Suvremeni modaliteti konzervativne terapije tumorskih bolesti pasa i mačaka u veterinarskoj medicini

Matejčić, Barbara

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:235393

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Veterinary Medicine - Repository of PHD, master's thesis

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

VETERINARSKI FAKULTET

BARBARA MATEJČIĆ

„SUVREMENI MODALITETI KONZERVATIVNE TERAPIJE TUMORSKIH BOLESTI PASA I MAČAKA U VETERINARSKOJ MEDICINI“

Diplomski rad

Zagreb, 2018.

Klinika za unutarnje bolesti

Predstojnik: izv.prof.dr.sc. Ivana Kiš

Mentor: izv.prof.dr.sc. Nada Kučer

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Doc. dr. sc. Martina Crnogaj
2. Dr. sc. Iva Šmit, dr. med. vet.
3. Izv. prof. dr. sc. Nada Kučer

Zamjena: Prof. dr. sc. Vladimir Mrljak

Zahvala

Veliku zahvalnost, prije svega, dugujem svojim dragim roditeljima i sestri bez kojih sve ovo ne bi bilo moguće, koji su mi bili najveća podrška i „vjetar u leđa“ tijekom svih šest godina studija. Također, hvala i mom dragom dečku na ukazanom strpljenju i brizi oko svih mojih ispita i održavanja odnosa na daljinu.
Želim zahvaliti i ostalim članovima obitelji, prijateljima i dragim kolegama koji su omogućili da slijedim i na koncu ostvarim svoj najveći san.

Popis priloga:

Tablica 1. Podjela alkalizirajućih agenasa.

Tablica 2. Podjela nitrozo spojeva.

Tablica 3. Podjela antitumorskih antibiotika.

Tablica 4. Podjela antimetabolita.

Tablica 5. Podjela inhibitora mitoze.

Tablica 6. Podjela inhibitora topoizomeraze

Tablica 7. Podjela spojeva platine.

Tablica 8. Podjela steroida.

Tablica 9. Podjela antimikrotubularnih agenasa.

Tablica 10. Podjela neopioidnih i opioidnih analgetika

Tablica 11. Podjela antagonista receptora N-metil-D-aspartata (NMDA)

Tablica 12. Podjela antikonvulziva

Tablica 13. Podjela bifosfonata

Tablica 14. Podjela tricikličkih antidepresiva

Tablica 15. Podjela blokatora Na-kanala

Tablica 16. Podjela neurotoksina

Sadržaj

1.Uvod 1
2. Pregled rezultata dosadašnjih istraživanja 2
2.1.Opći principi liječenja malignih bolesti 2
2.2. Osnova djelovanja antineoplastičnih lijekova 3
2.2.1.Primjena antineoplastičnih lijekova 4
2.2.2.Važnost procjene učinkovitosti pristupa 5
2.2.3.Doziranje kemoterapeutika 5
2.2.4.Toksičnost antineoplastičnih lijekova 6
2.2.5.Redukcija toksičnosti pojedinih preparata 7
2.2.6.Razvoj rezistencije 8
2.3.Onkološki protokoli 9
2.4. Imunoterapija 26
2.5. Genska terapija 36
2.6. Antiangiogena terapija 42
2.7. Terapija boli 49
2.8. Komplementarna i alternativna medicina 57
3. Zaključak 66
4. Literatura 67
5. Sažetak 79
6. Summary 80
7. Životopis 81

1.Uvod

Kako su kućni ljubimci, kao i ljudi, sve podložniji razvoju tumorskih bolesti, javlja se sve veća potreba kako u humanoj tako i u veterinarskoj medicini za razvoj suvremenih modaliteta liječenja istih. Sve veća incidencija smrtnih slučajeva posljedično malignim oboljenjima zahtijeva i sve češću intervenciju po tom pitanju na zahtjev vlasnika. Zbog oskudnih podataka, odnosno zbog deficita samih istraživanja koja bi dala neke značajne rezultate, ograničena je primjena modaliteta po tom pitanju te je sve veća potreba za usvajanjem nekih humanih odnosno otkrivanjem novih koji bi se mogli koristiti u tu svrhu. Suvremeni pristup istome podrazumijeva primjenu agenasa koji bi djelovali ciljano, odnosno u svrhu uništavanja samih tumorskih stanica bez posljedičnog oštećenja zdravoga tkiva. U tu svrhu razvijeni su mnogobrojni modaliteti u humanoj medicini, ali i u veterinarskoj, nažalost, bez svakodnevne rutinske primjene. Zbog kvalitete same usluge i dužnosti doktora veterinarske medicine u smislu liječenja pacijenta, pa tako i onkološkog, nužne su preinake i usavršavanja u tom polju kako bi se osigurala efikasnost.

Od postojećih saznanja trenutno se primjenjuju modaliteti koji podrazumijevaju konzervativnu terapiju, odnosno primjenu citostatika, primjenu genske terapije, potporne i palijativne terapije te je uključen i prikaz imunoterapije.

U radu će biti prikazani rezultati pojedinih studija koje uključuju primjenu suvremenih modaliteta u liječenju malignosti pasa i mačaka te njihovi rezultati odnosno mogućnost primjene istih u svakodnevnoj praksi.

Kako je većina ovih studija u konačnici proizvela u većini slučajeva alterirane rezultate, potrebna su dodatna ispitivanja kako bi se neki od modaliteta mogao koristiti kao referentni i u potpunosti pouzdan.

2. Pregled rezultata dosadašnjih istraživanja

2.1.Opći principi liječenja malignih bolesti

Kemoterapija je temeljni modalitet korišten u liječenju sistemskih neoplazmi, odnosno hematoloških malignosti i metastaza solidnih tumora. Cilj kemoterapije je izliječenje onkološkog pacijenta, što ima veću važnost u humanoj onkologiji, dok se u veterinarskoj medicini veća važnost pridaje palijativnoj terapiji koja ima za cilj maksimalno poboljšati kvalitetu života onkološkoga pacijenta kod neoperabilne ili raširene bolesti povezane sa funkcionalnim poremećajima i boli posljedično tome što je kod životinja ograničeno potpuno izliječenje malignih oboljenja zbog nužnih, ponekad radikalnih restrikcija doza kemoterapijskih sredstava, u svrhu održavanja popratnih učinaka u prihvatljivim razinama.Palijativna terapija se često provodi i kod početne loše prognoze te predviđene značajne toksičnosti samoga tretmana. Najčešće se liječenje započinje sa kurativnom svrhom, odnosno s ciljem izliječenja pa se postepeno, s obzirom na tijek terapije prelazi na palijativni pristup, dok je vrlo rijetka primarna primjena palijativne terapije nakon koje uslijedi postupni prijelaz na agresivniji pristup. Sama definicija cilja liječenja uključuje eradikaciju svih tumorskih stanica što predstavlja idealan ishod liječenja, no takva realizacija nije uvijek izvediva.Na početku samog planiranja liječenja, važno je odrediti cilj odnosno histološku dijagnozu tipa tumora, klinički stadij bolesti i opće stanje pacijenta u svrhu određivanja drugih stanja koja bi mogla utjecati na očekivano preživljavanje kao što je u slučaju nekih aktualnih sistemskih bolesti ili nekih drugih stanja koja se moraju razriješiti prije početka tretmana (pr. subkliničke infekcije urinarnog trakta) ili stanja koja se moraju uzeti u obzir prilikom planiranja same kemoterapije (subkliničke kardiološke ili renalne bolesti), jer to često određuje i sam slijed odnosno ishod terapije.Važno je odrediti i prognozu samoga tretmana jer nam ona pomaže u određivanju samog cilja liječenja.Sam tretman se može provoditi u kurativne ili palijativne svrhe. Razlika pristupa temelji se na očekivanom ishodu, odnosno, ukoliko se terapija provodi u palijativne svrhe, prihvatljiv je kraći životni vijek pacijenta zbog cilja postizanja veće kvalitete neovisno o duljini preživljavanja, iako u veterinarskoj medicini to paradoksalno rezultira zapravo duljim životnim vijekom od očekivanog zbog odgađanja same eutanazije, dok je u kurativne svrhe prihvatljivija veća količina popratnih nuspojava zbog cilja osiguranja benefita pacijenata kroz dulje vrijeme. Važno je prilikom planiranja samog tretmana kontinuiranim i otvorenim dijalogom pomoći

vlasniku u donošenju valjane i utemeljene odluke zbog potrebnog razvoja „timskog“ pristupa liječenju same tumorske bolesti.Adjuvantna terapija obično prati kirurško ukljanjanje ili radijacijsku kontrolu primarnog tumora te ima za svrhu liječenje pritajene bolesti uz sustavnu primjenu kemoterapeutika, dok primarna ili neoadjuvantna terapija uključuje korištenje kemoterapeutika prije primjene drugih modaliteta liječenja što se primarno odnosi na primarno kirurško uklanjanje i smanjenje volumena tumora s ciljem kontrole i sprečavanja mogućeg postoperativnog razvoja mikrometastaza. Indukcijska terapija ima sličan koncept kao neoadjuvantna s time da uključuje početnu fazu liječenja lijekovima s ciljem indukcije remisije. Terapija održavanja uključuje primjenu kemoterapeutika u svrhu kontinuiranog održavanja remisije. Konsolidacijska terapija se odnosi na održavanje postignute remisije, a terapija spašavanja na korištenje kemoterapeutika nakon što tumor ne reagira na prethodnu terapiju ili uslijed njegove ponovne pojave (*Antony S. Moore i Angela E. Frimberger, 2009*).

2.2. Osnova djelovanja antineoplastičnih lijekova

Osnova djelovanja antineoplastičnih lijekova temelji se na ciljanju stanica koje su u stadiju aktivne diobe, odnosno interferiranju s procesima uključenima u stanični ciklus. Prema tome, ti agensi su i najaktivniji protiv stanica koje se aktivno dijele, odnosno koje prolaze kroz određenu fazu staničnog ciklusa: mitoza (M-faza), sinteza RNA i proteina (G1 i G2 faza) te sinteza deoksiribonukleinske kiseline –DNA (S-faza, između G1 i G2 faze). Ukoliko stanice izađu iz staničnog ciklusa i uđu u fazu mirovanja (G0 faza), na njih ne djeluje kemoterapija. Rezultat interferencije na tim razinama DNA- replikacije jest produkcija prekinutih DNA odsječaka, pojava nepotpune replikacije te se na koncu pokreće apoptotična smrt stanice.Antineoplastični agensi djeluju i na ostalim razinama koje ne uključuju samo DNA- replikaciju, kao što su naprimjer oni sa antitubulinskom aktivnošću koji sprečavaju polimerizaciju ili stabiliziraju polimerizirani oblik na način da blokiraju depolarizaciju što vodi ka blokiranoj funkciji mikrotubula u procesu diobe stanice (M-faza), odnosno razvoja apoptoze ili nekog drugog mehanizma stanične smrti i gubitka vitalnosti.Omjer stanica u aktivnoj fazi staničnog ciklusa u odnosu na stanice u fazi mirovanja se definira kao frakcija rasta, te je kemoterapeutike najpovoljnije primjenjivati kada tumori imaju relativno visoku frakciju rasta. Tumori najbrže rastu kada su mali, a povećanjem pada stupanj njihovog rasta zbog smanjenja omjera stanica u aktivnoj fazi staničnog ciklusa, povećanog gubitka stanica i stanične smrti posljedično slaboj cirkulaciji, prehrani i hipoksiji. Veći tumori su često i slabije

opskrbljeni krvlju zbog čega kemoterapeutici posljedično ne mogu biti dostavljeni do ciljanih tumorskih stanica u citotoksičnim razinama. Prema tome, najpovoljnije je započeti tretman uslijed najmanje veličine tumora jer je slaba učinkovitost suzbijanja velikih, glomaznih tumora s iznimkom transmisivnog veneričnog tumora u pasa i kombinirane kemoterapije u liječenju limfoma, a sama kemoterapija će biti najaktivnija nakon rane detekcije ili nakon smanjenja broja stanica (nakon operacije ili radijacijske terapije)*(Antony S. Moore i Angela E. Frimberger, 2009).* Djelovanje primjenjenog lijeka ovisi o kemosenzibilnosti tumorskih stanica koja je određena različitim faktorima koji uključuju: prodor lijeka u stanicu, interakciju sa staničnim receptorima, generiranje letalnih šteta na važnim celularnim makromolekulama, popravak potencijalno letalnih oštećenja i stanični odgovor na oštećenje te povećanje aktivnosti nekih enzima (pr. povećana aktivnost topoizomeraze II α dovodi do povećane osjetljivosti tumorskih stanica na doksorubicin, odnosno povećanjem aktivnosti timidilat sintetaze se smanjuje osjetljivost stanica na 5-florouracil)*(Daniel L. Gustafson and Rodney L. Page prema Withoff S, Keith WN, Knol AJ, et al, 1996; Moran RG, Spears CP, Heidelberger C, 1979).*

2.2.1.Primjena antineoplastičnih lijekova

Ulazak lijeka u stanicu se može odvijati putem pasivne difuzije ili aktivnim transportom (melflan). Stanični odgovor na određeni kemoterapijski agens ovisi o međudjelovanju signala opstanka i smrti, specifičnim agensima, dozi, staničnoj lozi odnosno promjenama u proapoptotičnoj i antiapopototičnoj signalizaciji. Većina kemoterapeutika se primjenjuje intravenski ili peroralno te ponekad subkutano ili intramuskularno te iznimno kod primjene cisplatina u vidu infuzije u pleuralnu ili peritonealnu šupljinu, odnosno, intravezikularno u kolagenom ili uljnom nosaču prilikom čega je potreban izniman oprez u svrhu zaštite osoblja zbog toga što vrlo lako može doći do prolijevanja i curenja lijeka izvan područja primjene. Moguća je i površinska primjena (5- florouracil samo kod pasa), ali je rijetka zbog povećane toksičnosti i rizika izlaganja onoga koji aplicira lijek.

2.2.2.Važnost procjene učinkovitosti pristupa

Prilikom svakog pregleda potrebno je procijeniti odgovor na tretman kako bi odredili njegovu učinkovitost, odnosno, u svrhu izbjegavanja nepotrebnog dodatnog troška i toksičnog djelovanja neadekvatnog primjenjenog lijeka te u svrhu uvođenja učinkovitijeg lijeka u tretman. Odgovor na tretman se može definirati kao: Klinička remisija ili potpuni odgovor (kada nema dokaza o nazočnosti tumora rutinskim fizikalnim pregledom i dijagnostičkim metodama), djelomični odgovor (kada je smanjen volumen tumora za više od 50%, bez popratne pojave novih masa), stabilna bolest (smanjenje volumena je manje od 50% ili je porast u volumenu tumora manji od 10%), te progresivna bolest (povećanje volumena tumora veće od 10% ili zamjećena pojava bilo kakvih novih masa), *(Angela E. Fimberger, 2004).*

2.2.3.Doziranje kemoterapeutika

Najvažniji temelj uspješne i sigurne terapije je adekvatno doziranje kemoterapeutika. Vrlo je važno biti što je moguće točniji prilikom određivanja potrebne doze jer većina agensa ima vrlo uzak terapijski raspon, odnosno, tanka je granica između toksične i efektivne doze za određeno terapijsko sredstvo. Odnos između toksične i terapijske doze za primjenjeno sredstvo je definiran kao terapijski indeks koji je često apstraktan parametar jer se primijenjena doza lijeka temelji na maksimalno podnošljivoj dozi prije nego na odgovoru na istu, odnosno, na najvećoj mogućoj dozi primijenjenog lijeka koja ne izaziva ireverzibilne i neprihvatljive nuspojave na ograničenom uzorku populacije.Noviji koncept doziranja primjenjenih lijekova je na temlju biološke efektivne doze, odnosno, na odgovoru određenog cilja djelovanja sredstva što je povezano s njegovim mehaničkim djelovanjem.Uslijed primjene sredstava prema planiranom rasporedu od iznimne je važnosti procjena terapijskog dobitka, odnosno, bilo kakvog poboljšanja u odgovoru u odnosu na normalno povećanu toksičnost tkiva.Učinkovit tretman se postiže češće primjenom najviših tolerantnih doza uz adekvatne potporne profilaktičke metode. Doziranje se mora temeljiti i na procijenjenoj funkciji organa te, iako nikakav obrazac nije ustaljen, preporuča se smanjiti dozu lijekova koji se metaboliziraju u jetri kod povećane koncentracije serumskog bilirubina, odnosno, kod primjene cisplatina koji se izlučuje primarno bubrezima, važna je procjena glomerularne filtracije, a ukoliko je to onemogućeno, poželjno je smanjenje doze kod uočene renalne azotemije(*Daniel L. Gustafson i Rodney L. Page, 2012).Z*a većinu sredstava se doze određuju

prema površini tijela (m^2), čime se implicira kako manje životinje sa bržim metabolizmom moraju primiti višu dozu na osnovu tjelesne težine s iznimkom kod doziranja doksorubicina te kod manjih pasa i mačaka koji se trebaju tretirati nižim dozama nego veći psi. Kako bi se postigao željeni ishod kemoterapije iznimno je važno odrediti valjani intenzitet doziranja sredstava (mg/m^2), koji mora biti maksimalno toleriran od strane životinje i pri tome izazivati minimalno toksičan učinak.

2.2.4.Toksičnost antineoplastičnih lijekova

Osim učinkovitosti same terapije, optimalno doziranje lijeka je nužno i zbog prevencije razvoja toksičnosti*(Antony S. Moore, 2004).* Kako je većina kemoterapeutika učinkovita u aktivnoj fazi staničnog ciklusa, toksičnost je najčešće uočena u tkivima koja se obnavljaju. Glavni ograničavajući faktor kod doziranja kemoterapeutika je mijelosupresija, odnosno njihovo toksično djelovanje na koštanu srž. Obično je prognoza povoljna bez izraženih kliničkih znakova te kod nekompliciranih oblika oporavak uslijedi za nekoliko dana. Najosjetljivije stanice su proliferativne hematopoetske progenitorske stanice i preksursorske stanice koje se počinju diferencirati u određenu staničnu lozu, ali su još uvijek nezrele, dok su hematopoetske matične stanice većinom neproliferativne i relativno rezistentne na toksično djelovanje kemoterapeutika s iznimkom primjene mijelosupresivnih lijekova za vrijeme dijeljenja matičnih stanica prilikom čega se može javiti prolongirana mijelosupresija zbog destrukcije matičnih stanica. Otprilike tjedan dana nakon početka primjene kemoterapeutika potrebno je procijeniti kompletnu krvnu sliku u svrhu regulacije sljedeće doze mijelosupresivnog lijeka, odnosno, smanjenja po potrebi*(Antony S. Moore, 2004).* Monocitoza upućuje na skorašnji oporavak broja neutrofila uslijed njihova ranijeg oslobađanja iz koštane srži jer se posljedično kemoterapiji javlja neutropenija. Ukoliko se razvije ozbiljna neutropenija, ona predstavlja određeni rizik za razvoj neutropenične sepse, prilikom čega se preporuča profilaktička peroralna primjena antibiotika širokog spektra djelovanja prilikom čega pad broja neutrofila rijetko perzistira duže od par dana. Trombocitopenija rijetko uzrokuje kliničke znakove ali povećava rizik krvarenja odnosno opseg petehija, ekhimoza ili mukoznih krvarenja. Također, osim toksičnog djelovanja na koštanu srž, ono se može manifestirati i u bilo kojem dijelu gastrointestinalnog sustava zbog gastrointestinalne mukoze kao područja obnove tkiva. Većina tog toksičnog djelovanja je blaga, povoljne prognoze i uključuje znakove kao što su mučnina,povraćanje, inapetenca,anoreksija ili proljev. Od ostalih toksičnosti, zabilježena je nefrotoksičnost

prilikom primjene cisplatina, odnosno, on je također snažan emetogen pa je preporučljiva profilaktička primjena butorfanola odmah nakon njegove administracije, a ukoliko svejedno uslijedi povraćanje te osobito ukoliko je ono prolongirano, obvezna je primjena i/v tekućinske terapije zbog razvoja dehidracije koja bi mogla pogoršati njegov nefrotoksični učinak. Administracija doksorubicina može dovesti do razvoja ozbiljnog hemoragičnog gastroenteritisa, u mačaka je potencijalno nefrotoksičan, a dokazan je i njegov kardiotoksični učinak koji se javlja isključivo primjenom ovog kemoterapeutika prilikom čega se preporučuje primjena u vidu kontinuirane infuzije kroz nekoliko sati ili profilaktički primjena kardioprotektiva deksrazoksana prije njegove primjene. Urotelotoksičnost, odnosno razvoj sterilnog hemoragičnog cistitisa je česta manifestacija primjene ciklofosfamida i ifosfamida sa razvojem ponekad dugotrajnih i ozbiljnih kliničkih znakova koji se očituju kao hematurija, dizurija ili strangurija. Kao lijek izbora u liječenju limfoma prilikom razvoja sterilnog hemoragičnog cistitisa, primjenjuje se klorambucil, a NSPUL-i mogu smanjiti ozbiljnost znakova. Također, mogu se razviti reakcije preosjetljivosti posljedično primjeni doksorubicina, ali se uspješno izbjegavaju uslijed spore infuzije odnosno i/v injekcije dok se ozbiljnije reakcije očituju uslijed primjene etopozida. Do razvoja prave anafilakse može doći uslijed i/v ili intraperitonealne primjene L-asparginaze, uslijed čega se mora obavezno prekinuti liječenje. Specifična toksičnost je zabilježena u mačaka uslijed primjene cisplatina rezultirajući razvojem fatalnog i akutnog edema pluća te se ne može primjenjivati sistemski već se sigurnom pokazala intralezijska primjena koloidnih suspenzija cisplatina. U mačaka površinska i sistemska primjena 5-florouracila se pokazala iznimno fatalno neurotoksična te proizvodi koji sadrže ovaj lijek ne bi smjeli biti u upotrebi.

2.2.5.Redukcija toksičnosti pojedinih preparata

Kako bi se održala kvaliteta života, odnosno, doza kemoterapeutika na najvišoj razini, praktičari bi trebali, kada god je to moguće koristiti profilaktičke metode u svrhu izbjegavanja razvoja toksičnosti. Kao potporna terapija primjenjuju se: antiemetici (zofran, dolasteron, butorfanol nakon primjene cisplatina u pasa odnosno doksorubicina u mačaka, ondansetron, maropitant..); zatim različiti stimulatori apetita zbog anoreksije kao česte popratne pojave kemoterapije u mačaka posljedično primjeni vinkistrina ili doksorubicina, a najčešće korišteni stimulatori jesu ciproheptadin, megastrol acetat, metoklopramid te diazepam; u svrhu prevencije proljeva primjenjuju se antidijarotici: absorbensi (pr. kaopektat), dijetalna prehrana, a kod perzistentne dijareje se primjenjuju sulfasazalin ili metronidazol te se

pokazala uspješna profilaktička primjena trimetoprim-sulfa antibiotika.U svrhu zaštite stijenke mokraćnog mjehura, što se prvenstveno odnosi na toksično djelovanje ciklofosfamida i ifosfamida, odnosno, njihovog aktivnog metabolita akroleina što uslijed dugotrajnog kontakta sa stijenkom rezultira razvojem sterilnog hemoragičnog cistitisa, preporuča se jednokratna primjena furosemida uz infuziju. Također, vrlo je važno u svrhu prevencije ove toksičnosti, omogućiti životinji da isprazni mokraćni mjehur. Novija istraživanja također predlažu primjenu hiperbaričnog kisika i tiolne skupine lijekova, aktivne jedino u urinu, koja veže akrolein - Mesne (Uromitexana), što je rezultiralo protektivnim djelovanjem u smislu daljnje progresije hemoragičnog cistitisa u zamoraca.Jedna od suvremenih spoznaja koja se u humanoj medicini široko primjenjuje, dok je u veterinarskoj onokologiji još u fazi razvoja, u smislu omogućavanja primjene visokih doza bez povećanog rizika za razvoj mijelosupresije, jest primjena rekombinantnih hematopoetskih faktora rasta i autolognih transplantanata koštane srži pa se u slučaju nepoželjnog i potencijalno letalnog predoziranja kemoterapeuticima, primjena humanog rekombinantnog produkta pokazala adekvatnim riješenjem. Primjenjuje se u vrijeme administracije kemoterapije i posljedično se razvija najbolja mogućnost prevencije sepse i smrti*(Daniel L. Gustafson i Rodney L. Page, 2012).*

2.2.6.Razvoj rezistencije

U kemoterapiji, jedan od glavnih razloga terapijskog neuspijeha jest i moguć razvoj rezistencije na primjenjeni kemoterapeutik. Rezistencija može biti prirođena ili stečena, odnosno lijekovi mogu biti fiziološki nesposobni da dospiju do tumora koji se nalaze na određenim zaštićenim mjestima (CNS), mogu biti slabo vaskularizirani ili tumorske stanice mogu biti deficitarne na receptorima za određeni lijek ili neosjetljive na mehanizam njegova djelovanja zbog nekih drugih razloga (npr. stanice koje sadrže aspargin-sintetazu će razviti rezistenciju na L-asparginazu), a može doći i do spontanog razvoja rezistencije preko mutacija (što je veći tumor veća je vjerojatnost za razvoj mutacija zbog prolaska kroz veći broj staničnih dioba) te razvoja specifičnih rezistencija na lijek. Pojedinačna rezistencija se može izbjeći kombiniranom kemoterapijom, no svejedno kod takve primjene postoji rizik za razvoj unakrižne rezistencije između primijenjenih kemoterapeutika, iako, usprkos tome se smatra uspješnijom strategijom koja omogućuje selektivno uništavanje tumorskih stanica te ne ugrožava oporavak okolnog normalnog tkiva i dokazana je povećana uspješnost liječenja prilikom njene primjene u limfoma pasa.Njena učinkovitost je utemeljena na 2 glavna cilja: usporavanje razvoja rezistencije u tumorskih stanica uslijed primjene agenasa sa različitim

mjestima vezivanja i mehanizmom djelovanja te omogućeno maksimalno ubijanje stanica uz istodobnu minimalnu toksičnost. Upotrebljavaju se kombinacije lijekova u kojima su se oni pokazali učinkoviti kao pojedinačni agensi, odnosno one za koje je dokazana učinkovitost i za koje su dostupni podaci o toksičnosti. Uslijed razvoja multiple rezistencije, transmembranska proteinska pumpa smanjuje unutarstaničnu razinu vinka alkaloida, antraciklina i ostalih normalno administriranih kemoterapeutika na netoksične razine, a pošto ti lijekovi predstavljaju zlatni standard liječenja limfoma, preporuča se izbjegavati njihovu primjenu u fazi spašavanja, već ih rađe koristiti u kombinaciji za primarnu terapiju. Alkalizirajući agensi ne pokazuju tendenciju razvoja multiple rezistencije te je i uspješna njihova primjena u fazi spašavanja u protokolu za liječenje limfoma u pasa. Do razvoja rezistencije dolazi posredstvom pleotropnog glikoproteina (P-gp), što posljedično rezultira relapsom bolesti u pasa sa limfomom. Kombinacija 1-(2-kloretil) 3-cikloheksil-1-nitrosurea (CCNU) i 5-(3,3-dimetil-1-triazeno)-imidazol-4-karboksamid (DTIC), alkalizirajućih agenasa, pokazala se refrakterna na P-gp, odnosno, izostaje unakrižna rezistencija istih te iskazuju singerističko djelovanje što se pokazalo kao učinkovit izbor kod razvoja rezistencije, odnosno, u slučaju ne učinkovitosti prije administrirane terapije. *(Antony S. Moore i Angela E. Frimberger, 2009).*

2.3.Onkološki protokoli

Osnovu svakog onkološkog liječenja čine posebno kreirani protokoli koji su najčešće jednostavni i sastoje se od 1 ili 2 agensa koji se primjenjuju u najpovoljnijem intervalu koji predstavlja minimalni rizik za razvoj toksičnosti, a održava najveći mogući intenzitet doze. No, suprotno tome, protokoli za liječenje limfoma su najčešće kompleksni i sadrže kombinacije više agenasa te određene faze koje uključuju indukciju, konsolidaciju, održavanje te fazu spašavanja. Specifični kemoterapijski agensi koji se koriste u svakodnevnoj praksi liječenja tumora se mogu podijeliti u nekoliko skupina, prilikom čega razlikujemo primarno alkilizirajuće agense koji ciljno djeluju na DNA, odnosno u njoj stvaraju monofunkcionalne ili bifunkcionalne adukte koji generiraju križne veze*(Antony S. Moore i Angela E. Frimberger, 2009).*Najčešće korišteni agensi iz ove skupine jesu: ciklofosfamid(primarno za tretiranje limfoma u mačaka i pasa) čiji je metabolizam najbolje objašnjen na modelu štakora pri čemu su uočene neke od značajki ovoga agensa kao što je činjenica da je koncentracija aktivnog enzima ciklofosfamida u tkivu jetre čak 3 puta veća u mužjaka nego u ženki istih što se povezuje sa o spolu ovisnoj transformciji spoja akroleina.

Najviše koncentracije istoga s obzirom na tkivnu distribuciju nađene su u bubrezima što se dovodi u svezu sa ulogom istih u eliminaciji lijeka. Nakon injekcije ciklofosfamida uočen je brz ulazak alkilizirajućih metabolita u tkiva, no saznanja iz ovoga modela ne mogu se dovesti u korelaciju sa distribucijom istoga u ljudi s time da je sistemski klirens viši u štakora, eventualno se može kolerirati volumen distribucije između ovih dviju vrsta. Također, istraživana je kombinacija ciklofosfamida i doksorubicina u liječenju limfoma pri čemu dodatak istog u uobičajene protokole nije rezultirao povećanjem negativnih popratnih učinaka, no svejedno nije zabilježen statistički značajan doprinos istoga u smislu poboljšanja kliničke slike*(Warry E, Hansen RJ, Gustafson DL, et al, 2011; Lori JC, Stein TJ, Thamm DH , 2010; Korkmaz A, Oter S, Deveci S, Goksoy C, Bilgic H, 2001).* Sljedeći agens, klorambucil, za tretiranje kronične limfocitne leukemije ili limfoma blagog stupnja u pasa i mačaka te kao zamjena za ciklofosfamid uslijed razvoja sterilnog hemoragičnog cistitisa ili oralno primijenjen u kombinaciji sa prednizolonom u liječenju inoperabilnih mastocitoma u pasa pokazaoje povoljan učinak u smislu produljenja vremena preživljavanja bez zabilježene toksičnosti istoga*(Schrempp DR, Childress MO, Stewart JC, Leach TN, Tan KM, Abbo AH, de Gortari AE, Bonney PL, Knapp DW,2013; Taylor F, Gear R, Hoather T, Dobson J,2009),* temelfalan (primarno u kombinaciji sa prednizonom za tretiranje multiplog mijeloma u pasa i mačaka) za koji je utvrđen specifičan mehanizam ulaska u stanice, odnosno, dokazano je kako je isti posredovan preko sistema aktivnih nosača i to minimalno 2 (A i L sistem), a značajno inhibiran djelovanjem raznih aminokiselina *(Daniel L. Gustafson and Rodney L. Page prema Begleiter A, Lam H-YP, Grover J, et al,1979).* Neki rijeđe korišteni jesu: mekloretamin i prokarbazin (kao dio protokola za tretiranje limfoma u mačaka i pasa,dakarbazin (u kombinaciji sa doksorubicinom za liječenje limfoma te je zabilježena aktivnost kod melanoma) te lomustin- CCNU (liječenje limfoma, mastocitoma, tumora mozga, odnosno glioma i meningioma te moguće liječenje histiocitoza), koji se nakon administracije može naći u detektabilnim plazmatskim koncetracijama u vidu metabolita (trans-4-hidroksi CCNU i cis-4-hidroksi CCNU) koji dostižu vršnu koncentraciju 2-4 sata nakon administracije, a također su zabilježeni i u tumorskim bioptatima što upućuje na to da se antitumorska aktivnost istoga nakon oralne primjene pripisuje njegovim metabolitima. Što se tiče njegove toksičnosti, često je zabilježena, ali je zanemariva pošto nije životno ugrožavajuća. Također, prilikom primjene istoga, zabilježen je zamjetljiv porast serumske alanin aminotransferaze u pasa*(Flory AB, Rassnick KM, Al-Sarraf R, Bailey DB, Balkman CE, Kiselow MA, Autio K, 2008; Heading KL, Brockley LK, Bennett PF,2011).* Posljednji pripadnik skupine, ifosfamid(liječenje limfoma te sarkoma mekih tkiva u mačaka), dokazano

djeluje povoljno u liječenju posebno postvakcinalnih sarkoma u mačaka, kod kojh je zabilježen zadovoljavajući odgovor u većine mačaka izuzevši popratne učinke u vidu neutropenije, nekih gastrointestinalnih poremetnji koje su se poglavito očitovale u vidu hipersalivacije i inapetencije te u manjem broju slučajeva ozbiljnijim posljedicama uslijed nefrotoksičnog djelovanja ili razvoja plućnog edema. Drugu skupinu čine antitumorski antibiotici koji se sastoje od prirodnih produkata fermentacije mikroorganizama (antraciklini, mitomicini, aktinomicini) i djeluju na način da interferiraju sa topoizomerazom, umetanjem DNA i drugim mehanizmima te ispoljavaju unakrižnu rezistenciju sa drugim lijekovima njihove ili drugih skupina kao što su vinkistrin, paklitaksel i etoposid koja je posredovana P-glikoproteinom. Najčešće primjenjivani pripadnici ove skupine jesu doksorubicin koji je najaktivniji pojedinačni agens korišten u liječenju limfoma u pasa te visoko učinkovit u kombinacijama s drugim lijekovima u liječenju istih. Ima široki spektar primjene u liječenju solidnih tumora, osobito osteosarkoma, a niska doza može biti primjenjivana i za pojačavanje osjetljivosti tumorskih stanica na radijacijsku terapiju. Ograničavajući čimbenik u primjeni istoga jest izražena kardiotoksičnost prilikom njegove primjene, odnosno, zabilježen je i smrtni slučaj neposredno nakon njegove aplikacije posljedično histološki utvrđenim multifokalnim vakuolarnim degeneracijama kardiomiocita, miocitolize, gubitka miofibrila, fibroze miokarda i edema. Također, treba biti oprezan prilikom njegove primjene jer ukoliko dospije paravenski dovodi do nekroze okolnoga tkiva, a zabilježene su i određene gastrontestinalne poremetnje u vidu mučnine, kolitisa, te između ostaloga dovodi do gubitka dlake te supresije koštane srži, a moguća je i alergijska reakcija nakon intravenske primjene istoga*(Selmic LE, Burton JH, Thamm DH, Withrow SJ, Lana SE, 2014; B. Banco, V. Grieco, F. Servida,2010).*Drugi pripadnik ove skupine je mitoksantron, sintetski analog doksorubicina te imaju i sličnu aktivnost odnosno djeluje u vidu inhibicije RNA i DNA polimeraze i topoizomeraze II, osim što za razliku od doksorubicina ne uzrokuje oksidativno oštećenje stanica. Najčešće se primjenjuje prilikom tretiranja raznih limfoproliferativnih poremećaja te karcinoma prijelaznog epitela mokraćnog mjehura i uretre. Pokazuje promjenjivu učinkovitost u tretiranju limfoma pasa, ali nisku učinkovitost kod mačaka. Najefikasniji je u kombinaciji sa radijacijskom terapijom u tretiranju karcinoma skvamoznih stanica usne šupljine u mačaka te u kombinaciji sa piroksikamom za liječenje karcinoma prijelaznih stanica u pasa. Nedavno je utvrđena njegova iznimna aktivnost u vidu senzibilizacije tumorskih stanica na smrt induciranu TRAIL ligandom (TNF-α sa apoptozom povezan inducirajući ligand) preko micelarnog transporta istoga. Sljedeći često korišteni pripadnik ove skupine je aktinomicin D koji djeluje u smislu interakcije s DNA na osnovi

sekvenci te inhibicije transkripcije, odnosno sinteze DNA i proteina. Najčešće je korišten u multiplim protokolima kao jeftinija alternativa doksila (pripravak u kojemu je doksorubicin vezan za posebni nosač sa nakanom da kao takav dovede do manje štetnih učinaka) za tretiranje limfoma u pasa osobito u pasa sa kardiološkim poremećajima, ali pokazuje nisku učinkovitost prilikom liječenja karcinoma i sarkoma. Također, dokazano je učinkovit i kao pojedinačni agens u liječenju rezistentnih limfoma u pasa, pri čemu je sam tretman dobro podensen od strane pacijenata unatoč razvoju blage trombocitopenije*(Grandhi TS, Potta T, Taylor DJ, Tian Y, Johnson RH, Meldrum DR, Rege K, 2008; Grandhi TS i sur., 2014).*Rjeđe korišteni pripadnik ove skupine je bleomicin zbog njegove nedokazane učinkovitosti u tretiranju karcinoma skvamoznih stanica i limfoma, iako, u zadnje vrijeme je razvijena nova strategija nazvana fotokemijskom internalizacijom (PCI) koja omogućuje transfer lijeka direktno u citosol stanice, a ne kao inače u lizosome. Isto je istraživano na staničnim linijama lejomiosarkoma te se pokazalo uspješnim u smislu moguće primjene istoga u liječenju sarkoma mekih tkiva, a pri tome nastali antioksidativni enzimi, poglavito p53 i GPx1, kao potencijalni markeri za bilježenje samog odgovora na tretman*(Olsen CE, Sellevold S, Theodossiou T, Patzke S, Berg K,2017).*Sljedeću veliku skupinu čine antimetaboliti. Antimetaboliti jesu analozi normalnih metabolita i inkorporirani su u DNA gdje interferiraju sa aktivnošću enzima, odnosno, anaboličkim procesima, transkripcijom ili translacijom, a čine ih agensi koji inhibiraju korištenje staničnih metabolita u svrhu rasta i diobe. Ne koriste se često zbog značajne toksičnosti i slabog učinka u dozama primijenjenim u svakodnevnoj praksi. Citozin arabinozid, analog deoksicitidina, fosforilira u arabinozilcitozin trifosfat koji se ponaša kao kompetitivni inhibitor DNA polimeraze α, odnosno ugrađuje se u DNA te se tako ugrađen više ne može odvojiti prilikom čega inhibira funkciju predloška i posljedično procese sinteze sprječavajući posljedičnu elongaciju lanaca. Prilikom aplikacije istoga u humane maligne stanične linije limfoblastične i mijeloidne leukemije, uočen je citotoksični učinak u smislu smanjenja veličine DNA fragmenata. Najčešće se primjenjuje u protokolima za liječenje leukemija i limfoma u pasa i mačaka, a često se uključuje i u one za pacijente s malignim oboljenjima koja uključuju SŽS, zbog njegove mogućnosti prodiranja hematoencefalne barijere. Potonje se pokazalo izvrsnim u kombinaciji sa prednizolonom, pri čemu je postignuta remisija bolesti, odnosno, produženo je vrijeme preživljavanja na gotovo 2 godine u ispitanika pri čemu niije uočena mijelosupresija, odnosno, nije bilo nikakvih negativnih popratnih učinaka istoga. Premda, nije potvrđena prednost primjene prednizolona u kombinaciji sa citozin arabinozidom naspram njegove samostalne primjene, a isti se može primjenjivati i u svrhu poboljšanja kliničkih znakova kod

pasa sa meningoencefalitisom nepoznate etiologije. Novije studije u staničnim linijama akutne mijeloidne leukemije pridaju važnost ekspresiji gena metaboliziranog citozin arabinozida, odnosno indeksu rezistencije na istog koji bi mogao biti potencijalni biomarker odgovora na terapiju, odnosno, potencijalnu toksičnost. *(Abraham A, Varatharajan S i sur., 2015).*No, unatoč brojnim studijama, isti nije pokazao djelotvornost u smislu indukcije remisije u pasa sa limfomima. Metotreksat je analog fosfata te ima ulogu u biosintezi purina i pirimidina, a čini dio multiplih protokola za liječenje limfoproliferativnih bolesti dok se rijetko koristi u konvencionalnoj terapiji zbog potencijalne toksičnosti. Novija istraživanja u humanoj medicini uvode isti kao potencijalni preparat u liječenju limfoma središnjeg živčanog sustava, odnosno, utvrđena je korelacija između terapijskog pristupa sa DeVIC protokolom (deksametazon, etoposid, ifosfamid i karboplatin) i monoterapije visokim dozama metotreksata u kombinaciji sa radioterapijom*(Chalise L, Motomura K i sur.,2017).*Gemcitabin, koji se pokazao djelotvornim u protokolima kod tretiranja nekih epitelijalnih tumora, djeluje na principu inhibiranjaRNA reduktaze (difosfolirani oblik), odnosno, inkorporira se u DNA (trifosfolirani oblik) prilikom čega postaje rezistentan na normalne procese reparacije DNA i njegova prisutnost je ključna za pokretanje apopototičnih procesa. Pretpostavlja se da mu je potreban proteinski nukleozidni nosač kako bi prodro kroz plazmatsku membranu i ispoljio farmakološku aktivnost. Kako bi se dokazalo da je za njegovo prodiranje potreban isti, koristile su se različite koncentracije lijeka uz proteinske nosače za koje je dokazano da su potrebni za prodiranje plazmatske membrane u 12 staničnih linija pri čemu je potvrđeno da je njegov mehanizam djelovanja, odnosno prodiranja, proces posredovan istima. Također, u kombinaciji sa karboplatinom je dokazano njihovo singerističko djelovanje u tretiranju tumora prijelaznog epitela. Prekretnica u liječenju istim postignuta je otrkićem mogućnosti ciljane terapije istim radioaktivno označenim (^{177}Lu) pri čemu je zabilježen pozitivni odgovor prilikom primjene istoga, no potrebne su daljnje studije kako bi se to moglo sa sigurnošću potvrditi. U kombinaciji sa karboplatinom u liječenju osteosarkoma u pasa nije pokazao sngeristička djelovanje, odnosno, nije bilo razlike u konačnome ishodu. 5- florouracil je halogeni analog uracila. Inkorporira se u RNA i DNA te interferira sa procesima sinteze i samom funkcijom stanice. Kontraindicirana je primjena u mačaka zbog ozbiljne kemotoksičnosti te primjena istoga u vidu kreme, koji se primjenjuje u humanoj medicini, pri čemu letalna doza za pse iznosi samo 0,8 g iste. Najčešća primjena je u epitelijalnih tumora (jetre, pankreasa, bubrega, mliječne žlijezde)*(de Brito Galvao JF i sur.,2012; Ghosh S, Das T i sur.,2017).*Sljedeća skupina je dobila ime s obzirom na njihov mehanizam djelovanja, odnosno, inhibiciju enzimske aktivnosti topoizomeraze tipa I i II što

posljedično utječe na procese replikacije i transkripcije. Glavni pripadnici korišteni u veterinarskoj praksi jesu antraciklini i epipodoflotoksini te rjeđe kamptotekini (šira primjena u humanoj medicini). Epipodoflotoksini (etopozid i tenipozid) inhibiraju katalitičku aktivnost topoizomeraze tipa II. Primjena etopozida se ne preporuča zbog visokog rizika za razvoj reakcija preosjetljivosti te niske bioraspoloživosti nakon peroralne primjene. Uslijed novijih istraživanja, proučena je struktura etopozida pri čemu je utvrđeno kako sumolekule interkalirane u kompleksu razdvojene s 4 para baza DNA te su, koristeći to saznanje, kreirane serije bis-epipodoflotkosin etopozid analoga koji sadrže piperazinske veze kako bi se simultano spajali na ta dva mjesta. Ideja je bila ta da bi se time postiglo stabilnije cijepanje kompleksa i samim time učinkovitije antitumorsko djelovanje *(Yadav AA, Chee GL i sur., 2015).* Inhibitori mitoze djeluju tako da u kombinaciji (sa vinka alkaloidima) ili samostalno (paklitaksel) inhibiraju funkciju diobenog vretena. Paklitaksel je u novijim istraživanjima pokazao snažnije antitumorsko djelovanje ukoliko je konjugiran sa adenovirusom, odnosno, njegova slaba solubilnost prevladanana način da je isti konjugiran sa micelom tvoreći nanokompleks koji mu to omogućuje. U konačnici singerističko antitumorsko djelovanje je postignuto konkurentnom dostavom onkolitičkog adenovirusa i polimerne micele kao pojedinačnog nankompleksa*(Kasala D, Lee SH i sur., 2017).*Najčešće korišteni pripadnici jesu vinkistrin, koji ima poseban značaj u tretiranju transmisivnog veneričnog tumora u pasa te u kombiniranoj terapiji za liječenje limfoma u pasa i mačaka te vinblastin, učinkovit, ali rjeđe korišten zbog mijelosupresivnog djelovanja u kombiniranoj terapiji za liječenje limfoma u pasa i mačaka te mastocitoma u pasa s time da je uslijed novijih istraživanja utvrđena sigurnost primjene viših doza istoga od onih utvrđenih do sada (2 mg/m^2). Također, pokazao se povoljnim u produženju prosječnog srednjeg vremena progresije raznih tumora u pasa. Spojevi koji sadrže kao aktivni sastojak platinu, djeluju na način da se kovalentno vežu za DNA posljedično čemu dolazi do premještanja i formacije bifunkcionalnih lezija te lančanih međuveza koje su povezane sa citotoksičnim djelovanjem uslijed blokiranja podjele lanaca nužne za procese replikacije i transkripcije. Cisplatin ima široku primjenu u liječenju osteosarkoma i drugih karcinoma u pasa, dok je kontraindiciran za primjenu u mačaka. Karboplatin ima slično djelovanje kao cisplatin, ali njegovom primjenom nije zabilježena pojava nefrotoksičnosti prilikom čega se preporuča njegova primjena prije cisplatina, a i uključen je u protokole za tretiranje mačaka pri čemu bi se trebali točno držati određene doze od240 mg/m^2 i/v svaka 3 do 4 tjedna.Uslijed njegove primjene u mačaka, praćenje brzine glomerularne filtracije odnosno površine ispod krivulje (AUC) prilikom mjerenja koncentracije istoga, pokazalo se korisnim u preciznijem predviđanju mijelosupresije nego li

je ono kod konvencialnog doziranja prema površini tijela (m^2)*(Daniel L. Gustafson and Rodney L. Page prema Vickery KR, Wilson H, Vail DM, et al, 2008; IA, Rodriguez CO, Kent MS, et al,2008).*Enzim primjenjiv u protokolima liječenja tumora jest L-asparginaza i to primarno za tretiranje limfoma u pasa, s time da je njena upotreba restriktivna, odnosno eventualno se koristi kod pacijenata s rekurentnim limfomima zbog podložnosti razvoju rezistencije te reakcija preosjetljivosti. Antitumorsko djelovanje se primarno temelji na indukciji apoptoze u malignim stanicama. Novija saznanja potvrđuju njenu ulogu u poboljšanju razine odgovora odnosno potpunog odgovora na terapiju u pacijenata sa rano dijagnosticiranim i progresivnim ekstranodalnim NK/T- staničnim limfomom („Natural Killer“ i limfoma zrelih T-limfocita). Hidroksiurea djeluje kao inhbitor ribonukleotidne reduktaze s posljedičnom deplecijom DNA odsječaka, odnosno inhibicije replikacije te posljedično dolazi do smanjenja baze deoksiadenozin trifosfata, odnosno, paradoksalno, povećanja baze timidin trifosfata. Najčešće se koristi kod poremećaja koštane srži (policitemija vera i granulocitna leukemija) te kao alternativni agens u uznapredovalih mastocitoma u pasa sa blagom anemijom kao popratnim učinkom*(Pokrovsky VS, Vinnikov D, 2017).*Nedavno je utvrđeno kako dodatak valproične kiseline u kombinaciji sa istom povećava osjetljivost malignih stanica, u studiji uznapredovalog tumora dojke, na djelovanje hidroksiuree, odnosno, dolazi do veće akumulacije prekinutih lanaca dvostruke uzvojnice kao odgovor na blokiranu replikaciju*(Tian Y, Liu G i sur., 2017).*U skupini steroida, najčešće korišteni agens jest kortikosteroid prednizon (prednizolon) koji inducira uništenje stanica hematopoetskih tumora preko interakcije sa glukokortikoidnim receptorom i indukcijom apoptoze. Razvijene su dvije hipoteze u svezi samoga mehanizma anitutumorskog djelovanja. Prva govori o tome da se isto odvija posredstvom aktivacije gena koji induciraju smrt, dok druga govori kako je apoptoza rezultat represije aktivnosti transkripcijskih faktora. Potreban je oprez prilikom doziranja zbog mogućeg razvoja iatrogenog hiperadrenokorticizma uslijed dugotrajne primjene imunosupresivnih doza. Najčešće se primjenjuje u liječenju limfoidnih malignih oboljenja, mastocitoma te tumora mozga u pasa i mačaka, a ima i ulogu u ublažavanju znakova i nuspojava toksičnosti izazvanih kemoterapijom *(Daniel L. Gustafson and Rodney L. Page prema Greenstein S, Ghias K, Krett NL, et al, 2002).*Suvremeni pristup se temelji na ideji predviđanja osjetljivosti pojedinog agensa na temelju molekularnih karakteristika samog tumora. U humanoj medicini se to diskretno već djelomično provodi primjenom selektivnih, molekularno ciljnih agenasa čije se djelovanje temeljina mutacijama ciljanih molekula, odnosno, glavni cilj takvoga pristupa je supresija promijenjenog fenotipa sa minimalnim utjecajem na normalne stanice. Kako je odgovor na kemoterapijeske agense

složen, oni se ne mogu grubo podijeliti na one odgovarajuće, odnosno, neodgovarajuće zbog toga što ulogu u determinaciji kemoosjetljivosti tumorskih stanica igra mnoštvo gena uključenih u aktivaciju, detoksikaciju, popravak DNA, odgovor na stres te bezbroj drugih poznatih i nepoznatih puteva. Trebao bi postojati mehanizam koji je u mogućnosti procijeniti uniformne multiple faktore u tumoru te neselektivno utvditi je li dotičan osjetljiv odnosno neosjetljiv na primjenjeni kemoterapeutik, odnosno, u konačnici bi bilo omogućeno određivanje lijeka koji je najkompetentniji za svaki individualni tumor. Također, u svrhu predviđanja kemosenzibilnosti nedavno su korišteni genomski prediktori u humanoj medicini, no prilikom procjene tih podataka i obrade statistike uočene su greške i upitna je dosljednost dobivenih podataka. Biološki agensi uključujući vrsno specifične citokine, peptide, monokolonalna protutijela i ciljane toksine sve češće postaju dio eksperimentalne terapije. Upotreba tih novih agenasa u kombinaciji sa tradicionalnom citotoksičnom kemoterapijom, trebala bi rezultirati razvojem novih puteva liječenja već primjenjivanih u humanoj onkologiji, odnosno dodavanjem tih agensa u standarne veterinarske onkološke protokole*(Daniel L. Gustafson and Rodney L. Page prema Baggerly KA, Coombes KR,2009).*

U tablici 1 je prikazana podjela alkilizirajućih agenasa.

Tablica 1.

ALKILIZIRAJUĆI AGENSI :					
Mekloretamin	Formacija DNA međuveza (ciljno mjesto djelovanja)	Metabolizam: hidroliza- 2-hidroksimetil-2-kloretamin i 2-hidroksimetilamin	Multiagensni protokoli	Limfomi pasa	Izostaje razvoj unakrižne rezistencije
Melfalan	Alkilizirajuća aktivnost (DNA)	Ne zahtjeva prethodnu metaboličku aktivaciju	Većinom u kombinaciji sa prednizonom	mijelomi	Mijelosupresivno djelovanje
Ciklofosfamid	Bifunkcionalna alkalizacija (DNA)	Metabolička aktivacija oksidazama iz jetre (oksidacija → 4-hidroksiciklofosfamid)	Multiagensni protokoli Metronomska th.	Limfomi (psi i mačke)	Neutropenija, trombocitopenija, nauzea, povraćanje (mačke), alopecija (dugodlake pasmine pasa), hemoragični cistitis (prekinuti th/ moguća zamjena sa klorambucilom
Ifosfamid	Bifunkcionalna alkalizacija (DNA)	Metabolička aktivacija oksidacijom (izofosfamid)	Pojedinačno/ u kombinacijskoj th.	Primarno sarkomi u pasa i mačaka	Mijelosupresija, potencijalna nefrotoksičnost, oštećenje epitela mokraćnog mjehura
Klorambucil	Bifunkcionalna alkalizacija (DNA)	Metabolička aktivacija u jetri→aktivna feniloctena kiselina	Pojedinačno/ kombinacijska th. Zamjena za ciklofosfamid uslijed razvoja hemoragičnog cistitisa	Kontrola kronične limfocitne leukemije (psi), blaži stadiji GI limfoma (mačke)	Mijelosupresija, neutropenija, trombocitopenija

U tablici 2 je prikazana podjela nitrozo spojeva.

Tablica 2.

Nitrozo spojevi :					
Lomustin	Alkalizirajuća aktivnost (DNA)	Metabolička aktivacija- hidroksilacija (jetra)	Pojedinačno/ kombinacijska th.	Psi- multicentrični/epiteliotropni limfomi, mastocitomi, histiocitni sarkomi Mačke- mastocitomi, limfoproliferativni poremećaji	Mijelosupresija, akutna neutropenija uz trombocitopeniju Kronična primjena- disfunkcija jetre
Streptozotocin	Alkalizacija i inhibicija sinteze DNA u bakterijskim stanicama i stanicama sisavaca	Nije potrebna prethodna metabolička aktivacija	Rijetka primjena	Maligni inzulinom	Indukcija dijabetesa, ne djeluje mijelotoksično
Dakarbazin	Alkalizirajuća aktivnost (DNA)	Metabolička aktivacija- jetreni citokrom p450 → 5-aminoimidazol karboksamid i metildiazon ion -Metilizacija→ 3-metil -adenin i 7-metil-gvanin	Multigensni protokoli	Limfoproliferativni poremećaji, melanomi Nije preporučljiva primjena kod mačaka! (moguća konverzija u aktivni oblik)	Mijelosupresija, GI toksičnost
Prokarbazin	Inhibicija sinteze DNA i RNA, uloga u metilaciji DNA u 0-6-metil-gvanin	Kemijska/ metabolička promijena- aktivni metaboliti	Multiagensni protokoli	Limfomi	Zbog veličine tbl. primjena svaki 2. dan; u malih pasa- potrebne reformulacije!

U tablici 3 je prikazana podjela antitumorskih antibiotika.

Tablica 3.

ANTITUMORSKI ANTIBIOTICI: - Interferencija sa topoizomerazom (I i II) - razvoj unakrižne rezistencije (posredovan MDR glikoproteinom)					
Doxorubicin (DOX)	Inhibicija RNA i DNA polimeraze i topoizomeraze II alkalizacija DNA stvaranje ROS-a narušavanje homeostaze Ca-iona inhibicija tioredoksin reduktaze interakcija sa komponentama plazmatske membrane	Metabolička aktivacija (aldo-keto reduktaza) →doksorubicinol	Pojedinačna primjena/ kombinacijska th. Česta kombinacija sa deksrazoksanom (suzbijanje kardiotoksičnosti)	Limfomi, OSA, mezenhimalne i epitelijalne neoplazme (uz obaveznu kontrolu KKS + serumskog kreatinina i specifične težine mokraće- mačke)	Hipersenzibilnost, mijelosupresija, GI toksičnost, kardiotoksičnost; Mačke- tubularna oštećenja (ponavljane th.) Uslijed opsežne ekstravazacije- nekroza tkiva Veće doze- povećavaju osjetljivost tumorskih stanica na radijacijsku th.

Mitoksantron	Sintetski analog DOX-a→inhibicija DNA i RNA polimeraze i topoizomeraze II; Ne uzrokuje oksidacijsko oštećenje stanica	Ne zahtijeva prethodnu metaboličku aktivaciju	Pojedinačna primjena / kombinacijska th.	Limfoproliferativni poremećaji, karcinomi prijelaznog epitela mokraćnog mjehura i uretre, karcinom skvamoznih stanica usne šupljine, sarkomi, limfomi u pasa	Mijelosupresija, GI poremećaji
Aktinomicin-D (Daktinomicin)	Inhibicija transkripcije, sinteze RNA i proteina	Ne zahtijeva prethodnu metaboličku aktivaciju	Multipli protokoli	Limfoproliferativni poremećaji u pasa Zamjena za DOX kod pasa sa kardiološkim poremećajima Jeftinija alternativa doksila za limfom u pasa Manja učinkovitost kod karcinoma i sarkoma	Mijelosupresija, GI toksičnost

U tablici 4 je prikazana podjela antimetabolita.

Tablica 4.

ANTIMETABOLITI: - Analozi normalnih metabolita - inkorporacija u DNA- interferencija sa aktivnošću enzima, transkripcijom ili translacijom					
Citozin arabinozid (Cytarabin)	Analog deoksicitidina Metabolit arabinozilatozin trifosfat (ara-CTP)- kompetitivni inhibitor DNA polimeraze α, inhibicija sinteze DNA	Metabolička aktivacija fosforilacijom (dioksicitidin kinaza) – dioksicitidin monofosfat konaza i nukleozid difosfat kinaza Primarni put metaboliziranja- deaminacija (jetra i ekstrahepatičko tkivo)	Multipli protokoli, često se uključuje u protokole kod pacijenata sa zahvaćenim CNS-om Djelotvorniji- u kombinaciji sa konvencionalnom th. ciklofosfamidom, hidroksidoksorubicinom, vinkistrinom i prednizonom	Leukemija i limfomi (psi i mačke) Niske doze s/c 2x dnevno kroz 2 dana/ kao konstantna infuzija u kombinaciji sa prednisonom- poboljšava klinčke znakove u pasa sa meningoencefalitisom nepoznata uzroka	Mijelosupresija, GI poremećaji
Metotreksat	Analog folata, Inhibicija dihidrofolat reduktaze	Konverzija u poliglutamat→ inhibicija o folatu ovisnih enzima koji imaju ulogu u sintezi purina i timidilata	Multiagensni protokoli Rijetko u konvencionalnoj th.	Limfoproliferativne bolesti	Enterohepatička cirkulacija- GI toksičnost, mijelosupresija

Gemcitabin	Inhibicija sinteze DNA: Trifosfolirani oblik- inhibicija DNA polimeraze i inkorporacija u DNA Difosfolirani oblik- inhibicija ribonukleotidne reduktaze	Metabolička aktivacija (fosforilacija)→ difluorodeoksicitidin Deaminacija (jetra)	Pojedinačno / u kombinacijskoj th. sa drugim agensima/ radijacijskom th. Bolji odg. na th.- konstantna infuzija	Limfomi u pasa, karcinom mokraćnog mjehura	Mijelosupresija, hematotoksičnost, GI toksičnost (veće doze)
5- Fluorouracil	Halogeni analog uracila- interferencija sa sintezom i funkcijom RNA i DNA Inhibicija timidilat sintetaze- promjene na timidinu i deoksiuridin fosfatu	Intracelularna konverzija (fosforilaze i kinaze)- fluorouridin i fluorodeoksiuridin	Pojedinačno / kombincijska th.	Epitelijalni tumori (jetre, pankreasa, bubrega, mliječne žlijezde..)	Mijelosupresija, GI toksičnost, neurotoksičnost (psi), mačke- kontraindiciran! (ozbiljna neurotoksičnost)

U tablici 5 je prikazana podjela inhibitora mitoze.

Tablica 5.

INHIBITORI MITOZE: Inhibiraju zajedno (vinka alkaloidi) / pojedinačno (paklitasel) diobeno vreteno	
Vinkistrin (Oncovin)	Transmisivni venerični tumor u pasa, limfomi u pasa i mačaka
Vinblastin	Kombinacijska kemoth. u limfoma pasa, mastocitoma Mijelosupresija! (rijetka primjena)

U tablici 6 je prikazana podjela inhibitora topoizomeraze.

Tablica 6.

INHIBITORI TOPOIZOMERAZE (I i II) - inhibicija enzima koji sudjeluju u procesu replikacije i transkripcije
ANTRACIKLINI
EPIPODOFILOTOKSINI (ETOPOZID I TENIPOZID) -inhibicija katalitičke aktivnosti TOPO II, stabilnosti kompleksa DNA- protein→ prijelomi jednostrukih i dvostrukih lanaca DNA -Psi-Povećava otpuštanje histamina- hipersenzibilne reakcije (ne preporuča se i/v primjena); p/o- slaba bioraspoloživost
KAMPTOTECINI (TOPO I, rijetka primjena)

U tablici 7 je prikazana podjela spojeva platine.

Tablica 7.

SPOJEVI PLATINE				
Cisplatin	Kovalentno vezanje DNA, premještanje sekvenci, bifunkcionalne lezije, intra i međulančane međuveze (blokada podjele lanaca odnosno replikacije i transkripcije)	Pojedinačno/ kombinacijska th.	Primarno OSA u pasa + tekućinska th. (poticanje diureze) i antiemetici Ne dovodi do razvoja unakrižne rezistencije Kontraindiciran u mačaka!	Povraćanje, mijelosupresija, nefrotoksičnost

Karboplatin	Djelovanje jednako cisplatinu	Preporučena primjena prije cisplatina (smanjena pojava nauzeje/ povraćanja, izostanak nefrotoksičnog učinka)	OSA, sarkomi, karcinomi Primjenjiv u mačaka sa aktivnom bolešću bubrega	Ne dovodi do mijelosupresije, izostaje nefrotoksično djelovanje
Hidroksiurea	Inhibicija ribokuleotidne reduktaze – deplecija DNA odsječaka Moguća alosterička inhibicija ostalih enzima na putu prekursora za sintezu DNA koji zajedno čine kompleks za replikaciju	Pojedinačno / kombinacijska th.	Poremećaji koštane srži (policitemia vera, granulocitna leukemija), alternativni agens kod uznapredovlih mastocitoma u pasa	GI oštećenja, mijelosupresija, pulmonalna fibroza, methemoglobinemija u mačaka (kod većih doza)
L-asparginaza	Deplecija L-aspargina→ inhibicija sinteze proteina u tumorskim stanicama→indukcija apoptoze (nedostatak L- aspargin sintetaze)	Pojedinačno / kombinacijsk th.	Primjene isključivo kod ponovne pojave (rekurentnih) limfoma zbog mogućeg razvoja rezistencije	Reakcije preosjetljivosti (nadzor pacijenta 1-4h nakon th.) Limfoproliferativni poremećaji

U tablici 8 je prikazana podjela steroida.

Tablica 8.

STEROIDI				
PREDNIZON/ **PREDNIZOLON**	Kortikosteroid interakcija sa glukokortikoidnim receptorima i indukcija apoptoze u tumorskim stanicama	Pojedinačno/ kombinacijska th.	Limfoidna maligna oboljenja, mastocitomi, tumori mozga u pasa i mačaka ublažavanje simptoma hemoragičnog cistitisa i hipersenzibilnosti	Kod dugotrajne primjene imunosupresivnih doza moguć razvoj iatrogenog hiperadrenokorticizma

U tablici 9 je prikazana podjela antimikrotubularnih agenasa.

Tablica 9.

ANTIMIKROTUBULARNI AGENSI:			
TAKSANI			
Paklitaksel	Stabilizacija mikrotubula, sprečavaju depolarizaciju, inhibiraju reorganizaciju Promjena funkcije mikrotubula → zaustavljanje mitoze Docetaksel- jače djelovanje	Pojedinačno / kombinacijska th. Docetaksel- zajedno sa ciklosporinom- povećana apsorpcija p/o primjenom- nije uočen razvoj preosjetljivosti	Reakcije preosjetljivosti, dijareja, neutropenija, toksično djelovanje Paklitaksel- nije opisana primjena u pasa i mačaka *Paccal Vet- u fazi razvoja
Docetaksel			

VINKA ALKALOIDI			
Vinblastin	Vezanje za specifična mjesta na mikrotubulima i inhibicija njihova spajanja→ inhibicija funkcije→ poremećaji formacije diobenog vretena →zaustavljanje metafaze	Pojedinačna th. kod transmisivnog veneričnog tumora u pasa/ kombinacijska th. u liječenju limfoma pasa i mačaka Vinblastin- mastocitomi	Toksičnost GI sustava, razvoj ileusa Vinkistrin- manje mijelosupresivan,ali više neurotoksičan
Vinkistrin ***vinorelbin-sintetski analog**			

2.4. Imunoterapija

Sve veća je primjena imunoterapije tumora koja se zasniva na osnovnoj ulozi imunosnog sustava, odnosno prepoznavanju „stranih“ proteina što prilikom tumorogeneze uključuje i mutirane odnosno promijenjene oblike samostalnih proteina koji se nazivaju tumorskim antigenima. Kako bi imunoterapija ispunila ulogu liječenja tumora, mora nadići regulatorne mehanizme, uključujući regulatorne stanice koje sprečavaju razvoj opsežnog i nekontroliranog imunosnog odgovora, odnosno, jakog antitumorskog odgovora u svrhu razvoja efikasnog i dugotrajnog odgovora bez razvoja nepovoljnih popratnih pojava. Sama ideja ovog oblika terapije proizlazi iz činjenice da je kod imunosuprimiranih pojedinaca dokazana veća pojavnost tumora u odnosu na one sa uspješnim imunosnim odgovorom kod kojih je češće uočena spontana remisija bez potrebne intervencije. Teško je razviti imunoterapiju na koju ne utječe inducirana tumorska tolerancija ili sam imunosni sustav uslijed ekspanzije regulatornih stanica i snažnog imunosupresivnog djelovanja. Također, treba imati na umu, osobito kod primjene monoklonskih protutijela(*engl. monoclonal antibody mAb),* kako je Fc jedinica tipično izvedena iz mišje ili humane proteinske sekvence što se smatra „stranim“ od strane imunosnog sustava i samim time ponavljana primjena takvih protutijela vodinjihovoj opsežnoj inaktivaciji, sistemskoj toksičnosti i posljedičnom

smanjenju učinka s vremenom.S obzirom na to da se tumor može razviti i u imunokompetentnih pojedinaca, treba uzeti u obzir da su tumorske stanice sposobne izbjeći prepoznavanje od strane imunosnog sustava što postižu brojnim mehanizmima koje se odnose na promjene u samim stanicama, odnosno, način na koji tumor i njegova stroma manipuliraju imunosnim sustavom i na taj način sprečavaju razvoj antitumorske imunosti. Supresorske stanice uključene u aktivnu imunosnu supresiju uključuju monocite, granulocite uključujući i s tumorom povezane makrofage *(engl. TAMs)* koje su otpuštene u cirkulaciju i privučene u mikrookoliš tumora različitim kemoatraktantima induciranih hipoksijom za vrijeme patoloških zbivanja uključujući i tumore. Jednom kada dospiju u mikrookoliš tumora suprimiraju lokalni antitumorski imunosni odgovor te promoviraju invaziju i metastaziranje posljedično produkciji metaloproteinaze matriksa i raznih kemoatranktanata uz povećanje stupnja angiogeneze. Trenutno poznati mehanizmi imunosupresije regulatorskih stanica uključuje supresiju T-stanica preko produkcije indukcijskih vrsta dušičnog oksida, reaktivnih kisikovih spojeva i arginaze, također, mogu proizvoditi TGF-β *(engl.transforming growth factor beta)* i IL-10 *(engl. Interleukin-10)*koji stimuliraju stanice te podreguliraju produkciju IL-2 od strane makrofaga. Dodatni učinak ovih stanica jest i taj da su sposobne smanjiti fukncију NK- stanica *(engl. „Natural Killer"- cells)* smanjenjem produkcije IL-12 i vezanjem TGF- βna membranu s posljedičnom indukcijom multiplih puteva tumorske imunosupresije. Uspijeh ovog modaliteta imunoterapije temelji se na otkrivanju efektivne terapije, koja bi ciljno napadala supresorske stanicete ih eliminirala ili dovela do njihova sazrijevanja, čime bi se ovakvom pristupu dala prednost u odnosu na onaj koji se odnosi na ciljanje specifičnih puteva supresije*(Amanda M. Guth and Steven Dow premaShimizu J, Yamazaki S, Takahashi T, et al, 2002; O'Neill K, Guth A, Biller B, et al, 2009).* U novijim istraživanjima je također dokazana uloga kronične upale u tumorigenezi pri čemu je rađena studija na mišjim modelima, odnosno korištene su stanice tumora mliječne žlijezde i dvije skupine miševa: IL-1 receptorom deficijentna, sa reduciranim potencijalom razvoja upale i antagonist IL-1 receptorom deficijentne, sa povećanom sklonošću upali. Posredstvom produkcije IL-1 β inducirana je tumorska supresija uslijed povećane akumulacije mijeloidnih izvedenih supresorskih stanica MDSC-*(engl. myeloid-derived suppressor cells),* koje inhibiraju tumorsku imunost, odnosno, blokiranjem razvoja istih bi se u konačnici trebala i smanjiti razina MDSC-a te i tumorska progresija. U konačnici je potvrđeno da indukcija supresorskih stanica koje podreguliraju tumorsku imunost je mehanizam koji povezuje upalu i tumor. Važan mehanizam tumorske supresije uključuje smanjenje potencije antigen-prezentirajućih, dendritičnih stanica. U tumorima prevladavaju nezrele i nefunkcionalne dendritične stanice

čime se smanjuje prezentacija antigena i stimulacija T-stanica, odnosno rezultat je tolerancija tih stanica prije nego njihova aktivacija, a neki mehanizmi koji utječu na njihovu fukncijui sazrijevanje jesu eskpresija 2,3- deoksigenaze-1 u mikrookolišu tumora što vodi njihovoj povećanoj apoptozi, te neki faktori kao što su IL-10 i vaskularni endotelni faktor rasta. Tumorski mikrookoliš vodi ka privlačenju nezrelih i neaktivnih dendritičnih stanica te posljedično smanjenju aktivacije i funkcije može doći do snažne inhibicije razvoja antitumorskog odgovora neovisno o prisutnosti velikog broja kopija antigena, tako da je primarni uspjeh imunoterapije zasnovan upravo na savladavanje, odnosno, kombinaciju sa drugim tretmanima koji su sposobni nadvladati imunosupresiju prisutnu u njegovom mikrookolišu*(Na Shang, Matteo Figini i sur., 2017; Karolina Palucka,Hideki Ueno i sur., 2010).*Imunosupresivni citokini pridonose progresiji tumora potenciranjem proliferacije i funkcije makrofaga odnosno supresijom antitumorskog odgovora T-stanica i inhibicijom funkcije dendritičnih stanica. Faktori tumorske nekroze također imaju utjecaj na povećanje invazije i mestastaziranja tumora te inhibicije tumor-specifičnih T-stanica. TNF-α *(engl. Tumor necrosis factor alfa)*promovira preživljavanje tumorskih stanica indukcijom antiapoptotičnih puteva te angiogenezu i metastaziranje uz istodobno sprečavanje citotoksičnog odgovora T-stanica i makrofaga. Također, tumorske stanice mogu samostalno aktivno i direktno suprimirati antitumorske odgovore T-stanica preko mehanizama koji uključuju smanjenu ekspresiju površinskih markera i povećanje ekspresije inhibitornih molekula. Generalno, glavnim „suradnicima“ u procesu izbjegavanja imunosnog odgovora domaćina, smatraju se regulatorne T-stanice, Treg*(engl.Regulatory T cells),*dok je s druge strane u humanoj onkologiji dokazano kako iste imaju ulogu u nekih tumora u smislu kontrole kronične upale, odnosno, podljedičnog oštećenja tkiva i ograničavaju s upalom povezanu tumorigenezu. S obzirom na njihovu dvojaku ulogu, razmatra se i njihova uloga kao potencijalnih biomarkera učinkovitosti samoga tretmana. Transfer usvojenih T-stanica za tumore i kronične infekcije predstavlja obečavajuće polje za daljnja istraživanja i učinkovitost istoga. Odnosno, sintetski proizvedeni T-limfociti sa mogučnošću eksponiranja antigenskihreceptora visokog afiniteta koji mogu nadvladati imunosnu toleranciju što je do sada bio glavni ograničavajući čimbenik u smislu primjene strategija imunoterapije. *(Amanda M. Guth and Steven Dow, prema Maloy KJ, Salaun L, Cahill R, et al, 2003).*Glavni cilj je razviti automatizirane sisteme staničnih kultura kako bi se ovaj princip mogao proširiti između specijaliziranih akademskih centara, odnosno kako bi mogao biti šire dostupan. Kako stanje imunosnog sustava domaćina utječe uvelike na razvoj i progresiju malignosti, imunoterapija kao oblik tretmana nastoji poboljšati sposobnost onkološkog pacijenta u smislu

odbacivanja tumora preko imunološkog odgovora. Terapije koje ciljano djeluju na mehanizme imunološke supresije imaju mogućnost da povećaju opseg antitumorskog imunosnog odgovora te pospješe imunološki nadzor, odnosno, ograniče širenje tumora. U tu svrhu se proučavaju selektivni mehanizmi koji vode ka imunosupresiji izbjegavajući pritom imunosni odgovor domaćina, odnosno, mehanizam se temelji na „supresiji supresora". Također, na temelju istraživanja na mišjim modelima, pri čemu se pokazala jednaka tolerancija na razvoj tumora nakon administracije 3-metilkolantrena po porodu, odbačena je polemika o ulozi timusom posredovane imunosti u sprječavanju razvoja istoga. U zadnje vrijeme se prakticira sve veća primjena odgovarajućih bioloških modifikatora u svrhu poticanja antitumorske aktivnosti nespecifičnom imunosnom aktivnošću. Jedan od takvih modifikatora je otkriven u onkoloških pacijenata sa razvijenim bakterijskim infekcijama, odnosno djelotvornost je zasnovana na duljem preživljavanju takvih pacijenata te su u tu svrhu razvijeni *tzv. Coleyevi toksini* čiji se učinak temeljio na primjeni mrtvih kultura bakterijskih sojeva *Streptococcus pyogenes* i *Serratia marcescens* što je dalo temelje za razvoj bioloških modifikatora u svrhu nespecifične imunosne aktivacije. Biološki modifikatori koji su uvedeni u primjenu jesu BCG (*engl.Bacillus Calmette–Guérin)*, primarno u terapiji mastocitoma u kombinaciji sa vinkistrinom ili sa humanim korionskim gonadotropinom prilikom čega se učinak može usporediti sa pojedinačnim liječenjem vinblastinom, ali bez posljedične mijelosupresije te u liječenju tumora prijelaznog epitela mokraćnog mjehura, pri čemu je učinak kompariran sa tretmanom mitomicinom C uz statistički značajnu superiornost prvoga u smislu odgovora na tretman, osim u komparaciji s obzirom na negativne popratne učinke, pri čemu je cisitits bio značajno češći uslijed korištenja prvoga*(Amanda M. Guth and Steven Dow,prema Henry CJ, Downing S, Rosenthal RC, et al, 2007).*Drugi, *Coryneobacterium parvum*je u istraživanjima melanoma u ljudi i pasa očitovao antitumorsku aktivnost primijenjen uz kirurški zahvat. Mnoga istraživanja su pokrenuta uslijed ograničavajuće primjene imuno-kemoterapije u svrhu uništavanja slojevitih tumorskih stanica na ograničenim lokacijama, odnosno u području hipoksije tj. u nekrotičnoj srži tumora koja se razvija uslijed njegova rasta, odnosno deficita nutrijenata, prilikom čega je ograničena i dostava lijekova malih molekula na ta specifična područja*(Amanda M. Guth and Steven Dow,prema MacEwen EG, Patnaik AK, Harvey HJ, et al, 1986).* No, genetičkom modifikacijom fakultativnih anaerobnih bakterija koje imaju mogućnost penetracije i preživljavanja u hipoksičnim područjima, dokazana je aktivnost pojedinih sojeva*Salmonelle (S. typhimurium, S. cholerasuis),* uslijed sistemske primjene, protiv tumora, odnosno, uočena je penetracija kroz nekrotičnu koru prilikom čega se ti sojevi hrane tumorskim stanicama uz istodobnu emisiju prirodnih toksina koji uništavaju vitalne

okolne stanice. Od indirektnih učinaka, uočena je proizvodnja upalnih citokina, te u nedavnim istraživanjima, sposobnost indukcije međusobnog spajanja stanica melanoma i komunikacije sa dendritičnim stanicama, odnosno posredovane prezentacije. Bakterije kao što je *Staphilococcus aureus* proizvode enterotoksine koji su poznati kao superantigeni. 2 skupine tih enterotoksina (SEA i SEB)stimuliraju proliferaciju T-stanica i produkciju citokina, odnosno, na temelju provedenog istraživanja pri čemu je korišten SEB u kombinaciji sa tumor specifičnim antidiotipskim antitijelom u svrhu preusmjeravanja aktivnosti T-staničnog efektora u smjeru inhibicije rasta B –limfoma, dokazana je iznimna djelotvornost konjugata istoga u smislu inhibicije tumorskog rasta i progresije. Aktivirane T-stanice su u mišjim modelima pokazale visoku citotoksičnost i antitumorsku aktivnost*(Amanda M. Guth and Steven Dow,prema Newell KA, Ellenhorn JD, Bruce DS, et al, 1991).*Najrazvijenija primjena superantigena u veterinarskoj medicini je ona u svrhu liječenja pasa sa melanomima usne šupljine te sarkomima mekih tkiva zbog visoke učinkovitosti i sigurnosti. Iznimno uspješna se pokazala lokalna transfekcija in vivo tumora sa superantigenima i citokinima sa mogučnošću indukcije lokalne i sistemske antitumorske imunosti. Muramil tripeptid inkapsuliran u fosfatiletanolamin- bazirani liposom,L-MTP-PE*(engl.Mifamurtide),* efikasno aktivira monocite i makrofage i može potaknuti proizvodnju proupalnih citokina te se primjenjuje za tretiranje osteosarkoma u pasa, no zbog utvrđenog razvoja metastatskih bolesti, preporučljiva je primjena ovog oblika terapije u kombinaciji sa kemoterapijom, odnosno cisplatinom koji potencijalno uklanja metastatski potencijal muramil tripeptida. Također, u jednom istraživanju, potvrđeno je njegovo djelovanje u tretiranju hemangiosarkoma nakon splenektomije, prilikom čega se produžilo srednje vrijeme preživljavanja u odnosu na pse tretirane samo kemoterapijom*(Vail DM, MacEwen EG, Kurzman ID et al, 1995).* Aktualni oblik liječenja osteosarkoma i sarkoma mekih tkiva u pasa predstavlja kationski lipidni-DNA kompleks koji stimulira imunosni sustav indukcijom aktivacije NK- stanica i oslobađanjem IFN-γ*(engl. Interferon gamma*) te stimulira produkciju IFN tipa I, snažnog nespecifičnog imunostimulansa te predstavlja njegovu moguću primjenu kao samostalnu kemoterapiju za različite tipove tumora. Konjugati kationskih liposoma i TLR agonista *(engl.Toll-like receptors)* pokazali su se učinkoviti u proizvodnji jedinstvenih adjuvanata vakcina sposobnih za pokretanje jakog T-staničnog odgovora usmjerenog protiv proteinskih i peptidnih antigena. Sve širu primjenu imaju i onkolitički virusi koji su se sposobni replicirati u tumorskim stanicama što ih čini pogodnim za njihovu dostavu lijekovima ili genima do tumora uz posljedično ubijanje tumorskih stanica i djelovanje na procese u imunosnom sustavu. Koriste se za ciljane tumorske stanice, a mogu biti i korišteni kao vektori za ekspresiju određenih

tumorskih antigena. Atenuirani oblici virusa se koriste za efektivnu stimulaciju prirođenog ili stečenog imunosnog odgovora bez rizika za širenje, odnosno, ubrzano dijeljenje u domaćinu. Najčešće korišteni su adenovirusi, sa velikim uspjehom prilikom primjene u viroterapiji odnosno kao vektora za proizvodnju rekombinantnih vakcina, preferiraju napadati brzodjeleće tumorske stanice, visoko su imunogeni, odnosno, pridonose razvoju jakog imunog odgovora i korišteni su za replikaciju u stanicama osteosarkoma. Za tretiranje istoga, koriste se sitne čestice odnosno nekontaminirani dijelovi dobiveni posljedično procesima ultrafiltracije i dijafiltracije odnosno kromatografskom purifikacijom u konačnici. Primarno se korisi kanini adenovirus tipa 2(CAV-2), *(engl. canine adenovirus type 2)*, koji je pokazao učinkoviti transdukcijski kapacitet u stanicama osteosarkoma, odnosno posreduje povećanju vezanja i posljedično transferu gena. Koristeći promotor osteokalcin u svrhu restrikcije replikacije na psećim osteosarkomskim stanicama, generiran je i testiran prvi ne-humani onkolitički adenovirus*(Amanda M. Guth and Steven Dow, prema Smith BF, Curiel DT, Ternovoi VV, et al, 2006; Le LP, Rivera AA, Glasgow JN, et al, 2006; Hemminki A, Kanerva A, Kremer EJ, et al, 2003)*. Također, kako virus ospica(MV-*engl. Measles virus)*,dovodi do regresije u ksenograftu humanog limfoma, htjelo se utvrditi da li se kanine limfoidne stanice mogu inficirati in vitro sa MV-om ili kanini disperzivnim virusom (CDV) koji predstavlja kanini Morbilivirus, ekvivalent sa MV-om, te da li infekcija dovodi do apoptotične smrti stanica. U konačnici, pokazalo se da je CDV inficirao otprilike 50-90% neoplastičnih limfocita izoliranih iz pasa sa T i B limfomima sa posljedičnom apoptozom istih. Posljedično tome, limfom u pasa bi potencijalno mogao predstavljati biološki relevantan model za istraživanje učinkovitosti odnosno sigurnosti terapije MV-om, a atenuirani CDV bi mogao biti korišten kao potencijalni tretman istoga*(Zhou D, Zhao ZY, 2015).*Interferoni, proteini koje proizvode limfociti, igraju važnu ulogu u imunosnom odgovoru na različite patogene i tumore. Mogu utjecati na proliferaciju stanica i imaju ulogu u indukciji apopotoze, podregulaciji antigene prezentacije T-limfocita i povećavaju mogućnost adaptacije imunosnog sustava da izgradi citolitički imunosni odgovor. Zbog svojih antiangiogenih svojstva, uspješna je njhova primjena u liječenju hemangiosarkoma, a razlikujemo 2 tipa. Kod prvoga tipa (IFN-α, β,ω) ograničena je uspješna terapija zbog pojave velike toksičnosti prilikom primjene, ali je dokazana visoka učinkovitost prilikom liječenja melanoma, multiplih mijeloma, karcinoma bubrega, leukemije i dr. kao i u kombinciji sa kemoterapijom. Najbolja učinkovitost se pokazala uslijed njihove primjene kao pojedinačnih agenasa prilikom tretiranja melanoma i karcinoma bubrežnih stanica. U veterinarskoj onkologiji je primjena ove skupine ograničena i uglavnom se koristi za terapiju mačjih virusas time da se pokazala i primjena rekombinantnog

IFN-ω relativno uspješna kod liječenja fibrosarkoma u mačaka, a njegova kombinacija sa kemoterapijom je pokazala učinkovitost prilikom liječenja tumora mliječne žlijezde, odnosno, uočeno je međusobno nadopunjavanje antitumorskih učinaka. Drugi tip ove skupine je IFN-γ, koji ima važnu ulogu u antitumorskoj imunosti koja se očituje uslijed povećanja lize tumorskih stanica i antigenske prezentacije stečenog imunološkog odgovora. Također, očituje djelomično djelovanje protiv malignih, odnosno, promjenjivo djelovanje protiv brzorastućih benignih tumora, poglavito u kombinaciji sa dendritičnim stanicama s obzirom da je isti snažan stimulator T-pomočnićkim stanicama posredovanog tipa 1 imunosnog odgovora te značajno povećava ekspresiju molekula koje stimuliraju imunost i IL-12 te u konačnici značajno pojačava dendritičnim stanicama posredovanu supresiju rasta tumorskih stanica. Ciljana isporuka IFN-β posredovana neuralnim progenitorskim stanicama rezultirala je niskom razinom cirkulirajućeg INF-β, iako, dovoljnom za održavanje učinka sazrijevanja na vaskulaturu tumora te poboljšanje učinkovitosti adjuvantne terapije. Zaključno, kombinacijska terapija neuralnih progenitorskih stanica i IFN-β sa ciklofosfamidom, zahtijeva daljnju istragu za liječenje pacijenata s visokim rizikom za razvoj neuroblastoma *(Amanda M. Guth and Steven Dow, prema CJ, Zhang Y, Miyamoto R, et al, 2004; Mito K, Sugiura K, Ueda K, et al, 2010).*Krajnji cilj imunoterapije je razvoj specifične, sigurne, učinkovite i dugotrajne vakcine. Za razliku od očitovanja učinka uslijed primjene kemoterapije, operacije ili radijacijske terapije, gdje se on očituje za nekoliko sati do nekoliko dana, kod primjene tumorskih vakcina on je uočljiv nakon nekoliko tjedana do mjeseci, što uz nedostatak konvergentnog i objektivnog načina da se mjeri taj učinak otežava sam razvoj tumorskih vakcina, no, bez obzira na poteškoće vezane za njihov razvoj, trenutno postoje određene koje su u kliničkoj primjeni. Tumorski antigeni nastaju uslijed mutacije, odnosno diferencijalne ekspresije proteina tumorskog podrijetla te, iako predstavljaju potencijalne idealne mete za razvoj tumorskih vakcina, prepreka je ta što postoji tendencija da su individualno specifični ili određenog tumorskog tipa specifični te sam snažan imunosupresivni mikrookoliš podrijetla tumora u kojem primjena vakcina upotrebom tumorskih antigena može biti neučinkovita. S obzirom na to, postoji konstantna potreba razvoja uspješnijih strategija vakcinacije, odnosno usavršavanja kombinacija terapije koje bi u konačnici mogle nadvladati tumorsku imunosupresiju. Također, ograničavajući čimbenik kod primjene istih jest taj da imunosni sustav domaćina može imati dvojaki odgovor na primjenu istih, odnosno osim zaštite organizma od razvoja malignih stanica, može promovirati rast istih, katkad, dovodeći do razvoja još agresivnijih tumora pri čemu se takav fenomen označava kao „imunosno preuređenje“. Kako je imunosni odgovor domaćina na s tumorom povezane antigene alteriran,

odnosno znatno slabiji od onoga uobičajenoga, potrebna je učinkovitija kontrola tumorski inducirane disfunkcije imunosti. Novije strategije za imunoterapiju tumora usmjerene su na zaštitu i preživljavanje antitumorskih efektorskih stanica, kao i središnjih memorijskih T-stanica u tumorskom mikrookolišu.Jedan od najjednostavnijih pristupa razvoja tumorskih vakcina je onaj koji uključuje njihovu izradu direktno, porijeklom od pacijenta u obliku autologne ili iz staničnih linija sličnog tipa tumora u obliku alogenične vakcine. Vakcine koje uključuju cijelu tumorsku stanicu se pripremaju u vidu održavanja tumorskih stanica i/ili tkiva nefunkcionalnima (najčešće preko γ-zračenja), dok se vakcine tumorskih lizata prepremaju mehaničkim ometanjem tumorskih stanica i/ili tkiva te se tako dobivene vakcine primjenjuju s nekom vrstom adjuvanta kako bi se pojačao imunosni odgovor. Vakcina lizata u liječenju hemangiosarkoma se mora primijeniti u kombinaciji sa kemoterapijom, prilikom čega je uslijedio razvoj tumorski specifičnog imunosnog odgovora i zamijećen je veći postotak preživjelih pacijenata. Kako bi se povećala njihova imunogenost, mogu biti modificirane, odnosno kombinirane sa imunostimulativnim citokinima*(Amanda M. Guth and Steven Dow, prema Smyth MJ, Dunn GP, Schreiber RD, 2006; Whiteside TL, 2010; Turek MM, Thamm DH, Mitzey A, et al , 2007).*Što se tiče njihove primjene u svakodnevnoj praksi, licencirana je primjena veterinarskog cjepiva za melanom (Concept ™) i Provenge® za liječenje raka prostate kod muškaraca što je pridonijelo konceptu cijepljenja kao valjanu načinu liječenja tumora.Također, vakcine koje koriste specifične genske sekvence tumorskih antigena kodiranih u DNA plazmidu, pokazale su obečavajući učinak u njihovoj mogućnosti pobuđivanja stanične i humoralne imunosti te osim samog pogodnog učinka, jednostavnost rada sa bakterijskom DNA, odnosno mogućnost brze proizvodnje velikih količina plazmida, pokazalo se atraktivnom podlogom za inovativnu proizvodnju vakcina. DNA sekvence većine tumorskih antigena su poznate i mogu se lako ugraditi u plazmid, a proteini izraženi tijekom transkripcije i translacije bivaju skupljeni od strane dendritičnih stanica, procesuirani i prezentirani, što omogućuje dodatnu „prirodnu“ stimulaciju imunosnog sustava. Jedan od suvremenijih pristupa kao primarnu „metu“ imunoterapije koristi protein aktivacije fibroblasta, odnosno, protein za kojeg je dokazana prekomjerna ekspresija u fibroblasta povezanih sa tumorom te moguće djelovanje iste na tumorsku stromu. U tu svrhu korištena jevakcina proteina aktivacije fibroblasta koja je u kombinaciji sa imunoterapijom usmjerenom na tumorske antigene pokazala dvojako djelovanje, odnosno, na mikrookoliš tumora i izravno na tumorske stanice. Dodatna stimulacija dendritičnih stanica potječe i od nemetiliranih dinukleotidnih 5'—C—fosfat—G—3 (CpG) rezidua, prisutnih u velikom postotku u DNA, potičući ih na dodatnu indukciju staničnog (Th1) imunosnog odgovora. Također, kako

dendritične stanice posjeduju masivnu mogućnost prezentiranja antigena, atraktivna su meta kao jedna od mogućih strategija razvoja tumorskih vakcina. Prilikom primjene istih, pokazala se bolja primjena zrelih od nezrelih stanica zbog toga što nezrele stanice induciraju imunosnu toleranciju eskpanzijom IL-10 T-stanica, no ovakav oblik vakcinacije je još uvijek u fazi istraživanja u pogledu veterinarske medicine na različitim modelima i ispitivanjem različitih strategija kako bi se postigao što bolji inducirani antitumorski imunosni odgovor. Učinkovitost vakcina dendritičnih stanica (DC-vakcine) povezana je sa različitim tehnikama utiskivanja antigena na dendritične stanice i njihovu migraciju u limfne čvorove. Intraperitonealna injekcija DC-vakcina mogla bi predstavljati potencijalni tretman tumora gastrointestinalnoga trakta (pr. hepatocelularni karcinom, adenokarcinom pankreasa), kako je velika populacija limfnih čvorova prisutna duž istoga. Također, optimizirane DC-vakcine koje izazivaju snažnu i dugotrajnu antigen-specifičnu imunost CD8 + i CD4 + T- stanica, bit će ponuđene bolesnicima u ranoj fazi bolesti, dok će kod onih u kasnijim stadijima bolesti biti primjenjivane strategije koje kombiniraju suvremene visoko imunogenične DC-vakcine i imunomodulatorna antitijela*(Amanda M. Guth and Steven Dow prema Liu MA, 2011; Bergman PJ, Camps-Palau MA, McKnight JA, et al,2006; Bergman PJ, McKnight J, Novosad A, et al, 2003; Bergman PJ, 2010).* Razvijena je i metoda liječenja protutijelima, odnosno uslijed ubrizgavanja stanica koje proizvode protutijela zajedno sa mišjim tumorskim stanicama mijeloma koje su sposobne konstantno proizvoditi protutijela i njihovom humanizacijom u humani Ig, dobiveno je protutijelo koje je 95% humano, zbog toga što su miševi,kao modeli, genetički određeni za ekspresiju ljudskih Ig-a.Nažalost, još nisu proizvedene verzije protutijela za kanide već se u novije vrijeme razmatra primjena humanih u svrhu liječenja limfoma u pasa. Postoji i drugi način primjene monoklonalnih protutijela njihovim konjugiranjem sa potencijalnim toksinima ili radioizotopima. Imunokonjugati jesu visoko učinkoviti i minimalno toksični pristupi imunoterapijskog liječenja i imaju sve veću primjenu u kliničkim tretmanima. Sastoje se od tri odvojene komponente, odnosno; visoko specifičnog antitijela koji se veže na antigen tumorske stanice, efektorske molekule koja ima velik kapacitet ubijanja tumorskih stanica i linkera koji osigurava da se efektorska molekula ne odvoji od antitijela tijekom prijenosa i omogućava otpuštanje iste u tumorsku stanicu ili stromu. Visoki afinitet kompleksa antigen-antitijelo omogućuje specifičnu i selektivnu dostavu različitih efektora uključujući farmakološke agense, radioizotope i toksine do tumorskih stanica. Kako neke antitumorske molekule nisu dobro podnesene od strane organizma nakon sistemske administracije zbog toksičnog djelovanja, to se ograničenje uspjelo savladati vezanjem takvih citotoksičnih agensa za specifična protutijela koji

privremeno odnosno do pristizanja meti djelovanja sakriju toksično djelovanje. Prvotno su bili konjugirani kemijski toksini sa imunoglobulinima u spojevima nazvanim imunotoksini, ali su takvi konjugati bili imunogeno i kemijski nestabilni, što je kasnije savladano razvojem rekombinantnih imunotoksina koji imaju također izraženu manu nespecifičnog ubijanja bilo koje stanice koja ima izražen protutijelo-specifični receptor. Drugi konjugat čini spoj sa radionuklidima,a sam mehanizam njihova djelovanja se temelji na tome da protutijelo napada tumorsko tkivo, a od strane radioizotopa uslijedi oslobađanje veće količine energije prilikom čega je omogućena penetracija velikih solidnih tumora i posljedično ubijanje okolnih i stromalnih tumorskih stanica, iako ova metoda u veterinarskoj onkologiji ima veći značaj u smislu dijagnostike nego li samog liječenja(*Smaglo BG, Aldeghaither D, Weiner LM, 2014).* Kod mačaka sa virusom mačje leukemije (FeLV) ili virusom mačje imunodeficijencije (FIV), ograničena je upotreba transfera posredovanog limfokinima aktiviranih stanica ubojica. Jedan od glavnih uzroka neuspjeha imunoterapije je posljedica stvaranja imunosupresivnog mikrookoliša od strane tumora, pa su i one koje najbolje prevladavaju tu supresiju i najuspješnije i trenutno je s tim značajkama u humanoj medicini korištena terapija monoklonalnim protutijelima. Primjenjena imunoterapija mora djelovati singeristički, odnosno u kombinaciji sa istovremeno primijenjenim modalitetima liječenja. Napredak u tehnologiji rezultirao je razvojem humaniziranih oblika protutijela protiv staničnih receptora koji ili aktiviraju ključne antitumorske imunosne stanice ili dovode do citotoksične aktivnosti usmjerene protiv tumorskih stanica, iako se još ne pridaje prednost primjeni ovog modaliteta u liječenju limfoma pasa. Kako je poznato da je imunološki sustav ključan u odgovoru tumora na zračenje i kemoterapiju, novija istraživanja su usmjerena ka pronalasku načina da se imunoterapija priključi trenutno korištenim terapijskim standardima prilikom čega bi se trebala poboljšati učinkovitost tih modaliteta, odnosno boljim razumijevanjem ovog principa liječenja se ne bi osigurao samo benefit životinja već bi se ova saznanja mogla primijeniti u humanoj medicini. Kako se pretpostavlja da su imunosupresivne stanice prisutne u mikrookolišu tumora sposobne štiti tumorske stanice od kemoterapije, uklanjanjem tih stanica, mogla bi se poboljšati učinkovitost iste, a sama primjena imunoterapije kao dijela standarnih protokola liječenja u pasa i mačaka bi ubrzo trebala postati rutinska.Jedno od novijih istražvanja stavlja u središte interesa glukozom regulirani protein 78 (GRP78), šaperon, koji ima visoku frekvenciju pojavljivanja u tumorskim stanicama. Normalno se nalazi u endoplazmatskom retikulumu te uslijed djelovanja nekog stresnog čimbenika može utjecati na proliferativne puteve signalizacije na površini stanice i uslijed prekomjerne ekspresije inducirati produkciju autoantitijela koja služe kao biomarkeri primarno tumora

jajnika, ali i drugih tipova tumora. Zapravo, cilj je odrediti epitopsko prepoznavanje GRP78 autoantitijela*(engl. Unfolded protein response regulator)* izoliranih iz seruma pacijenata sa tumorom jajnika i primjeniti iste za razvoj novih sistema transporta lijekova koji specifično napadaju tumorske stanice. Primjenom kombinacije paklitaksela i anti-GRP78 antitijela značajno se reducirao razvoj tumora*(Van Hoesen K, Meynier S i sur., 2017).*

2.5. Genska terapija

Multigenetičke abnormalnosti tumora pružaju mogućnost multiplih pristupa genske terapije-jedna od suvremenih metoda liječenja, koja, jednostavno prikazano, uključuje uvođenje nukleinskih kiselina u stanice kako bi se poboljšao proces ozdravljenja uslijed čega se gen mora dostaviti do dovoljnog broja ciljnih stanica u tijelu što zahtijeva pomoć određenog nosača ili vektora za dostavu te genska ekspresija mora biti izražena u određenoj razini i u odgovarajućoj dužini trajanja s obzirom na bolest. Temelji se na ciljanoj terapiji dostavom potencijalno terapijskih gena tumorskom području i na regulaciji njihove ekspresije u mikrookolišu tumora. Cilj je zapravo selektivno napadanje malignih stanica uz istodobnu poštedu zdravog tkiva pri čemu se moraju kombinirati visoko selektivne metode dostave gena sa visoko specifičnim genskim ekspresijama kao i specifičnim aktivnim genskim produktima odnosno specifičnom aktivnošću lijeka*(David J. Argyle prema Harris J, Sikora, K,1993).*Napredak je postignut uslijed korištenja virusnih (retro-, adeno- i adeno sličnih virusa) te ne virusnih (liposomi, genski pištolji, injekcije) metoda.Dostava je ciljano usmjerena na tumorske i tkivno specifične antigene kao što su receptori epitelijalnog faktora rasta, c-kit receptori i folatni receptori. U svrhu povećanja specifičnosti i sigurnosti genske terapije ekspresija terapijskih gena mora biti strogo kontrolirana unutar ciljanog tkiva. Ekspresija gena može biti regulirana preko tkivno specifičnih promotora (pr. dojke, prostate, melanom specifičnih promotora) te promotora bolesti (pr. karcinoembrionični antigen) te alternativno korištenjem radijacijom induciranih promotora ili tetraciklinima odgovarajućih elemenata, dok se regulacija produkata terapijskih gena može vršiti preko tumor-specifičnog spajanja gena. Glavni problem u tretiranju tumora jest ranije spomenuta rezistencija hipoksičnih stanica mikrookoliša tumora na radioterapiju i kemoterapiju, pri čemu su upravo te hipoksične stanice mikrookoliša potencijalna meta genske terapije. Korištenje citokina i co-stimulatorne proteinske molekule ima ulogu u indukciji učinkovitog sistemskog imunosnog odgovora protiv tumorskog antigena koji se inače, ne induciran, ne bi razvio. Druge razvijene strategije uključuju korištenje potpuno izraženih antitijela za ciljanje onkogenih proteina (tzv.

intratijela) te korištenje negativne tehnologije (negativni oligonukleotidi, antigeni, ribozimi). Primarni izazov genske terapije jest uspješna dostava učinkovite, odnosno, terapijske doze gena do defektnoga tkiva. Glavna mana većine pristupa genske terapije je slabo učinkovita genska dostava i slaba ekspresija gena. Temeljna zapreka za uspješno provođenje genske terapije u kliničkoj praksi je potreba za učinkovitim vektorima. Vektor bi kao takav trebao biti injektivan, eksponirati ciljna mjesta, regulatoran i sposoban održati dugotrajnu ekspresiju kao i ne imunogen, ne toksičan, jednostavan i jeftin za proizvodnju, zbog čega još takav „idealan" nije niti proizveden*(David J. Argyle prema Scanlon KJ, 2004; Gu R, Fang BL,2003; Fullerton NE, Boyd M, Mairs RJ, et al,2004).*Najčešće korišteni vektori jesu virusi (retrovirusi) koji mogu dostaviti DNA stanice i ona se pritom može stabilno integrirati u genom domaćina. Idealan vektor bi trebao uspješno dostaviti gen specifično do tumorske stanice, a prednost primjene virusnih vektora leži u njihovoj sposobnosti da zaraze stanicu, odnosno, našoj sposobnosti da iskoristimo taj njihov mehanizam replikacije u stanici. Većina takvih sustava koristi replikativno-defektne viruse kako bi se prevladala mogućnost rekombinacije u domaćinu koja bi posljedično mogla dovesti do proizvodnje divljeg tipa virusa patogenog potencijala, a što se tiče samog načina dostave, prevladava lokalna dostava virusa zbog toga što je kod sistemske primjene učinak spriječen brzim raščišćavanjem virusa iz tijela od strane imunosnog sustava i aktivacije sustava komplementa. Sam princip dostave funkcionira na način da se stanice proizvođači virusa, prvotno dostave pacijentu, a sama proizvodnja je potaknuta kada stanice dostignu tumor. Novija istraživanja se osnivaju na potencijalnom korištenju T-stanica, makrofaga i dendritičnih stanica kao staničnih prijenosnika. Prednost ovakvog sistema je ta da se virus može potencijalno dostaviti metastatskoj bolesti kao i do primarnih tumora. Korištenjem *Epstein-barr* virusom inficiranih specifičnih staničnih linija, odnosno, u ljudi je dokazano da stanice imunosnog odgovora protiv tih virusnih proteina su osnova za kontrolu inficiranih stanica. To je istraživano u slučaju post-transplantacijskih limfoproliferativnih limfoma koji izražavaju latentne EBV antigene, uključujući imunodominantne nuklearne antigene (EBVA; 3A, 3B i 3C) koji su meta imunoterapije.Dokazano je da infuzija dugotrajno kultiviranih EBV- specifičnih T-staničnih linija generirana ponavljanom in vitro senzibilizacijom može učinkovito prevenirati i tretirati post- transplantacijske limfoproliferativne bolesti i izbjeći neodgovarajući odgovor domaćina na transplantirane graftove koji su inače inducirani transferom cijelih T- staničnih populacija. Uspijeh u liječenju sa EBV staničnim linijama, doveo je do upotrebe autolognih anti EBV staničnih linija za liječenje pacijenata sa IV. stadijem nazofaringealnih tumora koji su bili refraktorni na konvencionalne tretmane *(Susanna Hilda Hutajulu, Johan Kurnianda i*

*sur., 2014).*Administracija antitumorskih T- stanica ciljano na visoko izražen antigen može rezultirati regresijom tumora (pr. citomegalovirusne reaktivne autologne T- stanične linije dugotrajno uzgojene u IL-2 mogu prevenirati citomegalovirusnu infekciju u imunosuprimiranih pacijenata). Zbog opravdane brige koja se javila zbog sigurnosti primjene virusa i nemogućnosti proizvodnje dovoljnog visokog virusnog titra, dolazi sve više do razvoja nevirusnih sustava koji se koriste u genskoj terapiji. U tu svrhu korišteni su liposomi ili gola DNA, odnosno dostava samostalnog plazmida RNA koji sadrži željeni gen, a primjenjivana je i tehnika dostave gena pomoću tzv. „genskog pištolja" prilikom koje se DNA adsorbira na česticama zlata i ispaljuje u tkivo pod visokim tlakom, ali većina ovih sistema su još uvijek nedostatni nosači za isporuku i nije moguća njihova sistemska primjena. Brojne strategije su istraživane u svrhu postizanja selektivnog „napada" tumorskih stanica kod kojeg bi se omogućila pošteda normalnog tkiva prilikom čega je proučavana mogućnost površinske modifikacije virusa, odnosno, prilikom koje je dopušten ulaz jedino onih virusa sa specifičnim receptorima. Točnije, proučavao se utjecaj istih u smislu modifikacije transkripcije zbog toga što ekspresija gena zahtjeva specifične faktore transkripcije koji su jedinstveni za određene stanice, odnosno, tipove tkiva te se s obzirom na to, primjenom promotorskih sekvenci za te gene, kako bi se pokrenula transgenska ekspresija, može ista postići samo u stanicama tumora odnosno u specifičnom tipu tkiva. Jedan od najistaknutijih gena u razvoju tumora je tumor-supresorski gen P53, „čuvar" genoma stanice, koji se uključuje kada je oštećena stanična DNA. Produkt toga gena vodi ka tome da se stanica ili prestane dijeliti ili postane apoptotična, ovisno o stupnju štete. Taj je gen u mnogo slučaja defektan, odnosno, može doći do neuspješnog okončanja dijeljenja stanica s posljedičnim daljnjim razvojem oštećenja i omogućenom selekcijom malignog fenotipa, no ti problemi su se lako prevladali primjenom njegovog normalnog duplikata. No, usprkos tome, javili su se brojni problemi u pogledu ovog pristupa zbog nemogućnosti aktualne tehnologije da se normalni P53 uspješno dostavi do svake tumorske stanice u tumorskoj masi prilikom čega i sama dostava do tumorske stanice može rezultirati neželjenim fenotipskim učinkom. Mutacije P53 gena su se također pokazale atraktivnim metama osobito za liječenje osteosarkoma u pasa te postvakcinalnih sarkoma u mačaka. Terapija tumor supresorskim genima bilo kao monoterapija ili u kombinaciji sa kemoterapijom odnosno radioterapijom, pokazala se učinkovitom uslijed primjene replikacijski defektnih adenovirusa koji eksprimiraju p53 (Ad-p53). Odnosno, prekomjerna ekspresija istoga dovodi do indukcije prekida rasta i apoptoze*(Roth, Jack A, 2005).*Uslijed primjene tzv. „suicidalnih gena" omogućena je dostava gena do stanica raka, koji imaju mogućnost konverzije relativno netoksične preteče lijeka u aktivni spoj unutar tumorske

stanice, pri čemu je dokazano da samo mala frakcija stanica mora primiti određeni gen kako bi se djelovanje očitovalo na razini cijeloga volumena tumora. Zbog čestog razvoja sistemske toksičnosti i time potrebne redukcije, odnosno nemogućnosti ispoljavanja potpunog efekta tretmana, mnoga su istraživanja pokrenuta upravo u tom smjeru pri čemu se dokazalo kako se korištenjem matičnih stanica za suzbijanje tumora može uvelike izbjeći potonja manifestacija. Razvoj mnogih strategija je počivao na ideji ubijanja osim tumorskih stanica i njegovih matičnih stanica, prilikom čega se pokazalo upravljanje preteče lijeka mezenhimalnim matičnim stanicama zahvaljujući njihovim tumorotrofičnim svojstvima, kao modalitet terapiranja kojim bi se mogao postići takav željeni učinak. Uslijed aktivacije preteče lijeka direktno u tumorskoj stanici, izbjegnut je razvoj sistemske toksičnosti. Matične stanice se smatraju najuspješnijim vektorima, a neuspijeh terapije se uglavnom povezuje sa nemogučnošću dostave suicidalnih gena do invazivnih tumorskih stanica na udaljenim područjima te ne efikasnim širenjem vektora unutar tumora. Terapija suicidalnim genima koja koristi genetički modificirane mezenhimalne ili neuralne matične stanice ima prednost koja se očituje u tome da je ista sigurna zbog toga što administracija preteče lijeka ne eliminira samo tumorske stanice već posljedično ubija rezistentnije terapijske matične stanice. Sigurnost se između ostalog očituje i u ciljanom djelovanju odnosno aktivaciji preteče lijeka diretkno u tumorskoj masi, izbjegavajući na taj način sistemsko toksično djelovanje*(Jae Heon Kim, Hong Jun Lee, and Yun Seob Song, 2014; St Louis D, Verma IM, 1988).*Citokini, kao što su IL-2, IL-12,IL-18 i IFN-μ imaju sposobnost promocije stanično posredovanog imunosnog odgovora, odnosno, njihova lokalna produkcija u okolini tumorske mase može dovesti do pokretanja antitumorskog imunosnog odgovora i preokreta anergije (nereagiranja) T- stanica, prilikom čega se te molekule mogu primijeniti u svrhu poboljšanja antitumorskog imunosnog odgovora na tumore koji slabo eksponiraju antigenske epitope ili epitope koji izbjegavaju imunosno prepoznavanje. S obzirom na taj mehanizam njihova djelovanja, u tu svrhu su istraživane i vakcine IL-12 genetski modificirane tumorske stanice što se pokazalo uspješnije od modificirane vakcine tumorskih stanica. Također, IL-15 se pokazao idealnim kandidatom za adjuvantnu terapiju s obzirom da inducira ne samo prekid rasta tumora već i njegovu kompletnu eradikaciju. Također, dokazana je učinkovitost genske terapije kombinacijom replicirajućeg i nereplicirajućeg soja adenovirusa koji eksprimira IL-12, odnosno djeluje kao imunostimulator*(David J. Argyle prema Lasek W, Basak G, Switaj T, et al,2004; Nagayama Y, Nakao K, Mizuguchi H, et al,2003; Liu YQ, Huang H, Saxena A, et al,2002).*Alternativni pristup genskoj terapiji raka uključuje dostavu kloniranog gena u normalnim stanicama koštane srži u svrhu njihove zaštite od citotoksičnih učinaka konvencionalne kemoterapije,

odnosno kada pacijenti prime visoke doze kemoterapije, normalne stanice sa tim genom su sposobne izlučiti toksične lijekove preko njihovih membrana što smanjuje potencijalne nuspojave. Točnije, moguća letalna odnosno dozo-limitirajuća hematotoksičnost nakon post transplantacijske primjenepaklitaksela može biti spriječena retrovirusnim transferom MDR1*(engl. Multi-Drug Resistance)*gena manjoj proporciji stanica. Korištenjem lentiviralnog vektora u smislu transfera MDR1 gena, odnosno, uslijed njegove prekomjerne ekspresije u humanim progenitorskim stanicama, očitovao se radioprotektivni učinak istoga što posljedično može pridonijeti poboljšanju tolerancije hematopoetskog sustava, odnosno, širem terapijskom indeksu u radioterapiji. U svrhu zaštite zdravoga tkiva i sprječavanja mogućeg mutagenog učinka prilikom primjene kemoterapeutika, odnosno, ciljanog djelovanja, istraživana jemogućnost DNA proteina reparacije-O^6-alkilgvanin-DNA-alkiltransferaze (ATase) kako bi se omogućila genetička kemoprotekcija koštane srži.Transferom i ekspresijom mutiranog oblika ovoga proteina, rezistentnog na inaktivaciju O^6-benzilgvaninom (O^6-beG), pokazala se kao uspješna kemoprotekcija koštane srži in vitro uslijed primjene citotoksičnog i klastogeničnogO^6-beG-a u kombinaciji sa antitumorskim agensom temozoloamidom. Ta se kemoprotekcija očitovala u multiplim linijama stanica uključujući eritroidne i granulocitne/makrofagne progenitorske stanice. Uslijed primjene istoga, uočena je i značajna protekcija tombocitne linije sa bržim oporavkom istih. Također, kao obećavajuća opcija u smislu genske terapije somatskim stanicama, pokazala se i primjena retrovisrusno inficiranih primarno fibroblasta kože*(David J. Argyle prema Carpinteiro A, Peinert S, Ostertag W, et al, 2002; Schiedlmeier B, Schilz AJ, Kuhlcke K, et al, 2002; Fairbairn LJ, Rafferty JA, Lashford LS, 2000).*Ograničavajući faktor za primjenu ovoga sistema je potencijalna toksičnost nezaštićenog gastrointestinalnog sustava te mogućnost prijenosa gena malignim stanicama i njihova posljedična neosjetljivost na učinke standardnih lijekova. Prije nego se uvede genska terapija u svakodnevnu praksu, postoje razne tehničke poteškoće koje moraju biti razriješene, kao što su poteškoće koje se odnose na samu sigurnost, odnosno obuhvaćaju dostavu i efikasnost vektora koji se koriste za isporuku gena zbog najčešće korištenih retrovirusa, koji se povezuju sa različitim bolestima domaćih životinja, što predstavlja rizik za umetanje mutageneze, odnosno, produkciju replikacijski kompetentnih virusa tijekom procesa proizvodnje. Brige oko tih smetnji razriješene su razvojem vektora nove generacije (npr. Zn-finger nukleaze, ZFNs) koji omogućuju umetanje DNA na mjesto izbora u genomu, a do ciljnoga mjesta bivaju dostavljene pomoću, npr. Lentivirusnog integraza deficitarnoga vektora. Trenutno se radi na usavršavanju virusnih vektora uklanjanjem većine njihovog genetskog materijala u svrhu proizvodnje „vektora

duhova“ koji bi bili gotovo netoksični i otvorili vrata ka usavršavanju virusno posredovanog prijenosa gena*(David J. Argyle prema Lombardo A, Genovese P, Beausejour CM, et al, 2007)*. Zadnjih nekoliko godina, uočila se promijenjena regulacija raznih puteva signalne transdukcije u tumorskih stanica, odnosno slične promjene u različitih tumora, što se pokazalo obečavajućom metom u svrhu terapijske intervencije. Primarno se pažnja posvećuje protein kinazama, odnosno njihovoj ulozi u normalnim stanicama u transdukciji signala i regulacijikritičnihstaničnih procesa (rast i diferencijacija), mehanizmima pomoću kojih doprinose tumorogenezi i upotrebi agensa kreiranih u svrhu njihove inhibicije, a mogu se klasificirati kao tirozin kinaze (ako fosforiliraju proteine na rezidue tirozina) i seronin odnosno trenonin kinaze (ako fosforiliraju proteine na treoninske i serinske rezidue) ili kinaze dvostruke funkcije, kada imaju obje funkcije. Mogu djelovati na površini stanice, u citoplazmi i jezgri, pri čemu se one na površini stanice, koje se dovode u svezu sa tumorima, nazivaju receptorskim tirozin kinazama (RTK) za faktore rasta. Svaka RTK sadrži esktracelularnu domenu koja veže faktor rasta te transmembransku i citoplazmatsku domenu koje pozitivno odnosno negativno reguliraju njihovu fosforilaciju. Većina RTK su monomeri, a dimeriziraju se preko površinskog vezanja faktora rasta čime se mijenja trodimenzionalna struktura receptora i posljedično je omogućeno vezanje ATP-a i autofosforilacija koja omogućuje stvaranje signala te vezanje adaptivnih proteina i nereceptorskih kinaza. Neregulacija RTK-a rezultira aktivacijom puteva ili nekontroliranom signlizacijom koja je kritična za funkciju stanice i važan je regulator angiogeneze te posljedično može voditi ka razvoju tumora. RTK citoplazme imaju ulogu provođenja signala do jezgre preko niza intermedijera koji postaju fosfolirirani te u konačnici njima inducirana signalizacija utječe na stanične događaje djelovanjem na transkripciju i proteine koji kontroliraju stanični ciklus. Disfunkcija kinaza je često uočena u tumora, a može uslijediti posljedično različitim mehanizmima. Uslijed mutacija, može doći do fosforilacije kinaza u odsustvu odgovarajućeg signala, što rezultira disregulacijom kinaza kao posljedicom točkastih mutacija te konačnom anbormalnom promocijom staničnog rasta i preživljvanja. Također, složenost signala posredovanih s RTK stvara mogućnosti za identifikaciju sintetskog peptida ili malih molekulskih liganada koji mogu selektivno modulirati dio RTK signalne mreže. Takve biološke molekule mogu imati izvrsnu selektivnost i korisnost u liječenju bolesti povezanih s poremećajima u signalizaciji RTK.Njihova pretjerana ekspresija može rezultirati povećanim odgovorom tumorskih stanica uz normalnu razinu faktora rasta ili ako je dovoljno visoka razina one se mogu aktivirati putem spontane dimerizacije u odsustvu signala, odnosno, faktora rasta. U svrhu njihove inhibicije, razvijena su razna protutijela za djelovanje na njihove ekstracelularne domene, a

najuspješnijim se pokazao humanizirani Mab-Herceptin, uveden u standarne protokole liječenja raka dojke i prostate (*Soto M, Campanario R, Saiz R, Juárez, 2016)*.Osim ovih protutijela, korišteni su i Rituxan u limfoma B-stanica te Erbitux koji napada ERBB1 ili HER1 EGFR *(engl. Epidermal growth factor receptor).* Također, sličnu funkciju imaju i inhibitori malih molekula koji uključuju Toceranib koji je pokazao aktivnost protiv različitih karcinoma, sarkoma i mastocitoma te Mastinib kod pasa i mačaka u liječenju mastocitoma. Razvojem inhibitora sposobnih blokirati specifične puteve djelovanja kinaza u smislu preživljavanja tumorskih stanica, može se značajno poboljšati konačni klinički ishod. Povećana ekspresija receptora tirozin kinaza uočena je u karcinoidnim stanicama odnosno stanicama u stromi tumora pa je pokušaj terapije inhibitorima receptora tirozin kinaza objektivno rezultirao pozitivnim odgovorom u intervalu od 10 do 15%. Inhibitori mete rapamicina u sisavaca (mTOR) su novi agensi koji inhibiraju puteve signalizacije istoga koji se aktiviraju u dosta tumora. Primijenjeni samostalno ili u kombinaciji sa oktreotidom, generirali su pozitivan odgovor u intervalu od 15 do 20%*(Cheryl A. London prema autorima Miettinen M, Sarlomo-Rikala M, Lasota J, 1998; Heinrich MC, Corless CL, Duensing A, et al, 2003; Peled N, Yoshida K, Wynes MW, et al, 2009; Bang YJ, 2011; Markman B, Dienstmann R, Tabernero J, 2010; Vilar E, Perez-Garcia J, Tabernero J, 2011).*

2.6. Antiangiogena terapija

U liječenju je također važnu ulogu zauzeo antiangiogeni mehanizam djelovanja koji se uočio u brojnih primijenjenih agenasa uključujući: Avastin, humanizirano anti-VEGF *(engl. Anti-vascular endothelial growth factor)*monoklonalno protutijelo i toceranib, koji djeluju kao endogeni inhibitori angiogeneze s ciljem supresije ekspanzije krvnih žila i održavanja njene ravnoteže. Sve veći fokus istraživanja postaje i limfoangiogeneza kao potencijalno moguća ciljna terapija. Antiangiogenom terapijom se antitumorski učinak očituje preko vaskularnog kolapsa, odnosno nedostatnom dostavom kisika, posljedičnim gladovanjem stanica, hipoksijom i smrću zbog njihove nemogućnosti opiranja takvom, kisikom deficitarnom okruženju. Nakon toga uslijedi normalizacija, odnosno efikasnija vaskularizacija uslijed selektivnog uništavanja tumorskih krvnih žila te poboljšani protok krvi kroz tumor u cijelosti*(Anthony J. Mutsaers prema Potente M, Gerhardt H, Carmeliet P, 2011; Kerbel RS, 2008; Kerbel RS, 2006; Khosravi SP, Fernandez PI, 2008; Carmeliet P, Jain RK, 2011; Goel S, Duda DG, Xu L, et al,2011).*Najčešći antiangiogeni klinički pristup obuhvaća inhibiciju

preeksponiranih proangiogenih stimulansa ili suplementaciju faktora koji inhibiraju angiogenezu*(Anthony J. Mutsaers prema Folkman J, 2004; Ferrara N, Kerbel RS, 2005).* Kako je antiangiogena komponenta prisutna u mnogim oblicima tretiranja, uključujući ne samo selektivne inhibitore već i citotoksičnu kemoterapiju odnosno radijacijsku terpiju, antiangiogeni mehanizmi nisu nužno ograničeni na metode liječenja koje ciljaju izravno poznate puteve angiogeneze. U svrhu antiangiogene strategije u pasa sa multiplim malignim oboljenjima, razvijeni su Trombospondin- 1 mimetički peptidi te endogeni inhibitori - angiostatin i endostatin kod kojih je uočena potecijalna nespecifična antitumorska aktivnost te je u konačnici uočeno produženo potrebno vrijeme do razvoja tumorske progresije i remisije. Lijekovi, ukoliko nisu prirodno destruktivni za određene stanice, mogu biti kreirani na način da induciraju lokalnu citotoksičnost što rezultira antiangiogenim učinkom. Jedan od takvih primjera je razvijen za liječenje u pasa pomoću vektora koji dostavlja TNF do integrina na tumorskom endotelu. Ranije spomenuti Trombospondin-1 (TSP-I), prirodni antiangiogenični protein, inducira apoptozu aktiviranih endotelijalnih stanica. Modificirani nonapeptid iz TSP-I, ABT-526, pokazao se aktivnim u modelima tumora u miševa ali i kod prirodno nastalih tumora u pasa, odnosno, njegova je aktivnost održana u kombinaciji sa citotoksičnom kemoterapijom*(Anthony J. Mutsaers prema A, Cozzi E, Stebbins M, et al, 2006; Kamstock D, Guth A, Elmslie R, et al, 2006).*Od ostalih antiangiogenih faktora, važni su inhibitori matriksne metaloproteinaze i ciklooksigenaze, pri čemu je ovaj potonji korišten primjenom piroksikama u liječenju karcinoma prijelaznih stanica u pasa. Matriksne metaloproteinaze (MMPs) imaju dobro poznatu ulogu u kasnoj fazi tumorske progresije, invazije i metastaziranja, no različiti dokazi upućuju i na njihovu ulogu u ranijim fazama u smislu maligne transformacije, angiogeneze i rasta tumora bilo primarnog ili njegove metastaze. Većina MMPs-a promovira tumorsku progresiju, ali neke od njih mogu zaštiti domaćina od tumorigeneze te su posljedično postale obečavajući pristup za primjenu antitumorske terapije. Princip antitumorskog djelovanja temelji se na njihovoj sposobnosti aberantne regulacije u malignim tumorima te sposobnošću promicanja metastaza raka. Sama ideja se u konačnici pokazala obečavajućom samo iz teorijskog smisla dok su u primjeni rezultati bili nešto lošiji*(Anthony J. Mutsaers prema Hua H, Li M, Luo T, et al, 2011).*U svrhu postizanja neprekidnog antiangiogenog učinka, uvedena je metronomička terapija, koja korištenjem antiangiogenih lijekova ima za cilj napad genetički stabilnih endotelnih komponenti tumorskog mikrookoliša ciljane genetički nestabilne tumorske populacije. Odnosno, sama terapija se zasniva na oralnom korištenju niskih doza kemoterapeutika koji se primjenjuju kroz kontinuirani raspored liječenja. Kako se ista primjenjuje svaki, odnosno, svaki drugi dan,

primjenjuju se niže doze nego li kod tipične kemoterapije sa posljedično manjim toksičnim djelovanjem iste, odnosno, manjim brojem nuspojava. Konvencionalna kemoterapija se primjenjuje u visokim dozama, odnosno, maksimalno tolerantnim dozama i ima za cilj uništiti brzodjeleće stanice, no kako se i neke druge normalne stanice brzo djele, može trajno djelovati na njih, odnosno, uništiti ih. Metronomičkom terapijom se omogućava oporavak tih stanica na način da se napravi pauza u rasporedu njene primjene, odnosno, period u kojem se ne primjenjuje ista. Za razliku od konvencionalne, ova terapija ima za cilj djelovati na krvne žile koje opskrbljuju tumor, odnosno, posljedično dovesti do kolapsa istih u čemu i leži naziv anti-angiogenske terapije. Najčešće se primjenjuje kod metastaza primarnog tumora, kod recidiva, odnosno, progresije i nereagiranja tumora na standarnu kemoterapiju, hemangiosarkoma slezene, sarkoma mekih tkiva, limfoma osobito u mačaka te melfalan kod multiplih mijeloma pasa. Najčešće korišteni agens u tu svrhu jest Ciklofosfamid (CYC). Može biti korišten samostalno, a djeluje i u kombinaciji sa nesteroidnim protuupalnim lijekovima (NSPUL) kao što je Piroksikam sa obzirom na njegovo izraženo antitumorsko djelovanje kod pojedinih tumora, osobitno sarkoma mekih tkiva. Od drugih kemoterapeutika najčešće su korišteni Klorambucil (Leukeran) te nešto rjeđe Lomustin. Također, može se primjenjivati u kombinaciji sa ranije spomenutim inhibitorima receptora tirozin kinaze te Palladiom(toceranib fosfatom). Palladia je relativno novi agens za tretiranje mastocitoma sa antiangiogenskim te antiproliferativnim djelovanjem na tumor, ali i brojnim nuspojavama, ponajprije na gastrointestinalni trakt u vidu proljeva, povraćanja, letargije, ulceracija te gubitka težine. Kako bi se postigao uspijeh, sama kemoterapija u ovom obliku mora biti nešto dugotrajnija s obzirom na to da su glavna meta krvne žile tumora, te se odgovor na istu može odgoditi tjednima zbog čega sepreporučuje primjena iste najmanje 6 mjeseci. Dokazana je poboljšana kvaliteta života liječenih životinja te uspješna aktivnost pri tretiranju hemangiosarkoma slezene u kombinaciji sa etopozidom te sa kontinuiranom terapijom piroksikama kao prvim izborom liječenja metastatskih tumora u pasa pri čemu se primjena svaki drugi dan pokazala uspješnijom od svakodnevne. U zadnje se vrijeme provode studije sa spojevima platine,kao što je Satraplatin, koje bi trebale razriješiti pitanje sporootpuštajuće primjene kemoterapije kao što je ona liposomskom inkapsulacijom kao oblika metronomičke terapije*(Anthony J. Mutsaers prema Kerbel RS, Kamen BA, 2004; E, Kavallaris M, Andre N,2010; Elmslie RE, Glawe P, Dow SW,2008; Marchetti V, Giorgi M, Fioravanti A, et al, 2011; Selting KA, Wang X, Gustafson DL, et al,2011).*Kako područje onkologije sve više napreduje prema kliničkoj primjeni ciljanih kemoterapeutika, sve veća važnost se pridaje identifikaciji i primjeni biomarkera koji bi trebali omogućiti, da bi bili valjani, predviđanje populacije pacijenata koji

hoće odnosno neće odgovoriti na liječenje, nadzor odgovora na staničnoj ili molekularnoj razini te određivanje pravodobne terapijske doze za ciljani agens koji često pokazuju optimalnu biološku aktivnost u dozama daleko ispod tradicionalno definiranih. Najvažniji biomarker je onaj koji definira tumorski odgovor jer inhibicija angiogeneze ne odgovara nužno redukciji volumena tumora. Biomarkeri su potrebni i u smislu optimizacije doze i u tom pogledu je omogućen uvid pomoću tregova, a procjena cirkulirajućih endotelijalnih stanica (CECs) i cirkulirajućih endotelijalnih progenitora (CEPs) omogućuje njihovu analizu za doziranje u antiangiogenoj i metronomičkoj terapiji. U svrhu vizualizacije cirkulatorne opskrbljenosti tumora, koriste se magnetna rezonanca, pozitronska emisijska tomografija i rendgenska računalna tomografija. Tijekom diferencijacije tkiva, uzorak metilacije je upravitelj ekspresije tkivno specifičnih gena pa time i samog fenotipa, što se s obzirom na mogućnost djelovanja određenih agenasa na tim razinama, pokazalo potencijalnom metom razvoja terapijske strategije*(Anthony J. Mutsaers prema Drevs J, Schneider V, 2006; Morgan B, Thomas AL, Drevs J, et al, 2003; Shih T, Lindley C, 2006).*Mnogi agensi, analozi nukleozida, se inkorporiraju u DNA i inhibiraju DNA-metilotransferazu-1, ključnu u kontroli metilacije s time da ne zahtijevaju DNA replikaciju za aktivnost, no postoje i mnogi drugi, rjeđe primjenjivani agensi sa inhibitornim djelovanjem u stanicama koje se ne repliciraju kao što su polifenoli zelenog čaja i morski proizvodi psammaplin razreda, iz spužve *Pseudoceratina purpurea* u smislu inhibicije histonske deacetilaze i DNA metiltrasferaze te drugi kao što su dolastatin 10, halichondrin B i njihovi sintetski derivati. Kao potencijalno dostupni lijekovi za početak razvoja korištenja inhibicije metilacije u svrhu liječenja onkoloških pacijenata, mogli bi se koristiti prokainamid i hidralazin koji imaju široku primjenu u veterinarskoj medicini. Potencijalni problem prilikom široke kliničke primjene ovih inhibitora se može javiti zbog indukcije dugotrajne širokogenomske hipometilacije sa posljedičnim smanjenjem kromosomske stabilnosti te potencijalnog tumorogenog kromosomskog pregrađivanja kao i poticanje rektivacije gena odnosno agresivnijeg, metastatskog fenotipa*(Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema Pina IC, Gautschi JT, Wang GY, et al, 2003; Remiszewski SW, 2003).* Drugi atraktivni mehanizam je u novije vrijeme acetilacija histona, odnosno njena uloga u regulaciji ekspresije gena što je povezno sa staničnom proliferacijom, diferencijacijom i preživljavanjem, odnosno razvojem karcinogeneze. Dokazano je da se acetilacijom histona smanjuje interakcija elekstrostatskog naboja između histona što dovodi do dekondenzacije kromatina. Inhibicijom histonske deacetilaze, enzima uključenog u te procese,može se potaknuti apopotoza tumorskih i endotelnih stanica i direktno inhibirati proliferacija tumorskih stanica te se u tu svrhu

primjenjuju inhibitori Vorinostat i Romidepsin u liječenju limfoma kože T-stanica. Također, isti učinak je dokazan i uslijed kombinacije uobičajenih doza doksorubicina i abeksinostata, pri čemu je njegova maksimalna tolerantna doza iznosila 45mg/m^2. Acetilacija histona je ovisna o ravnoteži između enzima sa aktivnošću histonske acetiltransferaze (HAT) i onima sa aktivnošću histonske deacetilaze (HDAC). Promijenjena ekspresija gena koji kodiraju HAT i HDAC enzime ili njihova mjesta vezanja je jasno povezana sa karcinogenezom. Kombinacijska terapija korištenjem HDAC inhibitora i konvencionalnih citotoksičnih lijekova se pokazala učinkovitijom od monoterapije u različitih tipova tumora. Uslijed izlaganja HDAC inhibitorima, dolazi do konformacijskih promjena kromatina što je djelomično odgovorno za povećanje antitumorskog djelovanja. Utvrđeno je da i neki komercijalni pripravci, kao što je valproična kiselina, mogu djelovati kao inhibitori histonske deacetilaze na invaziju tumorskih stanica, ekspresiju P-glikoproteina i angiogenezu te povećati kemoosjetljivost, a nedavno je dokazan i njen učinak na povećanje antiproliferativnog i proapoptotičnog djelovanja doksorubicinakao i singerističko djelovanje u sklopu liječenja osteosarkoma u pasa (*Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema Zhu P, Martin E, Mengwasser J, et al, 2004; Rossig L, Urbich C, Bruhl T, et al, 2005).*U tu svrhu je razmotrena primjena valproične kiseline i prethodno standardizirane doze doksorubicina kako bi se povećala acetilacija histona. Valproična kiselina, kratkolančana masna kiselina, iskazuje antineoplastični učinak preko inhibicije HDAC u niskim, milimolarnim koncentracijama, osobito korištena u kombinaciji sa demetilacijskim agensima, citotoksičnim kemoterapeuticima i radijacijskom terapijom. U stanicama osteosarkoma u pasa, koje su prethodno tretirane valproičnom kiselinom, pokazala se povećana osjetljivost na kemoterapiju doksiciklinom(DOX-om), odnosno bolji antitumorski učinak u odnosu na samostalnu primjenu doksiciklina. Rezultati pokazuju da pre-tretman osteosarkoma (OSA) sa valproičnom kiselinom dovodi do smanjene proliferacije i povećane apoptoze in vitro uz zamijećeno hiperacetilacijsko djelovanje, odnosno, poboljšanog antitumorskog učinka in vivo opravdavajući time racionalnu primjenu kombinacijske terapije uključujući HDAC inhibitore u tretmanu OSA ljudi i pasa. Kao jedan od mogućih mehanizama antitumorskog djelovanja valproične kiseline, dokazano je i da ona povećava akumulaciju nuklearnog DOX-a pri čemu je mjerena nuklearna akumulacija DOX-a u valproičnom kiselinom pretretiranih stanica OSA nakon 48 satne ekspozicije DOX-u. Taj tretman je rezultirao značajnim, o dozi ovisnim povećanjem nuklearne akumulacije DOX-a, vjerojatno kao rezultat kromatinske dekondenzacije sekundarno histonskoj hiperacetilaciji. Miševi sa ustanovljenim OSA su liječeni pojedinačno valproičnom kiselinom, kombinacijom valproične kisleine i DOX-a gdje

je valproična kiselina aplicirana 48 h prije administracije DOX-a, samostalno DOX-om te samostalno fiziološkom otopinom. Volumen tumora uslijed samostalne primjene valproične kiseline bio je jednak onome pri samostalnoj primjeni fiziološke otopine što ukazuje na neučinkovito samostalno djelovanje iste. Samostalna DOX terapija je rezultirala umjerenom redukcijom volumena, dok je kombinacija rezultirala značajnim smanjenjem prvotnog volumena tumora u usporedbi sa svim tretiranim skupinama. Ti podaci upućuju da dodatak valproične kiseline standarnoj citotoksičnoj kemoterapiji rezultira hiperacetilacijom histona tumorskih stanica, povećanjem apoptoze i smanjenom proliferacijom osteosarkoma u usporedbi sa pojedinačnom administracijom lijeka*(Douglas H. Thamm and David J. ArgylepremaWittenburg LA, Bisson L, Rose BJ, et al, 2011).*Jedan od novijih pristupa također uključuje ubikvitin-proteosomski put koji je odgovoran za degradaciju većine intracelularnih proteina i regulaciju mnogih proteina koji imaju ključnu ulogu u razvoju tumora. Prvi proteosomski inhibitor razvijen u kliničkim ispitivanjima je bortezomib, a iz studija je proizašla njegova potencijalna učinkovitost u pacijenata sa refraktornim i ponovno aktivnim multiplim mijelomima koji su primili najmanje 2 prethodne terapije, a pokazali progresiju bolesti tijekom posljednjeg tretmana. 26S proteosom je veliki multiproteinski kompleks koji se sastoji od domena za prepoznavanje ubikvitina koji vežu ubikvitarne proteine označene za degradaciju i proteolitičke domene slične aktivnosti te je odgovoran za degradaciju raznih proteina ključnih za regulaciju staničnog ciklusa, angiogenezu, apoptozu, kemoosjetljivost te osjetljivost na zračenje. Tumorske su stanice generalno osjetljivije na učinke proteosomske inhibicije od normalnih stanica zbog disregulacije funkcije ubikvitin-proteosomskog puta u njima što ih održava osjetljivijima na inhibiciju. Jedan takav proteosom, PS-341 je u tu svrhu primijenjen u smislu antitumorske terapije pri čemu je zabilježena biološka aktivnost istoga i dobro je toleriran od strane organizma *(Douglas H. Thamm and David J. Argyleprema Adams J, 2004).* U novijim istraživanjima se proapoptotični faktor Noxa pokazao kao ključni medijator proteosomskim inhibitorima inducirane apoptoze tumorskih stanica, ali u veterinarskoj medicini nije zabilježen biološki efekt ni sigurna primjena proteosomskih inhibitora. Kako je priroda raka kompleksna, odnosno multipli su putevi koji mogu dovesti do razvoja malignog fenotipa, optimalan lijek bi trebao napadati različite onkogene puteve simultano. Jedan takav molekularni cilj koji ima potencijal da ometa veliki broj puteva važnih kod tumora jest protein toplinskog šoka 90, molekularni nadglednik, odgovoran za konformacijsko sazrijevanje mnogih puteva uključenih u različite onkogene aktivnosti kao što su stanična adhezija, migracija, invazija, prijenos signala, progresija staničnog ciklusa, angiogeneza i preživljavanje. Mnogi inhibitori proteina toplinskog šoka 90 (Hsp90) su se

pokazali aktivnim protiv malignih verzija normalnih somatskih stanica s time da tumorske stanice pokazuju znatnu varijaciju u osjetljivosti na inhibiciju. Proteini toplinskoga šoka potrebni su za stabilnost i funkciju višestruko mutiranih i prekomjerno ekspresioniranih signalnih proteina koji promoviraju rast i/ili preživljavanje stanica tumora pa tako inhibitori tih proteina vode do destabilizacije i posljedične degradacije istih te time imaju i obečavajuću antitumorsku aktivnost. S obzirom na kemoprotektivnu aktivnost nekih proteina, čija je funkcija ovisna o proteinima toplinskog šoka, kombinacijom standarnih kemoterapijskih agensa i inhibitora Hsp90 moglo bi se pridonijeti razvoju suvremenih pristupa liječenja tumora. Hsp90 inhibitori se vežu za Hsp90 i induciraju proteosomalnu degradaciju o njima ovisnih proteina. Iako je Hsp90 visoko ekspresiran u većini stanica, čini se kako inhibitori istoga selektivno ubijaju stanice tumora u usporedbi sa normalnim stanicama. Pokazalo se kako isti deriviran iz tumorskih stanica ima 100 puta veći kapacitet vezanja za 17-N-alilamino-17-demetoksigeldanamicin (17-AAG), trenutno najpoznatiji ihnibitor istog, nego li onaj porijeklom od normalnih stanica. In vitro rekonstrukcija kompleksa sa Hsp90 je rezultirala povećanim afinitetom vezanja za 17-AAG i ATP-aznom aktivnošću što sugerira da tumorske stanice koje sadrže Hsp90 komplekse u aktivnoj, visoko afinitetnoj konformaciji koja olakšava malignu progresiju mogu predstavljati jedinstvenu metu za suvremenu terapiju tumora*(Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema Neckers L, 2002; Isaacs JS, Xu W, Neckers L,2003; Kamal A, Thao L, Sensintaffar J, et al, 2003)*. Razvoj osjetljivosti je povezan sa pokretanjem određenih kaskada kinaza, ekspresijom apopototičnih regulatora i regulatora staničnog ciklusa te ekspresijom P-glikoproteina. Važan pristup u senzibilizaciji stanica raka je dokazan i preko inhibicije poliadenozin difosfat riboze polimeraze s time da se pokazala pojačana citotoksičnost antitumorskih lijekova i ionizirajućeg zračenja kod njihove primjene, a zahvaljujući stimulativnom učinku na povećanje osjetljivosti na kemoterapiju i zračenje, razmatra se i moguća primjena inhibitora poliadenozin difosfat riboze glikohidrolaze. Poli ADP-riboza polimeraza (PARP)-1 je nuklearni enzim uključen u popravak, pri čemu se ti inhibitori razvijaju kao nova klasa agenasa koji mogu potencirati kemoterapiju odnosno radioterapiju. Kombinacija istih je dobro podnesena te je time dokazan princip mehanizma djelovanja te klase agenasa. PARP-1 inhibitori su visoko selektivni za BRCA-1 *(engl. breast cancer 1)* embrionalne matične stanice, ali u in vitro studijama nije došlo do ograničavanja rasta tumora mliječne žlijezde bez obzira na BRCA status tako da ti rezultati sugeriraju da inhibitori moguće ne inhibiraju selektivno rast tumora mliječne žlijezde *(Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema Plummer R, Jones C, Middleton M, et al, 2008; Soto JA, Wang X, Tominaga Y, et al, 2006).* Još jedan obećavajući pristup antitumorskoj terapiji jest inhibicija

aktivnosti karboanhidraze IX i modulacija estracelularnog pH tumora te se u zadnjih par godina razvija veliki broj tih inhibitora u seriji sulfonamida, sulfamida i sulfamata. Od 13 aktivnih izozima karboanhidraze, transmembranska izoforma, karboanhidraza IX (CA IX) se pokazala vezanom za karcinogenezu. CA IX iskazuje ektopičnu ekspresiju u mnoštvo tumora porijeklom cerviksa, uterusa, bubrega, pluća, jednjaka, dojke, kolona itd., u kontrastu s njenom restriktivnom supresijom u normalnom tkivu odnosno epitelu GIT-a. Te karboanhidraze su izražene u hipoksičnom mikrookolišu tumora pridonoseći acidozi te posljedično vode ka malignoj progresiji odnoso slabijem ishodu samog tretmana pri čemu je ciljana terapija usmjerena na inhibiciju CA IX te je time i modulacija ekstracelularnog pH zasigurno obečavajući pristup suvremenoj antitumorskoj terapiji*(Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema Winum JY, Scozzafava A, Montero JL, et al, 2009; El-Sayed NS, El-Bendary ER, El-Ashry SM, et al, 2011).*

2.7. Terapija boli

Osim kurativnog pristupa liječenju raka, važno je osigurati olakšanje boli što se pokazalo učinkovitim u smislu djelovanja na dužinu preživljavanja pacijenta. Primjenom analgetika se smanjuju efekti promotora tumora nakon operacije te se u tu svrhu primjenjuju glukokortikoidi koji omogućuju određenu razinu analgezije s time da bi njihova upotreba u tom smislu mogla biti šira, ali uslijed oskudnog znanja i razumijevanja liječenja boli u životinja, ona je još uvijek ispod optimalne razine u veterinarskoj onkologiji. U pravilu, procjena boli kod životinja se temelji na procjeni promjena u ponašanju, odnosno procjeni odgovora prilikom palpacije i manipulacije dotičnog područja, no ukoliko je poznato da je određeni tumor bolan u ljudi, prikladno je dati životinji adekvatnu terapiju za suzbijanje boli. Prema WHO, suzbijanje boli se postiže primjenom sljedećih skupina analgetika: neopoioidni analgetici (NSPUL), slabi opioidi (kodein) i snažni opioidi (morfin) i različiti adjuvantni lijekovi (kortikosteroidi, antikonvulzivi)*(B. Duncan X. Lascelles prema Bergh MS, Budsberg SC, 2005; Papich MG, 2008; Innes JF, Clayton J, Lascelles BD, 2010).*Primarno se primjenjuju neopioidi u kombinaciji sa ili bez adjuvantnog lijeka nakon čega se u terapiju uključuju slabi opioidi koje slijede snažni u idućem koraku. Snažni opioidi su se pokazali najučinkovitijima i time je njihova upotreba najučestalija.Ukoliko je bol prisutna kroz duži period, dolazi do promjena u CNS-u koje utječu na puteve procesuiranja signala boli. Od opioida najčešće se primjenjuju morfin oralno, fentanil transdermalno, butorfanol oralno, sublingvinalno bupenorfin (samo kod mačaka) i kodein oralno. Režim doziranja se mora

odrediti individualno, no uslijed oralne primjene preporučene doze, zamijećena je nemogućnost dosezanja efektivnih koncentracija oralnih opioida u plazmi. NSPUL-i su glavni izbor terapiranja kronične boli i izvrstan prvi izbor liječenja boli koja prati različite tumore. Nema potpuno bezopasnog NSPUL-a, ali su se noviji pokazali značajno sigurnijima od starijih predstavnika. Također, njihova dugotrajna ili kontinuirana primjena se pokazala učinkovitijom od kratkotrajne ili reaktivne, ali se u stanjima relativno stabilne bolesti može zadržati učinkovitost uz postepeno smanjenje doze. U mačaka jedini licencirani NSPUL za dugotrajnu primjenu jest Meloksikam, a ključ uspijeha dugotrajne primjene leži u primjeni najmanje efektivne doze i izbjegavanje smanjenja doza u mačaka sa bubrežnim bolestima. U kombinaciji sa NSPUL se mogu primjenjivati opioidi, odnosno najčešće se to odnosi na acetaminofen, ali i drugi agensi kao što su antikonvulzivi, amantadin i triciklički antidepresivi*(B. Duncan X. Lascelles prema Lascelles BD, Court MH, Hardie EM, et al, 2007; Mburu DN, 1991; Mburu DN, Mbugua SW, Skoglund LA, et al, 1988).* Također, česta je i transdermalna primjena fentanila, koja se u puno slučajeva pokazala učinkovitijom od ranije navedenih, te, naravno, kod pasa koji ne mogu primiti NSPUL-e. U jednoj studiji uspoređivana je transdermalna primjena fentanilske otopine sa primjenom oksimorfina u smislu kontrole postoperativne boli u pasa, pri čemu se pokazalo da je jednokratna primjena fentanila imala siguran i neinferiorni učinak naspram ponovljenih injekcija oksimorfina. Novije studije na Rezus makakijima *(lat. Macaca mulatta),* najčešće korištenim biomedicinskim modelima, dale su uvid u samu farmakokinetiku fentanilske otopine. Rezultati su pokazali da su Makaki održali plazmatsku koncentraciju fentanila od 0.2 ng/mL ili višu kroz najmanje 7 dana nakon doze od 1.3 mg/kg te najmanje 10 dana nakon doze od 2.6 mg/kg topikalne primjene istoga. Pojedinačna doza istoga zaključno može osigurati učinkovitu analgeziju te reducirati stres, nelagodu i rizik za samu životinju odnosno osoblje*(Martinez SA, Wilson MG i sur., 2014).*Acetaminofen je visokotoksičan u mačaka već prilikom primjene malih doza, no u pasa se uspješno koristi za kontrolu akutne boli pojedinačno ili u kombinaciji sa kodeinom kao prvi izbor u liječenju pasa sa problemima bubrega ili koji su netolerantni na liječenje NSPUL-a. Od NSPUL-a, uspješnim u terapiji iste se pokazao kelekoksib, kao selektivni inhibitor cikolookigenaze-2 (COX-2), važnog medijatora upale i u konačnici boli. Dugotrajnu primjenu istoga ograničava njegova o dozi ovisna kardiotoksičnost, no potonja se može nadvladati smanjenjem doze istoga. Prilikom istraživanja djelovanja istoga u karcinoma skvamoznih stanica glave i vrata u ljudi, gledalo se djelovanje istoga u smislu redukcije rasta tumora te blokiranja upale, što bi u konačnici doprinijelo analgetskom djelovanju istoga. Također, utvrđeno je da primjena cetuksimaba

(C225), monoklonalnog antiprotutijela receptora epidermalnog faktora rasta, u kombinaciji sa niskom dozom kelekoksiba, rezultira izraženijim antitumorskim odgovorom nego primjenom pojedinačnih agenasa. Uočena je značajna supresija aktivnosti COX-2 te regulacija drugih faktora povezanih sa boli kao što su endotelin (E-1) te faktor rasta živaca (NGF) što vodi ka obečavajućoj kombinaciji u smislu kontrole boli u onkoloških pacijenata. Također, njegova pojedinačna primjena ili u kombinaciji sa citratom rezultirala je polučivanjem citotoksičnog i apopoptičnog učinka nakon administracije u kuja sa tumorom mliječne žlijezde*(Vahidi R, Safi S, Farsinejad A, Panahi N, 2015).* Od opioida, istraživana je primjena tramadola u suzbijanju kronične boli na modelu bigla pri čemu se pokazalo kako isti ne polučuje zadovoljavajući antinociceptivni učinak, odnosno, pokazalo se da različite pasmine pasa slabo ili uopće ne odgovaraju na tretman istim. Morfin i Tapentadol s druge strane, djelujući direktno na μ-opioidne receptore ne zahtijevajući metaboličku aktivaciju, induciraju zadovoljavajući antinocicpetivni učinak. Dugotrajna primjena morfina, odnosno, duža od 2 tjedna, pokazala se na modelu glodavaca nepovoljnom u smislu povećanja veličine tumora, smanjenja vremena preživljavanja te povećanom diseminacijom tumorskih stanica. Blokiranje tog učinka postignuto je primjenom celekoksiba. U mačaka, tramadol ima drugačiji metabolizam, odnosno, posljedično i kliničko djelovanje uslijed njegove intravenske naspram peroralne primjene kada je eksperimentalno dokazan antinociceptivni učinak. *(Kögel B, Terlinden R, Schneider J, 2014).*Antagonisti N-metil-D-aspartata koji se najčešće primjenjuju jesu ketamin, tiletamin, dekstrametorfan i amantadin. Ketamin ne očituje korisno djelovanje u suzbijanju kronične boli zbog izraženih nuspojava prilikom njegove primjene čak i u niskim dozama*(B. Duncan X. Lascelles prema Slingsby LS, Waterman-Pearson AE, 2000).*Amantadin se najčešće koristi u kombinaciji sa NSPUL-a u slučaju kada ne uslijedi potpuni oporavak nakon njihove samostalne primjene.Također, fizička se aktivnost poboljšala nakon njegove primjene u liječenju osteoartritične boli pasa refraktorne na nesteroidne protuupalne lijekove. Često se u svrhu postizanja boljeg analgetskog učinka primjenjuju njihove razne kombinacije. Nedavna istraživanja na štakorima pokazala su da kombinacija tramadola i rofekoksiba izaziva želučane smetnje koje su bile izraženije od onih uslijed njihove samostalne primjene. Ketamin se zbog svojih nepovoljnih popratnih pojava (porast tlaka, tahikardija, depresija respiratornog sustava,vokalizacija,tremor,napadaji) preporučuje primjenjivati samo u subanestetičkim dozama*(Lascelles BD, Gaynor JS, Smith ES i sur., 2008).*Što se tiče antikonvulziva, odnosno primjene gabapentina ili pregabalina u veterinarskih pacijenata, nisu razjašnjene indikacije za njihovu primjenu iako su se pokazali korisnima u suzbijanju boli u nekih pacijenata i djelomično učinkoviti u tumora sa

neurološkom komponentom ili onih koji izazivaju živčanu destrukciju. Također, na modelu štakora sa kroničnom boli u kostima je dokazan povoljan učinak, odnosno djelovanje gabapentina u smislu dokidanja hiperalgezije i alodinije kada se primjenjuje subkutano, dok kod intratekalne primjene,pojedinačna doza istoga ima jači učinak nego kod sistemske primjene. Gabapentin nije imao analgetsko djelovanje kada je primjenjivan kao pojedinačna doza per oralno, iako je imao povoljno djelovanje u smislu induciranja analgetskog učinka morfina ukoliko se istodobno primjenjuju. Kako ima kratak analgetski učinak, preporučljiva je njegova primjena kao jedne od komponente terapije, odnosno u kombinaciji sa drugim analgeticima*(B. Duncan X. Lascelles prema Platt SR, Adams V, Garosi LS, et al, 2006; Fassoulaki A, Patris K, Sarantopoulos C, Hogan Q, 2002).* Triciklični antidepresivi kao što su amitriptilin, nortriptilin i dezipramin imaju sve veću ulogu u modulaciji poremećaja ponašanja kod životinja. Učinak selektivnih serotoninskih inhibitora (fluoksetin, paroksetin, citalopram) ograničen je i varijabilan, no isti su svejedno tolerantniji u smislu boljeg podnošenja od strane pacijenata u usporedbi sa tricikličkim antidepresivima.Amitriptilin se pokazao učinkovit u uklanjanju boli u mačaka sa intersticijskim cistitisom te u drugim kroničnim stanjima uključujući i osteoartritis. Još nije razjašnjen mogući nepovoljni učinak njegovih interakcija sa amantadinom ili tramadolom pa se ove kombinacije ne bi trebale prakticirati. Kako potonji predstavlja zlatni standard u medicini u pogledu liječenja neuropatske boli, istraživana je njegova uloga u tretmanu pacijenata, odnosno, neuropatske boli inducirane kemoterapijom koja se često javlja uslijed iste kod primjene vinka alkaloida, derivata platine ili taksana. Za potrebe studije odabrane su dvije skupine pacijenata, bez prethodnih neuropatskih simptoma pri čemu je jedna dobivala antidepresiv, a druga placebo. Na koncu, intenzitet kemoterapijom induciranih neuropatskih simptoma je bio podjednak u obje skupine, odnosno, nije dokazana poveznica između amitriptilina i dokidanja kemoterapijom induciranih neuropatskih simptoma. U svrhu blokiranja ili olakšanja boli koriste se i blokatori natrijevih kanala kao što je lidokain i drugi*(Dharmshaktu P, Tayal V, Kalra BSU, 2012).* U interesu je razviti način da se niskom sistemski primjenjenom dozom lidokaina dijelom blokiraju specifični natrijevi kanali. U jednoj je studiji dokazan pozitivan učinak uslijed i/v primjene istoga kod pacijenata koji su patili od post opioidne refraktorne neuropatske boli. U konačnici se došlo do zaključka da transdermalna ili intravenska primjena lidokaina ima ulogu u liječenju kronične boli *(Yousefshahi F, Predescu O[3], Francisco Asenjo J : The Efficacy of Systemic Lidocaine in the Management of Chronic Pain: A Literature Review, Anesth Pain Med, 2017;7(3):e44732).*Steroidi su često korišteni kao palijativna terapija u liječenju tumora i boli s time da treba izbjegavati njihovu kombinaciju sa NSPUL zbog pojačanog razvoja

nuspojava. Za razliku od upalne i neuropatske boli, kod maligne bolesti kosti se javlja jednistveno stanje boli s neurobiološkom osnovom. U svrhu liječenja te boli, bifosfonati pokazuju povoljan učinak u vidu olakšanja boli te omogućuju bolju procjenu boli, odnosno određivanja stupnja ublažavanja boli koji se može postići. Bifosfonati,kao što je pamidronat, inhibiraju aktivnost osteoklasta što može biti povezano sa njihovom ulogom u olakšanju boli kod malignosti koštane osnove. Dvije studije u kojima je korišten pamidronat u pasa pokazale su poboljšanje u smislu kontrole boli. Značajno poboljšanje odnosno redukcija znakova boli uočena je u otprilike 30 do 40% slučajeva u pasa sa koštanim malignostima. U kombinaciji sa standarnom palijativnom terapijom, pamidronat nije produžio vrijeme trajanja reducirane boli, ali je doveo do kvalitetnije analgezije.Također, praćena je i njegova djelotvornost u smislu bodovanja kumulativnog indeksa boli te relativne mineralne gustoće kosti nakon njegove primjene u kombinaciji sa NSPUL-ima pri čemu je postignuto olakšanje boli te redukcija patološke konverzije kosti što je karakteristično za ovaj tip tumora, odnosno kod apendikularnoga osteosarkoma. Alendronat, aminobisfosfonat druge generacije, pokazao je djelovanje u smislu inhibicije rasta osteosarkoma u pasa. Intravenski primjenjen zoledronat polučuje povoljan biološki učinak u pasa sa tumorima kostiju u smislu brze, značajne i održive redukcije, uslijed tjedne kvantifikacije urinske koncentracije N-telopeptida (NTx). Kako je maligna osteoliza usko povezana sa genezom boli kod tumora kosti, svaki mehanizam koji inhibira patološku skeletnu destrukciju predstavlja potencijalan iskoristiv modalitet u palijativi pasa sa dijagnosticiranim koštanim neoplazmama*(B. Duncan X. Lascelles prema Farese JP, Ashton J, Milner R, et al, 2004; Fan TM, de Lorimier LP, Garrett LD, et al, 2008; de Lorimier LP, Fan TM, 2005; Tomlin JL, Sturgeon C, Pead MJ, et al, 2000; Fan TM, de Lorimier LP i sur., 2007).*

U tablici 10 je prikazana podjela neopioidnih i opioidnih analgetika

Tablica 10.

<table>
<tr><td colspan="2">NEOPIOIDNI ANALGETICI- inhibitori ciklooksigenaze (COX-1 i COX-2); analgetsko, antipretičko i protuupalno djelovanje</td></tr>
<tr><td>NESTEROIDNI PROTUUPALNI LIJEKOVI (NSPUL)</td><td>Karprofen *Novox, Rimadyl
Derakoksib *Demamaxx
Firokoksib *Previcox
Meloksikam *Metacam – selektivni inhibitor COX-2, jedini licencirani za primjenu u mačakaKokekoksib *Celebrex – selektivni inhibitor COX-2, u kombinaciji sa Cetuksimabom- izraženiji antitumorski odgovor

Uglavnom u kombinaciji sa opioidima, antikonvulzivima, amantadinom i tricikličkim antidepresivima</td></tr>
<tr><td>PARACETAMOL (*ACETAMINOFEN)</td><td>Selektivni inhibitor COX-2
Visokotoksičan u mačaka već pri malim dozama!
Psi- kontrola akutne boli,najčešće u kombinaciji sa opioidima</td></tr>
<tr><td colspan="2">OPIOIDNI ANALGETICI – Agonisti opioidnih receptora</td></tr>
<tr><td>OPIOIDI</td><td>Fentanil- transdermalna primjena- najčešće primjenjivani modalitet suzbijanja boli u svakodnevnoj praksi; psi koji ne mogu iz bilo kojega razloga primiti NSPUL-e

Morfin ——djeluju direktno na μ-opioidne receptore→zadovoljavajući
Tapentadol —┘ antinociceptivni učinak

Butorfanol
Bupenorfin *mačke
Kodein
Tramadol –p/o antinociceptivno djelovanje</td></tr>
</table>

U tablici 11 prikazana je podjela antagonista receptora N-metil-D-aspartata (NMDA)

Tablica 11.

ANTAGONISTI RECEPTORA N-METIL-D-ASPARTATA (NMDA)- Inhibicija djelovanja NMDA receptora
Tiletamin Dekstrametorfan Amantadin – Najčešće u kombinaciji sa NSPUL-ima Ketamin- izražene nuspojave čak i pri vrlo malin dozama- primjena u subanestetičkim dozama

U tablici 12 prikazana je podjela antikonvulziva

Tablica 12.

ANTIKOVULZIVI – mehanizam djelovanja nije razjašnjen; vjerojatno sprječavaju naglo širenje suvišnih ili abnormalnih električnih impulsa u mozgu
Gabapentin- s/c dokida hiperalgeziju i alodiniju; intratekalno jači učinak nego kod sistemske primjene; p/o nije zabilježeno analgetsko djelovanje; u kombinaciji sa morfinom inducira njegovo analgetsko djelovanje Pregabalin u kombinaciji sa gabapentinom u suzbijanju boli kod tumora sa neurološkom komponentom te kod živčane destrukcije Karbamazepin

U tablici 13 prikazana je podjela bifosfonata

Tablica 13.

BIFOSFONATI- inhibicija mineralizacije te smanjenje resorpcije kostiju
Pamidronat- Inhibicija aktivnosti osteoklasta; malignosti koštane osnove; najčešće u kombinaciji sa NSPUL-ima Alendronat- aminobifosfonat- inhibicija rasta osteosarkoma u pasa Zoledronat- Povoljan biološki učinak kod koštanih malignosti

U tablici 14 prikazana je podjela tricikličkih antidepresiva

Tablica 14.

TRICIKLIČKI ANTIDEPRESIVI- neselektivno blokiranje ponovne pohrane neurotransmitora noradrenalina, serotonina i dopamina te povećavaju njihovu koncentraciju na spojevima živčanih stanica
Amitriptilin – dokida bol kod intersticijskog nefritisa te osteoartitisa u mačaka; nije istražena istodobna primjena sa amantadinom i tramadolom pa se preporuča izbjegavati navedenu kombinaciju Nortriptilin Dezipramin

U tablici 15 prikazana je podjela blokatora natrijevih kanala

Tablica 15.

BLOKATORI Na-KANALA
Lidokain- Transdermalna i intravenska primjena- Liječenje kronične boli

U tablici 16 prikazana je podjela neurotoksina

Tablica 16.

NEUROTOKSINI- Uništavanje i iscrpljivanje neurona uključenih u transmisiju boli
Kombinacija neurotoksina i supstance-P- vezanje za neurokininski receptor- smrt neurona Reiziniferatoksin- onkološka bol koštane osnove

2.8. Komplementarna i alternativna medicina

Sve više u svrhu suzbijanja boli se pribjegava primjeni komplementarne i alternativne medicine. Ona se sastoji od različitih i često kontroverznih skupina tretmana koji proizlaze iz ustaljene medicine. Iako još nije dokazana njihova djelotvornost u liječenju raka, pojedini praktičari nastavljaju sa zagovaranjem kako ovi proizvodi odnosno tretmani mogu stati na kraj malignim oboljenjima odnosno eliminirati tumore, drugi tvrde kako učinci ovih tretmana nisu toliko ekstremni, a znanstvena istraživanja pokazuju njihov povoljan učinak na onkološke pacijente što zapravo dovodi klijente u nezgodan položaj jer se oslanjaju na praktičare koji su često skloni promicanju proizvoda odnosno tretmana koji se temelje na sustavnom vjerovanju, a ne na znanstvenim dokazima. Jedna od takvih metoda je akupuntura, koja se odnosi na primjenu samih igli ili kombinaciju igli sa elektrostimulacijom niske ili visoke frekvencije na određenim područjima tijela i njihovim utjecajem na neuromuskularne odnosno miofascijalne zone koje stimulirane promoviraju analgeziju, oporavak normalne cirkulacije i imunološke funkcije te osiguravaju ukupnu fiziološku obnovu i homeostazu. U sklopu akupunkture, ostali oblici somatske aferentne stimulacije uključuju akupresuru, lasersku akupunkturu i elektroakupunkturu. Na taj se način suzbijaju bol i druge neželjene posljedice tretmana kroz neuromodulaciju čime se može smanjiti potrebna razina lijekova. Osim propriospinalne signalizacije, potiče se stimulacija velikog i malog mozga, korteksa i moždanog debla. Iako omogućuje mjerodavan i ponavljajući benefit za pacijenta sa uznapredovalim tumorom, sam tretman je nedovoljno korišten u praksi, bilo zbog nedostatka znanja ili znanstveno utvrđenog mehanizma djelovanja, odnosno, neutemeljene predrasude

prema samoj tehnici, praktičari ga često zaborave preporučiti odnosno rijetko podliježu njegovoj primjeni. Primarna svrha primjene iste je zapravo ublažavanje popratnih simptoma te poboljšanje kvalitete života onkoloških pacijenata, a kako ista nema nikakve loše zabilježene učinke, može samo biti opcija kod neuspješne konvencionalne terapije*(Wu X, Chung VC, Hui EP i sur., 2015).* Kiropraktikautemeljuje razna saznanja iz područja radiologije, sportske medicine, neurologije, osteopatije i ortopedije, a zauzima sve veću ulogu u veterinarskoj onkologiji u smislu poboljšanja funkcije i smanjenja boli osobito u područjim ortopedskih i neuroloških poremetnji. Primarni interes ovog modaliteta je odnos između strukture i same funkcije odnosno strukture kralježnice i funkcije živčanog sustava, a samo ozdravljenje se postiže manualno, odnosno, bez potrebe kirurškog zahvata ili kemotrapije. Kod primjene masaže u ove svrhe, ozdravljenje se temelji na samom dodiru kojim se potiče tijelo da prirodno kontrolira bol posredno endogenoj produkciji endorfina. Utvrđen je učinak prilikom primjene ove metode kod akutne i kronične boli, akutnih i kroničnih upala, kroničnih limfedema, mišićnog spazma, različitih disfunkcija mekih tkiva, epileptičnih napada, anksioznosti i depresije. Neki zagovaraju kako je masaža kontraindicirana u onkoloških pacijenata zbog povećanja cirkulacije što može rezultirati povećanjem metastaziranja, dok neki prakticiraju njenu primjenu u svrhu ublažavanja boli i nelagode te održanju funkcije. Također, opisan je slučaj prilikom kojega je zapravo primjena iste ublažila bol posljedičnu primarnom tumoru te ukazala na metastaze na mozgu i kralježnici uslijed osjećaja pritiska koji je izbio na površinu nakon ublažavanja primarne boli*(Kanga I, Steiman I, 2015).*Bioterapija, odnosno, korištenje bio polja pojedinaca u svrhu liječenja stanica raka, sve više je zastupljen modalitet u liječenju onkoloških pacijenata. Praktičar polaže ruke i preko energije kozmosa ili drugog natprirodnog eniteta modificira odnosno pojačava pacijentovo bio-polje. Polazište ove terapije je da to bio-polje proizlazi iz daljine, izvan fizičkog tijela te sama jačina, udaljenost i boja tog polja ovise o zdravlju i emocionalnom stanju pacijenta. U upotrebi su 3 oblika ove terapije: Reiki, koja uključuje iscjeljiteljski dodir, odnosno zasniva se na ozdravljenju duhovnog što bi se trebalo odraziti posljedično na ozdravljenje fizičkog; Shen terapija se temelji na prilagođavanju tog bio-polja prirodnim zakonima fizike i posljedičnim vidljivim uzorkom toka energije u čitavom tijelu; Terapija dodira, uključuje praktičara koji vraća ispravnu vibracijsku komponentu u pacijentovo univerzalno bio-polje. Učinak iste još nema dovoljno potvrđenih studija, odnosno dovoljan reprezentativan uzorak temeljem kojega bi se mogla potvrditi učinkovitost istoga. Svejedno, kako neotklanjanje boli u onkoloških pacijenata može prouzrokovati samo daljnje progradiranje bolesti, odnosno nepotrebnu patnju i lošu kvalitetu života pacijenata, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se dosadašnji

pozitivan učinak iste i potvrdio odnosno uveo u svakodnevnu praksu. Ayurveda, Hindu metoda medicine, koja se bazira na ideji uravnoteženja sustava u tijelu i uključuje dijetu, tretman biljem te prakticiranje joga disanja, odnosno, temelji se na tome da sve bolesti počinju posljedično neravnoteži u podsvijesti pojedinca. Kada se sa Ayurvedske perspektive gledaju glavni popratni učinci konvencionalne kemoterapije, oni su zapravo manifestacija pogoršane „pitte doshe“ odnosno postoje skupine poremećaja zvane *„Raktapitta“* (krvarenja) te *„Raktadushti“* (vaskularne upale). Opisani lijekovi iz područja iste obično su dostupni i sigurni. Ove jednostavne otopine zasnovane na ayurvedi mogu djelovati kao važan adjuvans kemoterapiji i poboljšati kvalitetu života pacijenata s tumorom. Suvremena istraživanja su koristeći principe ovog modaliteta započela sa procjenom 2 glavna spoja korištena u ayurvedi-*„Maharishi Amrit Kalash“* , MAK-4 i MAK-5, sastavljenih od različitih mješavina bilja, najučinkovitiji kad su korišteni u kombinaciji u vidu inhibicije rasta tumorskih stanica u ljudi i štakora. Tako se u istraživanju na uretanom tretiranim štakorima reducirala karcinogeneza jetre što se pripisuje mogućoj prevenciji oksidativnog oštećenja te nadregulaciji eskpresije koneksina*(Anderson JG, Taylor AG, 2016; Sánchez Domínguez J, 2016; Penza M, Montani C, Jeremic M i sur., 2007).*Homeopatska terapija može poslužiti kao potporna terapija u liječenju raka, ali postoje i podaci koji opisuju primjenu u liječenju odnosno sprečavanju malignih procesa. Učestala pojava postvakcinalnih sarkoma u mačaka je potaknula praktičare da iniciraju primjenu homeopatskih lijekova prije tradicionalnih vakcina iako su u veterinarskoj medicini jako ograničeni podaci o samoj učinkovitosti ovoga oblika terapije. U humanoj medicini može postojati mjesto za savjetodavne odnosno psihoterapijske aspekte homeopatskih konzultacija i placebo učinke koje generiraju homeopatski proizvodi kod bolesnika koji vjeruju u takve tretmane, ali u veterinarskoj medicini ti čimbenici vjerojatno neće imati koristi pacijentima. Uporaba homeopatskih proizvoda u veterinarskoj medicini suprotna je najboljim dokazima, iracionalna i nedosljedna sa aktualnim znanstvenim i medicinskim znanjem*(P. Lees, L. Pelligand i sur., 2017).* Naturopatska, odnosno prirodna medicina ujedinjuje saznanja botanike, zdravstvene njege, homeopatske medicine, akupunkture, tradicionalne orijentalne medicine, hidroterapije i prirodne manipulativne terapije. Oskudni su podaci primjene ovog oblika medicine u liječenju raka. Mnogi danas korišteni lijekovi su dobiveni iz bilja koje ima izraženo antitumorsko, protuupalno, antioksidativno i/ili analgetsko djelovanje te djeluje u smislu inhibicije proliferacije, indukcije apoptoze, smanjenja angiogeneze, usporavanja metastaziranja i pojačavanja učinka kemoterapije. Bilje koje ima povoljan učinak na kvalitetu života uključuje ono koje podržava cijeljenje rana, anksiolotike za smanjenje opterećenja te konvencionalnog liječenja psihe i

antiemetike. Različiti fitoterapeutici utječu na aktivnost stanica raka, a najčešće primjenjivani proizvodi u te svrhe uključuju azijske gljive zbog njihovog imunostimulativnog učinka, kurkumin, *Boswelliu serratu*(tamjan) zbog njihove antitumorske i protuupalne aktivnosti i cvijet „bloodroota“ *(Rhodiola Rosea)*zbog djelovanja na reduciranje tumora.*Boswellia serrata*, odnosno, njena ljekovita smola analizirana je u jednoj studiji kako bi se točno odredio njen sastav, odnosno kako bi se izolirala tvar koja ima antitumorsko djelovanje. U tu svrhu korištene su kromatografija na koloni te tankoslojna kromatografija kojima su izolirane brojne tvari od kojih su najvažnije sabinen (19.11%), terpinen-4-ol (14.64%) i terpinil acetat (13.01%) koje su polučile citotoksično djelovanje usporedivo sa onim doksorubicina te 5-florouracila.Većina tvari biljnog podrijetla pruža i antioksidativnu korist, a neki fitoterapeutici kao što je zeleni čaj, su izrazito jaki pa kliničari razmatraju rizik antagoniziranja odnosno biokemijske interferencije koristi kemoterapije uslijed njihove istodobne primjene*(Ahmed HH, Abd-Rabou AA, Hassan AZ, Kotob SE, 2015).* U istraživanju je tako dokazan inhibitoran učinak polifenola u smislu prevencije razvoja premalignih lezija u malignih tumora prostate. Svakako, prije nego li se počne isti preporučati kao terapija,potrebne su dodatne studije koje bi učvrstile dosadašnje rezultate i potkrijepile većim brojem uzroaka i pozitvnih rezultata*(Yuan JM, 2013).* Također, postoji širok spektar lijekova i vakcina koji nisu bili prihvaćeni od strane medicine i kirurgije. Najčešće korišteni agensi jesu antineoplastoni,derivati peptida i aminokiselina, peptidne frakcije dobivene izravno iz krvi ili urina sa sposobnošću prirodne regulacije stanične diferencijacije. U studijama se pokazalo da sintetski antineoplastoni (A10-3-fenil-acetil-amino-2,6-piperidinedion i AS2-1-mješavina feniloctene kiseline i fenilacetilglutamina) imaju sposobnost prevencije ugradnje glutamina u stanicu, blokiranja djelovanja Bcl-2 (regulatora apoptoze), aktivacije p53 i p21 (tumor supresorskih gena), inhibicije histonske deacetilaze te indukcije apoptoze. U eksperimentima in vitro te in vivo u nekoliko studija, registrirana je antitumorska aktivnost, uglavnom u modelima hepatocelularnog karcinoma i glioma*(Korman DB, 2014).*Od drugih agenasa,istraživani su produkti hrskavice podrijetlom morskih pasa i goveda koji imaju tkivne inhibitore metloproteinaze (TIMPs) i na taj način inhibiraju metastaziranje te EDTA koja inhibira metaloproteinaze 2 i 9,koje su ključne za rast tumora.Također,kurkumin ima ulogu u regulaciji metastaziranja stanica uslijed inhibicije MMP-2 (matriksna metaloproteinaza-2) i MMP-9 (matriksna metaloproteinaza-9) te nadregulacije TIMP1 (tkivni inhibitor metaloproteinaze-1) i TIMP4(tkivni inhibitor metaloproteinaze-4) genske ekspresije u stanicama tumora dojke*(Hassan ZK, Daghestani MH, 2012).*Od poznatih onkoloških pristupa primjenjuje se i imunoaugmentivna terapija koja je pokazala učinkovitost u liječenju

osteosarkoma pasa u smislu produženja intervala bez bolesti i preživljavanja, te različiti spojevi kao što su 714-X, koji se injicira u limfni sustav u svrhu liječenja mnogih malignih oboljenja, MTH-68, vakcina porijeklom virusa Newcastleske kokošje bolesti koja može interferirati sa onkornavirusima, te estrakt lipida, Iskador, za liječenje mnogih tumora s time da su potrebne također daljnje studije kako bi isti bili uvedeni u protokole za liječenje u svakodnevnoj praksi*(Bethesda (MD), 2016)*. Nutritivna terapija se temelji na ideji da nutrijenti mogu koristiti u svrhu potpore i liječenja ljudi i životinja koji boluju od raka i širokog spektra drugih životinja, odnosno, poboljšanjem ishrane se mogu postići povoljni učinci. Prilikom toga se primjenjuje hrana sa manjim udjelom životinjskih masti, djelomično hidrogeniranih biljnih ulja i rafiniranih karbohidrata te većim udjelom cjelovitih žitarica, voća i povrća.Neke terapije se oslanjaju na povećanje udjela N-3 masne kiseline, beta karotena ili vitamina C, dok ostale preporučuju oblinu suplementaciju određenih nutrijenata odnosno reviziju kompletnog profila ishrane u svrhu poboljšanja zdravlja (npr. veganska dijeta). U sklopu provedenih istraživanja u kojima su psi sa limfomima i hemangiosarkomima tretirani eikozanoidima, utvrđeno je kako Omega-3 masne kiseline inhibiraju tumorogenezu i širenje tumora te čine osnovu liječenja raka u ljudi, N-3 masne kiseline imaju inhibitorni učinak na rast tumora dok N-6 masne kiseline na povećavanje metastaziranja. Dokazan je njihov učinak u smislu poboljšanja učinkovitosti kemoterapije odnosno tolerancije na istu. Njihov antitumorski učinak se očituje kroz supresiju nuklearnog faktora-kB, aktivaciji AMPK/SIRT1, modulaciji aktivnosti ciklooksigenaze te nadregulaciji protuupalnih lipidnih medijatora kao što su protektini, marezini i rezolvini.Eikozopentatonska kiselina je pokazala selektivnu tumoricidnu aktivnost bez zahvaćanja normalnih stanica. U pasa sa brojnim malignim oboljenjima su zabilježene metaboličke promjene, odnosno promjene u metabolizmu glukoze, povećani promet proteina i njihov gubitak urinom kod pasa sa osteosarkomima. U studijama pasa sa limfomom su dokazane promjene u metabolizmu ugljikohidrata u vidu povećanja serumske koncentracije laktata te inzulina tijekom testa tolerancije glukoze zbog utjecaja citokina na metabolizam glukoze i posljedične rezistencije inzulina u pasa sa limfomima. Studija koja je provedena jednu godinu prije i poslije dijagnoze karcinoma mliječne žlijezde pokazala je da psi sa povećanim unosom proteina su imali produženo vrijeme preživljavanja te da unos ugljikohidrata i masti nije imao ulogu u progresiji bolesti. Druga studija je pokazala kako je rizik za razvoj raka bio veći u pasa koji su dobivali slabo balnsiranu prehranu (npr. hranu“sa stola“ kao primarnu konzumaciju). U mnogim se slučajevima visokoproteinska hrana ocijenila kao kvalitetnija zbog toga što je protein sam po sebi skup sastojak. U konačnici, pokazalo se kako je nepotpuna prehrana

povećala rizik razvoja raka. Dodatak povrća prehrani škotskih terijera s genetskom predispozicijom za razvoj karcinoma prijelaznih stanica se manifestirao nižom frekvencijom pojavnosti bolesti. Također, prehrana koja sadrži manji udio ugljikohidrata te veći udio proteina u kombinaciji sa inhibitorom ciklooksigenaze-2, kelekoksibom, dovode do redukcije tumorskog rasta, odnosno metastaziranja*(Nabavi SF, Bilotto S, Russo GL i sur., 2015).*Cilj sljedećih istraživanja bi mogao postati vitamin D zbog utvrđenih nižih serumskih razina u labrador retrivera sa mastocitomima koji eksprimiraju receptore za isti. U studiji je pronađena poveznica između niskih razina serumskog 25-hidroksivitamina D3 (25(OH)D3) i razvoja mastocitoma*(Wakshlag JJ, Rassnick KM, Malone EK i sur., 2011).*Kako se u onkoloških pacijenta nerijetko javlja i tumorska kaheksija, preporučljiva je primjena različitih stimulatora apetita, prilikom čega se u pasa mogu primijeniti dodaci šećera, sirupa ili zaslađivača, a u mačaka sol iako je u njih razvijena tendencija nesklonosti slanoj hrani. U svrhu farmakološki izazvane gladi se primjenjuju antiserotonergici, ali nema podataka, odnosno, studija koje bi potvrdile učinkovitost tih lijekova. U novije vrijeme se istražuje primjena valija u svrhu stimulacije apetita u mačaka, dok se u pasa primjenjuju niske,subhipnotičke doze propofola za kratku stimulaciju apetita, u prvih 15 minuta od i/v primjene istoga*(Long JP, Greco SC, 2000).*Postavljena je hipoteza da zbog glikolitičke prirode rasta neoplastičnih stanica, mijenjanje supstrata u hipotetsku svrhu „izgladnjivanja“ tumora eliminiranjem nekoliko ugljikohidrata, može biti indicirano. Kako su mačke sklonije mršavljenju tijekom hospitalizacije zbog inadekvatnog kalorijskog unosa, pokazala se povoljnom visokoproteinska dijeta, koja osim što ima učinak na smanjenje rasta tumora, korisna je u liječenju poremećaja gubitka tjelesne težine u mačaka. U pogledu prednosti dodavanja proteina u prehrani onkoloških pacijenata to može biti rezultat povećane cirkulacije aminokiselina, inhibitornih molekula u proliferaciji neoplastičnih stanica. Arginin je pokazao učinkovitost u niskim milimolarnim koncentracijama s mogučnošću inhibicije različitih linija neoplastičnih stanica utječući na progresiju staničnog ciklusa pa se uslijed primjene visokoargininskih dijeta pokazalo poboljšanje remisije i vremena preživljavanja.Postoje devet proteina argininskih metiltransferaza (PRMT) kodiranih u genomima sisavaca, čiji proteinski proizvodi kataliziraju tri tipa argininske metilacije -monometilaciju i dvije vrste dimetilacije. Metiliranje proteina arginina je opsežna modifikacija koja je uključena u transdukciju signala, transkripciju gena, popravljanje DNA i spajanje mRNA, među ostalima.Prekomjerna ekspresija tih enzima je često povezana sa različitim tumorima, što bi neke od njih moglo učiniti potencijalnim metama za različite terapijske strategije *(Joseph J. Wakshlag prema GK, Fettman MJ, Mallinckrodt CH et al, 2000; Ho VW, Leung K, Hsu A, et al, 2011; Ho*

*VW, Hamilton MJ, Dang NHi sur., 2014).*Glutamin je također pokazao određeni potencijal za njegovu primjenu zbog njegovih svojstava u smislu očuvanja tjelesne težine i mogućnosti pvećanja funkcije mukozne barijere. Njegov metabolizam je dokazano disreguliran u mnogim tumorskim stanicama te je esencijalan za proliferaciju istih što ga čini potencijalnom metom za terapiju. Da bi se isti iskoristio u stanicama, mora se transportirati u iste specifičnim transporterima i koncertiran u glutamat posredstvom glutaminaza. Također, restrikcija njegova metabolizma se pokazala učinkovitom u smislu inhibicije rasta tumora in vivo i in vitro preko indukcije apoptoze, dokidanja rasta i/ili autofagije.Korištenje masti se pokazalo korisno u svrhu poboljšanja okusa i energetske gustoće, ali u mnogim slučajevima pojedini sastojci masnih kiselina mogu utjecati na rast neoplastičnih stanica*(Yang Y, Bedford MT, 2013; Chen L, Cui H, 2015).*Primjena visokih koncentracija eikozapentaenske kiseline i dokozaheksaenske kiseline u obliku morskih ulja može prevenirati gubitak tjelesne mase i moguće smanjiti stopu rasta tumora. Te masne kiseline se mogu transformirati u inertne eikozanoide češće nego u proupalne, odnosno do njihove konverzije dolazi uslijed njihova utjecaja na intracelularnu signalizaciju prilikom čega dolazi do oslobađanja arahidonične kiseline te preko intracelularnih enzimatskih mehanizama koji modificiraju primarne masne kiseline u promitogenične ili inertne eikonazoide,a tako stvoreni eikonazoidi mogu iskazati lokalni ili parakrini učinak na rast stanice preko interakcije sa njihovim receptorima. Tako, primjena dokozaheksaenske kiseline, kao dodatak ionizirajućem zračenju pri liječenju tumora pluća, dokazano inducira oksidativni stres te povećava smrt tumorskih stanica*(Kikawa KD, Herrick JS, Tateo RE, Mouradian M, Tay JS, Pardini RS, 2010).* Primjena ribljeg ulja, osobito onoga bijele ribe, može rezultirati blagom supresijom proliferacije tumorskih stanica zbog protuupalnog učinka, prilikom čega je uočena veća osjetljivost kod mačaka vjerojatno zbog većeg učinka na trombocite što rezultira alteracijama puteva zgrušavanja. U humanoj medicini je istraživan učinak istoga te se pokazalo da aktivira apoptozu, smanjuje oštećenje DNA te inhibira signalizaciju kod upalnog procesa na o dozi i vremenu ovisan način te u konačnici inhibira progresiju tumora kolona.Upotreba polinezasićenih masnih kiselina se pokazala u istraživanjima provedenim na svinjskim modelima korisna u svrhu smanjenja zračenjem inducirane štete okolnog zdravog tkiva. Određeni vitamini i minerali se koriste u terapiji zbog njihove mogućnosti da smanje proliferaciju tumorskih stanica u prekliničkim modelima. U liječenju određenih tumora se upotrebljava vitamin A u obliku retinoične kiseline, odnosno, važna je uloga proteina koji vežu retinoičnu kiselinu u smislu njihove signalizacije tijekom progresije tumora*(Joseph J. Wakshlag prema Hayes KC, 1982).*Njihova ponovna ekspresija povećava osjetljivost retinola i reducira vitalnost stanica tumora jajnika in

vitro. Niske koncentracije prekursora aktivnog vitamina D u ljudi mogu promovirati tumorogenezu, a tretman aktivnim vitaminom D u nekim slučajevima dovodi do regresije tumora na način da očituje antiproliferativni i apoptotični učinak te utječe na diferencijaciju malignih stanica.Iako, antiproliferativnim djelovanjem, u visokim dozama, kalcitriol može dovesti do hiperkalcemije, što uključuje kalcifikaciju mekih tkiva te je i dokazana njena pojava prilikom tretiranja pasa sa mastocitomima*(Ma J, Ma Z, Li W, Ma Q i sur., 2013).*Što se tiče selena, nije utvrđena konačna korist njegove suplementacije u liječenju odnosno prevenciji neoplastičnih bolesti. Naime, od posebnog interesa istraživanja su redoks-aktivni selenijevi spojevi koji pokazuju citotoksični potencijal u tumorskim stanicama. Ovi selenijevi spojevi dovode u konačnici do stanične smrti koja se razlikuje ovisno o kojem se spoju radi. Suvremena onkologija često se usredotočuje na ciljane terapeutske strategije temeljene na ligandima koje su specifične za njihove molekularne ciljeve. Ti lijekovi su u početku učinkoviti, ali stanice tumora često brzo razvijaju otpornost na iste. Nasuprot tome, neki redoks-aktivni selenijevi spojevi izazivaju kompleksne kaskadne signalizacije u farmakološkim koncentracijama koje nadjačavaju prag tolerancije tumora. Ciljane molekule su često važne za preživljavanje stanica raka i često su uključene u rezistenciju na lijekove. Stoga, kemoterapijska primjena selena pruža velike mogućnosti ciljane terapije na tumorske stanice*(Wallenberg M, Misra S, Björnstedt M, 2014).*Za ovo područje su atraktivni folati i vitamin B12 (kobalamin) kod kojih je istraživanjima dokazan učinak na epigenetske alteracije koje mogu utjecati na tumorsku supresiju i onkogenu ekspresiju s vremenom.U tumorskom tkivu je narušena ravnoteža oksidansa i antioksidansa, odnosno u tumoru mliječne žlijezde u pasa se pokazala povećana lipidna peroksidacija zajedno sa povećanim antioksidativnim mehanizmima. Kod pasa sa limfomima uočeno je smanjenje serumskih antioksidansa uz povećanu lipidnu peroksidaciju, dok je sposobnost apsorpcije slobodnih radikala kisika i glutation peroksidaze povećana što ukazuje na porast antioksidativne sposobnosti čime se zaključilo da dodavanje antioksidansa nema dramatični učinak na sveukupnu antioksidativnu sposobnost tumorskih stanica u odnosu na normalno tkivo. Dodavanjem karotenoida je dokazana ograničena antioksidativna sposobnost u staničnim linijama osteosarkoma u pasa, a u kombinaciji sa kemoterapijskim agensom doksorubicinom ili zračenjem nije bilo zaštitnog učinka na staničnu proliferaciju ili staničnu smrt, dok se pokazalo da primjena izoflavina vjerojatno inducira apoptozu u stanicama psećih limfoma*(Joseph J. Wakshlag prema Seifried HE, McDonald SS, Anderson DE, et al, 2003; Szczubial M, Kankofer M, Lopuszynski W, et al, 2004; Winter JL, Barber LG, Freeman TM, et al, 2009).* U konačnici, svaka alternativna metoda liječenja malignih bolesti mora zadovoljavati osnovne postavke da bi bila primjenjiva,

odnosno, dokazano ne smije biti štetna te ne smije vlasnika izrazito financijski opterećivati. Ukoliko ista zadovolji oba kriterija može se odobriti za korištenje takvog pripravka odnosno postupka dok u suprotnom ne.

3. Zaključak

Kako je već ranije navedeno, postoje mnogobrojni pristupi liječenju malignih bolesti. Također, sve je više interesa te samim time i istraživanja kojima se pokušavaju dobiti vjerodostojni rezultati kako bi se primjena istih mogla uvesti u svakodnevnu praksu. Od trenutno primjenjivanih modaliteta, najčešća je primjena kemoterapeutika koja se dosad u mnoštvo pacijenata pokazala djelotvornom u smislu produženja odnosno poboljšanja kvalitete života, osobito ukoliko se primjenjuje u kombinaciji sa radioterapijom. Ograničavajući čimbenik iste je pojavnost mnoštva nuspojava koje narušavaju cjelokupno stanje pojedinca. Suvremeniji modaliteti koji uključuju primjenu genske odnosno imunoterapije, teoretski su učinkovitiji pristupi po tom pitanju, no potrebna su daljnja saznanja kako bi se isti mogli sa sigurnošću proglasiti efikasnijim. Sam tretman se može provoditi u kurativne ili palijativne svrhe. Razlika pristupa temelji se na očekivanom ishodu, odnosno, ukoliko se terapija provodi u palijativne svrhe, prihvatljiv je kraći životni vijek pacijenta zbog cilja postizanja veće kvalitete neovisno o duljini preživljavanja, iako u veterinarskoj medicini to paradoksalno rezultira zapravo duljim životnim vijekom od očekivanog zbog odgađanja same eutanazije. U kurativne svrhe prihvatljivija je veća količina popratnih nuspojava zbog cilja osiguranja benefita pacijenta kroz dulje vrijeme. Na koncu svega, neovisno o vrsti modaliteta odnosno načinu pristupa samome liječenju onkološkoga pacijenta, važno je prilikom planiranja samog tretmana kontinuiranim i otvorenim dijalogom pomoći vlasniku u donošenju valjane i utemeljene odluke, zbog potrebnog razvoja „timskog“ pristupa liječenju same tumorske bolesti.

U veterinarskoj je medicini sve veća potreba razvoja suvremenih onkoloških protokola sa obzirom na povećani obim takvih pacijenata i sve većih zahtijeva vlasnika.

Nažalost, veterinarska medicina je još uvijek u ovome smislu zapostavljena u usporedbi sa humanom medicinom i njihovim protokolima.

4. Literatura

1. Abraham A, Varatharajan S, Karathedath S, Philip C, Lakshmi KM, Jayavelu AK, Mohanan E, Janet NB, Srivastava VM, Shaji RV, Zhang W, Abraham A, Viswabandya A, George B, Chandy M, Srivastava A, Mathews V, Balasubramanian P (2015): RNA expression of genes involved in cytarabine metabolism and transport predicts cytarabine response in acute myeloid leukemia, Pharmacogenomics;16(8):877-90

2. Ahmed HH, Abd-Rabou AA, Hassan AZ, Kotob SE (2015): Phytochemical Analysis and Anti-cancer Investigation of Boswellia serrata Bioactive Constituents In Vitro, Asian Pac J Cancer Prev;16(16):7179-88

3. Amanda M. Guth and Steven Dow prema MacEwen EG, Patnaik AK, Harvey HJ, et al (1986): Canine oral melanoma: comparison of surgery versus surgery plus Corynebacterium parvum, Cancer Invest 4:397–402

4. Amanda M. Guth and Steven Dow prema Newell KA, Ellenhorn JD, Bruce DS, et al (1991): In vivo T-cell activation by staphylococcal enterotoxin B prevents outgrowth of a malignant tumor, Proc Natl Acad Sci U S A 88:1074–1078

5. Amanda M. Guth and Steven Dow, prema Shimizu J, Yamazaki S, Takahashi T, et al (2002): Stimulation of CD25(+)CD4(+) regulatory T cells through GITR breaks immunological self-tolerance, Nat Immunol 3:135–142

6. Amanda M. Guth and Steven Dow, prema Maloy KJ, Salaun L, Cahill R, et al (2003): CD4+CD25+ T(R) cells suppress innate immune pathology through cytokine-dependent mechanisms, J Exp Med 197:111–119

7. Amanda M. Guth and Steven Dow prema autorima Bergman PJ, McKnight J, Novosad A, et al (2003): Long-term survival of dogs with advanced malignant melanoma after DNA vaccination with xenogeneic human tyrosinase: a phase I trial, Clin Cancer Res9:1284–1290

8. Amanda M. Guth and Steven Dow prema Hemminki A, Kanerva A, Kremer EJ, et al (2003): A canine conditionally replicating adenovirus for evaluating oncolytic virotherapy in a syngeneic animal model, Mol Ther 7:163–173

9. Amanda M. Guth and Steven Dow, prema treck CJ, Zhang Y, Miyamoto R, et al (2004): Restriction of neuroblastoma angiogenesis and growth by interferon-alpha/beta, Surgery136:183–189

10. Amanda M. Guth and Steven Dow prema Smith BF, Curiel DT, Ternovoi VV, et al (2006): Administration of a conditionally replicative oncolytic canine adenovirus in normal dogs, Cancer Biother Radiopharm 21:601–606

11. Amanda M. Guth and Steven Dow prema autorima Bergman PJ, Camps-Palau MA, McKnight JA, et al (2006): Development of a xenogeneic DNA vaccine program for canine malignant melanoma at the Animal Medical Center, Vaccine 24:4582–4585

12. Amanda M. Guth and Steven Dow prema Le LP, Rivera AA, Glasgow JN, et al (2006): Infectivity enhancement for adenoviral transduction of canine osteosarcoma cells, Gene Ther13:389–399

13. Amanda M. Guth and Steven Dow, prema Smyth MJ, Dunn GP, Schreiber RD (2006): Cancer immunosurveillance and immunoediting: the roles of immunity in suppressing tumor development and shaping tumor immunogenicity, Adv Immunol90:1–50

14. Amanda M. Guth and Steven Dow,prema autorima Henry CJ, Downing S, Rosenthal RC, et al (2007): Evaluation of a novel immunomodulator composed of human chorionic gonadotropin and bacillus Calmette-Guerin for treatment of canine mast cell tumors in clinically affected dogs, Am J Vet Res 68:1246–1251

15. Amanda M. Guth and Steven Dow, prema Turek MM, Thamm DH, Mitzey A, et al (2007): Human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor DNA cationic-lipid complexed autologous tumour cell vaccination in the treatment of canine B-cell multicentric lymphoma, Vet Comp Oncol 5:219–231,

16. Amanda M. Guth and Steven Dow, prema O'Neill K, Guth A, Biller B, et al (2009): Changes in regulatory T cells in dogs with cancer and associations with tumor type, J Vet Intern Med23:875–881

17. Amanda M. Guth and Steven Dow prema autorima Bergman PJ (2010): Cancer immunotherapy, Vet Clin North Am Small Anim Pract 40:507–518

18. Amanda M. Guth and Steven Dow, prema Mito K, Sugiura K, Ueda K, et al (2010): IFNγ markedly cooperates with intratumoral dendritic cell vaccine in dog tumor models, Cancer Res70:7093–7101,

19. Amanda M. Guth and Steven Dow, prema Whiteside TL (2010): Immune responses to malignancies, J Allergy Clin Immunol 125:S272–S283

20. Amanda M. Guth and Steven Dow prema autorima Liu MA(2011): DNA vaccines: an historical perspective and view to the future, Immunol Rev 239:62–84

21. Anderson JG, Taylor AG (2012): Biofield therapies and cancer pain, Clin J Oncol Nurs;16(1):43-8

22. Anthony J. Mutsaers prema Morgan B, Thomas AL, Drevs J, et al (2003): Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging as a biomarker for the pharmacological response of PTK787/ZK 222584, an inhibitor of the vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases, in patients with advanced colorectal cancer and liver metastases: results from two phase I studies, J Clin Oncol 21:3955–3964

23. Anthony J. Mutsaers prema Kerbel RS, Kamen BA (2004): The anti-angiogenic basis of metronomic chemotherapy, Nat Rev Cancer 4:423–436

24. Anthony J. Mutsaers prema Folkman J (2004): Endogenous angiogenesis inhibitors, APMIS 112:496–507

25. Anthony J. Mutsaers prema Rusk A, Cozzi E, Stebbins M, et al (2006): Cooperative activity of cytotoxic chemotherapy with antiangiogenic thrombospondin-I peptides, ABT-526 in pet dogs with relapsed lymphoma, Clin Cancer Res12:7456–7464

26. Anthony J. Mutsaers prema Drevs J, Schneider V (2006): The use of vascular biomarkers and imaging studies in the early clinical development of anti-tumour agents targeting angiogenesis, J Intern Med 260:517–529

27. Anthony J. Mutsaers prema Kamstock D, Guth A, Elmslie R, et al (2006): Liposome-DNA complexes infused intravenously inhibit tumor angiogenesis and elicit antitumor activity in dogs with soft tissue sarcoma, Cancer Gene Ther 13:306–317

28. Anthony J. Mutsaers prema Elmslie RE, Glawe P, Dow SW (2008): Metronomic therapy with cyclophosphamide and piroxicam effectively delays tumor recurrence in dogs with incompletely resected soft tissue sarcomas, J Vet Intern Med 22:1373–1379

29. Anthony J. Mutsaers prema Pasquier E, Kavallaris M, Andre N (2010): Metronomic chemotherapy: new rationale for new directions, Nat Rev Clin Oncol 7:455–465

30. Anthony J. Mutsaers prema Hua H, Li M, Luo T, et al (2011): Matrix metalloproteinases in tumorigenesis: an evolving paradigm, Cell Mol Life Sci 68:3853–3868,

31. Anthony J. Mutsaers prema Marchetti V, Giorgi M, Fioravanti A, et al (2011): First-line metronomic chemotherapy in a metastatic model of spontaneous canine tumours: a pilot study, Invest New Drugs

32. Anthony J. Mutsaers prema Selting KA, Wang X, Gustafson DL, et al (2011): Evaluation of satraplatin in dogs with spontaneously occurring malignant tumors, J Vet Intern Med 25:909–915

33. Anderson JG, Taylor AG (2012): Biofield therapies and cancer pain, Clin J Oncol Nurs, 16(1):43-8

34. Bannink EO, Sauerbrey ML, Mullins MN, Hauptman JG, Obradovich JE (2008): Actinomycin D as rescue therapy in dogs with relapsed or resistant lymphoma: 49 cases (1999--2006), J Am Vet Med Assoc., 1;233(3):446-51

35. Bethesda (MD): National Cancer Institute (2002-2016): 714-X (PDQ®): Health Professional Version, PDQ Cancer Information Summaries [Internet], Apr 8

36. B. Banco, V. Grieco, F. Servida (2012):Sudden Death in a Dog After Doxorubicin Chemotherapy, Veterinary Pathology, vol. 48, 1035-1037

37. B. Duncan X. Lascelles prema Mburu DN, Mbugua SW, Skoglund LA, et al (1988): Effects of paracetamol and acetylsalicylic acid on the post-operative course after experimental orthopaedic surgery in dogs, J Vet Pharmacol Ther11:163–170

38. B. Duncan X. Lascelles prema Mburu DN (1991): Evaluation of the anti-inflammatory effects of a low dose of acetaminophen following surgery in dogs, J Vet Pharmacol Ther 14:109–111

39. B. Duncan X. Lascelles prema Slingsby LS, Waterman-Pearson AE (2000): The post-operative analgesic effects of ketamine after canine ovariohysterectomy–a comparison between pre- or post-operative administration, Res Vet Sci69:147–152

40. B. Duncan X. Lascelles prema Tomlin JL, Sturgeon C, Pead MJ, et al (2000): Use of the bisphosphonate drug alendronate for palliative management of osteosarcoma in two dogs, Vet Rec 147:129–132

41. B. Duncan X. Lascelles prema Fassoulaki A, Patris K, Sarantopoulos C, Hogan Q (2000): The analgesic effect of gabapentin and mexiletine after breast surgery for cancer, Anesth Analg;95(4):985-91

42. B. Duncan X. Lascelles prema Farese JP, Ashton J, Milner R, et al (2004): The effect of the bisphosphonate alendronate on viability of canine osteosarcoma cells in vitro, In Vitro Cell Dev Biol Anim 40:113–117

43. B. Duncan X. Lascelles prema Bergh MS, Budsberg SC (2005): The coxib NSAIDs: potential clinical and pharmacologic importance in veterinary medicine, J Vet Intern Med19:633–643

44. B. Duncan X. Lascelles prema de Lorimier LP, Fan TM (2005): Bone metabolic effects of single-dose zoledronate in healthy dogs, J Vet Intern Med 19:924–927

45. B. Duncan X. Lascelles prema Platt SR, Adams V, Garosi LS, et al (2006): Treatment with gabapentin of 11 dogs with refractory idiopathic epilepsy, Vet Rec 159:881–884

46. B. Duncan X. Lascelles prema Lascelles BD, Court MH, Hardie EM, et al (2007): Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in cats: a review, Vet Anaesth Analg 34:228–250

47. B. Duncan X. Lascelles prema Fan TM, de Lorimier LP, Garrett LD, et al (2008): The bone biologic effects of zoledronate in healthy dogs and dogs with malignant osteolysis, J Vet Intern Med 22:380–387

48. B. Duncan X. Lascelles prema Papich MG (2008): An update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in small animals, Vet Clin North Am Small Anim Pract38:1243–1266

49. B. Duncan X. Lascelles prema Innes JF, Clayton J, Lascelles BD (2010): Review of the safety and efficacy of long-term NSAID use in the treatment of canine osteoarthritis, Vet Rec 166:226–230

50. Chalise L, Motomura K, Ohka F, Hirano M, Hara M, Nishimura Y, Natsume A, Wakabayashi T (2017): Comparing the Efficacy of DeVIC Therapy and High-dose Methotrexate Monotherapy with Whole-brain Radiation Therapy for Newly-diagnosed Primary Central Nervous System Lymphoma: A Single Institution Study, Anticancer Res.37(9):5215-5223

51. Chen L, Cui H (2015): Targeting Glutamine Induces Apoptosis: A Cancer Therapy Approach, Int J Mol Sci;16(9):22830-55

52. Cheryl A. London prema Miettinen M, Sarlomo-Rikala M, Lasota J (1998): Gastrointestinal stromal tumours, Ann Chir Gynaecol 87:278–281

53. Cheryl A. London prema Heinrich MC, Corless CL, Duensing A, et al (2003): PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors, Science 299:708–710

54. Cheryl A. London prema Kerbel RS (2006): Antiangiogenic therapy: A universal chemosensitization strategy for cancer? Science 312:1171–1175

55. Cheryl A. London prema Khosravi SP, Fernandez PI (2008): Tumoral angiogenesis: review of the literature, Cancer Invest 26:104–108

56. Cheryl A. London prema Peled N, Yoshida K, Wynes MW, et al (2009): Predictive and prognostic markers for epidermal growth factor receptor inhibitor therapy in non-small cell lung cancer, Ther Adv Med Oncol 1:137–144

57. Cheryl A. London prema Bang YJ (2011): The potential for crizotinib in non-small cell lung cancer: A perspective review, Ther Adv Med Oncol 3:279–291

58. Cheryl A. London prema Markman B, Dienstmann R, Tabernero J (2011): Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway–beyond rapalogs, Oncotarget 1:530–543

59. Cheryl A. London prema Carmeliet P, Jain RK (2011): Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis, Nature 473:298–307

60. Cheryl A. London prema Goel S, Duda DG, Xu L, et al (2011): Normalization of the vasculature for treatment of cancer and other diseases, Physiol Rev 91:1071–1121

61. Daniel L. Gustafson and Rodney L. Pageprema autorima Begleiter A, Lam H-YP, Grover J, et al (1979): Evidence for active transport of melphalan by two amino acid carriers in L5178Y lymphoblasts in vitro, Cancer Res 39:353

62. Daniel L. Gustafson and Rodney L. Page prema Moran RG, Spears CP, Heidelberger C (1979): Biochemical determinants of tumor sensitivity to 5-fluorouracil: ultrasensitive methods for the determination of 5-fluoro-2′-deoxyuridylate, 2′-deoxyuridylate, and thymidylate synthetase, Proc Natl Acad Sci U S A 76:1456

63. Daniel L. Gustafson and Rodney L. Page prema: Withoff S, Keith WN, Knol AJ, et al (1996): Selection of a subpopulation with fewer DNA topoisomerase II alpha gene copies in a doxorubicin-resistant cell line panel, Br J Cancer 74:502

64. Daniel L. Gustafson and Rodney L. Page prema Greenstein S, Ghias K, Krett NL, et al (2002): Mechanisms of glucocorticoid-mediated apoptosis in hematological malignancies, Clin Cancer Res 8:1681

65. Daniel L. Gustafson and Rodney L. Page prema Vickery KR, Wilson H, Vail DM, et al (2008): Dose-escalating vinblastine for the treatment of canine mast cell tumour, Vet Comp Oncol 6:111

66. Daniel L. Gustafson and Rodney L. Page prema Grant IA, Rodriguez CO, Kent MS, et al (2008): A phase II clinical trial of vinorelbine in dogs with cutaneous mast cell tumors, J Vet Intern Med 22:388

67. Daniel L. Gustafson and Rodney L. Page prema Baggerly KA, Coombes KR (2009): Deriving chemosensitivity from cell lines: Forensic bioinformatics and reproducible research in high-throughput biology, Ann Appl Stat 3:1309

68. David J. Argyle prema autoru Harris J, Sikora, K., (1993): Gene therapy in the clinic, Aspects Med14:251–546

69. David J. Argyle prema Fairbairn LJ, Rafferty JA, Lashford LS (2000): Engineering drug resistance in human cells, Bone Marrow Transplant 25:S110–S113

70. David J. Argyle prema Liu YQ, Huang H, Saxena A, et al (2002): Intratumoral co-injection of two adenoviral vectors expressing functional interleukin-18 and inducible protein-10, respectively, synergizes to facilitate regression of established tumors, Cancer Gene Therapy 9(6):533–542

71. David J. Argyle prema Carpinteiro A, Peinert S, Ostertag W, et al (2002): Genetic protection of repopulating hematopoietic cells with an improved MDR1-retrovirus allows administration of intensified chemotherapy following stem cell transplantation in mice, Int J Cancer 98(5):785–792

72. David J. Argyle prema Schiedlmeier B, Schilz AJ, Kuhlcke K, et al (2002): Multidrug resistance 1 gene transfer can confer chemoprotection to human peripheral blood progenitor cells engrafted in immunodeficient mice, Hum Gene Ther13(2):233–242

73. David J. Argyle prema Gu R, Fang BL (2003): Telomerase promoter-driven cancer gene therapy, Cancer Biol Ther 2(4):S64–S70

74. David J. Argyle prema Nagayama Y, Nakao K, Mizuguchi H, et al (2003): Enhanced antitumor effect of combined replicative adenovirus and nonreplicative adenovirus expressing interleukin-12 in an immunocompetent mouse model, Gene Ther 10(16):1400–1403

75. David J. Argyle prema autorima Scanlon KJ (2004): Cancer gene therapy: Challenges and opportunities, Anticancer Res 24(2A):501–504

76. David J. Argyle prema Fullerton NE, Boyd M, Mairs RJ, et al (2004): Combining a targeted radiotherapy and gene therapy approach for adenocarcinoma of prostate, Prostate Cancer Prostatic Dis 7(4):355–363

77. David J. Argyle prema Lasek W, Basak G, Switaj T, et al (2004): Complete tumour regressions induced by vaccination with IL-12 gene-transduced tumour cells in combination with IL-15 in a melanoma model in mice, Cancer Immunol Immunother 53(4):363–372

78. David J. Argyle prema autorima Lombardo A, Genovese P, Beausejour CM, et al (2007): Gene editing in human stem cells using zinc finger nucleases and integrase-defective lentiviral vector delivery, Nat Biotechnol 25:1298–1306

79. Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema Neckers L (2002): Hsp90 inhibitors as novel cancer chemotherapeutic agents, Trends Mol Med 8:S55–S61

80. Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema Isaacs JS, Xu W, Neckers L (2003): Heat shock protein 90 as a molecular target for cancer therapeutics, Cancer Cell 3:213–217

81. Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema Kamal A, Thao L, Sensintaffar J, et al (2003): A high-affinity conformation of Hsp90 confers tumour selectivity on Hsp90 inhibitors, Nature425:407–410

82. Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema Pina IC, Gautschi JT, Wang GY, et al (2003): Psammaplins from the sponge Pseudoceratina purpurea: inhibition of both histone deacetylase and DNA methyltransferase, J Org Chem 68:3866–3873

83. Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema Remiszewski SW (2003): The discovery of NVP-LAQ824: from concept to clinic, Curr Med Chem 10:2393–2402

84. Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema Adams J (2004): The development of proteasome inhibitors as anticancer drugs, Cancer Cell 5:417–421

85. Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema Zhu P, Martin E, Mengwasser J, et al (2004): Induction of HDAC2 expression upon loss of APC in colorectal tumorigenesis, Cancer Cell 5:455–463

86. Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema Rossig L, Urbich C, Bruhl T, et al (2005): Histone deacetylase activity is essential for the expression of HoxA9 and for endothelial commitment of progenitor cells, J Exp Med 201(11):1825–1835

87. Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema De Soto JA, Wang X, Tominaga Y, et al (2006): The inhibition and treatment of breast cancer with poly (ADP-ribose) polymerase (PARP-1) inhibitors, Int J Biol Sci 2:179–185

88. Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema Shih T, Lindley C (2006): Bevacizumab: an angiogenesis inhibitor for the treatment of solid malignancies, Clin Ther 28:1779–1802

89. Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema Plummer R, Jones C, Middleton M, et al (2008): Phase I study of the poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor, AG014699, in combination with temozolomide in patients with advanced solid tumors, Clin Cancer Res 14:7917–7923

90. Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema Winum JY, Scozzafava A, Montero JL, et al (2009): Inhibition of carbonic anhydrase IX: a new strategy against cancer, Anticancer Agents Med Chem 9:693–702

91. Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema Wittenburg LA, Bisson L, Rose BJ, et al (2011): The histone deacetylase inhibitor valproic acid sensitizes human and canine osteosarcoma to doxorubicin, Cancer Chemother Pharmacol 67:83–92

92. Douglas H. Thamm and David J. Argyle prema El-Sayed NS, El-Bendary ER, El-Ashry SM, et al (2011): Synthesis and antitumor activity of new sulfonamide derivatives of thiadiazolo[3, 2-a]pyrimidines, Eur J Med Chem 46:3714–3720

93. De Brito Galvao JF, Kisseberth WC, Murahari S, Sutayatram S, Chew DJ, Inpanbutr N (2012): Effects of gemcitabine and gemcitabine in combination with carboplatin on five canine transitional cell carcinoma cell lines, Am J Vet Res.(8):1262-72

94. Fan TM, de Lorimier LP, O'Dell-Anderson K, Lacoste HI, Charney SC (2007): Single-agent pamidronate for palliative therapy of canine appendicular osteosarcoma bone pain, J Vet Intern Med, 431-9

95. Ferrara N, Kerbel RS (2005): Angiogenesis as a therapeutic target, Nature438:967–974

96. Flory AB, Rassnick KM, Al-Sarraf R, Bailey DB, Balkman CE, Kiselow MA, Autio K (2008): Combination of CCNU and DTIC chemotherapy for treatment of resistant lymphoma in dogs, J Vet Intern Med. 164-71

97. Ghosh S, Das T, Sarma HD, Dash A (2017): Preparation and Evaluation of 177Lu-Labeled Gemcitabine: An Effort Toward Developing Radiolabeled Chemotherapeutics for Targeted Therapy Applications, Cancer Biother Radiopharm., doi: 10.1089/cbr.2017.2255

98. Grandhi TS, Potta T, Taylor DJ, Tian Y, Johnson RH, Meldrum DR, Rege K (2014): Sensitizing cancer cells to TRAIL-induced death by micellar delivery of mitoxantrone, Nanomedicine (Lond), 1775-88

99. Hassan ZK, Daghestani MH (2012): Curcumin effect on MMPs and TIMPs genes in a breast cancer cell line, Asian Pac J Cancer Prev,3259-64

100. Heading KL, Brockley LK, Bennett PF (2011): CCNU (lomustine) toxicity in dogs: a retrospective study (2002-07), Aust Vet J.,109-16

101. Jae Heon Kim, Hong Jun Lee and Yun Seob Song (2014): Stem Cell Based Gene Therapy in
Prostate Cancer, Biomed Res Int, 549136

102. Joseph J. Wakshlag prema Hayes KC (1982): Nutritional problems in cats: taurine deficiency
and vitamin A excess, Can Vet J 23:2–5

103. Joseph J. Wakshlag prema Ogilvie GK, Fettman MJ, Mallinckrodt CH et al (2000): 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

104. Joseph J. Wakshlag prema Seifried HE, McDonald SS, Anderson DE, et al (2003): The antioxidant conundrum in cancer, Cancer Res 63:4295–4298

105. Joseph J. Wakshlag prema Szczubial M, Kankofer M, Lopuszynski W, et al (2004):

Oxidative stress parameters in bitches with mammary gland tumors, J Vet Med51:336–340

106. Joseph J. Wakshlag prema Winter JL, Barber LG, Freeman TM, et al (2009): Antioxidant status and biomarkers of oxidative stress in dogs with lymphoma, J Vet Int Med23:311–316

107. Joseph J. Wakshlag prema Ho VW, Leung K, Hsu A, et al (2011): A low carbohydrate, high protein diet slows tumor growth and prevents cancer initiation, Cancer Res71:4484–4493

100. Joseph J. Wakshlag prema Ho VW, Hamilton MJ, Dang NH, Hsu BE, Adomat HH, Guns ES, Weljie A, Samudio I, Bennewith KL, Krystal G (2014): A low carbohydrate, high protein diet combined with celecoxib markedly reduces metastasis, Carcinogenesis, 2291-9

101. Kanga I, Steiman I (2015): Chiropractic management of a patient with breast cancer metastases to the brain and spine: a case report, J Can Chiropr Assoc, 269-78

102. Karolina Palucka,Hideki Ueno, Lee Roberts, Joseph Fay,Jacques Banchereau (2010): DENDRITIC CELLS: ARE THEY CLINICALLY RELEVANT?, Cancer J, 318–324

103. Kasala D, Lee SH, Hong JW, Choi JW, Nam K, Chung YH, Kim SW, Yun CO (2017): Synergistic antitumor effect mediated by a paclitaxel-conjugated polymeric micelle-coated oncolytic adenovirus, Biomaterials,145:207-222

104. Kikawa KD, Herrick JS, Tateo RE, Mouradian M, Tay JS, Pardini RS (2010): Induced oxidative stress and cell death in the A549 lung adenocarcinoma cell line by ionizing radiation is enhanced by supplementation with docosahexaenoic acid, Nutr Cancer, 1017-24

105. Korkmaz A, Oter S, Deveci S, Goksoy C, Bilgic H (2001): Prevention of further cyclophosphamide induced hemorrhagic cystitis by hyperbaric oxygen and mesna in guinea pigs, J Urol.,1119-23

106. Korman DB (2014): Alternative means of drug therapy for cancer: antineoplastons--antitumor properties and mechanisms of action, Vopr Onkol, 449-56

107. Kögel B, Terlinden R, Schneider J (2014): Characterisation of tramadol, morphine and tapentadol in an acute pain model in Beagle dogs, Vet Anaesth Analg, 297-304

108. Lascelles BD, Gaynor JS, Smith ES, Roe SC, Marcellin-Little DJ, Davidson G, Boland E, Carr J (2008): Amantadine in a multimodal analgesic regimen for alleviation of refractory osteoarthritis pain in dogs, J Vet Intern Med, 53-9

109. Long JP, Greco SC (2000): The effect of propofol administered intravenously on appetite stimulation in dogs, Contemp Top Lab Anim Sci,43-6

110. Ma J, Ma Z, Li W, Ma Q, Guo J, Hu A, Li R, Wang F, Han S (2013): The mechanism of calcitriol in cancer prevention and treatment, Curr Med Chem, 4121-30

111. Martinez SA, Wilson MG, Linton DD, Newbound GC, Freise KJ, Lin TL, Clark TP (2014): The safety and effectiveness of a long-acting transdermal fentanyl solution compared

with oxymorphone for the control of postoperative pain in dogs: a randomized, multicentered clinical study, J Vet Pharmacol Ther,394-405

112. Na Shang, Matteo Figini, Junjie Shangguan, Bin Wang, Chong Sun, Liang Pan, Quanhong Ma, Zhuoli Zhang (2017): Dendritic cells based immunotherapy, Am J Cancer Res, 2091–2102

113. Nabavi SF, Bilotto S, Russo GL, Orhan IE, Habtemariam S, Daglia M, Devi KP, Loizzo MR, Tundis R, Nabavi SM (2015):Omega-3 polyunsaturated fatty acids and cancer: lessons learned from clinical trials, Cancer Metastasis Rev, 359-80

114. Olsen CE, Sellevold S, Theodossiou T, Patzke S, Berg K (2017): Impact of genotypic and phenotypic differences in sarcoma models on the outcome of photochemical internalization (PCI) of bleomycin, Photodiagnosis Photodyn Ther., pii: S1572-1000(17)30347-2

115. P. Lees, L. Pelligand, M. Whiting,P-L. Toutain, M. L. Whitehead (2017): Comparison of veterinary drugs and veterinary homeopathy: part 2, Vet Rec,181(8): 198–207

116. Penza M, Montani C, Jeremic M, Mazzoleni G, Hsiao WL, Marra M, Sharma H, Di Lorenzo D (2007): MAK-4 and -5 supplemented diet inhibits liver carcinogenesis in mice, BMC Complement Altern Med, 8;7:19

117. Pokrovsky VS, Vinnikov D (2017): L-Asparaginase for newly diagnosed extra-nodal NK/T-cell lymphoma: systematic review and meta-analysis, Expert Rev Anticancer Ther,759-768

118. Roth, Jack A (2005): Adenovirus p53 gene therapy, Journal

119. Sánchez Domínguez J (2016): THE GIFT OF THE APPLICATION OF REIKI THERAPY IN CANCER PATIENTS, Rev Enferm; 39(6):38-49

120. Schrempp DR, Childress MO, Stewart JC, Leach TN, Tan KM, Abbo AH, de Gortari AE, Bonney PL, Knapp DW (2013): Metronomic administration of chlorambucil for treatment of dogs with urinary bladder transitional cell carcinoma: J Am Vet Med Assoc. 1;242

121. Selmic LE, Burton JH, Thamm DH, Withrow SJ, Lana SE (2014): Comparison of carboplatin and doxorubicin-based chemotherapy protocols in 470 dogs after amputation for treatment of appendicular osteosarcoma, J Vet Intern Med., 28(2):554-63

122. Smaglo BG, Aldeghaither D, Weiner LM (2014): The development of immunoconjugates for targeted cancer therapy, Nat Rev Clin Oncol, 637-48

123. Soto M, Campanario R, Saiz R, Juárez A (2016): Complete response to tyrosine kinase inhibitors in metastatic renal cancer. Report of four cases, Arch Esp Urol, 440-3

124. St Louis D, Verma IM (1988): An alternative approach to somatic cell gene therapy, Proc Natl Acad Sci U S A, 3150-4

125. Susanna Hilda Hutajulu, Johan Kurnianda, I Bing Tan,Jaap M Middeldorp (2014): Therapeutic implications of Epstein–Barr virus infection for the treatment of nasopharyngeal carcinoma, Ther Clin Risk Manag, 721–736

126. Taylor F, Gear R, Hoather T, Dobson J (2009): Chlorambucil and prednisolone chemotherapy for dogs with inoperable mast cell tumours: 21 cases, J Small Anim Pract.,284-9

127. Tian Y, Liu G, Wang H, Tian Z, Cai Z, Zhang F, Luo Y, Wang S, Guo G, Wang X, Powell S, Feng Z (2017): Valproic acid sensitizes breast cancer cells to hydroxyurea through inhibiting RPA2 hyperphosphorylation-mediated DNA repair pathway, DNA Repair (Amst), 58:1-12

128. TJ, Thamm DH (2010): Doxorubicin and cyclophosphamide for the treatment of canine lymphoma: a randomized, placebo-controlled study, Vet Comp Oncol 8:188

129. Vahidi R, Safi S, Farsinejad A, Panahi N(2015): Citrate and celecoxib induce apoptosis and decrease necrosis in synergistic manner in caninemammary tumor cells, Cell Mol Biol (Noisy-le-grand);61(5):22-8

130. Vail DM, MacEwen EG, Kurzman ID, Dubielzig RR, Helfand SC, Kisseberth WC, London CA, Obradovich JE, Madewell BR, Rodriguez CO Jr, et al (1995): Liposome-encapsulated muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine adjuvant immunotherapy for splenic hemangiosarcoma in the dog: a randomized multi-institutional clinical trial, Clin Cancer Res, 1165-70

131. Van Hoesen K, Meynier S, Ribaux P, Petignat P, Delie F, Cohen M (2017): Circulating GRP78 antibodies from ovarian cancer patients: a promising tool for cancer cell targeting drug delivery system?, Oncotarget, 107176-107187

132. Vilar E, Perez-Garcia J, Tabernero J (2011): Pushing the envelope in the mTOR pathway: the second generation of inhibitors, Mol Cancer Ther 10:395–403

133. Wakshlag JJ, Rassnick KM, Malone EK, Struble AM, Vachhani P, Trump DL, Tian L (2011): Cross-sectional study to investigate the association between vitamin D status and cutaneous mast cell tumours in Labrador retrievers, Br J Nutr, 106 Suppl 1:S60-3

134. Wallenberg M, Misra S, Björnstedt M (2014): Selenium cytotoxicity in cancer, Basic Clin Pharmacol Toxicol, 377-86

135. Warry E, Hansen RJ, Gustafson DL, et al (2011): Pharmacokinetics of cyclophosphamide after oral and intravenous administration to dogs with lymphoma, J Vet Intern Med 25:903

136. Wu X, Chung VC, Hui EP, Ziea ET, Ng BF, Ho RS, Tsoi KK, Wong SY, Wu JC (2015): Effectiveness of acupuncture and related therapies for palliative care of cancer: overview of systematic reviews, Sci Rep, 26;5:16776

137. Yadav AA, Chee GL, Wu X, Patel D, Yalowich JC, Hasinoff BB (2015): Structure-based design, synthesis and biological testing of piperazine-linked bis-epipodophyllotoxin etoposide analogs, Bioorg Med Chem, 23(13):3542-51

138. Yang Y, Bedford MT (2013): Protein arginine methyltransferases and cancer, Nat Rev Cancer,37-50

139. Yuan JM (2013): Cancer prevention by green tea: evidence from epidemiologic studies, Am J Clin Nutr,1676S-1681S

140. Zhou D, Zhao ZY (2015): [Advances in measles virus for cancer therapy], 44(4):458-64

5. Sažetak

U ovom radu su prikazani suvremeni modaliteti liječenja tumorskih bolesti u pasa i mačaka, odnosno, pristupi kao što su primjena citostatika,imunoterapija, genska terapija, potporna terapija te segmenti iz alternativne i komplementarne terapije.
Ukratko su izneseni rezultati pojedinih studija koje su se osvrnule na noviji pristup liječenja tumorskih bolesti te mogućnost primjene istih u svakodnevnoj praksi.
Brojni modaliteti teoretski zadovoljavaju kriterije za mogućnost svakodnevne primjene, no za primjenu istih u praksi, potrebna su daljnja istraživanja.
Sama ideja rada je omogućiti kliničaru detaljniji pregled dostupnih mogućnosti od kojih se neke,već, izvan našeg područja, svakodnevno primjenjuju.

Ključne riječi: tumor, suvremeni modaliteti, kemoterapija, genska terapija, imunoterapija,

6. Summary

CONTEMPORARY MODES OF CONSERVATIVE THERAPY FOR TUMOR DISEASES IN DOGS AND CATS IN VETERINARY MEDICINE

In this diploma essay are presented the current modalities of treating tumor diseases in dogs and cats, such as cytostatics, immunotherapy, gene therapy, supportive therapy, and segments from alternative and complementary therapies.
Briefly, it presents the results of some studies that looked at the new approach for treatment of tumor diseases and their ability to apply them in everyday practice.
Numerous modalities in theory fulfill the criteria for the possibility of everyday use, but for their application in practice, further research is needed.
The very idea of work is to provide for the clinician more detailed overview of the available features, some of which, outside of our area, are applied daily.

Key words:tumor, modern modalities, chemotherapy, gene therapy, immunotherapy

7. Životopis

Rođena sam 22.05.1993. godine u Puli. Nakon što sam završila Osnovnu školu Veli Vrh u Puli, upisala sam Opću gimnaziju u Puli. Tijekom studiranja na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu volontirala sam na izložbi „Reptilomanija+“ te također bila član udruge „Equus“, a prve dvije godine studija sam i bila demonstrator na Zavodu za kemiju i biokemiju iz kolegija „Biokemija u veterinarskoj medicini“.