

Utilização de eletroquimioterapia em neoplasias de origem epitelial ou mesenquimal localizadas em pele ou mucosas de cães

Lucia Maria Guedes SILVEIRA¹
 Carlos Henrique Maciel BRUNNER¹
 Fernando Malagutti CUNHA¹
 Fabio FUTEMA¹
 Franco Ferraro CALDERARO¹
 Didio KOZLOWSKI²

1- Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Paulista, São Paulo-SP
 2- Engenheiro eletrônico, Cromática Ltda, São Paulo-SP

Correspondência para:

Lucia M G Silveira, Rua Paulo Franco, 142, Apartamento 151, Vila Leopoldina. CEP: 05305-030, São Paulo, SP
 lmgsilveira@hotmail.com

Recebido para publicação: 19/03/2009
 Aprovado para publicação: 07/01/2010

Resumo

A eletroquimioterapia é caracterizada como um protocolo que agrega o uso de fármacos antineoplásicos à aplicação regional de pulsos elétricos, maximizando a concentração intracelular destes agentes, assim propiciando maior ação citotóxica dos mesmos. A bleomicina, um antimicrobiano dotado de propriedade antineoplásica, demonstra restrição no transporte através da membrana celular, dada sua composição molecular hidrofílica. Todavia, uma vez administrada via intralesional ou endovenosa associada à eletroporação, exhibe citotoxicidade potencializada. Foram utilizados neste estudo 34 cães acometidos por neofomações solitárias de origem epitelial ou mesenquimal, situadas em pele ou membranas mucosas. Padronizou-se o protocolo eletroquimioterápico empregando-se sulfato de bleomicina, pela via intralesional, na dose de 1 U/cm³ de tumor. A eletroporação foi perfilada com eletrodo composto por agulhas, pulsos elétricos com tensão de 1000 V, em onda quadrada unipolar, com duração de 100 microsegundos, totalizando-se oito ciclos. Constatou-se remissão neoplásica integral em 30 cães (88,3%) e refratariedade ao protocolo em apenas quatro animais (11,7%). Inexistiram complicações e/ou efeitos adversos decorrentes do procedimento. O protocolo neste trabalho estudado revelou-se aplicável, eficaz e seguro na terapêutica antineoplásica em cães.

Palavras-chave:

Cão.
 Neoplasia.
 Eletroporação.
 Eletroquimioterapia.

Introdução

A oncologia constitui uma especialidade médica centrada no estudo das enfermidades neoplásicas que atualmente disponibiliza diversos protocolos, por vezes multidisciplinares, destinados à terapêutica antitumoral. Todavia, tais procedimentos exibem expressivas disparidades relativamente à eficácia, período de tratamento, restabelecimento orgânico do paciente, segurança e onerosidade¹.

A utilização de corrente elétrica na terapêutica antineoplásica data de meados do século dezenove². O método físico embasado

na administração regional de pulsos elétricos breves e de alta intensidade é designado como eletroporação. Tal princípio apresenta como propriedade intrínseca, a gênese de poros transitórios, seletivos e reversíveis na membrana celular, os quais otimizam a veiculação de substâncias químicas, ácidos nucleicos, anticorpos e plasmídeos, dentre outros elementos, ao meio intracelular^{3,4,5,6,7,8}.

A eletroquimioterapia caracteriza-se pela associação de agentes antineoplásicos à eletroporação, com o intuito de se maximizar a concentração intracelular destes fármacos, assim propiciando maior ação citotóxica^{9,10,11,12,13,14,15,16}. Múltiplos

quimioterápicos, por apresentarem-se como moléculas hidrofílicas, exibem dificuldade em atravessar a membrana celular. Dentre os mencionados agentes, destaca-se a amplificação da citotoxicidade exercida pela bleomicina quando combinada à aplicação regional de pulsos elétricos^{3,4,9,14,16,17}.

Segundo a bibliografia consultada, a eletroquimioterapia representa protocolo antineoplásico com pleora de indicações na clínica oncológica, exceto para tumores de origem óssea e hematopoiética^{9,12,14,17,18,19,20,21}. De acordo com os trabalhos reunidos, tal procedimento revelou resultados satisfatórios, sobretudo caracterizados por elevado índice de remissão neoplásica, pequeno percentil de recidivas e/ou metástases adjacentes e/ou distantes e ainda efeitos adversos inexpressivos^{3,9,12,14,16,17,18,19,20,21,22}.

Este trabalho objetivou avaliar a aplicabilidade, eficácia e segurança da eletroquimioterapia em neoplasias de origem epitelial ou mesenquimal, localizadas em pele ou mucosas de cães, no intuito da caracterização das vantagens intrínsecas ao protocolo.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 34 cães acometidos por neofomações solitárias de origem epitelial ou mesenquimal, situadas em pele ou membranas mucosas, admitidos junto ao Serviço de Cirurgia do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Paulista, São Paulo, Capital. O estudo foi conduzido respeitando-se diretrizes referentes à experimentação animal, pré-definidas pelo Conselho de Ética da Universidade Paulista (protocolo número 024/08, aprovado e registrado em ata de reunião do Conselho de Ética em 12 de fevereiro de 2009). Os proprietários foram previamente orientados sobre os procedimentos relativos ao protocolo.

Todos os pacientes foram avaliados por exame físico e complementares, os últimos representados por hematológico,

bioquímicos, radiográfico torácico e sonográfico abdominal, no intuito da pesquisa por enfermidade sistêmica coexistente e/ou neoplasia propagada para espaço(s) cavitário(s). Utilizou-se de técnica incisional para colheita de fragmentos das lesões, imediatamente fixados em solução tamponada de formalina a 10% para posterior submissão à análise histológica. Todos os indivíduos da amostragem considerada receberam anestesia geral para realização de parte dos procedimentos relacionados (diagnóstico por biópsia incisional e terapêutico).

A localização e extensão dos tumores foram caracterizadas em concordância com o sistema de estadiamento clínico TNM (tumor / linfonodo / metástase), segundo diretrizes estabelecidas pela Organização Mundial da Saúde (Quadros 1 e 2)^{23,24}.

Padronizou-se o protocolo eletroquimioterápico utilizando-se sulfato de bleomicina (Tecnomicina® - Zodiac Produtos Farmacêuticos S. A. Pindamonhangaba, São Paulo), pela via intralesional, na dose de 1 U/cm³ de tumor. O volume neoplásico foi calculado com auxílio de paquímetro, respeitando-se premissas da equação altura x largura x profundidade x $\pi/6$. Três minutos após a aplicação do fármaco pela via supracitada, administraram-se pulsos elétricos sobre toda extensão da neofomação por meio de aparelhagem destinada a tal fim (Eletroporador Crown Modelo BK100 Cromática Ltda. São Paulo, São Paulo). A eletroporação foi perfilada com eletrodo composto por oito agulhas de aço, paralelamente dispostas e equidistantes (0,7 cm). Pulsos elétricos com tensão de 1000 V, em onda quadrada unipolar, com duração de 100 microsegundos, totalizando-se oito ciclos, foram regionalmente aplicados. O procedimento foi repetido em intervalos mensais até que a remissão neoplásica integral fosse verificada.

Todos os animais foram reavaliados aos sete, 14, 21 e 30 dias da realização do protocolo, e após regressão tumoral completa, monitorados por meio de retornos bimestrais durante 12 meses.

Tumor primário (T)	
Tis:	Tumor pré invasivo (<i>in situ</i>)
T0:	Sem evidências de tumor
T1:	Tumor < 2 cm de diâmetro
T2:	Tumor entre 2 - 5 cm de diâmetro
T3:	Tumor > 5 cm de diâmetro
T4:	Tumor invadindo outras estruturas como fáscia, osso ou cartilagem
Linfonodo (N)	
N0:	Sem evidências de envolvimento de linfonodo regional
N1:	Linfonodo ipsilateral móvel
	N1a: sem aumento de volume
	N1b: com aumento de volume
N2:	Linfonodo contralateral ou bilateral móveis
	N2a: sem aumento de volume
	N2b: com aumento de volume
N3:	Linfonodos fixos
Metástase (M)	
M0:	Sem evidências de metástase distante
M1:	Metástase distante detectada
Tumor primário (T)	
Tis:	Tumor pré invasivo (<i>in situ</i>)
T0:	Sem evidências de tumor
T1:	Tumor < 2 cm de diâmetro
T2:	Tumor entre 2 - 5 cm de diâmetro
T3:	Tumor > 5 cm de diâmetro
T4:	Tumor invadindo outras estruturas como fáscia, osso ou cartilagem
Linfonodo (N)	
N0:	Sem evidências de envolvimento de linfonodo regional
N1:	Linfonodo ipsilateral móvel
	N1a: sem aumento de volume
	N1b: com aumento de volume
N2:	Linfonodo contralateral ou bilateral móvel
	N2a: sem aumento de volume
	N2b: com aumento de volume
N3:	Linfonodos fixos
Metástase (M)	
M0:	Sem evidências de metástase distante
M1:	Metástase distante detectada

Quadro 1- Estadiamento clínico para neoplasias cutâneas em cães segundo sistema TNM²³

Resultados

A análise histológica das lesões incluídas no estudo (n = 34) (100%) revelou sete melanomas malignos em saco conjuntival, dois orais e um interdigital.

Foram também verificados sete carcinomas espinocelulares, cinco adenocarcinomas hepatóides, três adenomas hepatóides, três adenocarcinomas sebáceos, dois melanocitomas palpebrais, um carcinoma de células basais, um plasmocitoma

Tumor primário (T)			
Tis:	Tumor pré invasivo (<i>in situ</i>)		
T1:	Tumor < 2 cm de diâmetro		
	T1a: sem evidências de invasão óssea		
	T1b: com evidências de invasão óssea		
T2:	Tumor entre 2 - 4 cm de diâmetro		
	T2a: sem evidências de invasão óssea		
	T2b: com evidências de invasão óssea		
T3:	Tumor > 4 cm de diâmetro		
Linfonodo (N)			
N0:	Sem metástase para linfonodo regional		
N1:	Linfonodo ipsilateral móvel		
	N1a: sem evidências de metástase para linfonodo		
	N1b: com evidências de metástase para linfonodo		
N2:	Linfonodo contralateral ou bilateral móvel		
	N2a: sem evidências de metástase para linfonodos		
	N2b: com evidências de metástase para linfonodos		
N3:	Linfonodos fixos		
Metástase distante (M)			
M0:	Sem evidências de metástase distante		
M1:	Metástase distante detectada		
Grupos	Tumor (T)	Linfonodo (N)	Metástase (M)
I	T1	N0, N1a, N2a	M0
II	T2	N0, N1a, N1b	M0
III	T3	N0, N1a, N1b	M0
IV	T1, T2, T3	N1b	M0
	T1, T2, T3	N2b, N3	M0
	T1, T2, T3	N1, N2, N3	M1

Quadro 2- Estadiamento clínico para neoplasias orais em cães segundo sistema TNM²⁴

tegumentar solitário, um epiteloma palpebral e um adenoma sebáceo. Os exames físico, laboratoriais e por imagem não indicaram a existência de metástases adjacentes e/ou distantes, excetuando-se um caso de melanoma interdígital propagado para linfonodo poplíteo ipsilateral, subsequentemente excisado. As informações relativas à caracterização dos animais, volume e localização anatômica, assim como diagnóstico histopatológico e estadiamento clínico de todas as neofomações, encontram-se pormenorizadas na tabela 1.

Inexistiram complicações e/ou efeitos adversos decorrentes da administração intralesional de sulfato de bleomicina e/ou da eletroporação. Espasmos musculares involuntários e transitórios foram observados durante a aplicação de pulsos elétricos, os quais cessaram após o término do procedimento. Não se evidenciaram lesões térmicas e/ou hemorrágicas imediatas decorrentes do contato dos eletrodos com tecido ou órgão submetido ao protocolo.

Sete dias após a eletroquimioterapia, observou-se discreta diminuição de volume das neoplasias, as quais em alguns casos exibiam erosões encimadas por crostas hemáticas. Aos

Tabela 1- Caracterização dos animais e aspectos clínicos e histopatológicos de neoplasias cutâneas e de mucosas. FMV/UNIP - São Paulo - 2009

Cão n ^o	Raça	Sexo	Idade (anos)	Volume tumoral AxLxP (cm)	Localização anatômica	Histopatológico	Estadiamento clínico
1	Pastor Alemão	M	8	1.0x1.0x0.5	Saco conjuntival	Melanoma melânico	T1 N0 M0
2	Pastor Alemão	M	9	1.2x0.6x0.4	Saco conjuntival	Melanoma melânico	T1 N0 M0
3	Weimaraner	F	11	2.2x1.0x1.0	Saco conjuntival	Melanoma amelanico	T2 N0 M0
4	Weimaraner	F	10	1.8x1.3x1.0	Saco conjuntival	Melanoma amelanico	T1 N0 M0
5	Weimaraner	M	8	4.0x3.7x2.7	Saco conjuntival	Melanoma amelanico	T2 N0 M0
6	Teckel	F	10	1.0x0.7x0.6	Saco conjuntival	Melanoma amelanico	T1 N0 M0
7	Labrador	F	7	0.5x0.3x0.2	Saco conjuntival	Melanoma amelanico	T1 N0 M0
8	Mestiço	F	12	1.4x0.6x0.8	Mucosa oral	Melanoma amelanico	T1 N0 M0 (GI)
9	Poodle	M	10	1.6x0.8x0.4	Mucosa oral	Melanoma melânico	T1 N0 M0 (GI)
10	Schnauzer	M	8	1.4x0.9x0.7	Interdigital	Melanoma melânico	T1 N1b M0
11	Husky Siberiano	M	11	0.9x0.9x0.3	Perianal	Carcinoma espinocelular	T1 N0 M0
12	Mestiço	F	10	1.5x1.5x0.9	Palpebral	Carcinoma espinocelular	T1 N0 M0
13	Mestiço	F	12	0.5x0.3x0.3	Palpebral	Carcinoma espinocelular	T1 N0 M0
14	Cocker Spaniel	M	5	1.5x1.5x1.5	Lombar	Carcinoma espinocelular	T1 N0 M0
15	Poodle	F	16	2.0x1.6x 2.8	Cauda	Carcinoma espinocelular	T2 N0 M0
16	Pit Bull	M	12	1.5x2.0x1.5	Lombar	Carcinoma espinocelular	T1 N0 M0
17	Poodle	F	7	2.0x1.3x2.0	Facial	Carcinoma espinocelular	T2 N0 M0
18	Pastor Alemão	M	12	1.5x1.5x1.5	Perianal	Adenocarcinoma hepatoide	T1 N0 M0
19	Cocker Spaniel	M	10	0.5x0.5x0.3	Perianal	Adenocarcinoma hepatoide	T1 N0 M0
20	Mestiço	M	10	1.3x1.3x1.0	Perianal	Adenocarcinoma hepatoide	T1 N0 M0
21	Cocker Spaniel	M	12	1.5x1.7x0.7	Perianal	Adenocarcinoma hepatoide	T1 N0 M0
22	Poodle	M	13	2.2x2.3x2.0	Perianal	Adenocarcinoma hepatoide	T2 N0 M0
23	Husky Siberiano	M	11	3.0x1.5x1.0	Perianal	Adenoma hepatoide	T2 N0 M0
24	Husky Siberiano	M	14	4.3x2.9x3.7	Perianal	Adenoma hepatoide	T2 N0 M0
25	Cocker Spaniel	M	10	1.0x0.9x0.3	Perianal	Adenoma hepatoide	T1 N0 M0
26	Akita	M	12	1.1x1.0x0.5	Torácica	Adenocarcinoma sebáceo	T1 N0 M0
27	Cocker Spaniel	M	11	0.8x0.6x0.3	Facial	Adenocarcinoma sebáceo	T1 N0 M0
28	Cocker Spaniel	M	12	2.9x2.1x0.2	Pavilhão auricular	Adenocarcinoma sebáceo	T2 N0 M0
29	Akita	M	12	0.5x0.5x0.5	Palpebral	Melanocitoma	T1 N0 M0
30	Weimaraner	M	8	0.8x0.8x0.6	Palpebral	Melanocitoma	T1 N0 M0
31	Poodle	M	2	1.0x0.8x0.7	Cervical	Carcinoma de células basais	T1 N0 M0
32	Pit Bull	F	7	0.6x0.6x0.4	Perianal	Plasmocitoma tegumentar	T1 N0 M0
33	Poodle	M	15	0.7x0.4x0.6	Palpebral	Epitelioma	T1 N0 M0
34	Poodle	F	5	1.4x1.4x0.7	Facial	Adenoma sebáceo	T1 N0 M0

14 dias, evidenciou-se remissão parcial das neofomações e persistência de áreas erodidas ainda encimadas pelo mesmo tipo de crostas. Aos 21 dias de observação, houve acentuada regressão neoplásica por vezes acompanhada por discreta solução de descontinuidade tegumentar. A reavaliação macroscópica 30

dias após a primeira sessão da terapia, apontou remissão tumoral integral em nove pacientes (Figura 1). Neoplasias as quais exibiram regressão incompleta após uma sessão (n = 21) foram subsequentemente submetidas a novas aplicações do protocolo, em intervalos mensais, até a remissão total (Figuras 2 e 3).

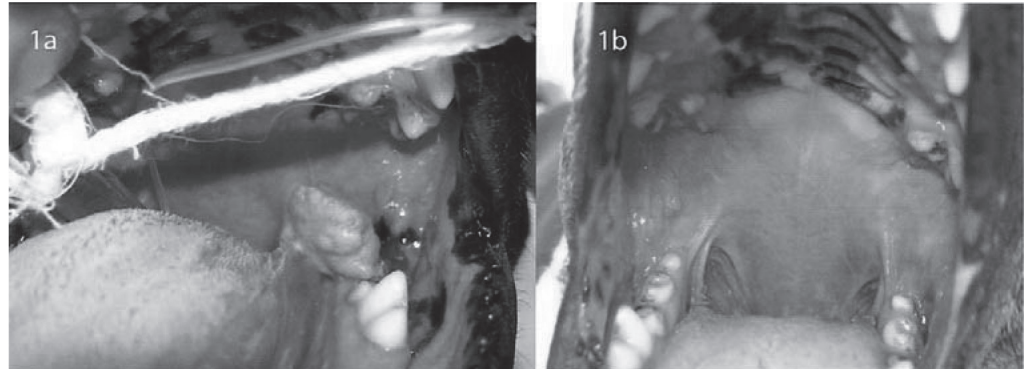


Figura 1– a) Aspecto macroscópico de melanoma amelanico em mucosa oral (animal nº 8, pré terapia); b) Remissão neoplásica integral 30 dias após a primeira sessão eletroquimioterápica



Figura 2– a) Aspecto macroscópico de melanoma amelanico em saco conjuntival (animal nº 5, pré terapia); b) Remissão neoplásica integral após três sessões eletroquimioterápicas (90 dias)

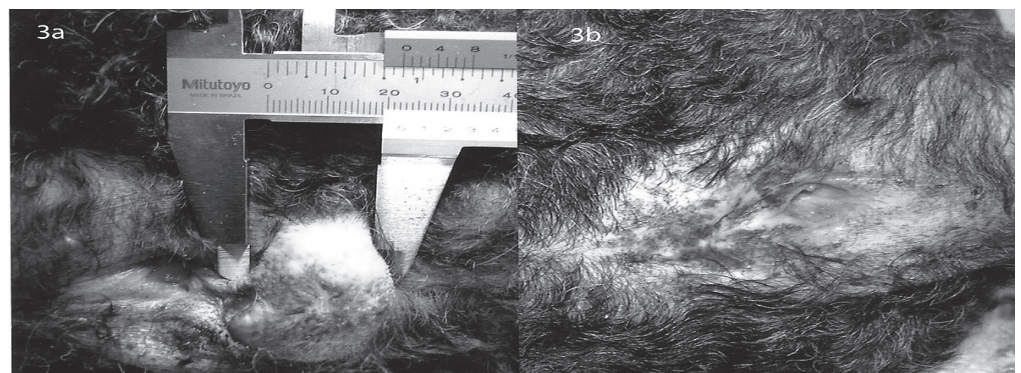


Figura 3– a) Aspecto macroscópico de adenocarcinoma hepatoide (animal nº 22, pré terapia); b) Remissão neoplásica integral após três sessões eletroquimioterápicas (90 dias)

O número de sessões eletroquimioterápicas necessárias à remissão neoplásica integral oscilou entre os animais (uma a três) (Tabela 2). A maioria dos cães apresentou regressão tumoral completa (n = 30) (88,3%). Apenas quatro neofomações (11,7%) não apresentaram resposta a contento após duas sessões, respectivamente representadas por três carcinomas espinocelulares e um adenocarcinoma sebáceo, posteriormente excisados (Tabela 2 e Figura 4).

Tabela 2- Dados referentes à quantidade de sessões eletroquimioterápicas e resposta tumoral. FMV/UNIP - São Paulo - 2009

(Continua)

Cão nº	Volume tumoral AxLxP (cm)	Localização anatômica	Histopatológico	nº de sessões	Resposta tumoral
1	1.0x1.0x0.5	Saco conjuntival	Melanoma melânico	2	RT
2	1.2x0.6x0.4	Saco conjuntival	Melanoma melânico	2	RT
3	2.2x1.0x1.0	Saco conjuntival	Melanoma amelânico	3	RT
4	1.8x1.3x1.0	Saco conjuntival	Melanoma amelânico	3	RT
5	4.0x3.7x2.7	Saco conjuntival	Melanoma amelânico	3	RT
6	1.0x0.7x0.6	Saco conjuntival	Melanoma amelânico	2	RT
7	0.5x0.3x0.2	Saco conjuntival	Melanoma amelânico	1	RT
8	1.4x0.6x0.8	Mucosa oral	Melanoma amelânico	1	RT
9	1.6x0.8x0.4	Mucosa oral	Melanoma melânico	3	RT
10	1.4x0.9x0.7	Interdigital	Melanoma melânico	3	RT
11	0.9x0.9x0.3	Perianal	Carcinoma espinocelular	1	RT
12	1.5x1.5x0.9	Palpebral	Carcinoma espinocelular	2	NR
13	0.5x0.3x0.3	Palpebral	Carcinoma espinocelular	1	RT
14	1.5x1.5x1.5	Lombar	Carcinoma espinocelular	2	RT
15	2.0x1.6x 2.8	Cauda	Carcinoma espinocelular	2	NR
16	1.5x2.0x1.5	Lombar	Carcinoma espinocelular	2	RT
17	2.0x1.3x2.0	Facial	Carcinoma espinocelular	2	NR
18	1.5x1.5x1.5	Perianal	Adenocarcinoma hepatoide	2	RT

						(Conclusão)
19	0.5x0.5x0.3	Perianal	Adenocarcinoma hepatoide	2		RT
20	1.3x1.3x1.0	Perianal	Adenocarcinoma hepatoide	2		RT
21	1.5x1.7x0.7	Perianal	Adenocarcinoma hepatoide	2		RT
22	2.2x2.3x2.0	Perianal	Adenocarcinoma hepatoide	3		RT
23	3.0x1.5x1.0	Perianal	Adenoma hepatoide	2		RT
24	4.3x2.9x3.7	Perianal	Adenoma hepatoide	3		RT
25	1.0x0.9x0.3	Perianal	Adenoma hepatoide	1		RT
26	1.1x1.0x0.5	Torácica	Adenocarcinoma sebáceo	3		RT
27	0.8x0.6x0.3	Facial	Adenocarcinoma sebáceo	3		RT
28	2.9x2.1x0.2	Pavilhão auricular	Adenocarcinoma sebáceo	2		NR
29	0.5x0.5x0.5	Palpebral	Melanocitoma	1		RT
30	0.8x0.8x0.6	Palpebral	Melanocitoma	1		RT
31	1.0x0.8x0.7	Cervical	Carcinoma de células basais	2		RT
32	0.6x0.6x0.4	Perianal	Plasmocitoma tegumentar	1		RT
33	0.7x0.4x0.6	Palpebral	Epitelioma	1		RT
34	1.4x1.4x0.7	Facial	Adenoma sebáceo	2		RT

RT: Remissão total, NR: Não responsivo

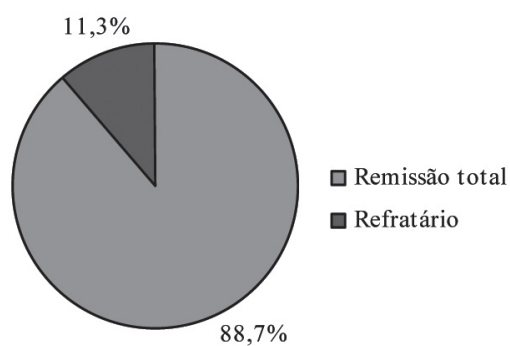


Figura 4 - Percentual de resposta tumoral após protocolo eletroquimioterápico

Todos os pacientes foram reavaliados em retornos bimestrais por meio de exames físico e complementares por período de doze meses, não exibindo indícios orgânicos, laboratoriais e/ou por imagem de recidiva neoplásica e/ou metástase(s) adjacente(s) e/ou distante(s) neste intervalo de tempo.

Discussão

A despeito de todo conhecimento genético e molecular dos tumores até então obtido, dados estatísticos atuais demonstram que os mesmos figuram entre as principais causas de óbito em cães¹. Assim sendo, há crescente demanda pela realização de pesquisas adicionais, objetivando a busca por novas opções terapêuticas em medicina oncológica^{1,2,8,10}. A eletroquimioterapia, procedimento que alia o uso de fármacos antineoplásicos à aplicação regional de pulsos elétricos, facilita a entrada destes agentes ao meio intracelular pelo princípio da eletropermeabilização otimizando sua atividade citotóxica em baixas doses, minimizando assim, a ocorrência de efeitos adversos^{3,4,9,12,14,15,16,20}. A bibliografia reunida caracterizou-a como modalidade aplicável, eficaz e segura na terapêutica antitumoral em cães^{16,17,18,19,20,21}.

Neste estudo, avaliou-se um protocolo eletroquimioterápico no qual se utilizou sulfato de bleomicina, pela via intralesional, em diversos tipos tumorais de origem epitelial e mesenquimal, situados em pele ou mucosas, a exceção dos sarcomas. A literatura disponibiliza informações referentes ao uso de inúmeros agentes antineoplásicos em associação à eletroporação. Todavia, existe um consenso entre os autores relativamente à potencialização da citotoxicidade exercida por cisplatina e bleomicina, uma vez combinadas à administração de pulsos elétricos^{4,12,14}. A eletroquimioterapia é indicada no tratamento de diversos tipos de neoplasias cutâneas e de membranas mucosas, independentemente de sua histologia^{4,12,14,19,20,21}. Entretanto, pesquisas prévias apontaram que naqueles tumores ricos em fibras colágenas, a exemplo dos sarcomas, existe dificuldade na

propagação dos pulsos elétricos assim como do fármaco antineoplásico, com consequente refratariedade ao protocolo^{25,26,27}.

A aplicação intralesional do quimioterápico sulfato de bleomicina demonstrou-se efetiva e isenta de efeitos colaterais decorrentes, dado igualmente verificado e descrito em estudos preliminares^{3,4,9,14,17,20}. Todavia, cabe destacar que em quatro neoplasias erodo-ulceradas, houve dificuldade na difusão intralesional do fármaco, sobretudo sugerida por sua refratariedade ao protocolo. Trabalhos prévios apontaram que a administração endovenosa de sulfato de bleomicina representa a via de eleição nos casos de neoformações volumosas e/ou erodo-ulceradas, pois a tais características macroscópicas foi atribuída a limitação da inadequada concentração do agente antineoplásico, quando localmente aplicado^{4,9,20}. Entretanto, nesta pesquisa, respeitando-se a metodologia preconizada, optou-se pela excisão cirúrgica de neoplasias refratárias ao procedimento eletroquimioterápico.

Lesões teciduais térmicas advindas da eletroporação inexisteram nos animais da amostragem considerada. Tal fenômeno, por outros autores detectado em inexpressivo número de casos, foi naquelas situações, diretamente atribuído à amplitude, duração, frequência e quantidade administrada de pulsos elétricos^{9,18,20}.

Nas neoformações submetidas à eletroquimioterapia nesta pesquisa, não houve eventos hemorrágicos macroscópicos imediatos. Ressalte-se que à eletroporação, foi referida a propriedade de desestruturação endotelial vascular neoplásica com consequente redução em seu aporte sanguíneo, assim propiciando redução do risco de hemorragia pela adentrada dos eletrodos no tumor^{5,12,13,21,22}.

Durante a administração de pulsos elétricos, foram observados espasmos musculares regionais involuntários, instantaneamente cessados após o término do procedimento. Tal fato propicia desconforto de ínfima magnitude ao paciente^{4,6,7,11,20,21}.

O grupo e dosagem dos fármacos antitumorais empregados, características físico-químicas dos eletrodos, assim como a intensidade, número e tipo de onda por estes produzida, diferem entre os trabalhos compulsados, resultando complexo o cotejamento referente aos aspectos supracitados^{3,4,6,7,8,14,16,17,18,19}. Contudo, sulfato de bleomicina, na dose de 1 U/cm³ de tumor, associado à administração regional de pulsos elétricos com tensão de 1000 V, por 100 microsegundos, em onda quadrada unipolar, totalizando oito pulsos, demonstrou-se eficaz na remissão das neoplasias aqui consideradas.

O número de sessões eletroquimioterápicas para a regressão tumoral integral oscilou entre os pacientes (uma a três). Segundo a bibliografia consultada, a repetição do protocolo encontra-se diretamente influenciada pelo tipo e volume da neoformação^{4,9,14,17}.

O monitoramento clínico, conduzido pelo período de doze meses na totalidade de cães deste estudo, revelou não haver indícios de recidiva e/ou propagação neoplásica. O potencial metastático tumoral está

condicionado a uma miríade de fatores, dentre os quais se enfocam tipo, volume e localização anatômica da neoformação, protocolo(s) terapêutico(s) utilizado(s) e salubridade imunológica¹. Sabe-se que a eletroquimioterapia, ainda que por mecanismos não completamente elucidados, promove estimulação imunitária celular e humoral, minimizando então, a ocorrência de recidivas e/ou metástases^{4,10,14,16,19,21}.

Conclusões

O confronto dos resultados aqui obtidos às informações acessadas na bibliografia consultada permitiu concluir que a eletroquimioterapia representa uma modalidade terapêutica aplicável, eficaz e segura para emprego em medicina oncológica veterinária.

Dentre as vantagens intrínsecas ao procedimento estudado, enfocam-se rapidez e praticidade em sua execução, ausência de toxicidade atribuível à administração intralesional do fármaco sulfato de bleomicina, baixa onerosidade e inexistência de complicações trans e pós-terapêuticas.

Employment of electrochemotherapy in canine neoplasms of epithelial or mesenchymal origin located in the skin or mucosal membranes

Abstract

Electrochemotherapy is characterized as a protocol which combines the use of antineoplastic agents with localized application of electric pulses to improve the intracellular concentration of these agents, increasing, thus, its cytotoxic action. Bleomycin, an antibiotic agent with antineoplastic properties, is a hydrophilic molecule, having a restricted transport through the cellular membrane. However, when it is administered intralesionally or intravenously and associated to electroporation, its cytotoxicity is maximized. In this study 34 dogs were utilized and they were affected by a single lesion of epithelial or mesenchymal origin, located in the skin or mucosal membranes. The electrochemotherapy protocol was standardized using intralesional bleomycin sulfate at a dose of 1 U/cm³ of tumoral area. Electroporation was performed using an electrode composed of needles and electric pulses with a 1000 V voltage, in unipolar square wave and 100 microseconds duration, totalizing eight cycles. There was complete neoplastic remission in 30 dogs (88.3%) and refractoriness to the protocol in four animals (11.7%). There were

Keywords:

Dog.
Neoplasia.
Electroporation.
Electrochemotherapy.

no complications or side effects associated with the procedure. The protocol studied in this work showed to be feasible, effective and safe for antineoplastic therapy in dogs.

Referências

- 1 REIF, J. S. The epidemiology and incidence of cancer. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M. **Withrow & MacEwen's small animal clinical oncology**. 4. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007. p. 68-76.
- 2 OLIVEIRA, L. O.; TELLÓ, M. Pesquisas, em nível mundial, referentes à utilização da corrente contínua no tratamento do câncer. In: TELLÓ, M.; RAIZER, A.; BUZAID, A. C.; DOMENGE, C.; DIAS, G. A. D.; ALMAGUER, H. D.; OLIVEIRA, L. O.; FARBER, P. L.; OLIVEIRA, R. T.; SILVA, V. D. **O uso da corrente elétrica no tratamento do câncer**. 3. ed. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2004. p. 77-96.
- 3 LARKIN, J. O.; COLLINS, C. G.; AARONS, S.; TANGNEY, M.; WHELAN, M.; O'REILY, S.; BREATHNACH, O.; SODEN, D. M.; O'SULLIVAN, G. C. Electrochemotherapy: aspects of preclinical development and early clinical experience. **Annals of Surgery**, v. 245, n. 3, p. 469-479, 2007.
- 4 GOTHELF, A.; MIR, L. M.; GEHL, J. Electrochemotherapy: results of cancer treatment using enhanced delivery of bleomycin by electroporation. **Cancer Treatment Reviews**, v. 29, n. 5, p. 371-387, 2003.
- 5 DUJARDIN, N.; STAES, E.; KALIA, Y.; CLARYS, P.; GUY, R.; PRÉAT, V. *In vivo* assessment of skin electroporation using square wave pulses. **Journal of Controlled Release**, v. 79, n. 1-3, p. 219-227, 2002.
- 6 LEBAR, A. M.; SERŠA, G.; KRANJC, S.; GROŠELJ, A.; MIKLAVČIČ, D. Optimization of pulse parameters *in vitro* for *in vivo* electrochemotherapy. **Anticancer Research**, v. 22, n. 3, p. 1731-1736, 2002.
- 7 PUCIHAR, G.; MIR, L. M.; MIKLAVČIČ, D. The effect of pulse repetition frequency on the uptake into electroporated cells *in vitro* with possible applications in electrochemotherapy. **Bioelectrochemistry**, v. 57, n. 2, p. 167-172, 2002.
- 8 CHEN, C.; SMY, S. W.; ROBINSON, M. P.; EVANS, J. A. Membrane electroporation theories: a review. **Medical and Biological Engineering and Computing**, v. 44, n. 1-2, p. 5-14, 2006.
- 9 MIR, L. M.; GLASS, L. F.; SERŠA, G.; TEISSIÉ, J.; DOMENGE, C.; MIKLAVČIČ, D.; JAROSZESKI, M. J.; ORLOWSKI, S.; REINTGEN, D. S.; RUDOLF, Z.; BELEHRADEK, M.; GILBERT, R. A.; ROLS, M. P.; BELEHRADEK JR., J.; BACHAUD, J. M.; De CONTI, R. C.; ŠTABUC, B.; ČEMAŽAR, M.; CONINX, P.; HELLER, R. Effective treatment of cutaneous and subcutaneous malignant tumours by electrochemotherapy. **British Journal of Cancer**, v. 77, n. 12, p. 2336-2342, 1998.
- 10 CIRIAL, H. C.; LÓPEZ, D. S. La electroquimioterapia: una nueva alternativa terapéutica en la oncología. **Revista Cubana de Oncología**, v. 17, n. 3, p. 188-194, 2001.
- 11 MIKLAVČIČ, D.; PUCIHAR, G.; PAVLOVEC, M.; RIBARIČ, S.; MALI, M.; LEBAR, A. M.; PETKOVŠEK, M.; NASTRAN, J.; KRANJC, S.; ČEMAŽAR, M.; SERŠA, G. The effect of high frequency electric pulses on muscle contractions and antitumor efficiency *in vivo* for a potential use in clinical electrochemotherapy. **Bioelectrochemistry**, v. 65, n. 2, p. 121-128, 2005.
- 12 GIARDINO, R.; FINI, M.; BONAZZI, V.; CADOSSO, R.; NICOLINI, A.; CARPI, A. Electrochemotherapy: a novel approach to the treatment of metastatic nodules on the skin and subcutaneous tissues. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 60, n. 8, p. 458-462, 2006.
- 13 SERŠA, G.; ČEMAŽAR, M.; PARKINS, C. S.; CHAPLIN, D. J. Tumour blood flow changes induced by application of electric pulses. **European Journal of Cancer**, v. 35, n. 4, p. 672-677, 1999.
- 14 SERŠA, G.; ČEMAŽAR, M.; MIKLAVČIČ, D.; RUDOLF, Z. Electrochemotherapy of tumours. **Radiology and Oncology**, v. 40, n. 3, p. 163-174, 2006.
- 15 ČEMAŽAR, M.; MIKLAVČIČ, D.; MIR, L. M.; BELEHRADEK JR., J.; BONNAY, M.; FOURCAULT, D.; SERŠA, G. Electrochemotherapy of tumours resistant to cisplatin: a study in a murine tumour model. **European Journal of Cancer**, v. 37, n. 9, p. 1166-1172, 2001.
- 16 PARISE JR., O.; TELLÓ, M.; OLIVEIRA, L. O.; ZANELLA, R.; OLIVEIRA, R. T.; SILVA, C. C. F.; LEMES, A.; GIOSO, M. A.; BARBUTO, J. A.; BUZAID, A. C. Efeito antitumoral do campo elétrico potencializando quimioterápicos: estudo no modelo animal. **Revista Brasileira de Cirurgia de Cabeça e Pescoço**, v. 37, n. 2, p. 76-81, 2008.
- 17 AMINKOV, B.; MANOV, V. Electrochemotherapy: a novel method of treatment of malignant tumours in the dog. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 7, n. 4, p. 209-213, 2004.
- 18 TOZON, N.; KODRE, V.; SERŠA, G.; ČEMAŽAR, M. Effective treatment of perianal tumors in dogs with electrochemotherapy. **Anticancer Research**, v. 25, n. 2A, p. 839-846, 2005.
- 19 SPUGNINI, E. P.; DRAGONETTI, E.; VINCENZI, B.; ONORI, N.; CITRO, G.; BALDI, A. Pulse-mediated chemotherapy enhances local control and survival in a spontaneous canine model of primary mucosal melanoma. **Melanoma Research**, v. 16, n. 1, p. 23-27, 2006.
- 20 HELLER, R.; JAROSZESKI, M. J.; REINTGEN, D. S.; PULEO, C. A.; De CONTI, R. C.; GILBERT, R. A.;

- GLASS, L. F. Treatment of cutaneous and subcutaneous tumors with electrochemotherapy using intralesional bleomycin. **Cancer**, v. 83, n. 1, p. 148-157, 1998.
- 21 ČEMAŽAR, M.; TAMZALI, Y.; SERŠA, G.; TOZON, N.; MIR, L. M.; MIKLAVČIČ, D.; LOWE, R.; TEISSIÉ, J. Electrochemotherapy in veterinary oncology. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 4, p. 826-831, 2008.
- 22 SERŠA, G.; JARM, T.; KOTNIK, T.; COER, A.; PODKRAJSEK, M.; SENTJURC, M.; MIKLAVČIČ, D.; KADIVEC, M.; KRANJC, S.; SECEROV, A.; ČEMAŽAR, M. Vascular disrupting action of electroporation and electrochemotherapy with bleomycin in murine sarcoma. **British Journal of Cancer**, v. 98, n. 2, p. 388-398, 2008.
- 23 VAIL, D. M.; WITHROW, S. J. Tumors of the skin and subcutaneous tissues. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M. **Withrow & MacEwen's small animal clinical oncology**. 4. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007. p. 375-401.
- 24 LIPTAK, J. M.; WITHROW, S. J. Cancer of the gastrointestinal tract. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M. **Withrow & MacEwen's small animal clinical oncology**. 4. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007. p. 455-510.
- 25 SPUGNINI, E. P.; CITRO, G.; D'AVINO, A.; BALDI, A. Potential role of electrochemotherapy for the treatment of soft tissue sarcoma: first insights from preclinical studies in animals. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 40, n. 2, p. 159-163, 2008.
- 26 SPUGNINI, E. P.; VINCENZI, B.; BETTI, G.; CORDAHI, F.; DOTSINSKY, I.; MUDROV, N.; CITRO, G.; BALDI, A. Surgery and electrochemotherapy of a high grade soft tissue sarcoma in a dog. **Veterinary Record**, v. 162, n. 6, p. 186-188, 2008.
- 27 SPUGNINI, E. P.; BALDI, A.; VINCENZI, B.; BONGIORNI, F.; BELLELLI, C.; CITRO, G.; PORRELLI, A. Intraoperative versus postoperative electrochemotherapy in high grade soft tissue sarcomas: a preliminary study in a spontaneous feline model. **Cancer Chemotherapy Pharmacology**, v. 59, n. 3, p. 375-381, 2007.