

IL LINFOSARCOMA NEL CANE: DIAGNOSI E TRATTAMENTO^{1*}

RAVINDER S. DHALIWAL, DVM, MS, DACVIM (Oncology), DABVP (Canine and Feline)
South Bay Veterinary Specialists - San Jose, California

BARBARA E. KITCHELL, DVM, PhD, DACVIM (Internal/Oncology)

JOANNE B. MESSICK, VMD, PhD, DACVP

University of Illinois

Riassunto

Nel presente lavoro viene illustrato l'approccio diagnostico e terapeutico al linfomasarcoma (LSA) del cane. Dall'esteso corpus di studi condotti su questa malattia è possibile trarre diverse conclusioni relative ai suoi aspetti clinici e di laboratorio: oggi è stato riconosciuto che si tratta di un tumore con una notevole eterogeneità clinica ed istologica; nella maggior parte dei casi, è possibile migliorare la sopravvivenza con la chemioterapia associata e la farmacoresistenza è uno dei principali impedimenti al trattamento delle recidive. Vengono illustrati differenti protocolli chemioterapici unitamente ai relativi tassi di sopravvivenza. Inoltre, vengono discussi i farmaci più recenti oggetto di prove cliniche ed il meccanismo della farmacoresistenza che conduce infine al fallimento della terapia. La maggior parte dei clienti è molto soddisfatta del trattamento chemioterapico dei propri animali, perché assicura una sopravvivenza prolungata e di buona qualità con effetti collaterali ragionevolmente lievi.

Summary

This article discusses the diagnostic and treatment approach to canine lymphosarcoma (LSA). Several conclusions can be drawn from the extensive body of studies on canine LSA in clinical and pathologic medicine: it is now recognized that this disease has great clinical and histologic heterogeneity; in most cases, survival can be improved with combination chemotherapy; and drug resistance is a major impediment to treating the relapsed disease. Different chemotherapy regimens are discussed along with their survival rates. Newer drugs undergoing clinical trials and the mechanism of drug resistance eventually leading to therapy failure are also discussed. Most clients are very satisfied with chemotherapy for their pets because it provides prolonged, good-quality survival and the side effects are reasonably mild.

L'approccio terapeutico al linfomasarcoma (LSA) del cane ed al linfoma non Hodgkin (NHL) dell'uomo sta cambiando rapidamente via via che nuove scoperte nei settori della chemioterapia, dell'immunoterapia e della terapia molecolare offrono significative promesse di miglioramento della durata della sopravvivenza complessiva e dei tassi di remissione. Un'area di attiva indagine è l'identificazione dei target molecolari per la terapia. Inoltre, oggi i veterinari pratici possono disporre più facilmente della tecnica dell'immunofenotipizzazione per distinguere fra i sottotipi a cellule T e a cellule B del linfomasarcoma. Anche se esiste una certa uniformità nella presentazione clinica fra i cani colpiti da questa neoplasia, il comportamento biologico, il

sottotipo istologico, l'immunofenotipo, la risposta terapeutica e l'esito mostrano un notevole grado di eterogeneità. Il trattamento del linfomasarcoma del cane è generalmente molto soddisfacente per i clinici ed i proprietari ricercano sempre più le terapie avanzate per i loro animali da compagnia. La maggior parte dei clienti è molto soddisfatta dai risultati della chemioterapia perché gli effetti collaterali sono lievi ed il trattamento assicura una sopravvivenza prolungata e di buona qualità.

DIAGNOSI E STADIAZIONE CLINICA

La diagnosi del linfomasarcoma non è particolarmente difficile nei cani che presentano una linfadenopatia periferica generalizzata. La conferma del sospetto può essere facilmente emessa sulla base dell'esame citologico di un campione prelevato per aspirazione (Fig. 1) da un linfonodo ingrossato o da una lesione cutanea oppure dalla valu-

¹A pag. 39 è pubblicato un articolo correlato a questo, sulle caratteristiche cliniche.

*Da "The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian", Vol. 25, N. 8, agosto 2003, 584. Con l'autorizzazione dell'Editore.

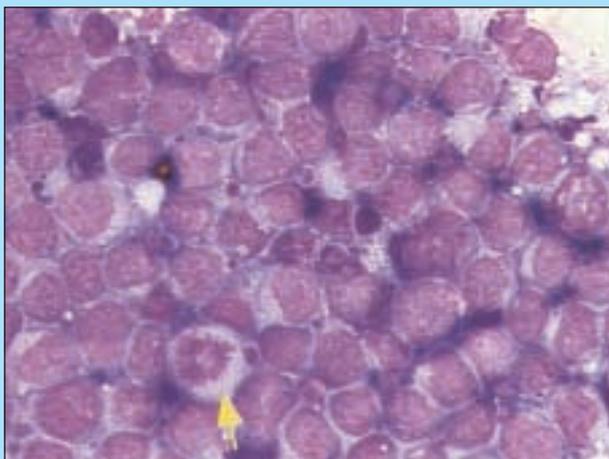


Figura 1A



Figura 1B

FIGURA 1 - (A) Fotografia al microscopio di un campione ottenuto per aspirazione con ago sottile da un cane che presentava una linfadenopatia periferica generalizzata. Questa immagine illustra la popolazione monomorfa di cellule rotonde, che sono grandi linfociti immaturi con nucleoli prominenti e multipli. Si noti la figura mitotica nel campo (freccia). Questi riscontri citologici sono compatibili con una diagnosi di linfosarcoma centroblastico maligno di grado elevato. (Ingrandimento originale x 50) **(B)** Ingrandimento maggiore dello stesso campione, che evidenzia le caratteristiche citologiche del linfosarcoma centroblastico contraddistinto da un grande tipo cellulare con molteplici nucleoli. Questi ultimi possono fare procidenza sulla membrana nucleare, come si osserva in questa immagine. (Ingrandimento originale x 100)

tazione di un aspirato sotto guida ecografica dei visceri colpiti. La valutazione istologica offre utili informazioni diagnostiche relative al grado istologico ed alle caratteristiche immunofenotipiche. Le possibili diagnosi differenziali della linfadenopatia sono rappresentate da infezioni batteriche, virali, micotiche e da Rickettsie, disordini immunomediati come la dermatopatia, la vasculite, la poliartrite ed il lupus eritematoso, il sarcoma o carcinoma metastatici e le neoplasie linfonodali primarie, come il linfosarcoma, il mieloma multiplo e l'istiocitosi maligna.¹

Nei campioni fissati in formalina è possibile utilizzare l'immunohistochimica per differenziare i sottotipi a cellule B e T. Le caratteristiche immunofenotipiche del linfoma maligno del cane possono anche essere distinte mediante flussocitometria. A differenza dell'immunohistochimica, quest'ultima può essere condotta su campioni prelevati

Sistema di stadiazione clinica del linfosarcoma del cane^{10,a}

Stadio I	Coinvolgimento di un singolo linfonodo o di un organo linfoide isolato.
Stadio II	Coinvolgimento di molteplici linfonodi al di sopra o al di sotto del diaframma.
Stadio III	Linfoadenopatia periferica generalizzata.
Stadio IV	Come lo stadio III più coinvolgimento epatico e splenico, oppure positività epatica o splenica.
Stadio V	Coinvolgimento extranodale o nel sangue periferico o positività midollare (± stadi I - IV) ^a

^aPer indicare se siano, rispettivamente, assenti o presenti i segni sistemici, per ciascuno stadio si ricorre alle lettere a e b.

per aspirazione, il che consente di evitare la biopsia chirurgica.² Precedenti studi hanno indicato che l'immunofenotipo più comune è quello a cellule B.³⁻⁷

Per identificare lo specifico sottotipo cellulare, è possibile applicare la metodologia della reazione a catena della polimerasi (PCR).⁸ Quest'ultima può individuare minute quantità di una sequenza di DNA o RNA specifica per un dato organismo ed amplificarla logaritmicamente in modo che possa essere riconosciuta dai metodi visibili in laboratorio. Inoltre, la PCR contribuisce a differenziare il linfosarcoma di basso grado dall'espansione linfocitica reattiva causata dall'infezione o dalla stimolazione antigenica a lungo termine. In ultima analisi, la PCR può risultare utile per il monitoraggio della risposta al trattamento a livello molecolare.^{8,9}

La valutazione dello stadio clinico di un cane che presenta un linfosarcoma comprende tipicamente l'esame emocromocitometrico completo, il profilo biochimico, l'analisi dell'urina, le radiografie toraciche e l'esame dell'addome con tecniche di diagnostica per immagini (radiografia o ecografia). Alcuni clinici effettuano anche dei prelievi di aspirati midollari nell'ambito della stadiazione di routine. A nostro parere, la valutazione midollare è essenziale quando sono presenti anomalie del sangue periferico quali anemia, leucopenia e leucocitosi, con linfocitosi o trombocitopenia. Trattare un paziente sulla base della diagnosi citologica è accettabile, ma una valutazione istopatologica fornisce una massa di informazioni potenzialmente utili relative al grado istologico ed ai fattori prognostici. Su campioni fissati in formalina è possibile effettuare le immunocolorazioni. Il linfosarcoma del cane viene clinicamente classificato in 5 stadi sulla base della quantità di carico tumorale. Tali stadi sono numerati da I a V, con sottostadi a e b, che indicano, rispettivamente, l'assenza e la presenza di malattia.¹⁰

Nel 71% circa dei cani, al momento in cui vengono portati alla visita si osservano delle anomalie radiografiche del torace (Fig. 2). Una comune alterazione di questo tipo è la linfoadenopatia mediastinica craniale, ilare o sternale; nei casi avanzati si notano infiltrati polmonari e versamento

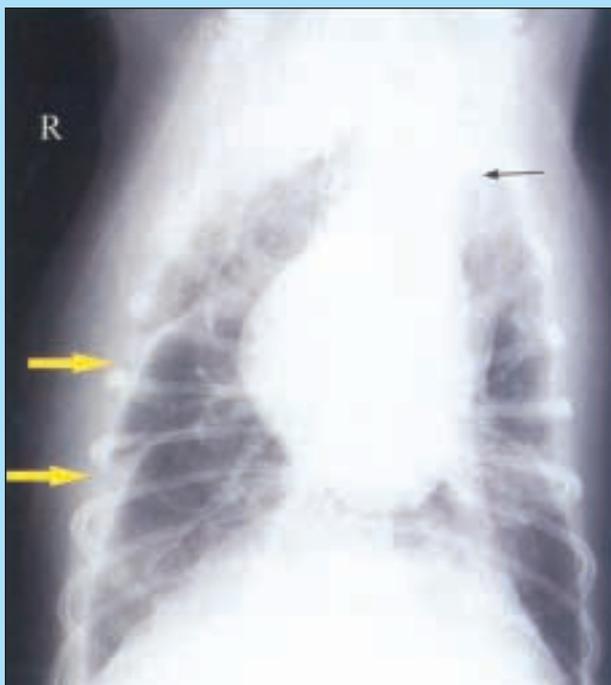


Figura 2A



Figura 2B

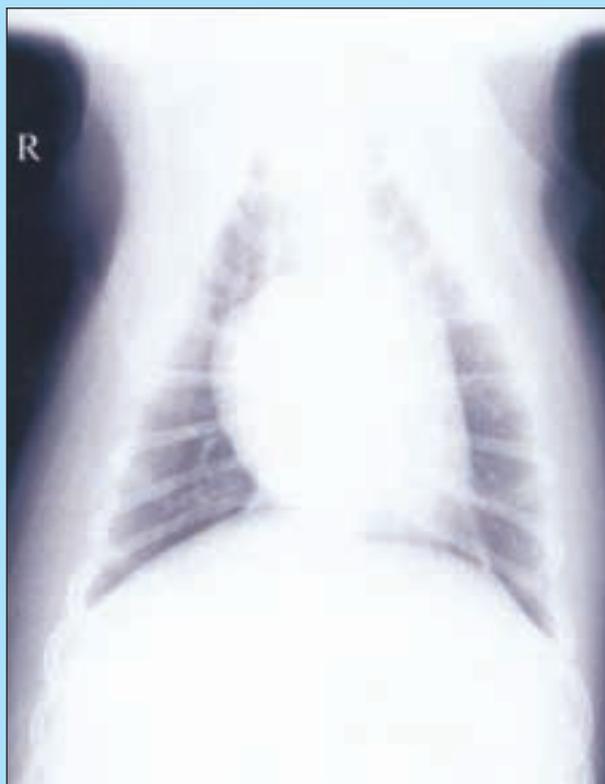


Figura 2C

FIGURA 2 - (A) Radiografia toracica in proiezione ventrodorsale di una cagna meticcica ovariectomizzata di 7 anni con linfosarcoma multicentrico. Sono presenti molteplici fessure interlobari (freccie gialle), compatibili con un versamento pleurico ed un ampliamento mediastinico craniale (freccia nera). **(B)** Radiografia in proiezione laterolaterale del torace dello stesso cane. Si osservano una dentellatura dei margini del lobo polmonare ventrale secondaria al versamento pleurico, un aumento della radiopacità dei tessuti molli nello spazio mediastinico craniale ed un ingrossamento del linfonodo sternale (freccia). **(C)** Radiografia toracica in proiezione ventrodorsale dello stesso cane ripresa due settimane dopo l'inizio della chemioterapia combinata. Il versamento pleurico si è risolto completamente, con una diminuzione delle dimensioni della massa mediastinica craniale.

pleurico.^{11,12} Le anomalie comunemente osservate nelle radiografie dell'addome sono rappresentate da epatosplenomegalia e linfoadenopatia sottolombare.¹²

In alternativa, si può ricorrere all'ecografia addominale. I riscontri ecografici anomali rilevati nei cani con linfosarcoma splenico comprendono ipoecogenicità generalizzata del parenchima della milza con noduli (di diametro compreso fra 4 mm e 5 cm), marginati ipoecogeni o anecogeni.¹³ L'ecografia diagnostica offre anche al clinico l'opportunità di effettuare sotto guida ecografica il prelievo di aspirati con ago sottile del parenchima splenico o epatico o dei linfonodi mesenterici, secondo necessità (Fig. 3). La valutazione citologica del fluido della cavità toracica o addominale può portare ad una diagnosi definitiva con Cytospin Collection Fluid (Shandon, Pittsburgh, PA). Anche l'analisi del liquido cefalorachidiano può fornire informazioni utili alla diagnosi del linfosarcoma del sistema nervoso centrale.

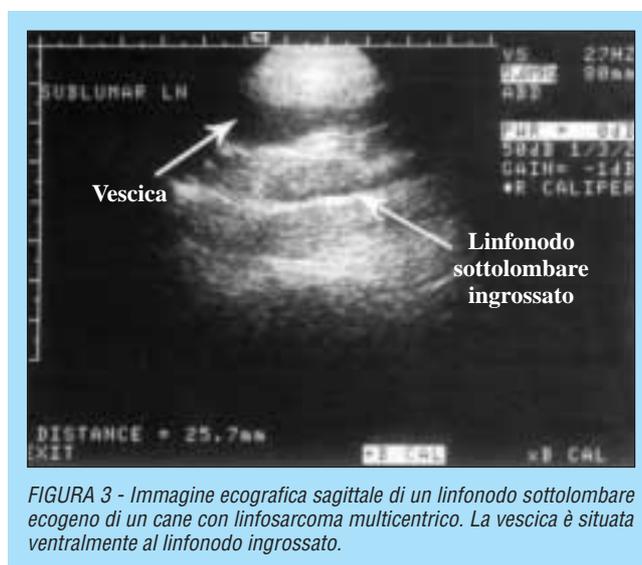


FIGURA 3 - Immagine ecografica sagittale di un linfonodo sottolombare ecogeno di un cane con linfosarcoma multicentrico. La vescica è situata ventralmente al linfonodo ingrossato.

OPZIONI TERAPEUTICHE

Il linfoma è una malattia che si manifesta nel momento in cui l'animale viene portato alla visita con una disseminazione sistemica. Il caposaldo del trattamento è la chemioterapia; in assenza di terapia, i cani con linfoma di solito sopravvivono soltanto 4-12 settimane.^{4,14-16} Il linfoma del cane è anche segnalato come il tumore maligno che risponde maggiormente alla chemioterapia. Per il trattamento di questa neoplasia si applicano raramente modalità locali come la chirurgia e la radioterapia. In letteratura è stata descritta un'ampia varietà di protocolli basati sull'impiego di singoli agenti o su combinazioni di più farmaci.¹⁷⁻³⁶ La chemioterapia combinata è l'approccio terapeutico più ampiamente utilizzato ed efficace. I principi su cui si basa comprendono (1) l'uso di farmaci

utili come singoli agenti contro il tipo tumorale, (2) l'impiego di un'associazione di farmaci con differenti meccanismi d'azione per ottenere la massima mortalità cellulare entro i limiti della tossicità tollerata dall'ospite per ciascun farmaco finché il dosaggio non viene compromesso e (3) il ricorso ad un'associazione di farmaci con differenti tossicità dose-limitanti per minimizzare gli effetti indesiderati e ritardare l'emergenza di cloni chemioresistenti.^{22,37} La chemioterapia combinata può essere applicata mediante somministrazione concomitante o ricorrendo a protocolli basati su rotazione sequenziale. I farmaci citotossici più ampiamente utilizzati ed efficaci nei confronti del linfoma sono rappresentati da L-asparaginasi, vincristina, ciclofosfamide, doxorubicina, metotressato, CCNU e prednisone. Altri agenti sono l'epirubicina, il mitoxantrone, l'actinomicina B (dactinomicina), l'ifosfa-

Tabella 1
Farmaci comunemente utilizzati per il trattamento del linfoma nel cane

<i>Farmaco (Classe)</i>	<i>Meccanismo d'azione</i>	<i>Dosaggio e via di somministrazione</i>	<i>Principali effetti indesiderati</i>
Ciclofosfamide (CTX [agente alchilante])	La CTX è inattiva in vitro, ma viene attivata in vivo a 4-idrossiciclofosfamide (4-HC). Si ritiene che la sua azione citotossica derivi dal cross-linking del DNA indotto dalla mostarda fosforamide	50 mg/m ² PO a giorni alterni o 300 mg/m ² IV	Mielosoppressione, cistite emorragica sterile, tossicità gastroenterica
Vincristina (alcaloide vegetale)	La vincristina provoca l'arresto in metafase delle cellule in divisione attraverso il legame con la tubulina dimerica; è dotata di un'attività specifica per la fase del ciclo cellulare	0,5-0,7 mg/m ² IV una volta alla settimana	Formazione di vescicole, lieve mielosoppressione, tossicità gastroenterica, neuropatia periferica (rara)
L-asparaginasi (varie)	La L-asparagina è un aminoacido non essenziale richiesto per la sintesi delle proteine dalla maggior parte delle cellule del linfoma. La L-asparaginasi converte la L-asparagina in acido aspartico e ammoniaca mediante idrolisi, determinando così la deplezione della L-asparagina circolante. Ciò priva le cellule linfoidi maligne di un importante principio nutritivo ed esita nella morte cellulare. Inoltre, la L-asparaginasi uccide le cellule del linfoma inducendo l'apoptosi. ^{105,106}	10.000 UI/m ² IM o SC	Reazione anafilattica, pancreatite attiva necrotizzante (rara)
Doxorubicina (antibiotico antitumorale)	Attraverso una serie di reazioni complesse, le antracicline producono radicali idrossilici. Questi ultimi sono molto reattivi ed attaccano il DNA ed i lipidi della membrana cellulare, esercitando così un effetto antitumorale. L'alterazione della struttura ad elica del DNA che si verifica sull'intercalazione del DNA stesso ad opera delle antracicline può scatenare un'accentuazione dell'attività della topoisomerasi II. Il risultato finale dell'azione della doxorubicina è un drastico incremento delle rotture del DNA nelle cellule tumorali.	30 mg/m ² IV ogni tre settimane 1 mg/kg per cani < 10 kg	Mielosoppressione, formazione di vescicole, vomito e diarrea; cardiotoxicità (miocardiopatia cumulativa ed aritmie acute durante la somministrazione)
Lomustina (agente alchilante)	Le cloroetilnitrosoureee sono agenti altamente liposolubili. L'effetto citotossico è dovuto alla decomposizione chimica spontanea che esita in due intermedi reattivi, un cloroetilidiazoidrossido ed un gruppo isocianato. Il cloroetilidiazoidrossido si decompone ulteriormente per dare ioni carbonio, che formano degli addotti con le basi del DNA (guanina), producendo così dei cross-link di DNA interfilamento.	50-90 mg/m ² PO ogni 3 settimane	Mielosoppressione (trombocitopenia cumulativa), fibrosi polmonare con l'uso a lungo termine nell'uomo

segue

mide e la gencitamina. Nella Tabella 1 sono riassunti i farmaci comunemente utilizzati per il trattamento del linfosarcoma nel cane.

La chemioterapia nei cani con linfosarcoma può essere divisa in due fasi, di induzione e di mantenimento. I protocolli di terapia di induzione impiegano tipicamente un trattamento più intensificato con intervalli più brevi fra le dosi. Lo scopo della terapia di induzione è quello di ottenere la completa remissione. La terapia di mantenimento è la fase meno intensa della chemioterapia, ed ha lo scopo di mantenere la remissione dopo l'induzione. Un argomento di discussione particolarmente attuale in oncologia veterinaria è la necessità, o anzi l'indicazione, della terapia di mantenimento. Nell'uomo ed in certi centri di oncologia veterinaria, sono stati utilizzati dei protocolli di induzione aggressivi e ad elevato dosaggio senza alcuna terapia di mantenimento, che hanno dimostrato una durata degli intervalli di remissione della malattia simile a quella ottenuta con un'induzione meno intensa ed una fase di mantenimento prolungata.^{24,38,39} La possibilità di un'emergenza precoce di cloni far-

macoresistenti con i protocolli aggressivi e di breve durata è inferiore a quella che si ha nel caso dell'esposizione continua a bassi livelli del farmaco.⁴⁰ Sino a che non saranno disponibili dati più conclusivi sulla superiorità di un'induzione aggressiva, riteniamo che siano da preferire i protocolli di mantenimento perché risultano migliori dal punto di vista della tossicità e della qualità della vita. La terapia di consolidamento (intendendo con questo termine il trattamento fino al raggiungimento di una remissione) viene spesso utilizzata da alcuni clinici nei protocolli di chemioterapia sequenziale. Le terapie di consolidamento e di mantenimento sono raramente utilizzate per i tumori solidi.⁴¹

Altre modalità impiegate per il trattamento del linfosarcoma sono rappresentate da immunoterapia,⁴² trattamento chirurgico per la malattia localizzata in stadio I e radioterapia con intenti palliativi o curativi. Il trapianto di cellule staminali nel sangue periferico e quello di midollo osseo autologo dopo remissione indotta dalla chemioterapia e dall'irradiazione dell'intero organismo in alcuni casi hanno determinato un prolungamento della sopravvivenza.⁴³

Tabella 1 - continua
Farmaci comunemente utilizzati per il trattamento del linfosarcoma nel cane

<i>Farmaco (Classe)</i>	<i>Meccanismo d'azione</i>	<i>Dosaggio e via di somministrazione</i>	<i>Principali effetti indesiderati</i>
Prednisone (ormone)	L'esatto meccanismo d'azione con cui i corticosteroidi causano la citolisi dei linfoblasti non è noto.	20-30 mg/m ² PO; utilizzare protocolli che prevedano una riduzione graduale	Iperadrenocorticismo iatrogeno, ulcere gastroenteriche
Metotressato (antimetabolita)	Il metotressato inibisce la diidrofolato reductasi, un enzima necessario per la sintesi della purina e del timidilato. Quindi, il metotressato inibisce la sintesi del DNA.	0,5-0,8 mg/kg IV	Mielosoppressione, tossicità gastroenterica, stomatite
Mecloretamina HCl (agente alchilante)	La mecloretamina agisce come agente alchilante bifunzionale; interferisce con la replicazione del DNA, la trascrizione del RNA e la sintesi delle proteine.	3 mg/m ² IV	Mielosoppressione, tossicità gastroenterica, ototossicità (rara)
Citarabina (già citosina arabinoside [antimetabolita])	La citarabina inibisce la sintesi del DNA bloccando la conversione della citidina a deossicitidina	100 mg/m ² IV al giorno nei giorni 1-4	Mielosoppressione, tossicità gastroenterica
Dactinomicina (antibiotico antitumorale)	La dactinomicina causa l'intercalazione del DNA e l'inibizione dell'RNA e della sintesi delle proteine	0,5-0,75 mg/m ² IV	Mielosoppressione, vomito e diarrea
Clorambucil (agente alchilante bifunzionale)	Il clorambucil forma sia dei monoaddotti che, in una seconda reazione, dei biaddotti che sono principalmente dei cross-link di DNA interfilamento.	4 mg/m ² PO a giorni alterni	Lieve mielosoppressione
DTIC o dacarbazina (agente alchilante)	L'esatto meccanismo d'azione non è ancora stato determinato, ma si ritiene che il farmaco agisca come agente alchilante e sia un antimetabolita.	800-1000 mg/m ² IV durante un periodo di 8 ore o 200 mg/m ² al giorno durante 5 giorni	Mielosoppressione, tossicità gastroenterica
Etretinato (retinoide)	L'etretinato è un retinoide utilizzato come agente di differenziazione per il linfosarcoma cutaneo del cane. ¹⁰⁷	0,9-1,5 mg/kg/die PO	Aborto nelle donne, anoressia, vomito, distensione addominale, cheratocongiuntivite secca
Isotretinoina (keratolitico)	Retinoide utilizzato come agente differenziante per il linfosarcoma cutaneo del cane. ¹⁰⁷	1,7-3,7 mg/kg/die PO	Aborto, epatotossicità
Procarbazina (agente alchilante non tradizionale)	La procarbazina viene metabolizzata in un agente DNA-metilante	50 mg/m ² PO	Mielosoppressione, vomito e diarrea

Chemioterapia combinata

Nell'ultimo decennio, i risultati della chemioterapia in oncologia veterinaria sono significativamente migliorati. Al momento attuale, si riscontrano comunemente tassi di risposta dell'80-90% e tempi di sopravvivenza mediани di 250-300 giorni.^{25,44} Ciononostante, in alcuni cani non si ottiene mai la remissione. Quasi tutti i protocolli di chemioterapia combinata sono molto simili e variano leggermente per quanto riguarda il dosaggio e la programmazione delle somministrazioni nel tempo degli stessi 5 farmaci: ciclofosfamide, vincristina, L-asparaginasi, prednisone e doxorubicina. Gli oncologi veterinari utilizzano molti degli stessi farmaci per il trattamento

del linfoma canino, ma con dosi e tempi di somministrazione che variano da un protocollo all'altro. Sono stati riassunti in forma tabellare 38 protocolli pubblicati per il trattamento del linfoma.²⁵ La presentazione nei dettagli di tutti i protocolli pubblicati (circa 42 sino ad oggi per il linfoma del cane) sarebbe tediosa e difficile in questa sede; nella Tabella 2 sono riassunti 10 di quelli disponibili. La maggior parte di essi, quando è associata ad un recupero chemioterapico dopo recidiva, consente prevedibilmente di ottenere una sopravvivenza mediana prossima ad un anno. Ci si attendono risposte più brevi e durate di sopravvivenza di minor durata per i cani con linfoma associato a fattori prognostici negativi, come il linfoma a cellule T, l'ipercalcemia, lo sta-

Tabella 2
Alcuni comuni protocolli chemioterapici per il trattamento del linfoma nel cane

Nome del protocollo	Farmaco	Dosaggio	Schema
COP	Ciclofosfamide	50 mg/m ² PO 300 mg/m ² PO	A giorni alterni per 8 settimane Ogni 3 settimane per un anno, poi ogni 4 settimane (trattamento cessato dopo 78 settimane)
	Vincristina	0,5-0,7 mg/m ² IV 0,75 mg/m ² IV	Una volta alla settimana per 8 settimane Una volta alla settimana per 4 settimane, poi ogni 3 settimane per un anno, poi ogni 4 settimane
	Prednisone	20 mg/m ² PO 1 mg/kg PO	Una volta al giorno (sid) per una settimana, poi a giorni alterni fino alla recidiva o alla comparsa degli effetti indesiderati dei corticosteroidi, nel qual caso viene sospeso gradualmente Quotidianamente per 4 settimane, poi a giorni alterni per periodi fino a 78 settimane
CHOP	Ciclofosfamide	50 mg/m ² PO	A giorni alterni per 8 settimane
	Vincristina	0,5-0,7 mg/m ² IV	Ai giorni 8 e 15
	Prednisone	20 mg/m ² PO	Una volta al giorno per una settimana, poi a giorni alterni fino alla recidiva
	Doxorubicina	30 mg/m ² IV	Al giorno 1 di ciascun ciclo
COAP	Ciclofosfamide	50 mg/m ² PO	A giorni alterni per 8 settimane
	Vincristina	0,5 mg/m ² IV	Una volta alla settimana per 8 settimane
	Prednisone	40 mg/m ² PO	Una volta al giorno per 1 settimana, poi 20 mg/m ² PO a giorni alterni
	Citarabina (citosina arabinoside)	100 mg/m ² IV	Quotidianamente nei giorni 1-4
VCAA	L-Asparaginasi	400 UI/kg IP o SC	Settimana 1 e 6
	Vincristina	0,75 mg/m ² IV	Settimana 2 e 7
	Ciclofosfamide	75 mg/m ² PO	Quotidianamente per 4 giorni, settimana 3 ed 8
	Doxorubicina	30 mg/m ² IV	Settimana 4 e 9
COPLA	Vincristina	0,5-0,7 mg/m ² IV	Al giorno 1 di ciascuna settimana per 8 settimane consecutive. Dopo 8 settimane, il protocollo di mantenimento è al giorno 1 a settimane alterne per due settimane, poi al giorno 1 ogni 2 settimane per 3 settimane e poi al giorno 1 ogni 4 settimane per 4 settimane, poi al giorno 1 ogni 6 settimane per un anno
	L-asparaginasi	10.000 UI/m ² IM	Al giorno 1 della settimana 1 e 2
	Ciclofosfamide	50 mg/m ² PO	A giorni alterni per 8 settimane
	Doxorubicina	30 mg/m ² IV	Al giorno 1 della settimana 6, 9 e 12
	Prednisone	20 mg/m ² PO	Quotidianamente per la prima settimana, poi a giorni alterni per 2-5 settimane, poi 10 mg/m ² a giorni alterni
	Clorambucil	4 mg/m ² PO	A giorni alterni; iniziare alla settimana 9 e continuare fino a 2 anni se si mantiene la remissione completa

segue

dio o sottostadio avanzato o il fallimento terapeutico precoce. Il protocollo dell'Università del Madison-Wisconsin aggiunge il metotressato agli altri farmaci ed è caratterizzato dalla più elevata percentuale di pazienti con sopravvivenza a due anni (30%).²¹ Nei cani con linfosarcoma, è stato studiato da Chun *et al.* un protocollo chemioterapico intensificato ad elevato dosaggio che costituisce una versione modificata di quello della University of Wisconsin-Madison.²⁴ Questi autori sono giunti alla conclusione che la chemioterapia a dosi elevate può offrire un'opportunità ai proprietari che sono disposti a correre i rischi di una tossicità più elevata in cambio della comodità e dell'economia di un trattamento che, pur essendo più breve, non comporta differenze statistiche nella durata della sopravvivenza in confronto a protocolli meno aggressivi.²⁴ I test di chemiosensibilità disponibili in commercio non sono riusciti a essere un elemento significativo per predire la risposta clinica alla chemioterapia o il tempo di sopravvivenza nei cani con linfoma refrattario.⁴⁵

I protocolli di mantenimento e recupero possono prolungare la durata della sopravvivenza di questi pazienti. La Tabella 3 mostra i tempi di sopravvivenza associati ai vari protocolli chemioterapici utilizzati per il trattamento del linfosarcoma nel cane. Per i clienti con limitazioni economiche, è possibile utilizzare un protocollo COP o CDP (ciclofosfamide, vincristina e dactinomicina). Quest'ultimo sostituisce la dactinomicina alla più costosa doxorubicina. Non si tratta di un protocollo a dosaggio intenso, per cui non ci si aspettano gravi tossicità e necessità di costosi ricoveri ospedalieri. La sopravvivenza è paragonabile a quella che si osserva con un protocollo COP.

Chemioterapia con un singolo agente

Il trattamento ormonale con corticosteroidi può essere utilizzato a fini palliativi, ma ci si può aspettare una remissione di breve durata di soli 1-2 mesi.^{46,47} Attualmente, pochi protocolli per il trattamento del linfosarcoma si

Tabella 2 - continua
Alcuni comuni protocolli chemioterapici per il trattamento del linfosarcoma nel cane

Nome del protocollo	Farmaco	Dosaggio	Schema
ACOPA I	Vincristina	0,75 mg/m ² IV	Settimanalmente, alle settimane 1-4, poi alla settimana 7, 10, 13 e 16
	L-Asparaginasi	10.000 UI/m ² IM	Settimanalmente, alla settimana 1-4, poi alla settimana 7, 10, 13 e 16
	Ciclofosfamide	250 mg/m ² PO	Settimana 7, 13 e 16
	Doxorubicina	30 mg/m ² IV	Settimana 10
	Prednisone	40 mg/m ² PO	Quotidianamente per 7 giorni, poi a giorni alterni
ACOPA II	Vincristina	0,75 mg/m ² IV	Settimana 4, 10, 13, 16, 19 e 22
	L-Asparaginasi	10.000 UI/m ² IM	Settimana 7-9, 24 e 25
	Ciclofosfamide	250 mg/m ² PO	Settimana 4, 7, 13, 16 e 22
	Doxorubicina	30 mg/m ² IV	Settimana 1, 10 e 19
	Prednisone	40 mg/m ² PO	Quotidianamente per 7 giorni, poi a giorni alterni
AMC	Vincristina	0,7 mg/m ² IV	Settimana 1 e 4
	L-asparaginasi	400 UI/kg IP o IM	Settimana 1
	Ciclofosfamide	200-250 mg/m ² IV	Settimana 2 e 5
	Doxorubicina	30 mg/m ² IV	Settimana 3 e 6
	Prednisone	30 mg/m ² PO	Quotidianamente alla settimana 1, poi 20 mg/m ² /die PO alla settimana 2 e poi 10 mg/m ² PO alla settimana 3
VELCAP	Ciclofosfamide	250 mg/m ² PO	Settimana 7, 12, 15, 21 e 24
	Vincristina	0,75 mg/m ² IV	Settimana 1-3, 7, 12, 18, 21 e 27
	L-Asparaginasi	10.000 UI/m ² IM (dose massima 10.000 UI)	Settimana 7-9, 24 e 25
	Doxorubicina	30 mg/m ² IV	Settimana 2, 4, 18 e 27
	Prednisone	40 mg/m ² PO	Quotidianamente alla settimana 1, poi a giorni alterni
University of Madison-Wisconsin	Vincristina	250 mg/m ² PO	Settimana 1, 3, 6, 8, 11 e 15
	L-Asparaginasi	400 UI/kg IM	Settimana 1
	Ciclofosfamide	200 mg/m ² IV	Settimana 2, 7 e 13
	Doxorubicina	30 mg/m ² IV	Settimana 4 e 9
	Metotressato	0,5-0,8 mg/m ² IV	Settimana 17
	Prednisone	2 mg/kg PO	Quotidianamente alla settimana 1, poi 1,5 mg/kg/die PO alla settimana 2, poi 1,0 mg/kg/die PO alla settimana 3 ed 1,5 mg/kg/die PO alla settimana 4

Tabella 3
Dati di sopravvivenza dei vari protocolli di induzione chemioterapica

Nome del protocollo	Numero di cani	Durata mediana della remissione (mesi)	Sopravvivenza mediana (mesi)	Riferimenti bibliografici
COP	77	6	NR	14
COP	20	2,2	6,2	34
COP	20	3,3	7,4	25
COP	67	1,5	4,1	36
CHOP	27	4,2	7,2	24
COAP	47	NR	5,8	95
VCAA	30	0,9	6,1	19
VCAA con anticorpo monoclonale	174	NR	16,4	24
COPLA	75	6,2	9	21
ACOPA I	41	7,6	12,1	22
ACOPA II	68	9	10	29
AMC	112	7,9	14,8	96
VELCAP	82	5	10,2	97
University of Wisconsin-Madison	55	8,4	11,9	20
A (adriamicina)	22-121	4,3-6,3	6,3-9,0	25-27, 32

NR = non riferito.

basano sull'impiego esclusivo di un singolo agente, come la doxorubicina e la citarabina (citosina arabinoside).^{26-28,34} Questi protocolli vengono consigliati tipicamente sulla base di fattori legati alle disponibilità economiche ed alla comodità del cliente oppure per provare l'efficacia in previsione dell'inserimento dei nuovi agenti all'interno di associazioni di più farmaci. La citarabina, un antimetabolita utilizzato per il trattamento del linfossarcoma nel cane, è particolarmente indicata per le forme di questa neoplasia a carico del sistema nervoso centrale. Tuttavia, il suo impiego come unico agente alla dose di 300 mg/m²/die non è efficace per indurre la remissione nei cani con linfoma. La più comune manifestazione tossica ematologica è risultata essere la trombocitopenia (conteggio piastrinico < 200.000/μl) 7 giorni dopo il trattamento.³⁴ Abbiamo utilizzato questo farmaco per il linfossarcoma del sistema nervoso centrale e nei protocolli di recupero per i casi di recidiva.

Radioterapia

Poiché il linfossarcoma nel cane generalmente si presenta sotto forma di malattia sistemica spontanea e clinicamente aggressiva, la radiazione trova un impiego limitato come modalità terapeutica primaria. Tuttavia, negli ultimi anni è stato rilevato un interesse clinico nell'irradiazione di metà del corpo per il trattamento del linfossarcoma del cane.⁴⁸⁻⁵¹ In una segnalazione, è stata somministrata a metà del corpo una dose totale di radiazioni di 7 Gy in una singola esposizione, mentre l'altra metà è stata irradiata dopo un intervallo di 28 giorni. In 5 dei 14 cani trattati in questo studio si è ottenuta una remissione completa.⁴⁸ In un altro

studio, 29 cani trattati con irradiazione di metà del corpo a dosi di 28 Gy a distanza di 4 settimane dopo che era stata ottenuta una completa remissione con un protocollo di induzione e chemioterapia combinata. La durata mediana della remissione in questo gruppo era di 33 settimane.⁴⁹ Oggi è chiaro che l'irradiazione di metà del corpo è ben tollerata, può risultare altrettanto efficace o superiore alla terapia di mantenimento e può contribuire a migliorare i tassi di sopravvivenza complessivi.

AGENTI CHEMIOTERAPICI PIÙ RECENTI ATTUALMENTE OGGETTO DI INDAGINE

Ifosfamide

L'ifosfamide è un agente alchilante con attività antitumorale ad ampio spettro. La sua tossicità (*range* di dosaggio < 350-375 mg/m²) è stata valutata in 72 cani con neoplasie ad insorgenza spontanea. Per prevenire il rischio significativo di tossicità uroteliale associata a questo agente sono stati utilizzati la diuresi salina e il composto tiolico mesna (sodio 2-mercaptoetansulfonato). Lo studio è giunto alla conclusione che l'ifosfamide sembra sicura per l'impiego nei cani portatori di tumore, compresi quelli colpiti da linfossarcoma. Nessun cane in questo studio ha sviluppato segni clinici o microscopici di cistite emorragica. La tossicità acuta dose-limitante era rappresentata dalla neutropenia osservata 7 giorni dopo la somministrazione dell'agente.⁵² Non sono ancora stati valutati protocolli chemioterapici combinati che comprendano l'ifosfamide per il trattamento del linfossarcoma del cane.

Doxorubicina liposomiale pegilata

La doxorubicina liposomiale pegilata era efficace nei linfomi cutanei primari a cellule T dell'uomo. L'esperienza con questo farmaco in medicina veterinaria è attualmente limitata. Il dosaggio utilizzato da alcuni clinici nel cane e nel gatto è di 20 mg/m² ogni 3 settimane.^{53,54} Sembra che la doxorubicina incapsulata nei liposomi ed associata agli inibitori dell'interleuchina 2 (IL-2) possa contribuire ad alleviare i segni clinici che accompagnano il linfosarcoma cutaneo e possa essere in grado di indurre una remissione parziale o completa. L'uso di questi farmaci è ancora limitato al campo della ricerca e non sono disponibili dati clinici preliminari relativi alla loro efficacia.

Immunoterapia

La vaccinazione dei cani con cellule tumorali autogene più adiuvante di Freund ha portato ad ottenere sopravvivenze mediane della durata di 336-341 giorni in confronto ai 138-139 giorni del gruppo di controllo.^{55,56} La somministrazione intralinfatica di un vaccino a base di cellule tumorali di linfoma autologo non è riuscita a migliorare i tempi di sopravvivenza nei cani con linfosarcoma.²⁰ Analogamente, l'uso del levamisolo si è dimostrato insoddisfacente.⁴²

La chemioimmunoterapia con un anticorpo monoclonale adiuvante (CL/MAB 231) offre un approccio terapeutico alternativo al linfoma del cane.²⁵ È stato segnalato il trattamento del linfosarcoma canino a cellule B con anticorpi monoclonali^{57,58} diretti contro i determinanti idiotipici sulle immunoglobuline superficiali.^{42,59} Helfand *et al.*⁶⁰ hanno dimostrato una via di attivazione IL-2-dipendente dei linfociti del sangue periferico del cane. In questa specie animale, l'immunoterapia dei tumori con IL-2 costituisce un modello per la ricerca sulla stessa IL-2 e per l'esplorazione di nuove strategie terapeutiche. Gli autori stanno studiando un'immunosina coniugata disponibile in commercio diretta contro la molecola del recettore della IL-2, che è espressa nel linfosarcoma cutaneo a cellule T. Questi studi potranno infine portare ad un'efficace immunoterapia adiuvante per il linfosarcoma a cellule T cutaneo del cane.

Il Rituximab (Rituxan) è un anticorpo monoclonale chimerico murino/umano ottenuto mediante ingegneria genetica e diretto contro l'antigene CD20 riscontrato sulla superficie dei linfociti B maligni e normali. Più del 90% delle lesioni NHL a cellule B dell'uomo esprime CD20; quindi, questo anticorpo viene utilizzato estensivamente per il trattamento del linfosarcoma a cellule B nell'uomo. Sfortunatamente, rispetto alla controparte umana i linfociti del cane non producono l'antigene CD20 con un'omologia sufficiente a consentire il legame anticorpale terapeutico con questo farmaco.^{9,61,62}

L'acido linoleico somministrato per via orale sotto forma di olio di cartamo ha determinato la remissione in 6 cani su 8 con micosi fungoide.⁶³ Analogamente, in un altro studio randomizzato in doppio cieco, gli acidi grassi polinsaturi ω-3 hanno migliorato l'intervallo senza malattia ed il tempo di sopravvivenza dei cani con linfoma.⁶⁴ Non sono stati descritti altri studi nutraceutici simili che abbiano coinvolto il linfosarcoma del cane.

Tossicità

La maggior parte degli agenti chemioterapici è generalmente ben tollerata dagli animali da compagnia. Nei protocolli che utilizzano dosi di farmaco moderate, meno del 10-15% dei cani necessita dell'ospedalizzazione a causa di una tossicità indotta dalla chemioterapia.^{18,20,22,41,44} La sepsi da chemioterapia ad esito fatale è estremamente rara. La dose tossica di un farmaco citotossico può essere definita come la quantità che provoca la comparsa di manifestazioni tossiche. Gli effetti tossici più comuni sono rappresentati dalla neutropenia con o senza segni di sepsi o febbre, trombocitopenia, manifestazioni gastroenteriche che richiedono ospedalizzazione con fluidoterapia, cistite emorragica sterile, riduzione della contrattilità cardiaca ed altri segni clinici correlati al farmaco che influiscono negativamente sulla qualità della vita (Tab. 4). I farmaci citotossici utilizzati per il trattamento del linfoma nel cane che causano una lieve mielosoppressione sono rappresentati da L-asparaginasi, vincristina e corticosteroidi. Clorambucil e metotressato sono moderatamente mielosoppressori. Gli agenti che causano una grave mielosoppressione sono la doxorubicina, il mitoxantrone, l'actinomicina D, la ciclofosfamida, la lomustina e la vinblastina.⁴¹

Nei casi in cui si nota la comparsa di una mielosoppressione di grado 1 o più elevato o di altre manifestazioni tossiche è necessario ridurre o modificare il dosaggio. Le tossicità di grado 1 sono generalmente subcliniche e possono essere gestite facilmente con la terapia medica senza bisogno di ricoverare il paziente. Quando è imminente la disfunzione di un organo, come il fegato o il rene, si deve anche prendere in considerazione la modificazione del dosaggio. Di regola, noi ritardiamo la somministrazione prevista di una dose di chemioterapico quando in seguito a quella precedente è stata notata una mielosoppressione di grado 1 o più elevato. Alcuni autori suggeriscono di ridurre la dose della doxorubicina o della ciclofosfamida del 50% nei pazienti con disfunzione epatica o renale.⁴¹ I comuni segni gastroenterici sono rappresentati da nausea, vomito o diarrea, che iniziano 3-5 giorni dopo la terapia. Altri segni di tossicità, quali alopecia, fuoriuscita dalle vene periferiche e reazioni anafilattiche, sono rare. La discussione completa della tossicità e della sicurezza dei vari agenti chemioterapici esula dagli scopi del presente lavoro. Per informazioni più dettagliate si rimandano i lettori ad un trattato di oncologia (ad es., *Small Animal Clinical Oncology*, edited by Withrow and MacEwen⁴¹; *Cancer in Dogs and Cats: Medical and Surgical Management*, edited by Morrison⁴⁴; e *Managing the Veterinary Cancer Patient: A Practice Manual* by Ogilvie and Moore¹⁶).

L'aggregazione piastrinica può essere compromessa in seguito alla somministrazione di vincristina a cani con linfoma ad insorgenza spontanea.⁶⁵ Tuttavia, l'implicazione clinica di questo riscontro è poco chiara, perché nei pazienti con linfosarcoma trattati estensivamente con vincristina, è raro osservare coagulopatie cliniche significative.

Le prime modificazioni della contrattilità cardiaca o gli ingrossamenti camerati associati alla somministrazione di doxorubicina possono essere efficacemente evidenziati mediante ecocardiografia.^{66,67} Tuttavia, un cane può risultare normale all'esame cardiologico, ma sviluppare poco dopo una miocardiopatia dilatativa. Le lesioni

Tabella 4
Scala di valutazione della tossicità utilizzata alla University of Illinois^a

Parametro	Grado di tossicità				
	0	1	2	3	4
Leucociti x 10 ³ (leucopenia)	> 5,5	3 ≤ 5,5	2 ≤ 3	1 ≤ 2	< 1
Neutrofili x 10 ³ (leucopenia neutrofila)	> 2,5	1,5 ≤ 2,5	1 ≤ 1,5	0,5 ≤ 1,0	< 0,5
Linfociti x 10 ³ (leucopenia linfocitaria)	> 1,5	1 ≤ 1,5	0,5 ≤ 1	0 ≤ 0,5	0
Piastrine x 10 ³ (trombocitopenia)	> 130	90 ≤ 130	50 ≤ 90	25 ≤ 50	< 25
Ematocrito (%) (anemia)	> 25	20 ≤ 25	15 ≤ 20	10 ≤ 15	< 10
Esame delle urine					
Azotemia (mg/dl)	< 20	21 - 40	41 - 60	> 60	—
Creatinina (mg/dl)	< 2	2,1 - 4	4,1 - 6	> 6	—
Proteinuria	Assente	1+	2+ - 3+	4+	—
Profilo epatico					
ALT (x 100 UI/l)	< 1	1 - 2	2,1 - 5	> 5	—
ALP (x 100 UI/l)	< 1,5	1,5 - 2	2,1 - 5	> 5	—
Bilirubina totale (mg/dl)	< 0,5	0,5 - 1	1,5 - 5	> 5	—
Nausea e vomito	Assente	Assente	Vomito occasionale	Vomito intrattabile	Ematemesi
Diarrea	Assente	Feci molli	Diarrea occasionale	Diarrea intrattabile	Diarrea emorragica
Anomalie cardiache	Assenti	Tachicardia	Aritmia	Insufficienza cardiaca congestizia trattata con terapia medica con soli diuretici	Grave insufficienza cardiaca congestizia trattata con terapia medica con l'aggiunta di farmaci cardioattivi
Quadri dermatologici	Assenti	Eritema, pigmentazione	Vescicole, pustole	Ulcera, necrosi	—
Alopecia	Assente	Lieve	Moderata	Generalizzata	Grave
Allergia	Assente	Eruzioni	Orticaria o febbre	Necessario trattamento	Anafilassi
Temperatura (°C)	< 38,9	38,9 - 39,4	39,4 - 40	40 - 40,56	> 40,56
Tossicità nel punto di iniezione	Assente	Lieve infiammazione	Dolore	Ulcerazione	—

^aModificata con autorizzazione dal Eastern Cooperative Oncology Group; con autorizzazione. ALP = fosfatasi alcalina; ALT = alanina aminotransferasi.

cardiache progrediscono anche dopo la cessazione del trattamento con doxorubicina e nei pazienti che hanno ricevuto una dose cumulativa totale di più di 150 mg/m² e in tutti i cani trattati con più di 5 dosi terapeutiche di doxorubicina è indicato il monitoraggio cardiaco frequente.³⁰ È necessario effettuare una biopsia endocardica; questo è l'unico modo efficace per confermare le alterazioni cardiache precoci. Sono stati valutati i vari tentativi di attenuare o eludere l'effetto cardiotossico della doxorubicina,^{68,69} e sono attualmente oggetto di indagine nuovi metodi, come l'uso del dexrazonano come cardioprotettore.⁶⁹ La doxorubicina nei cani di peso inferiore ai 10 kg va somministrata alla dose di 1 mg/kg piuttosto che secondo la posologia convenzionale di 30 mg/m², al fine di evitare il sovradosaggio e la tossicità che si possono avere quando le dosi vengono calcolate in funzione dei metri quadrati.^{70,71}

Altri effetti tossici osservati nel cane comprendono la cistite emorragica sterile indotta da ciclofosfamide.⁷²⁻⁷⁶ Il carcinoma delle cellule di transizione secondario all'uso

della ciclofosfamide cronica è una complicazione rara.⁷⁷ La terapia della cistite indotta da ciclofosfamide consiste nella sospensione del farmaco; se necessario, quest'ultimo può essere sostituito con il clorambucil. Quando sono presenti segni di piuria o batteriuria, si deve somministrare la terapia antibiotica. Nei casi avanzati, è necessaria, a fini palliativi, l'instillazione intravesicale di formalina diluita all'1% o di dimetilsolfossido.^{73,78}

TERAPIA DI RECUPERO

La terapia di recupero, anche nota come *terapia di salvataggio* o *di reinduzione*, viene definita come protocollo utilizzato per reindurre la remissione dopo una recidiva del linfossarcoma. La reinduzione della remissione completa nei casi di linfossarcoma recidivante risulta molto impegnativa per i veterinari pratici. I tassi di risposta complessivi alla terapia di recupero variano fra il 40% ed il 70%. Un piccolo sottogruppo di cani giunge alla remis-

sione completa e può godere di una sopravvivenza a lungo termine. I singoli agenti e le combinazioni di farmaci utilizzati con maggiore frequenza sono l'actinomicina D,^{79,80} il mitoxantrone^{81,82}, la doxorubicina (se non usata prima),⁸³ l'associazione di doxorubicina e dacarbazina,⁸⁴ la lomustina (CCNU),⁸⁵ l'etoposide (VP-16)⁸⁶ e il MOPP (mecloretamina, Oncovin [vincristina], procarbrazina, prednisone).^{87,88}

RAGIONI DELL'INSUCCESSO DEL TRATTAMENTO

Farmacoresistenza

La resistenza agli agenti chemioterapici antineoplastici è uno dei principali impedimenti al successo del trattamento delle neoplasie nell'uomo e negli animali. La farmacoresistenza in ambito clinico interessa tutte le classi di agenti chemioterapici, come gli alchilanti, le antracicline, i composti del platino, gli antimetaboliti, i prodotti naturali e gli ormoni.⁸⁹ Questa resistenza ai vari agenti viene detta resistenza a più farmaci (MDR, *multidrug resistance*). Il meccanismo più ampiamente studiato di farmacoresistenza nel linfosarcoma del cane è la ipersensibilizzazione della P-glicoproteina, un prodotto del gene *MDR1* che si ritiene agisca da pompa di efflusso dei farmaci a livello di membrana ATP-dipendente.^{90,91} La *MDR* è correlata all'espressione del gene *MDR1*.^{90,91} In alcuni tipi di tumori, questa resistenza è una proprietà intrinseca della cellula. Nella maggior parte dei casi, il fenotipo farmacoresistente viene acquisito attraverso la sopravvivenza della cellula a ripetute esposizioni di dosi subletali di farmaci ed agenti chimici.⁹² Si ritiene che la resistenza intrinseca causata da caratteristiche intrinseche delle cellule tumorali sia la principale causa di fallimento della risposta alla chemioterapia, specialmente nella leucemia acuta dell'uomo.⁹³ La farmacoresistenza acquisita spiega la mancata risposta alla chemioterapia dopo remissione completa iniziale. Il fenotipo *MDR* è quello più frequentemente riscontrato in molte linee cellulari neoplastiche esposte ad antracicline, alcaloidi della vinca ed altri agenti.⁹³

Altri meccanismi

Altri meccanismi coinvolti nella farmacoresistenza sono rappresentati da⁹⁴:

- Aumento dei livelli di glutatione S-transferasi, un enzima che protegge le cellule dal danno indotto dai radicali liberi, con conseguente resistenza agli agenti alchilanti ed alle antracicline.
- Modificazioni strutturali che causano mutazioni nel legame delle proteine bersaglio, come la topoisomerasi 2, che porta alla resistenza alle antracicline, come la doxorubicina.
- Modificazioni strutturali della tubulina, che portano alla resistenza agli alcaloidi della vinca.
- Aumento dei livelli di enzimi, come la diidrofolatoriduttasi, che portano alla resistenza al metotressato.
- Aumento della riparazione al DNA, che può essere una delle principali ragioni della farmacoresistenza.

ASPETTI COMPARATIVI DEL LINFOSARCOMA

La possibilità di guarire il linfoma a grandi cellule B diffuse e disseminate utilizzando agenti chemioterapici è stata descritta all'inizio degli anni '70.^{95,96} Queste prime segnalazioni riscontrarono delle remissioni complete e prolungate alla fine della terapia pianificata. Questi lavori portarono ad un gran numero di prove cliniche che documentarono la possibilità di guarigione per i pazienti con linfoma a grandi cellule B diffuso disseminato. Questi linfomi sono al terzo posto in ordine di frequenza fra le neoplasie maligne dell'età infantile e costituiscono il 10% circa dei tumori dei bambini.⁹⁷ La sopravvivenza dei bambini con NHL, specialmente quelli con malattia in stadio avanzato, è notevolmente migliorata a partire dagli anni '90. Il tasso di sopravvivenza a 5 anni è oggi del 90% circa nei bambini con NHL in stadio iniziale e del 70% per quelli colpiti dalla malattia in stadio avanzato. Negli adulti, il linfosarcoma è la settima causa in ordine di frequenza di morte da neoplasia negli Stati Uniti.⁹⁷ A differenza del linfosarcoma del cane, il NHL dell'uomo è generalmente di basso grado. Diverse prove randomizzate hanno identificato la superiorità di un protocollo chemioterapico rispetto ad un altro per il trattamento dei pazienti con linfoma a grandi cellule B diffuso.⁹⁸⁻¹⁰ Il riscontro più costante di questi studi è la superiorità di un protocollo chemioterapico contenente antraciclina in confronto a quelli in cui questo agente non è presente.⁹⁸ Come nel caso di altri tipi di tumori, il linfosarcoma canino rappresenta un'opportunità unica come modello per lo studio della biologia della neoplasia nell'uomo e per le indagini sui trattamenti anti-neoplastici traslazionali, in quanto la durata relativamente breve della vita ed il tempo di sopravvivenza servono per la valutazione dell'efficacia e della tossicità degli agenti terapeutici.¹⁰²

Bibliografia

1. Rogers KS, Barton CL, Landis M: Canine and feline lymph nodes. Part II. Diagnostic evaluation of lymphadenopathy. *Compend Contin Educ Pract vet* 15:1493-1503, 1993.
2. Culmsee K, Simon D, Mischke R, et al: Possibilities of flow cytometric analysis for immunophenotypic characterization of canine lymphoma. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 48:199-206, 2001.
3. Greenlee PG, Filippa DA, Quimby FW, et al: Lymphomas in dogs. A morphologic, immunologic, and clinical study. *Cancer* 66:480-490, 1990.
4. Teske E, van Heerde P, Rutterman GR, et al: Prognostic factors for treatment of malignant lymphoma in dogs. *JAVMA* 205:1722-1728, 1994.
5. Teske E: Prognostic factors for treatment of malignant lymphoma in the dog: An update. *Vet Q* 16(suppl 1):29s-31s, 1994.
6. MacEwen EG, Hayes AA, Matus RE, et al: Evaluation of some prognostic factors for advanced multicentric lymphosarcoma in the dog: 147 cases (1978-1981). *JAVMA* 190:564-568, 1987.
7. Weller RE, Holmberg CA, Theilen GH, et al: Histological classification as a prognostic criterion for canine lymphosarcoma. *Am J Vet Res* 41:1310-1314, 1980.
8. Dreitz MJ, Ogilvie G, Sim GK: Rearranged T lymphocyte antigen receptor genes as markers of malignant T cells. *Vet Immunol Immunopathol* 69:113-119, 1999.
9. Vernau W, Moore PF: An immunophenotypic study of canine leukemias and preliminary assessment of clonality by polymerase chain reaction. *Vet Immunol Immunopathol* 69:145-164, 1999.
10. Owen LN, in Owen LN (ed): *World Health Organization TNM Classification of Tumors in Domestic Animals*. Geneva, World Health Organization, 1980.
11. Starrak GS, Berry CR, Page RL, et al: Correlation between thoracic ra-

- diographic changes and remission/survival duration in 270 dogs with lymphosarcoma. *Vet Radiol Ultrasound* 38:411-418, 1997.
12. Ackerman N, Madewell BR: Thoracic and abdominal radiographic abnormalities in the multicentric form of lymphosarcoma in dogs. *JAVMA* 176:36-40, 1980.
 13. Wrigley RH, Konde LJ, Park RD, et al: Ultrasonographic features of splenic lymphosarcoma in dogs: 12 cases (1980-1986). *JAVMA* 193:1565-1568, 1988.
 14. Brick JO, Roenigk WJ, Wilson GP: Chemotherapy of malignant lymphoma in dogs and cats. *JAVMA* 153:47-52, 1968.
 15. Rosenthal RC: The treatment of multicentric canine lymphoma. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 20:1093-1104, 1990.
 16. Ogilvie GK, Moore AS: Management of specific diseases: Lymphoma, in Ogilvie GK, Moore AS (eds): *Managing the Veterinary Cancer Patient: A Practice Manual*. Yardley, PA, Veterinary Learning Systems, 1995, pp 228-259.
 17. MacEwen EG, Brown NO, Patnaik AK, et al: Cyclic combination chemotherapy of canine lymphosarcoma. *JAVMA* 178:1178-1181, 1981.
 18. Cotter SM: Treatment of lymphoma and leukemia with cyclophosphamide, vincristine and prednisone: I. Treatment of dogs. *JAAHA* 19:159-165, 1983.
 19. Cotter SM, Goldstein MA: Comparison of two protocols for maintenance of remission in dogs with lymphoma. *JAAHA* 23:495-499, 1987.
 20. Jeglum KA, Young KM, Barnsley K, et al: Chemotherapy versus chemotherapy with intralymphatic tumor cell vaccine in canine lymphoma. *Cancer* 61:2042-2050, 1988.
 21. Keller ET, MacEwen EG, Rosenthal RC, et al: Evaluation of prognostic factors and sequential combination chemotherapy with doxorubicin for canine lymphoma. *J Vet Intern Med* 7:289-295, 1993.
 22. Boyce KL, Kitchell BE: Treatment of canine lymphoma with COPLA/LVP. *JAAHA* 36:395-403, 2000.
 23. Stone MS, Goldstein MA, Cotter SM: Comparison of two protocols for induction of remission in dogs with lymphoma. *JAAHA* 27:315-321, 1991.
 24. Chun R, Garrett LD, Vail DM: Evaluation of a high-dose chemotherapy protocol with no maintenance therapy for dogs with lymphoma. *J Vet Intern Med* 14:120-124, 2000.
 25. Jeglum KA: Chemotherapy of canine lymphoma with adjuvant canine monoclonal antibody 231. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 26:73-85, 1996.
 26. Carter RF, Harris CK, Withrow SJ, et al: Chemotherapy of canine lymphoma with histopathological correlation: Doxorubicin alone compared to COP as first treatment regimen. *JAAHA* 23:587-596, 1987.
 27. Valerius KD, Ogilvie GK, Mallinckrodt CH, et al: Doxorubicin alone or in combination with asparaginase, followed by cyclophosphamide, vincristine, and prednisone for treatment of multicentric lymphoma in dogs: 121 cases (1987-1995). *JAAHA* 210:512-516, 1997.
 28. Postorino NC, Susaneck SJ, Withrow SJ, et al: Single agent therapy with Adriamycin for canine lymphosarcoma. *JAAHA* 25:221-225, 1989.
 29. Piek CJ, Rutteman GR, Teske E: Evaluation of the results of a L-asparaginase-based continuous chemotherapy protocol versus a short doxorubicin-based induction chemotherapy protocol in dogs with malignant lymphoma. *Vet Q* 21:44-49, 1999.
 30. Myers NC, Moore AS, Rand WM, et al: Evaluation of a multidrug chemotherapy protocol (ACOPA II) in dogs with lymphoma. *J Vet Intern Med* 11:333-339, 1997.
 31. Zemann BI, Moore AS, Rand WM, et al: A combination chemotherapy protocol (VELCAP-L) for dogs with lymphoma. *J Vet Intern Med* 12:465-470, 1998.
 32. Khanna C, Lund EM, Redic KA, et al: Randomized controlled trial of doxorubicin versus dactinomycin in a multiagent protocol for treatment of dogs with malignant lymphoma. *JAVMA* 213:985-990, 1998.
 33. Page RL, Macy DW, Ogilvie GK, et al: Phase III evaluation of doxorubicin and whole-body hyperthermia in dogs with lymphoma. *Int J Hyperthermia* 8:187-197, 1992.
 34. Ruslander D, Moore AS, Gliatto JM, et al: Cytosine arabinoside as a single agent for the induction of remission in canine lymphoma. *J Vet Intern Med* 8:299-301, 1994.
 35. Madewell BR: Chemotherapy for canine lymphosarcoma. *Am J Vet Res* 36:1525-1528, 1975.
 36. Garrett LD, Thamm DH, Chun R, et al: Evaluation of a 6-month chemotherapy protocol with no maintenance therapy for dogs with lymphoma. *J Vet Intern Med* 16:704-709, 2002.
 37. Chu E, DeVita Jr VT: Principles of cancer management: Chemotherapy, in DeVita Jr VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds): *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, ed 6. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001, pp 289-306.
 38. Hahn KA, Richardson RC, Teclaw RF, et al: Is maintenance chemotherapy appropriate for the management of canine malignant lymphoma? *J Vet Intern Med* 6:3-10, 1992.
 39. Garrett LD, Thamm DH, Chun R, et al: Evaluation of a 6-month chemotherapy protocol with no maintenance therapy for dogs with lymphoma. *J Vet Intern Med* 16:704-709, 2002.
 40. Kaufman DC, Chabner BA: Clinical strategies for cancer treatment: The role of drugs, in Chabner BA, Longo DL (eds): *Cancer Chemotherapy and Biotherapy: Principles and Practice*, ed 3. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001, pp 1-16.
 41. Ogilvie GK: Chemotherapy, in Withrow SJ, MacEwen EG (eds): *Small Animal Clinical Oncology*, ed 2. Philadelphia, WB Saunders, 1996, pp 70-86.
 42. MacEwen EG, Hayes AA, Mooney S, et al: Levamisole as adjuvant to chemotherapy for canine lymphosarcoma. *J Biol Response Mod* 4:427-433, 1985.
 43. Appelbaum FR, Deeg HJ, Storb R, et al: Cure of malignant lymphoma in dogs with peripheral blood stem cell transplantation. *Transplantation* 42:19-22, 1986.
 44. Vonderhaar MA, Morrison WB: Lymphosarcoma, in Morrison WB (ed): *Cancer in Dogs and Cats: Medical and Surgical Management*. Baltimore, Williams & Wilkins, 1998, pp 667-695.
 45. Henry CJ, McCaw DL, Buss MS, et al: Clinical assessment of a chemosensitivity assay as a treatment planning tool for dogs with cancer. *JAAHA* 37:165-171, 2001.
 46. Bell R, Cotter S, Lillquist A, et al: Characterization of glucocorticoid receptors in animal lymphoblastic disease: Correlation with response to single-agent glucocorticoid treatment. *Blood* 63:380-383, 1984.
 47. Squire RA, Bush M, Melby EC, et al: Clinical and pathologic study of canine lymphoma: Clinical staging, cell classification, and therapy. *J Natl Cancer Inst* 51:565-574, 1973.
 48. Laing EJ, Fitzpatrick PJ, Binnington AG, et al: Half-body radiotherapy in the treatment of canine lymphoma. *J Vet Intern Med* 3:102-108, 1989.
 49. Abrams-Ogg AC, Norris AM, Woods JP, et al: Half-body radiation therapy versus maintenance chemotherapy for the treatment of dogs with multicentric lymphoma in remission. *Proc 19th Annu Vet Cancer Soc Conf*:8, 1999.
 50. Laing EJ, Fitzpatrick PJ, Norris AM, et al: Half-body radiotherapy. Evaluation of the technique in normal dogs. *J Vet Intern Med* 3:96-101, 1989.
 51. Abrams-Ogg AC, Kruth SA, Carter RF, et al: Clinical and pathological findings in dogs following supralethal total body irradiation with and without infusion of autologous long-term marrow culture cells. *Can J Vet Res* 57:79-88, 1993.
 52. Rassnick KM, Frimberger AE, Wood CA, et al: Evaluation of ifosfamide for treatment of various canine neoplasms. *J Vet Intern Med* 14:271-276, 2000.
 53. Wollina U, Graefe T, Kaatz M: Pegylated doxorubicin for primary cutaneous T-cell lymphoma: A report on ten patients with follow-up. *J Cancer Res Clin Oncol* 127:128-134, 2001.
 54. Vail DM, Kravis LD, Cooley AJ, et al: Preclinical trial of doxorubicin entrapped in sterically stabilized liposomes in dogs with spontaneously arising malignant tumors. *Cancer Chemother Pharmacol* 39:410-416, 1997.
 55. Crow SE, Theilen GH, Benjamini E, et al: Chemoimmunotherapy for canine lymphosarcoma. *Cancer* 40:2102-2108, 1977.
 56. Weller RE, Theilen GH, Madewell BR, et al: Chemoimmunotherapy for canine lymphosarcoma: A prospective evaluation of specific and non-specific immunomodulation. *Am J Vet Res* 41:516-521, 1980.
 57. Harris LJ, Larson SB, Hasel KW, et al: The three-dimensional structure of an intact monoclonal antibody for canine lymphoma. *Nature* 26:369-372, 1992.
 58. Larson S, Day J, Greenwood A, et al: Characterization of crystals of an intact monoclonal antibody for canine lymphoma. *J Mol Biol* 222:17-19, 1991.
 59. Gorman NT: Tumor immunology and tumor immunotherapy, in Bonagura JD (ed): *Kirk's Current Veterinary Therapy XII*. Philadelphia, WB Saunders, 1995, pp 488-494.
 60. Helfand SC, Mediano JF, Nowell PC: Immunophysiological studies of interleukin-2 and canine lymphocytes. *Vet Immunol Immunopathol* 33:1-16, 1992.
 61. Longo DL, DeVita Jr VT, Jaffe ES: Lymphocytic lymphomas, in DeVita Jr VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds): *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, ed 4. Philadelphia, JB Lippincott, 1993, pp 1859-1927.
 62. Reff ME, Carner K, Chambers KS, et al: Depletion of B cells in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20. *Blood* 83:435-445, 1994.
 63. Iwamoto KS, Bennett LR, Norman A, et al: Linoleate produces remission in canine mycosis fungoides. *Cancer Lett* 64:17-22, 1992.
 64. Ogilvie GK, Fettman MJ, Mallinckrodt CH, et al: Effect of fish oil, arginine, and doxorubicin chemotherapy on remission and survival time for dogs with lymphoma: A double-blind, randomized placebo-controlled study. *Cancer* 88:1916-1928, 2000.

65. Grau-Bassas ER, Kociba GJ, Conto CG: Vincristine impairs platelet aggregation in dogs with lymphoma. *J Vet Intern Med* 14:81-85, 2000.
66. Singal PK, Iliskovic N: Doxorubicin-induced cardiomyopathy. *N Engl J Med* 339:900-905, 1998.
67. Vaii DM, Chun R, Thamm DH, et al: Efficacy of pyridoxine to ameliorate the cutaneous toxicity associated with doxorubicin containing pegylated (Stealth) liposomes: A randomized, double-blind clinical trial using a canine model. *Clin Cancer Res* 4:1567-1571, 1998.
68. Matherne CM, Satterfield WC, Gasparini A, et al: Clinical efficacy and toxicity of doxorubicin encapsulated in glutaraldehyde-treated erythrocytes administered to dogs with lymphosarcoma. *Am J Vet Res* 55:847-853, 1994.
69. Prosek R, Kitchell BE: Dexrazoxane. *Compend Contin Educ Pract Vet* 24:220-222, 2002.
70. Arrington KA, Legendre AM, Tabeling GS, et al: Comparison of body surface area-based and weight-based dosage protocols for doxorubicin administration in dogs. *Am J Vet Res* 55:1587-1592, 1994.
71. Price GS, Frazier DL: Use of body surface area (BSA)-based dosages to calculate chemotherapeutic drug dose in dogs: I. Potential problems with current BSA formulae. *J Vet Intern Med* 12:267-271, 1998.
72. Peterson JL, Couto CG, Hammer AS, et al: Acute sterile hemorrhagic cystitis after a single intravenous administration of cyclophosphamide in three dogs. *JAVMA* 201:1572-1574, 1992.
73. Dhaliwal RS, Kitchell BE: Cyclophosphamide. *Compend Contin Educ Pract Vet* 21:1059-1063, 1999.
74. Crow SE, Theilen GH, Madewell BR, et al: Cyclophosphamide-induced cystitis in the dog and cat. *JAVMA* 171:259-262, 1977.
75. Henness JF: Treatment of cyclophosphamide induced cystitis [letter]. *JAVMA* 187:984, 1985.
76. Laing EJ, Miller CW, Cochrane SM: Treatment of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in five dogs. *JAVMA* 193:233-236, 1988.
77. Weller RE, Wolf AM, Oyejide A: Transitional cell carcinoma of the bladder associated with cyclophosphamide therapy in the dog. *JAAHA* 15:733-736, 1979.
78. Weller RE: Intravesical instillation of dilute formamide for treatment of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in two dogs. *JAVMA* 172:1206-1209, 1978.
79. Hammer AS, Couto CG, Ayl RD, et al: Treatment of tumor bearing dogs and cats with actinomycin D. *J Vet Intern Med* 8:236-239, 1994.
80. Moore AS, Ogilvie GK, Vail DM: Actinomycin D for reinduction of remission in dogs with resistant lymphoma. *J Vet Intern Med* 8:343-344, 1994.
81. Lucroy MD, Phillips BS, Kraegel SA, et al: Evaluation of single-agent mitoxantrone as chemotherapy for relapsing canine lymphoma. *J Vet Intern Med* 12:325-329, 1998.
82. Moore AS, Ogilvie GK, Ruslander D, et al: Evaluation of mitoxantrone for treatment of lymphoma in dogs. *JAVMA* 205:1903-1905, 1994.
83. Calvert CA, Leifer CE: Doxorubicin for treatment of canine lymphosarcoma after development of resistance to combination chemotherapy. *JAVMA* 179:1011-1012, 1981.
84. Van Vechten M, Helfand SC, Jeglum KA: Treatment of relapsed canine lymphoma with doxorubicin and dacarbazine. *J Vet Intern Med* 4:187-191, 1990.
85. Moore AS, London CA, Wood CA, et al: Lomustine (CCNU) for the treatment of resistant lymphoma in dogs. *J Vet Intern Med* 13:395-398, 1999.
86. Hohenhaus AE, Matus RE: Etoposide (VP-16) retrospective analysis of treatment in 13 dogs with lymphoma. *J Vet Intern Med* 4:239-241, 1990.
87. Rosenberg MP, Matus RE: The use of MOPP as rescue treatment for dogs with lymphoma. *Proc 11th Annu Conf Vet Cancer Soc*:56, 1991.
88. Rassnick KM, Mauldin GE, Al-Sarraf R, et al: MOPP chemotherapy for treatment of resistant lymphoma in dogs: A retrospective study of 117 cases (1989-2000). *J Vet Intern Med* 16:576-580, 2002.
89. Arao S, Suwa H, Mandai M, et al: Expression of multidrug resistance gene and localization of P-glycoprotein in human primary ovarian cancer. *Cancer Res* 54:1355-1359, 1994.
90. Moore AS, Leveille CR, Reimann KA, et al: The expression of P-glycoprotein in canine lymphoma and its association with multidrug resistance. *Cancer Invest* 13:475-479, 1995.
91. Endicott JA, Ling V: The biochemistry of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Annu Rev Biochem* 58:137-171, 1989.
92. Arcעי R: Clinical significance of P-glycoprotein in multidrug resistance malignancies. *Blood* 81:2215-2222, 1993.
93. Marie JP: P-glycoprotein in adult hematologic malignancies. *Hematol Oncol Clin North Am* 9:239-249, 1995.
94. Leighton JC, Goldstein LJ: P-glycoprotein in adult solid tumors. *Hematol Oncol Clin North Am* 9:251-273, 1995.
95. Levitt M, Marsh JC, DeConti RC, et al: Combination sequential chemotherapy in advanced reticulum cell sarcoma. *Cancer* 29:630-636, 1972.
96. DeVita Jr VT, Canellos GP, Chabner B, et al: Advanced diffuse histiocytic lymphoma, a potentially curable disease. *Lancet* 1:248-250, 1975.
97. Riccardo DF, Gianluca G: Lymphomas, in DeVita Jr VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds): *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, ed 6. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001, pp 2215-2234.
98. Hagberg H, Bjorkholm M, Glimelius B, et al: CHOP vs MEV for the treatment of non-Hodgkin's lymphoma of unfavorable histopathology: A randomized clinical trial. *Eur J Cancer Clin Oncol* 21:175-179, 1985.
99. Longo DL, DeVita Jr VT, Duffey PL, et al: Superiority of ProMACE-CytaBOM over ProMACE-MOPP in the treatment of advanced diffuse aggressive lymphoma: Results of a prospective randomized trial. *J Clin Oncol* 9:25-38, 1991 [published erratum appears in *J Clin Oncol* 9:710, 1991].
100. Bastion Y, Blay JY, Divine M, et al: Elderly patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma: Disease presentation, response to treatment, and survival—a Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte study on 453 patients older than 69 years. *J Clin Oncol* 15:2945-2953, 1997.
101. Tirelli U, Errante D, Van Glabbeke M, et al: CHOP is the standard regimen in patients > or = 70 years of age with intermediate-grade and high-grade non-Hodgkin's lymphoma: Results of a randomized study of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Lymphoma Cooperative Study Group. *J Clin Oncol* 16:27-34, 1998.
102. Vail DM, MacEwen EG: Spontaneously occurring tumors of companion animals as models for human cancer. *Cancer Invest* 18:781-792, 2000.
103. Dobson JM, Gorman NT: Canine multicentric lymphoma 2: Comparison of response to two chemotherapeutic protocols. *J Small Anim Pract* 35:9-15, 1994.
104. Moore AS, Cotter SM, Rand WM, et al: Evaluation of a discontinuous treatment protocol (VELCAP-S) for canine lymphoma. *J Vet Intern Med* 15:348-354, 2001.
105. Story MD, Voehringer DW, Stephens LC, et al: L-Asparaginase kills lymphoma cells by apoptosis. *Cancer Chemother Pharmacol* 32:129-133, 1993.
106. MacEwen EG, Rosenthal RC, Fox LE, et al: Evaluation of L-asparaginase: Polyethylene glycol conjugate versus native L-asparaginase combined with chemotherapy. A randomized double-blind study in canine lymphoma. *J Vet Intern Med* 6:230-234, 1992.
107. White SD, Rosychuk RAW, Scott KV, et al: Use of isotretinoin and etretinare for the treatment of benign cutaneous neoplasia and cutaneous lymphoma in dogs. *JAVMA* 202:387-391, 1993.