamento con tamoxifene, si sono verificate con percentuale significativamente più alta ( $P=0,023$ ) nel gruppo dei trattati (12 su 20, 60%) rispetto ai controlli (4 su 20, 20%). Dei 12 casi registrati nel gruppo dei soggetti trattati, 9 si sono verificati entro 3 mesi dall'inizio del trattamento, mentre i 4 casi registrati nel gruppo di controllo hanno avuto una distribuzione uniforme nel corso del 1° anno post-mastectomia. L'analisi di sopravvivenza non ha messo in evidenza differenza di sopravvivenza ( $P=0,26$ ) o di intervallo libero da cancro ( $P=0,18$ ) ad un anno post-mastectomia nei due gruppi di soggetti.

Sebbene l'effetto protettivo verso il tumore mammario possa non essersi verificato a causa della precoce interruzione del trattamento per la comparsa di effetti collaterali negativi pro-estrogenici, l'elevata incidenza di questi ultimi rende difficile a breve un'ampia applicazione di questo farmaco nella cagna, come invece si verifica in oncologia umana.

## Summary

*This study was aimed to evaluate the pro-oestrogenic side effects along the bitch genital tract following a low dose tamoxifen treatment. Twenty bitches surgically treated for mammary tumours histologically confirmed were compared with other 20, that received tamoxifen (Nolvadex®) as well as surgery. Tamoxifen was monthly given as 0.5 mg/kg for 10 days followed by 20 days of suspension. Both groups were followed up for one year to register genital tract pathologies, as well as, the relapse of the tumour (local or as distant metastases) or the ex novo growth of another tumour in the not removed mammary glands. These latter records were aimed to ascertain if in the bitch too a protective role of tamoxifen could be revealed as that known in breast cancer of woman.*

*Pro-oestrogenic side effects (haematic vulvar discharges, pyometra, hydrometra), likely due to tamoxifen, revealed significantly higher ( $P=0.023$ ) in tamoxifen-group (12 out of 20, 60%) with respect to the control group (4 out of 20, 20%). 9 out of the 12 cases that presented side effects in the tamoxifen group were recorded within three months of treatment, while the 4 cases registered in the control group appeared uniformly distributed in the one year post-mastectomy. Survival analysis did not reveal any difference in survival ( $P=0.26$ ) or in cancer-free interval ( $P=0.18$ ) between the two groups at one year post mastectomy.*

*Even if the protective role to mammary tumours did not occur because of the precocious interruption of the treatment following the appearance of genital tract side effects, the high frequency of these latter gives difficult the employment of tamoxifen in the bitch as it happens in human oncological field.*

## INTRODUZIONE

Il tamoxifene è ampiamente utilizzato nella terapia del cancro al seno della donna, in virtù della sua azione anti-estrogenica sul tessuto mammario normale e neoplastico<sup>18</sup>. In letteratura è documentata l'utilità di impiego del farma-

co in associazione alla chirurgia, per migliorare sia l'intervallo libero da cancro che la sopravvivenza<sup>9,11</sup>.

I tumori mammari nella cagna sono al primo posto come frequenza<sup>24</sup>. La chirurgia da sola, come approccio terapeutico, è spesso scarsamente protettiva verso le recidive locali e le metastasi<sup>1,20,22</sup>. Inoltre va ricordato che biso-

gna prevenire anche la formazione di nuovi tumori nelle mammelle rimaste *in loco*. Per tali motivi, nell'approccio terapeutico al tumore mammario della cagna, si sente l'esigenza di affiancare alla mastectomia l'impiego di terapie a base di citostatici e/o antiormoni. Molecole dotate di attività antiormonale possono trovare una giustificazione nella cagna a motivo della documentata elevata espressione di recettori per gli estrogeni (ER) e progesterone (PR) nella mammella normale, nelle lesioni displastiche ed epiteliali maligne e in buona parte di quelle maligne ben differenziate<sup>5,8,31</sup>. Inoltre, per una molecola come il tamoxifene, che esercita l'azione anti-estrogenica non necessariamente attraverso il legame con ER, come dimostrato da Norval et al (1988), l'interesse di impiego nella cagna potrebbe essere esteso anche a quella parte di tumori mammari maligni che non esprimono ER.

Dati reperibili in letteratura circa l'impiego del tamoxifene nella cagna per prevenire o interrompere la gravidanza<sup>3</sup>, o per migliorare l'evoluzione post-operatoria dei tumori mammari<sup>23</sup>, mettono in risalto l'elevata frequenza di effetti collaterali negativi. Questi ultimi sarebbero imputati ad un dualismo di azione esercitato dal farmaco nei tessuti del cane: azione agonista degli estrogeni a livello uterino in contrapposizione a quella antagonista esercitata sulla mammella<sup>23</sup>. In entrambi gli studi citati si ipotizza l'impiego di tamoxifene a basso dosaggio, al fine di ottenere una riduzione degli effetti collaterali negativi. Ciò, secondo Morris e coll. (1993), anche per potere mantenere una terapia di lunga durata al fine di valutare l'effetto protettivo sulla mammella contro lo sviluppo del tumore mammario, che non è ancora delineato a causa di terapie presto interrotte dalla comparsa degli effetti estrogeno-mimetici.

Nella presente indagine è stato applicato, ad un gruppo di cagne operato per tumore mammario, un protocollo terapeutico con tamoxifene a basso dosaggio. La frequenza di effetti collaterali negativi, nonché l'effetto protettivo verso recidive locali e a distanza e verso la formazione di altri tumori nelle mammelle rimaste *in loco* viene confrontata con quella di un gruppo di cagne trattate solo con chirurgia.

## MATERIALI E METODI

Quaranta cagne sottoposte a mastectomia presso il Dipartimento Clinico Veterinario (sezioni ostetrica-ginecologica e chirurgia) della Facoltà di Medicina Veterinaria di Bologna sono state selezionate secondo i seguenti criteri:

- i soggetti dovevano essere interi e non isterectomizzati, per valutare l'effetto negativo del tamoxifene somministrato a basso dosaggio;
- l'esame istologico doveva essere indicativo di neoplasia epiteliale;
- i soggetti dovevano essere esenti da metastasi al momento della mastectomia.

Tutti i soggetti, come si evince dal punto c), erano M0 secondo la stadiazione TNM<sup>26</sup>, condizione accertata mediante esame radiografico del torace ed ecografico dell'addome, prima della mastectomia.

Campioni delle neoplasie mammarie sono stati fissati in formalina tamponata, inclusi in paraffina e, su sezioni istologiche colorate con ematossilina eosina, la diagnosi è stata effettuata seguendo la classificazione proposta da Marcato

(1992). Le 40 cagne sono state divise in due gruppi: 1) soggetti di controllo, trattati solo con chirurgia; 2) soggetti trattati, che ricevevano un protocollo di tamoxifene in aggiunta alla chirurgia.

Il tipo di dosaggio utilizzato è stato stabilito come un compromesso tra gli effetti antitumorali e quelli secondari estrogenici riportati in letteratura. Le dosi variavano notevolmente a seconda degli Autori: da 1,3 a 5 mg/kg in singola dose<sup>13</sup>, 0,7 mg/kg al giorno per 7-14 giorni<sup>4</sup>, 1 mg/kg 2 volte al dì per 10 giorni<sup>3</sup>, 20-30 mg/kg/dì per 2-3 settimane<sup>36</sup>, 1-10 mg/kg al dì per 3 mesi, 50 mg/kg/dì per 2 mesi e 75 mg/kg/dì per 1 mese<sup>16</sup>, 1 mg/kg/dì<sup>23</sup>, una dose inferiore a 1 mg/kg due volte alla settimana con suggerimento di iniziare con 0,25 mg/kg<sup>29</sup>, 0,5 mg/kg in somministrazione giornaliera<sup>2</sup>.

Il protocollo stabilito prevedeva cicli mensili di tamoxifene<sup>a</sup> (0,5 mg/kg/die per 10 giorni seguiti da 20 giorni di sospensione), da somministrare per tutta la vita. Quest'ultima è stata programmata vista la costante produzione di estrogeni da parte della cagna, che non presenta una abolizione dell'attività riproduttiva ben definita, analoga alla menopausa della donna.

I soggetti, nell'arco di 12 mesi dalla mastectomia, sono stati sottoposti a:

- controlli mensili per valutare la presenza di patologie alle vie genitali, accertate mediante esame clinico ed ecografico;
- controlli trimestrali come quelli pre-chirurgici, al fine di accertare la presenza di recidive o la formazione di un altro tumore nelle mammelle non asportate.

I parametri di follow-up presi in considerazione sono stati la sopravvivenza (intesa come l'intervallo di tempo tra la mastectomia e la morte da tumore, spontanea o per eutanasia) ed il tempo libero da cancro (inteso come l'intervallo tra la mastectomia e la recidiva locale o a distanza del tumore). Poiché lo scopo del trattamento con il tamoxifene doveva essere quello di valutare anche la comparsa di eventuali neoformazioni nelle altre mammelle rimaste *in loco*, nel parametro intervallo libero da cancro è stata inserita anche quest'ultima evenienza.

Il trattamento con tamoxifene è stato sospeso quando il soggetto mostrava manifestazioni riferibili all'azione pro-estrogenica del farmaco, o su richiesta del proprietario.

I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica, per il confronto tra i due gruppi, impiegando i seguenti test: l'età media dei soggetti con il test t di Student, le percentuali di patologie alle vie genitali con il metodo del chi quadrato applicando la correzione di Yates, la sopravvivenza ed il tempo libero da cancro con il log-rank test sulle rispettive curve stimate secondo Kaplan-Meier. Per tutti i test un valore di  $P < 0,05$  è stato considerato significativo.

## RISULTATI

In Tabella 1 (controlli) e 2 (trattati) sono elencati età, razza, diagnosi istologica, patologia utero-vaginale, sopravvivenza ed intervallo libero da cancro, nei due gruppi di soggetti.

<sup>a</sup> Nolvadex® (tamoxifen citrate, ICI-Pharmaceutical).

Tabella 1

**Soggetti del gruppo di controllo: età, razza, diagnosi istologica del tumore mammario, tempo dalla mastectomia di insorgenza della piometra, tempo di sopravvivenza e dell'intervallo libero da cancro**

| Caso n° | Età (anni) | Razza             | Tumore mammario - diagnosi istologica                   | Piometra (giorni) | Follow up <sup>§</sup> |             |
|---------|------------|-------------------|---|-------------------|------------------------|-------------|
|         |            |                   |   |                   | SURV                   | CFI         |
| 1       | 12         | pastore scozzese  | carcinoma solido  | no                | 4 (M)                  | 2 (M)       |
| 2       | 8          | meticcio          | tumore misto maligno<br>carcinoma solido                | no                | >12                    | >12         |
| 3       | 9          | meticcio          | tumore misto maligno                                    | si (29)           | 4 (M)                  | 3 (M)       |
| 4       | 7          | pastore tedesco   | carcinoma papillare                                     | si (363)          | >12                    | >12         |
| 5       | 11         | yorkshire terrier | adenocarcinoma tubulare                                 | si (133)          | >12                    | >12         |
| 6       | 9          | meticcio          | carcinoma papillare                                     | no                | >12                    | >12         |
| 7       | 10         | kurzaar           | adenocarcinoma tubulare                                 | no                | >12                    | >12         |
| 8       | 10         | meticcio          | adenoma papillare                                       | no                | >12                    | >12         |
| 9       | 14         | barboncino        | tumore misto maligno                                    | no                | >12                    | >12         |
| 10      | 12         | meticcio          | carcinoma scirroso                                      | no                | >12                    | >12         |
| 11      | 10         | meticcio          | carcinoma solido - carcinoma scirroso                   | no                | 8 (M)                  | 5 (M)       |
| 12      | 10         | pastore belga     | tumore misto maligno<br>carcinoma papillare             | no                | 12 (M)                 | 9 (M)       |
| 13      | 10         | meticcio          | carcinoma papillare                                     | no                | >12                    | >12         |
| 14      | 10         | meticcio          | tumore misto maligno                                    | no                | >12                    | >12         |
| 15      | 13         | pastore tedesco   | tumore misto maligno                                    | si (233)          | >12                    | >12         |
| 16      | 8          | meticcio          | carcinoma solido a cellule fusate<br>carcinoma scirroso | no                | >12                    | >12         |
| 17      | 14         | barboncino        | carcinoma solido  | no                | 6 (avvelenamento)      |             |
| 18      | 11         | cocker spaniel    | adenocarcinoma tubulare                                 | no                | >12                    | >12         |
| 19      | 8          | yorkshire terrier | adenocarcinoma tubulare                                 | no                | >12                    | 9 (ex novo) |
| 20      | 13         | pastore tedesco   | adenocarcinoma tubulare                                 | no                | >12                    | >12         |

<sup>§</sup> Nel follow up, espresso in mesi, si considera se il soggetto ha completato il periodo di osservazione (12 mesi) vivo (sopravvivenza - SURV >12) e senza presentare recidive (intervallo libero da cancro - CFI >12) o se, in tale periodo, ha recidivato e/o è morto a causa di metastasi (M) o ha sviluppato un tumore in un'altra mammella (*ex novo*) o è morto per un'altra causa, riportata tra parentesi.

Tabella 2

**Soggetti del gruppo trattati: età, razza, diagnosi istologica del tumore mammario, tempo dall'inizio del trattamento di insorgenza della patologia utero-vaginale, tempo di sopravvivenza e intervallo libero da cancro**

| Caso n° | Età (anni) | Razza           | Tumore mammario - diagnosi istologica                     | Patologia utero-vaginale (giorni) | Cicli di terapia | Follow up <sup>§</sup>    |                           |
|---------|------------|-----------------|---|-----------------------------------|------------------|---------------------------|---------------------------|
|         |            |                 |   |                                   |                  | SURV                      | CFI                       |
| 1       | 10         | pinscher        | carcinoma solido  | piometra (258)                    | 8                | >12                       | >12                       |
| 2       | 13         | meticcio        | carcinoma solido  | perdite vulvari ematiche (134)    | 4                | 8 (shock post-emorragico) | >12                       |
| 3       | 3          | barboncino      | tumore misto maligno                                      |                                   | 7*               | >12                       | >12                       |
| 4       | 10         | meticcio        | tumore misto maligno<br>carcinoma solido a cellule fusate | piometra (46)                     | 1                | >12                       | >12                       |
| 5       | 10         | pointer         | carcinoma solido  | piometra (16)                     | 1                | >12                       | >12                       |
| 6       | 10         | meticcio        | tumore misto benigno                                      | piometra (20)                     | 1                | >12                       | >12                       |
| 7       | 9          | setter inglese  | adenocarcinoma tubulare                                   |                                   | 12               | 12 (M)                    | 8 (M)                     |
| 8       | 12         | pinscher        | adenocarcinoma tubulare                                   | perdite vulvari ematiche (304)    | 11               | >12                       | 8 ( <i>ex novo</i> )      |
| 9       | 12         | meticcio        | carcinoma papillare                                       |                                   | 7*               | >12                       | >12                       |
| 10      | 4          | schnauzer       | adenoma papillare   |                                   | 12               | >12                       | >12                       |
| 11      | 10         | meticcio        | carcinoma solido - carcinoma scirroso                     | idrometra (66)                    | 2                | 8 (M)                     | 5 (M)                     |
| 12      | 11         | meticcio        | tumore misto maligno                                      |                                   | 12               | >12                       | 5 (M and <i>ex novo</i> ) |
| 13      | 8          | pastore belga   | adenocarcinoma tubulare                                   | piometra (30)                     | 1                | >12                       | >12                       |
| 14      | 4          | meticcio        | adenoma papillare   |                                   | 7*               | >12                       | >12                       |
| 15      | 11         | meticcio        | mastopatia fibrocistica<br>adenoma papillare              | piometra (112)                    | 4                | >12                       | >12                       |
| 16      | 8          | barboncino      | adenocarcinoma tubulare                                   | perdite vulvari ematiche (38)     | 1                | >12                       | 9 ( <i>ex novo</i> )      |
| 17      | 10         | meticcio        | carcinoma papillare                                       |                                   | 12               | >12                       | >12                       |
| 18      | 10         | meticcio        | mastopatia fibrocistica<br>adenocarcinoma tubulare        | piometra (26)                     | 1                | >12                       | 11 ( <i>ex novo</i> )     |
| 19      | 9          | epagneul breton | adenoma tubulare  |                                   | 12               | >12                       | 9 ( <i>ex novo</i> )      |
| 20      | 9          | chow chow       | adenocarcinoma tubulare                                   | perdite vulvari ematiche (84)     | 3                | >12                       | 5 ( <i>ex novo</i> )      |

\* Terapia interrotta per richiesta del proprietario.

<sup>§</sup> Nel follow up, espresso in mesi, si considera se il soggetto ha completato il periodo di osservazione (12 mesi) vivo (sopravvivenza - SURV >12) e senza presentare recidive (intervallo libero da cancro - CFI >12) o se, in tale periodo, ha recidivato e/o è morto a causa di metastasi (M) o ha sviluppato un tumore in un'altra mammella (*ex novo*) o è morto per un'altra causa, riportata tra parentesi.

Nel gruppo di controllo 4 cagne (20%) hanno presentato piometra, rispettivamente a 29, 133, 233 e 363 giorni dalla mastectomia (Fig. 1); 5 cagne (25%) hanno presentato recidiva: 4 casi hanno sviluppato metastasi e 1 caso un altro tumore in una mammella rimasta *in loco*. Cinque soggetti (25%) sono morti durante i 12 mesi post-mastectomia: 4 per metastasi ed uno per cause non attribuibili alla neoplasia (avvelenamento).

Nel gruppo dei soggetti trattati 12 cagne (60%) hanno presentato patologie utero-vaginali (Fig. 1) ed hanno interrotto il trattamento. Il numero medio di cicli di tamoxifene sopportato da questi ultimi soggetti è stato 3,1 (deviazione standard 3,24; mediana 1,5 cicli; range 1-11 cicli). Le patologie utero-vaginali registrate erano: perdite vulvari ematiche scure ed appiccicose (4 casi), piometra (7 casi) e idrometra (1 caso). Come risulta dalla Figura 1, nove cagne su 12 avevano manifestato le patologie utero-vaginali entro 3 mesi dall'inizio del trattamento, mentre le altre 3 dopo i 4 mesi con una distribuzione sovrapponibile a quella dei 4 casi del gruppo di controllo. Otto delle 20 cagne del gruppo dei trattati hanno presentato recidiva: 3 casi per metastasi e 6 casi per formazione di un tumore in un'altra mammella rimasta *in loco* (un caso ha presentato entrambe le evenienze), mentre 3 sono morte: 2 per metastasi e 1 per shock post-emorragico. Delle 8 cagne che non hanno presentato patologie utero-vaginali, 3 hanno ricevuto solo 7 cicli di trattamento, interrotto poi su richiesta del proprietario, e 5 hanno completato i 12 cicli previsti nell'anno di follow-up.

L'età media dei due gruppi di soggetti (media±deviazione standard, trattati 9,15±2,68, controlli 10,45±2,03) non

è risultata significativamente diversa (test t di Student,  $P=0,09$ ), come pure il confronto tra l'età media dei soggetti che hanno presentato manifestazioni pro-estrogeniche da tamoxifene ( $10,08\pm 1,44$ ) e quella dello stesso gruppo che non le ha manifestate ( $7,75\pm 3,53$ ) (test t di Student,  $P=0,11$ ).

Il test del chi-quadrato, utilizzato per confrontare le percentuali di patologie alle vie genitali nei due gruppi, ha fatto rilevare una percentuale significativamente più alta nel gruppo dei trattati (60%) rispetto al gruppo di controllo (20%) (Chi-quadrato con correzione di Yates,  $P=0,023$ ). Il numero di casi di patologie alle vie genitali verificatosi entro i tre mesi dall'inizio del trattamento (9 casi su 12; 75%) si è rivelato più alto di quello registrato nel gruppo di controllo (1 caso su 4; 25%), anche se la differenza non è risultata statisticamente significativa (Chi-quadrato con correzione di Yates,  $P=0,23$ ).

Il log-rank test non ha messo in evidenza differenze di sopravvivenza (Fig. 2) o di intervallo libero da cancro (Fig. 3) nel confronto delle curve di Kaplan-Meier stimate per i due gruppi (sopravvivenza  $P=0,26$ ; intervallo libero da cancro  $P=0,18$ ).

## DISCUSSIONE

Il tamoxifene, scoperto negli anni sessanta e inizialmente testato come contraccettivo post-coitale<sup>17,19</sup>, è dotato di capacità antiestrogenica oggi sfruttata per la terapia del cancro al seno nella donna, nota l'ormonodipendenza di queste neoplasie<sup>7</sup>. Nella donna effetti collaterali raramente

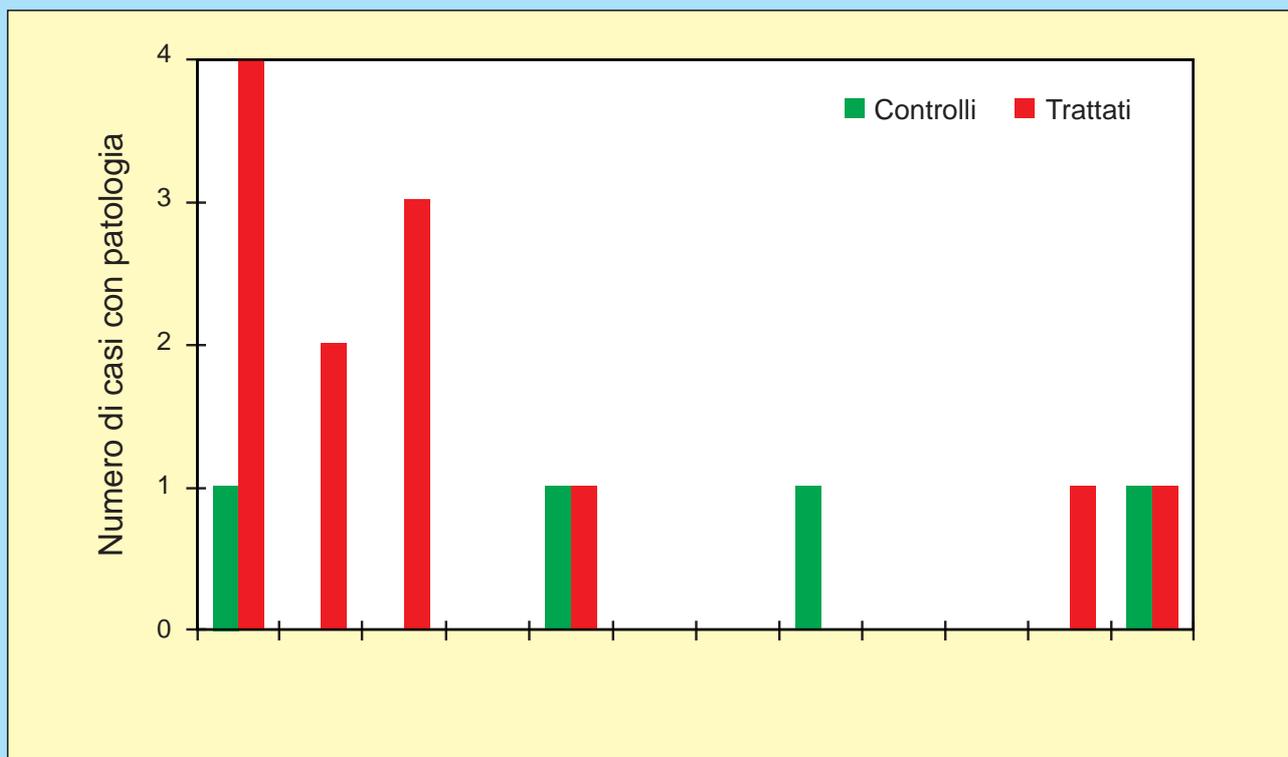


FIGURA 1 - Nel grafico sono riportati il numero ed il tempo di comparsa di patologie uterine (piometra) nei 4 soggetti del gruppo di controllo e di patologie utero-vaginali (piometra, idrometra, perdite vulvari ematiche) nelle 12 cagne del gruppo trattato con tamoxifene.

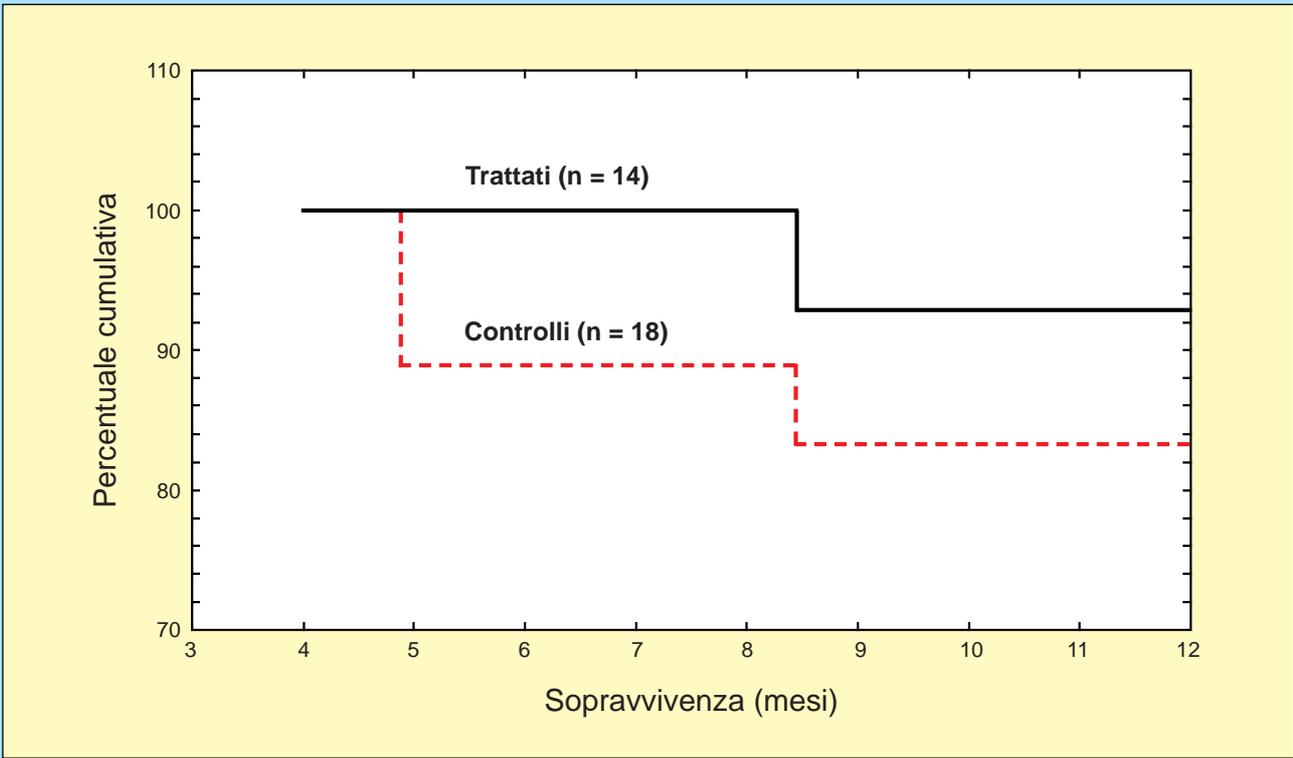


FIGURA 2 - Curve di sopravvivenza secondo Kaplan-Meier dei due gruppi di soggetti. Per la costruzione delle curve, nel gruppo dei trattati, sono stati eliminati i casi n° 6, 10, 14, 15 e 19 di Tabella 2 poiché corrispondenti a diagnosi istologica di tumore benigno e del caso n° 2 poiché morto per causa diversa dal tumore, con un totale di 14 soggetti impiegati per l'analisi; nel gruppo di controllo sono stati tolti i casi n° 8 (tumore benigno) e 17 (morto per altra causa) di Tabella 1, per un totale di 18 casi considerati nell'analisi.

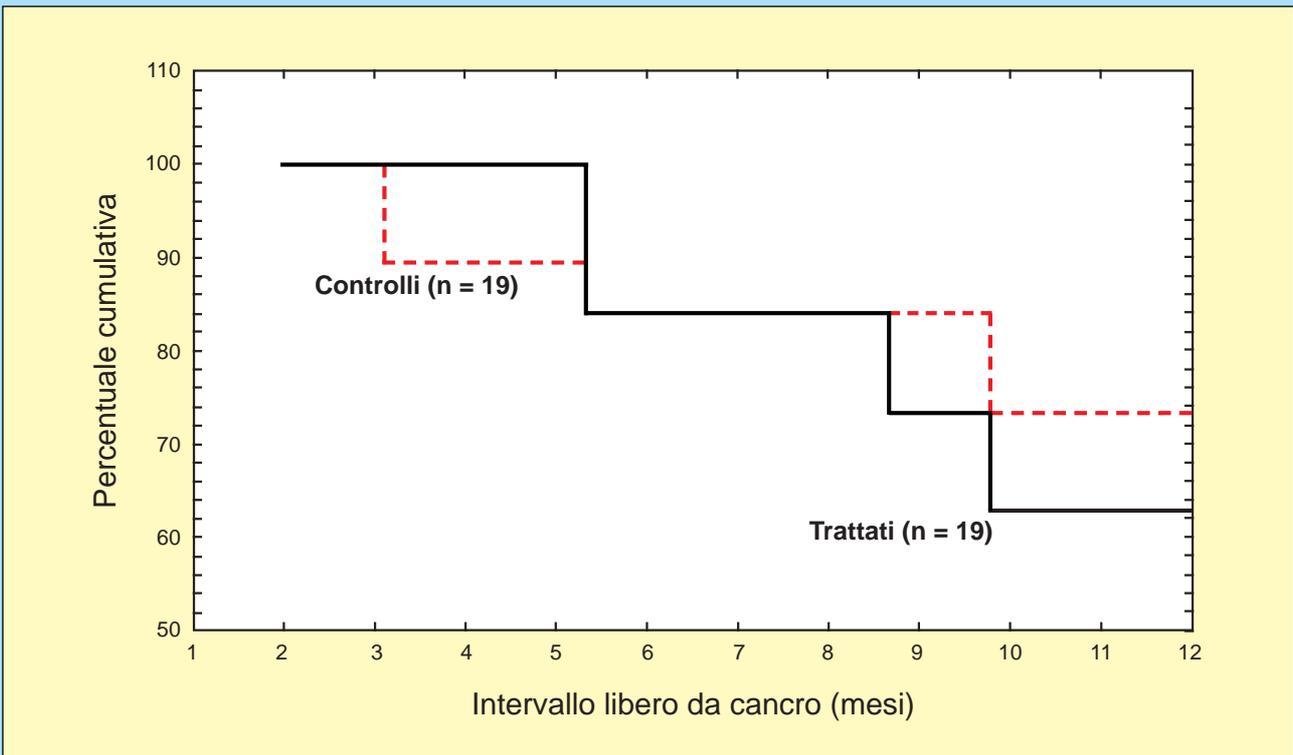


FIGURA 3 - Curve dell'intervallo libero da cancro secondo Kaplan-Meier dei due gruppi di soggetti. Per la costruzione delle curve, nel gruppo dei trattati è stato eliminato il caso n° 2 e, nel gruppo di controllo quello n° 17, poiché morti per altra causa, con un totale di 19 casi in ogni gruppo inclusi nell'analisi.

segnalati sono rappresentati da aumento della secrezione vaginale e prurito vulvare<sup>35</sup>. È comunque nota un'azione estrogeno-mimetica sull'utero che, in un'indagine svolta da Satyaswaroop e coll. (1984) risultò circa 100 volte più bassa di quella del 17- $\beta$ -estradiolo, ed alla quale viene imputato l'aumento del rischio relativo per lo sviluppo del carcinoma endometriale soprattutto con dosaggi elevati e per lunghi periodi<sup>12</sup>. Nel cane, a parte l'impiego sperimentale per prevenire l'iperplasia prostatica indotta dal 17- $\beta$ -estradiolo<sup>14</sup>, è segnalato da tempo il suo impiego nella prevenzione ed interruzione della gravidanza<sup>3</sup>, però non esistono convincenti dati sperimentali che possano prevederne lo stesso impiego che in oncologia umana. Ciò poiché sono già stati documentati effetti collaterali negativi quali ovaie cistiche, metaplasia squamosa dell'endometrio, piometra, endometrite, endometrosi cistica, edema vulvare<sup>3,10,15,16,23</sup> associati alla somministrazione nelle cagne. Tali evenienze sono dovute al fatto che, a seconda delle specie, il tamoxifene esercita un effetto agonista o antagonista rispetto agli estrogeni. Nella donna, nei tessuti bersaglio, è prevalente l'azione antagonista, mentre nella cagna è dimostrata un'azione antagonista nella mammella, ma agonista a livello dell'endometrio<sup>23</sup>. Per questo motivo Morris e coll. (1993), ne suggeriscono l'impiego solo in cagne ovarioisterectomizzate. Un'altra possibilità auspicata inizialmente da Bowen et al. (1988), e successivamente da Morris et al. (1993), è che si possa ridurre la comparsa di effetti collaterali indesiderati con l'impiego di un dosaggio più basso rispetto a quello utilizzato nelle proprie indagini. Considerazione confermata poi da segnalazioni di Ruben (1993) e di Baker (1994) per dosaggi inferiori ad 1 mg/kg. Ciò soprattutto per potere prolungare il periodo di somministrazione e valutare se esiste nella cagna lo stesso effetto protettivo sul tumore mammario registrato nella donna. Anche in tal senso i dati di Morris e coll. (1993) non sembrano promettenti, risultato in parte giustificato da un trattamento presto interrotto. L'impiego del tamoxifene nella terapia antiormonale del carcinoma della mammella nella cagna avrebbe due ordini di vantaggi: 1) potere controllare nello sviluppo *ex novo* o nell'evoluzione la totalità delle lesioni displastiche, neoplastiche benigne e maligne ben differenziate che esprimono un elevato livello di recettori per gli estrogeni<sup>8,31</sup>; 2) potenzialmente potere controllare anche le lesioni maligne negative per i recettori ormonali, visto che il meccanismo di azione della molecola non prevede necessariamente l'interazione con il recettore in questione, come dimostrato in una linea cellulare di carcinoma spontaneo della cagna negativa per ER<sup>25</sup> e dalla constatazione che il 47% dei tumori mammari umani ER-negativi risponde alla terapia con tamoxifene<sup>27</sup>. Il meccanismo di azione, in contrapposizione a quanto ritenuto in un primo momento essere dovuto ad un legame competitivo con gli estrogeni per l'ER citoplasmatico, in un secondo momento è stato integrato con il legame ad una proteina (recettore) citoplasmatica capace di legare anti-estrogeni; il complesso così formato sarebbe capace di modificare le azioni promosse dal legame ER-estrogeno<sup>33,34</sup>.

I dati emersi dalla presente indagine confermano, anche per somministrazioni di tamoxifene a basso dosaggio, la comparsa di effetti collaterali indesiderati (perdite vulvari, piometra, idrometra). La percentuale registrata (60%) ricalca il 56% già riportato in letteratura da Morris et al

(1993), però non per basso dosaggio e per cagne ovarioisterectomizzate. In queste ultime, in quello studio, gli effetti negativi registrati furono edema vulvare, perdite vaginali, attrazione sul maschio, comportamento materno. Rispetto al gruppo di controllo non trattato le patologie utero-vaginali si sono presentate con frequenza maggiore e con tempi di comparsa palesemente legati all'inizio del trattamento (in 9 casi su 12 entro i 3 mesi dall'inizio della somministrazione). La maggiore frequenza di effetti collaterali registrati in generale, e soprattutto di piometra (7 casi contro i 4 del gruppo di controllo), non possono trovare una sufficiente spiegazione in altri fattori predisponenti, quali l'età<sup>28</sup> che non appariva diversa tra i due gruppi o, nel gruppo dei trattati, tra i soggetti che hanno presentato gli effetti estrogenomimetici del farmaco e quelli che non li hanno presentati. Le età medie registrate peraltro ricadevano nel range di maggiore incidenza (7-10 anni) riportato in letteratura per la piometra<sup>6</sup>. Sarebbe comunque interessante, in futuro, indagare sull'effetto predisponente, in associazione al farmaco, dato dal milieu ormonale endogeno all'inizio del trattamento. È noto che gli estrogeni aumentano la quantità di recettori per il progesterone nell'endometrio, oltre a provocare rilassamento della cervice che permette l'entrata di batteri, incrementando così il rischio di piometra nei soggetti con alti livelli di progesterone nel sangue<sup>3,6,28</sup>. È pertanto verosimile che l'azione estrogenomimetica svolta dal tamoxifene a livello uterino possa rivelarsi particolarmente negativa nei soggetti con elevati livelli di progesterone all'inizio del trattamento. Nella casistica impiegata, 5 soggetti hanno sopportato senza effetti negativi 12 cicli di terapia, ed in 3 soggetti si è arrivati fino al 7° ciclo senza registrare anomalie e con sospensione del trattamento per richiesta del proprietario. Singleton (1993) riporta di una cagna che, con somministrazione giornaliera di 1 mg/kg, dopo 9 mesi di trattamento non aveva presentato effetti collaterali negativi. Nell'ambito del gruppo dei soggetti trattati, quindi, una parte ha sviluppato effetti collaterali dopo un periodo di tempo relativamente breve dalla data di inizio della somministrazione del farmaco, mentre in un altro gruppo la comparsa degli stessi si è verificata a distanza di alcuni mesi, con una distribuzione nel tempo sovrapponibile a quella dei 4 soggetti del gruppo di controllo che hanno sviluppato piometra. Questo dato, non precedentemente riportato in letteratura, permetterebbe di ipotizzare che nella cagna possa esistere un diverso grado di tolleranza agli effetti estrogenomimetici che il tamoxifene esercita a livello dell'utero. L'identificazione di tali soggetti che potrebbero sopportare una terapia di lunga durata avrebbe anche il vantaggio di potere indagare l'effetto protettivo sul tumore mammario, sia sulle recidive e metastasi, che sullo sviluppo *ex novo* di altri tumori mammari. Va infatti ricordato che la mastectomia, a parte quando totale e bilaterale, non protegge dallo sviluppo di altri tumori nelle mammelle rimaste *in loco*, e l'esperienza clinica spesso fa registrare interventi di mastectomia successivi, per neoformazioni inesistenti ad un primo intervento.

Anche i dati da noi ottenuti sull'effetto protettivo al tumore mammario, alla stregua di quanto sospettato da Morris e coll. (1993) e da Else e Mills (1992), non sembrano essere promettenti. Nel gruppo di controllo 5 cagne hanno sviluppato metastasi ed una ha presentato lo svilup-

po *ex novo* di un altro tumore mammario, mentre nel gruppo dei trattati 3 hanno sviluppato metastasi e 5 un tumore *ex novo*. Dall'osservazione della Tabella 2, inoltre, risulta che 2 (n° 7 e 12) dei 3 casi che hanno sviluppato metastasi hanno avuto numerosi cicli (12) di terapia, che però non hanno sortito l'effetto protettivo auspicato, mentre 1 caso (n° 11) è rimasto presto scoperto dalla terapia, avendo sospeso la somministrazione già al 2° ciclo. Circa lo sviluppo *ex novo* di un altro tumore mammario, dei 6 casi riportati in Tabella 2, tre casi (n° 16, 18 e 20) erano rimasti presto scoperti dalla terapia (rispettivamente 1, 1 e 3 cicli), mentre per altri 3 casi (n° 8, 12 e 19) l'effetto protettivo non si era palesemente verificato pur in presenza di una lunga durata della somministrazione (rispettivamente 11, 12 e 12 cicli). La constatazione che, nel gruppo dei soggetti trattati, la somministrazione sia stata spesso presto interrotta dalla comparsa di effetti collaterali indesiderati, lascia ancora non identificato l'esatto ruolo svolto dal tamoxifene sulla prevenzione delle metastasi e/o dello sviluppo *ex novo* di un tumore in un'altra mammella non asportata. Si potrebbe comunque ipotizzare che il basso dosaggio impiegato potrebbe essersi rivelato insufficiente ad esplicare l'azione antineoplastica a livello mammario, mantenendo l'azione estrogenosimile a livello uterino.

Sebbene il tamoxifene, rispetto ad altre terapie antineoplastiche, presenti costi abbastanza contenuti che potrebbero permettere di superare uno degli ostacoli che impediscono la diffusione della chemioterapia nella cura delle neoplasie mammarie in medicina veterinaria, e anche se è possibile ipotizzare che alcune cagne siano meno sensibili di altre agli effetti estrogenomimetici del tamoxifene (permettendo terapie di lunga durata), l'elevata incidenza di effetti collaterali rende difficile a breve un'ampia applicazione di questo farmaco nella cagna, come invece si verifica nella donna.

## Parole chiave

*Tamoxifene, cagna, vie genitali, effetti collaterali, anti-estrogeno, estrogenomimetico, tumore mammario.*

## Key words

*Tamoxifen, bitch, genital tract, side effects, anti-oestrogen, agonistic oestrogenic effect, mammary gland tumour.*

## Bibliografia

- Allen S.W., Mahaffey E.A.: Canine mammary neoplasia: prognostic indicators and response to surgical therapy. *Journal of American Animal Hospital Association*, 25:540-546, 1989.
- Baker R.W.: Use of tamoxifen in control of canine mammary neoplasia. *Veterinary Record*, 134(1):24, 1993.
- Bowen A., Olson P.N., Young S., Withrow S.J.: Efficacy and toxicity of tamoxifen citrate for prevention and termination of pregnancy in bitches. *American Journal of Veterinary Research*, 49(1):27-31, 1988.
- Cappelletti V., Granata G., Miodini P., Coradini D., Di Fronzo G., Cairoli F., Colombo G., Nava G., Scanziani E.: Modulations of receptor levels in canine breast tumors by administration of tamoxifen and etretinate either alone or in combination. *Anticancer Research*, 8, 1297, 1988.
- Giorba A., Vitellozzi G., Boiti C., Moriconi F.: Individuazione dei recettori cellulari degli estrogeni e del progesterone nelle neoplasie mammarie del cane mediante il test di fluorescenza. *Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie*, 37:577, 1983.
- De Fanti C., Bergonzoni M.L., Zanoni R.: Piometra nella cagna. Aspetti clinici, ormonali e batteriologici. *Obiettivi e Documenti Veterinari*, 7:8-12, 1992.
- De Sombre E.R.: Breast Cancer: hormon receptors prognosis and therapy. *Clin. Oncol.*, 1:191-213, 1982.
- Donnay I., Rauis J., Devleeschouwer N., Wouters Ballman P., Leclercq G., Versteegen J.: Comparison of estrogen and progesterone receptor expression in normal and tumor mammary tissues from dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 56(9):1188-1194, 1995.
- Early breast cancer trialists' collaborative group: Systemic treatment of early breast cancer by hormonal, cytotoxic, or immune therapy. 133 randomised trials involving 31,000 recurrences and 24,000 deaths among 75,000 women. *Lancet*, 339, 1-15, 1992.
- Else W., Mills E.: The effects of an anti-oestrogen, tamoxifen, on tumorigenesis of canine mammary carcinoma cells in nude mice and spontaneous canine neoplasia. *Medicina Veterinaria* 9, (9) (suppl.), 88, 1992.
- Fisher B., Costantino J., Redmond C.: A randomized clinical trial evaluating tamoxifen in the treatment of patients with node negative breast cancer who have estrogen receptor positive tumors. *N. Engl. J. Med.*, 320:479-784, 1989.
- Fornander T., Rutqvist L.E., Cedermark B., Glas U., Mattsson A., Silfverswärd C., Skoog L., Somell A., Theve T., Wilking N., Askergren J., Hjalmar M.L.: Adjuvant tamoxifen in early breast cancer: occurrence of new primary cancers. *Lancet*, i:117-120, 1989.
- Fromson J.M., Pearson S., Bramah S.: The metabolism of tamoxifen (ICI 46474). Part 1 in laboratory animals. *Xenobiotica*, 3:693-709, 1973.
- Funke P.J., Tunn U.W., Senge T., Neumann F.: Effects of the antiestrogen tamoxifen on steroid induced morphological and biochemical changes in the castrated dog prostate. *Acta Endocrinologica*, 100:462-472, 1982.
- Furr B.J.A., Jordan V.C.: The pharmacology and clinical uses of tamoxifen. *Pharmac. Ther.*, 25:127-205, 1984.
- Furr B.J.A., Patterson J.S., Richardson D.N., Slater S.R., Wakeling A.E.: Tamoxifen. Pharmacological and biochemical properties of drugs substances, Vol. II. Ed. Goldberg M.E., American Pharmaceutical Association, Washington DC, 355-399, 1979.
- Holtkamp D.E., Greslin S.C., Root C.A., Lerner L.J.: Gonadotropin inhibiting and antifecundity effects of clomiphene. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 105:197-201, 1960.
- Jordan V.C.: The strategic use of antiestrogens to control the development and growth of breast cancer. *Cancer*, 70:977-982, 1992.
- Lerner L.J., Holthaus J.F., Thompson C.R.: A non steroidal estrogen antagonist. *Endocrinology*, 63:295-318, 1958.
- MacEwen E.G., Harvey H.J., Patnaik A.K.: Evaluation of effect of levamisole and surgery on canine mammary cancer. *J Biol. Response Mod.* 4:418-426, 1985.
- Marcato P.S.: Patologia mammaria animale, ed. Edagricole, Bologna, 1992.
- Misdorp W., Hart A.A.M.: Prognostic factors in canine mammary cancer. *JNCI*, 56(4):779-786, 1976.
- Morris J.S., Dobson J.M., Bostock D.E.: Use of tamoxifen in the control of canine mammary neoplasia. *The Veterinary Record*, 27:539-542, 1993.
- Moulton J.R.: Tumors of mammary gland. In "Tumors in domestic animals", III Ed, 1990.
- Norval M., Else R.W., Maingay J.: The effect of tamoxifen on tumours induced by cells from a canine mammary carcinoma cell line in athymic nude mice. *Research in Veterinary Science*, 44:76-81, 1988.
- Owen L.N.: Clinical stages (TNM) of canine mammary tumours. In: TNM classification of tumours in domestic animals. World Health Organization, First Edition, Geneva, Switzerland, 1980.
- Patterson J., Furr B., Wakeling A., Batterby L.: The biology and physiology of "Nolvadex" (tamoxifen) in the treatment of breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 2:363-374, 1982.
- Romagnoli S.: La piometra nella cagna: domande e risposte. I parte. *Praxis Vet.*, XV(3):5-6, 1994.
- Ruben J.: Use of tamoxifen in control of canine mammary neoplasia. *Veterinary Record*, 133(24):602, 1993.
- Satyaswaroop P.G., Zaino R.G., Mortel R.: Estrogen effects of tamoxifen on human endometrial carcinoma trasplanted into nude mice. *Cancer Res.*, 44:4006-4010, 1984.
- Scanziani E., Mandelli G., Colombo G., Nava G.A., Cairoli F., Cappelletti V., Granata G., Di Fronzo G.: Recettori per gli estrogeni e per il progesterone nei tumori mammari canini. *Summa*, 4:179-182, 1991.
- Singleton P.: Use of tamoxifen in control of canine mammary neoplasia. *Veterinary Record*, 133(24):602, 1993.
- Sudo K., Monsma F.J., Katzenellenbogen B.S.: Antiestrogen-binding sites distinct from the estrogen receptor: subcellular localization, ligand specificity, and distribution in tissues of the rat. *Endocrinology*, 112:425-434, 1983.
- Sutherland R.L., Murphy L.C., Foo M.S., Green M.D., Whybourne A.M., Krozowski Z.S.: High-affinity anti-oestrogen binding site distinct from the oestrogen receptor. *Nature*, 288:273-275, 1980.
- Swain S.M., Lippmann M.E.: Cancer chemotherapy: principles and practice. Ed. B.A. Chabner, J.M. Collins, Philadelphia, J.B. Lipincott, 59, 1990.
- Teske E., Besselink C.L.M.T., Blankenstein M.A., Rutteman G.R., Misdorp W.: The occurrence of estrogen and progesterone receptors and anti-estrogen binding sites (AEBS) in canine non-Hodgkin's lymphomas. *Anticancer Research*, 7:857-860, 1987.