

Kombinierte Anwendung von Strahlentherapie und DNS Tumor Vakzine zur Behandlung des oralen malignen Melanoms beim Hund: Eine Pilotstudie

A. Herzog¹, J. Buchholz¹, K. Ruess-Melzer¹, J. Lang², B. Kaser-Hotz¹

¹Animal Oncology and Imaging Center, Hünenberg, ²Abteilung für bildgebende Diagnostik, Departement für klinische Veterinärmedizin, Universität Bern

Zusammenfassung

Melanome sind die häufigsten Tumore der Maulhöhle des Hundes. Sie sind gekennzeichnet durch rasantes Wachstum, lokale Infiltration und eine hohe Tendenz zur Metastasierung. Das Ziel der vorliegenden Studie war es, die Strahlentherapie mit der DNS Tumor Vakzine zeitgleich anzuwenden und die auftretenden Nebenwirkungen zu evaluieren. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Nebenwirkungen beider Therapien durch die gleichzeitige Applikation nicht zunehmen. Die Bestrahlung von 9 Hunden erfolgte in 4 Fraktionen von je 8 Gray, einmal wöchentlich. Die Vakzine wurde 4-mal im Abstand von je 14 Tagen verabreicht, wobei die erste Impfung bei der ersten Bestrahlungsfraction appliziert wurde. Lokale akute Strahlenreaktionen wurden nach dem VRTOG Beurteilungsschema während einer Zeitspanne von 7 Wochen ausgewertet. Bei keinem der Hunde überstiegen die strahlenbedingte Mukositis, Dermatitis und Konjunktivits Grad 2. Bei 3 Hunden wurde Lethargie, mildes Fieber und lokale Schwellung an der Injektionsstelle nach der Impfung beobachtet. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die gleichzeitige Anwendung der beiden Therapiemodalitäten von allen Hunden gut toleriert wurde.

Schlüsselwörter: orales Melanom, Hund, Strahlentherapie, DNS Tumor Vakzine

Concurrent irradiation and DNA tumor vaccination in canine oral malignant melanoma: A pilot study

Melanoma is the most common oral tumor in dogs, characterized by rapid growth, local invasion, and high metastatic rate. The goal of this study was to evaluate the combination of radiation therapy and DNA tumor vaccine. We hypothesized, that the concurrent use would not increase toxicity. Nine dogs with oral melanoma were treated with 4 fractions of 8 Gray at 7-day intervals. The vaccine was given 4 times every 14 days, beginning at the first radiation fraction. Local acute radiation toxicities were assessed according to the VRTOG toxicity scoring scheme over a time period of 7 weeks. In none of the evaluated dogs, mucositis, dermatitis and conjunctivitis exceeded grade 2. In 3 dogs mild fever, lethargy, and local swelling at the injection site were seen after vaccine application. In conclusion, the concurrent administration of radiation therapy and vaccine was well tolerated in all dogs.

Keywords: oral melanoma, dog, radiation therapy, DNA tumor vaccine

Einleitung

Das Melanom ist der häufigste Tumor der Maulhöhle des Hundes. Das biologische Verhalten dieser oralen Neoplasie ist hochmaligne und wird durch lokale Invasion sowie regionale und Fernmetastasierung charakterisiert. Eine Metastasierungsrate von mehr als 80% ist beschrie-

ben (Bostock, 1979; Todoroff und Brodey, 1979; Smith et al., 2002; Withrow und Liptak, 2007). Die lokale Therapie der Wahl für orale Melanome ist eine radikale Chirurgie. Falls diese aufgrund der Grösse und Invasion des Tumors nicht möglich ist oder vom Besitzer aus kosmetischen Gründen nicht gewünscht wird, kann die Strahlentherapie als Alternative zur Behandlung eingesetzt werden. Die

136 Originalarbeiten/Original contributions

mediane Überlebenszeit von Hunden, die lokal mit Chirurgie oder Strahlentherapie alleine oder in Kombination mit adjuvanten Therapien behandelt wurden, schwankt zwischen 5 und 13 Monaten (Harvey et al., 1981; MacEwen et al., 1986; Kosovsky et al., 1991; Wallace et al., 1992; Bateman et al., 1994; Blackwood und Dobson, 1996; Freeman et al., 2003; Proulx et al., 2003; Murphy et al., 2005). Mit beiden Therapien kann oft eine lokale Kontrolle erzielt werden; die schnelle Metastasierung ist häufig der lebenslimitierende Faktor und somit auch der Hauptgrund für die vorsichtige bis schlechte Prognose (Rassnick et al., 2001; Proulx et al., 2003; Boria et al., 2004). Da verschiedene Chemotherapien beim Melanom des Hundes nur ungenügende Wirksamkeit gezeigt haben, sind neue, adjuvante Therapieoptionen zur Kontrolle der Metastasen erforderlich und sinnvoll. Die Erforschung und Entwicklung von immunologischen Therapieoptionen, wie zum Beispiel die von DNS Tumorimpfungen, scheint gerade für immunogene Tumoren wie das Melanom vielversprechend. Bei der in dieser Studie verwendeten DNS Tumor Vakzine wird ein DNS-Plasmid als Vektor verwendet, in welches eine humane Tyrosinase (huTyr) eingebaut wird. Diese Tyrosinase ist ein melanosomales Glykoprotein, welches bei der Melaninsynthese eine wesentliche Rolle spielt und sowohl auf humanen als auch kaninen Melanomkrebszellen lokalisiert ist. Hunde, die mit der xenogenen DNS Vakzine geimpft werden, entwickeln eine starke Immunantwort, wobei gegen die Melanomkrebszellen gerichtete Antikörper und zytotoxische T-Zellen eine wichtige Rolle einnehmen (Bergman et al., 2003; Bergman et al., 2006; Withrow und Liptak, 2007). Da die meisten Melanompatienten an den Metastasen und nicht am lokalen Geschehen sterben, erscheint eine gleichzeitige Anwendung beider Therapien (Strahlentherapie + Vakzinierung) sinnvoll. Dies vor allem im Hinblick darauf, dass die Vakzine einige Zeit benötigt, um das Immunsystem der Patienten zu aktivieren (Liao et al., 2006). Deshalb wollten wir in unserer Pilotstudie testen, ob die gleichzeitige Anwendung beider Therapiemodalitäten die Nebenwirkungen der einzelnen Therapien verstärkt und somit die Lebensqualität der Patienten negativ beeinflussen würde.

Tiere, Material und Methoden

Tiere

Neun Hunde mit oralem malignen Melanom konnten in diese Studie aufgenommen werden, ihre Daten sind detailliert in der Tabelle 1 aufgeführt. Durchschnittliches Alter und Körpergewicht der Patienten waren 12 Jahre bzw. 19.6 kg. Die Tumore wurden nach dem TNM System der WHO (World Health Organization) für die Klassifizierung oropharyngealer Tumore eingeteilt (Owen, 1980). Die Diagnose des Primärtumors wurde mittels histologischer Untersuchung (n = 8) bzw. Zytologie (n = 1)

gestellt. Für die Auswertung des lokalen Geschehens wurde bei 5 Hunden eine computertomographische Studie angefertigt, wohingegen der Primärtumor der restlichen 4 Hunde mittels Messschieber bemessen wurde. Bei 6 Hunden wurde der Tumor vor Beginn der Strahlen- und Impftherapie chirurgisch entfernt und war somit zu diesem Zeitpunkt mikroskopisch, bei den übrigen 3 Patienten war der Tumor makroskopisch (Tab. 1). Bei allen 9 Hunden wurden die mandibulären Lymphknoten (beidseits) aspiriert und zytologisch evaluiert, zusätzlich wurden in 6 Fällen die retropharyngealen Lymphknoten (beidseits) unter Ultraschallkontrolle aspiriert und ebenfalls zytologisch untersucht. Bei allen Hunden wurden Thoraxröntgenbilder (mindestens zwei Ebenen) zum Ausschluss von Lungenmetastasen angefertigt. Bei 7 Patienten wurde zusätzlich eine Ultraschalluntersuchung des Abdomens durchgeführt. Das Staging wurde durch die klinische Untersuchung der Patienten und eine Blutuntersuchung (Hämatologie, Chemogramm) vervollständigt. Zum Zeitpunkt der Vorstellung wiesen alle 9 Hunde bereits ein fortgeschrittenes Tumorstadium (alle Grad IV) mit regionalen und/oder Fernmetastasen auf (Tab. 1). Alle 9 Hunde wurden im Zeitraum von Februar 2009 bis Februar 2010 im Animal Oncology and Imaging (AOI) Center vorgestellt und behandelt. Die Nachkontrollen der Patienten waren alle 3 Monate nach Beginn der Therapie geplant und beinhalteten eine Feinnadelaspiration der regionalen Lymphknoten, Thoraxröntgenbilder sowie eine Ultraschalluntersuchung des Abdomens.

Radiotherapie

Für die Strahlentherapie wurde ein 6 MV Linearbeschleuniger (Varian Medical Systems, Zug/Schweiz) mit einer Elektronenkapazität von 6–15 MeV verwendet. Alle Hunde wurden mittels Elektronen bestrahlt und die Therapieplanung erfolgte manuell. Das Bestrahlungsprotokoll umfasste 4 Fraktionen von je 8 Gray (Gy). Diese wurden einmal wöchentlich appliziert, bis zu einer Gesamtdosis von 32 Gy. Das Tumorthérapievolumen (planning target volume = PTV) schloss den Primärtumor und einen Sicherheitsaum von 2 cm des gesunden Gewebes mit ein. Die ipsilateralen mandibulären und retropharyngealen Lymphknoten wurden ebenfalls bestrahlt, wohingegen die kontralateralen Lymphknoten nur bestrahlt wurden, wenn sie zytologisch als metastatisch gelesen wurden. Bei einem Hund war der kontralaterale Lymphknoten metastatisch und wurde zusätzlich in einem separaten Feld bestrahlt. Die Strahlendosis der bestrahlten Lymphknoten war die gleiche wie die des Primärtumors.

DNS Tumor Vakzine

Die DNS Vakzine (Merial) wurde insgesamt 4-mal appliziert, mit einem Abstand von je 14 Tagen zwischen den Injektionen. Die erste und zweite Impfung wurde den Hunden jeweils in der Aufwachphase der ersten

Tabelle 1: Patienten, Tumorcharakter, Tumorstadium, Ansprechrate, Wirksamkeit und Todesursache.

Hund	Signalement	Tumor Lokalisation	Pigment	Tumor Grösse (cm)	Metastasen	Tumor Stadium	Ansprechen/Zeit (Tage) der lokalen Kontrolle	Krankheitsfreies Intervall (Tage)	Überlebenszeit (Tage)	Todesursache
1	Englisch Pointer, 16J, mk	Bukkale Mukosa	m	makro (1x1x1)	3	IV	SE (123)	68	123	LM
2	Labrador Retriever, 12J, mk	Maxilla	a	mikro	1	IV	LK (+)	66	154	LM
3	Border Terrier, 12J, mk	Mandibula	m	makro (3x1x1)	1	IV	PR (72)	-	72*	Trachealkollaps
4	Mischling, 10J, mk	Maxilla	a	mikro	1	IV	LK (+)	216	234	LM
5	Siberian Husky, 10J, mk	Maxilla	a	makro (6x4x4)	2	IV	PR (66)	41	66	LM
6	Berger des Pyrénées, 12J, wk	Bukkale Mukosa	a	mikro	1	IV	LK (+)	202	243	LM
7	Berger des Pyrénées, 13J, mk	Mandibula	a	mikro	4	IV	LK (+)	95	161	LM
8	Spanischer Vorstehhund, 14J, wi	Mandibula	a	mikro	1	IV	LK (+)	-	277*	Pyometra
9	Goldener Retriever, 10J, wi	Mandibula	m	mikro	1	IV	LK (+)	-	78*	Leberversagen

mk männlich kastriert, wk weiblich kastriert, wi weiblich intakt, m melanotisch, a amelanotisch, makro makroskopischer Tumor, mikro mikroskopische Erkrankung, 1 Metastase im mandibulären Lymphknoten nur auf der Tumorseite, 2 Metastasen im mandibulären Lymphknoten auf beiden Seiten, 3 Metastasen im mandibulären Lymphknoten auf der Tumorseite und in der Lunge, 4 Metastasen nur in der Leber, LK Lokale Kontrolle bis zum Tod, PR Partielle Remission, SE stabile Erkrankung, + lokale Kontrolle bis zum Tod, LM Lungenmetastasen, * zensiert.

und dritten Bestrahlung injiziert. Eine Booster Impfung wurde alle 6 Monate nach Therapiebeginn geplant. Jeweils 2 Wochen nach jeder Impfung wurde eine Blutuntersuchung (Hämatologie, Chemoogramm) durchgeführt. Die Impfstoffdosis war unabhängig vom Körpergewicht 0.4 ml pro Applikation. Die Injektion erfolgte mit einer speziellen nadelfreien Spritze (Vet Jet Transdermal Injector) im Innenschenkel der Hintergliedmasse, direkt oberhalb der Muskelgruppe M. semimembranosus/M. semitendinosus intramuskulär.

Therapieverlauf und Nachkontrolle

Die Nachkontrolle der Patienten umfasste die Beurteilung der auftretenden Nebenwirkungen und die der Tumorentwicklung. Die akuten Strahlenreaktionen der Haut, Schleimhaut und der Augen wurden nach dem VRTOG (Veterinary Radiation Therapy Group) Beurteilungsschema (LaDue und Klein, 2001) evaluiert und an vier verschiedenen Zeitpunkten beurteilt: 1) bei der zweiten Strahlentherapie, 2) bei der vierten Strahlentherapie, 3) eine Woche nach der letzten Strahlentherapie und der dritten Impfung, und 4) drei Wochen nach der letzten Strahlentherapie und der vierten Impfung. Die Nebenwirkungen der Vakzine wurden in lokale und systemische Reaktionen eingeteilt und an denselben 4 Zeitpunkten evaluiert.

Hunde mit Mukositis und/oder Dermatitis wurden mit Steroiden in einer niedrigen, antiinflammatorischen Dosierung (Prednisolon, Streuli, 0.5–1 mg/kg einmal täglich, p.o.), sowie Amoxicillin Clavulansäure (Clavaseptin, Vetoquinol, 12.5mg/kg, zweimal täglich, p.o.) behandelt. Zur Linderung der akuten Strahlenreaktionen wurden in Schwarztee getränkte Tupfer aufgelegt. Um eine Automutilation zu verhindern mussten die Hunde einen Halskragen tragen. Falls sich die Augen im Strahlenfeld befanden wurden diese regelmässig mittels Schirmertränentest beurteilt und mit Cyclosporin A (Optimune, Veterinaria, zweimal täglich) und Vitamin A Augensalbe (VETA-POS, Farma Medica, zweimal täglich) behandelt.

138 Originalarbeiten/Original contributions

Bei Hunden mit makroskopischem Tumor wurde das Ansprechen auf die Therapie wie folgt definiert: komplette Remission (CR: kein messbarer Tumor), partielle Remission (PR: Tumolvolumenreduktion $\geq 50\%$), stabile Erkrankung (SE: Tumolvolumenreduktion von $< 50\%$ oder Tumolvolumenwachstum $> 25\%$) oder progressive Erkrankung (PE: Tumolvolumenwachstum $> 25\%$ oder Entwicklung neuer Läsionen). Für Hunde mit mikroskopischem Tumor wurde die Zeit der lokalen Kontrolle vom Beginn der Therapie bis zum sichtbaren Rezidiv des Primärtumors definiert. Das progressionsfreie Intervall (PFI) wurde als die Zeit vom ersten Tag der Therapie bis zu einer lokalen Rezidivierung und/oder der Entwicklung von regionalen oder Fernmetastasen definiert. Die mediane Überlebenszeit (MÜZ) wurde definiert als die Zeit vom ersten Tag der Therapie bis zum Tod der Hunde. Zur Berechnung der MÜZ diente die Kaplan-Meier Methode. Zusätzlich wurde das 95%-Konfidenzintervall (95% CI) der MÜZ berechnet. Hunde wurden zensiert, wenn sie für die Nachkontrollen nicht zur Verfügung standen oder wenn sie an einer anderen Erkrankung als dem Melanom starben. Die statistischen Analysen erfolgten mit dem Statistikprogramm SPSS, Version 19.

Ergebnisse

Die Strahlentherapie wurde von allen Hunden beendet, während 2 Patienten die Impfbehandlung abbrechen mussten (Hund 8, 9). Bei einem Hund (Hund 9) wurde die Therapie aufgrund einer kontinuierlichen Leberenzymhöhung nach der dritten Impfung abgebrochen und beim zweiten Hund (Hund 8) wurde die Vakzinierung aufgrund einer zweiten Tumorerkrankung (Mammakarzinom) vorzeitig beendet.

Die akuten Strahlenreaktionen sind in der Tabelle 2 detailliert aufgeführt. Daraus geht hervor, dass 1) keine der Nebenwirkungen Grad 2 überstiegen hat, unabhängig von der Lokalisation der Reaktion, 2) sich die Nebenwirkungen der Mukosa, Dermis und Augen von Beginn der Strahlentherapie bis 1–2 Wochen nach Strahlentherapieende kontinuierlich verschlimmert haben und 3) der Höhepunkt der Mukositis dem Höhepunkt der Dermatitis deutlich voranging. Bei allen Patienten sind die akuten Strahlenreaktionen innerhalb eines Monats abgeklungen. Drei von 9 Patienten zeigten lokale und/oder systemische Nebenwirkungen der Vakzine (lokale Schwellung am Injektionsort, Apathie, mildes Fieber). Bei diesen 3 Hunden waren die Nebenwirkungen innerhalb 12–24 Stunden nach der Applikation ohne Therapie wieder verschwunden.

Alle 6 Hunde mit mikroskopisch sichtbarem Tumor konnten lokal und loko-regional bis zum Tod kontrolliert werden. Zwei Hunde (Hund 3, 5) mit makroskopischem Geschehen hatten bis zum Tod eine partielle Remission, mit einer lokalen Kontrollzeit von jeweils 66 und 72 Tagen. Beim dritten Hund (Hund 1) blieb der Tumor wäh-

rend der ganzen Therapie bis hin zum Tod stabil (123 Tage) (Tab. 1). Drei Hunde wurden aus nicht-tumorasoziierten Gründen euthanasiert (Hund 3: Trachealkollaps, Hund 8: Mammakarzinom + Pyometra und Hund 9: Leberversagen). Keiner der 3 Hunde hatte zum Zeitpunkt des Todes Anzeichen einer Progression des Primärtumors oder der Metastasen. Eine Obduktion wurde in keinem der Fälle durchgeführt. Bei den verbleibenden 6 Hunden entwickelten sich nach einer Zeit von 66–216 Tagen Lungenmetastasen, welche bei allen Patienten der Grund zur Euthanasie war. Das mediane PFI dieser 6 Hunde lag bei 81.5 Tagen (Mittelwert: 114.7 Tagen). Die MÜZ von allen 9 Hunden war 161 Tage (95% CI: 143.5–178.5 Tage) (Tab.1).

Diskussion

Die rasant fortschreitende Metastasierung ist bei der Behandlung oraler Melanome der lebenslimitierende Faktor, weshalb dringend adjuvante, systemische Therapien benötigt werden (Todoroff und Brodey, 1979; Bateman et al., 1994; Blackwood und Dobson, 1996; Freeman et al., 2003; William und Parcker, 2003; Withrow und Liptak, 2007). Eine Alternative zur Chemotherapie könnte, aufgrund der immunogenen Eigenschaften von Melanomen, die Immuntherapie sein, welche bereits potentiell erfolgreiche Ansätze zeigte (Hogge et al., 1998; MacEwen et al., 1999; Rosenberg et al., 2004; Alexander et al., 2005; Terando et al., 2007; Mouawad et al., 2009). Die Entwicklung und Anwendung von DNS Tumorstoffen beim oralen Melanom des Hundes ist vielversprechend und ermutigend. In einer Studie von Bergmann et al. (2003) wurden Melanome von 9 Hunden mit der huTyr DNS Vakzine behandelt. Sie erzielten eine MÜZ von 389 Tagen, wobei die generelle Ansprechrate bei 44% lag. Alle Hunde zeigten direkt bei der Injektion der Impfung eine kleine Quaddel an der Einstichstelle, bei 2 Hunden entwickelte sich diese zu einer milden entzündlichen Reaktion. Systemische Nebenwirkungen konnten bei keinem der Hunde beobachtet werden. Weiter wurde in derselben Studie die Schmerzempfindung bei der Applikation der Vakzine evaluiert. Bei einem Total von 36 applizierten Impfungen an 9 Hunden wurden 3-mal mässige, 26-mal milde und 7-mal gar keine Schmerzempfindung bei der Injektion beschrieben (Bergman et al., 2003). In unserer Studie wurden insgesamt 34 Impfungen bei 9 Hunden appliziert, wobei auch bei unseren Patienten nur milde Schmerzempfindungen beobachtet wurden. Zwei unserer Patienten entwickelten an der Injektionsstelle eine lokale Schwellung, welche innerhalb 1–2 Tagen nach der Injektion verschwand. Diese beiden Hunde und ein dritter Patient ohne lokale Reaktionen, zeigten auch systemische Nebenwirkungen wie Lethargie und mildes Fieber. Bei keinem der Patienten war eine Therapie nötig und die Reaktionen waren selbstlimitierend in einem Zeitraum von 12–24 Stunden nach der

Tabelle 2: Anzahl Hunde, welche zu verschiedenen Zeitpunkten akute Strahlentherapiereaktionen entwickelten: a) 2. Strahlentherapie, b) 4. Strahlentherapie, c) 1 Woche nach der letzten Strahlenfraktion/3. Impfung, d) 3 Wochen nach der letzten Strahlenfraktion/4. Impfung

a)

	Schleimhaut	Haut	Augen
Keine Reaktion	7	9	9
Grad 1	2	0	0
Grad 2	0	0	0
Grad 3	0	0	0

b)

	Schleimhaut	Haut	Augen
Keine Reaktion	0	7	8
Grad 1	6	2	1
Grad 2	3	0	0
Grad 3	0	0	0

c)

	Schleimhaut	Haut	Augen
Keine Reaktion	0	2	8
Grad 1	2	6	0
Grad 2	7	1	1
Grad 3	0	0	0

d)

	Schleimhaut	Haut	Augen
Keine Reaktion	0	0	8
Grad 1	4	6	1
Grad 2	5	3	0
Grad 3	0	0	0

Applikation. Hund 9 zeigte nach der dritten Impfung eine deutliche Erhöhung der Leberenzyme und musste aufgrund eines Leberversagens euthanasiert werden. Da kein anderer Grund für diese Leberwerterhöhung gefunden werden konnte, kann die Vakzine als mögliche Ursache nicht ausgeschlossen werden.

Melanome sind strahlenresponsive Tumore, welche ein gutes Ansprechen auf eine hohe Einzeldosis pro Bestrahlungsfraction (Hypofraktionierung) zeigen (Hornsey, 1978). Bateman et al. (1994) behandelte 18 Hunde mit oralen Melanomen mit einem Protokoll bestehend aus 3 Fraktionen von je 8 Gy an den Tagen 0, 7, 21. Die Ansprechrate lag bei 83% und es wurden nur milde Strahlenreaktionen beschrieben. In einer anderen Studie wurden insgesamt 36 Hunde mit 4 Fraktionen von je 9 Gy, einmal wöchentlich bestrahlt. In dieser Studie lag die Ansprechrate bei 94% und auch hier wurden die Strahlenreaktionen als mild eingestuft (Blackwood und Dob-

son, 1996). In 3 weiteren Studien (Freeman et al., 2003; Proulx et al., 2003; Murphy et al., 2005) wurden ebenfalls hypofraktionierte Strahlentherapieprotokolle zur Behandlung von Melanomen verwendet. Diese Protokolle beschreiben 3–6 Fraktionen zu je 6–10 Gy und wurden auch meistens wöchentlich verabreicht. In denselben 3 Studien wurden akute und chronische Strahlenreaktionen beschrieben. Generell wurden diese als mild eingestuft (Freeman et al., 2003; Proulx et al., 2003; Murphy et al., 2005). In der vorliegenden Studie wurden 4 Fraktionen von je 8 Gy wöchentlich verabreicht. Wir konnten bei gleichzeitiger Anwendung von Strahlentherapie und Impfung nur milde akute Strahlenreaktionen wie Dermatitis, Mukositis und Konjunktivitis beobachten, welche in keinem Fall Grad 2 überstiegen. Interessant war, dass die Mukositis der Dermatitis um 2–3 Wochen voraus ging. Die Zellorganisation der Mukosa ist mit derjenigen der Haut zu vergleichen, die Lebenserwartung der Mukosa-

140 Originalarbeiten/Original contributions

zellen ist jedoch kürzer verglichen mit Epidermiszellen. Daher ist das Auftreten von akuten Nebenwirkungen in der Schleimhaut wesentlich früher zu beobachten.

Nach unserem Wissen ist die vorliegende Studie die erste, welche die gleichzeitige Applikation der Strahlentherapie und der huTyr DNA Melanom Vakzine untersuchte. Unser Interesse lag darin festzustellen, ob die akuten Strahlenreaktionen durch die kombinierte Therapie verstärkt werden. Trotz der geringen Anzahl Patienten konnten wir zeigen, dass die akuten Strahlenreaktionen im Vergleich zu den Strahlenreaktionen, die in der Literatur beschrieben sind und im Vergleich zu unseren persönlichen Erfahrungen mit Hunden, die nur bestrahlt wurden, nicht stärker ausfielen.

Die MÜZ der Patienten, die nur bestrahlt wurden oder zusätzlich mit adjuvanten Therapien behandelt wurden, war in früheren Studien (Bateman et al., 1994; Blackwood und Dobson, 1996; Freeman et al., 2003; Proulx et al., 2003; Murphy et al., 2005) zwischen 5 und 13 Monaten. Die MÜZ der 9 Hunde (Stadium II–IV) der Studie von Bergman et al. (2003), welche mit der DNS Melanom Vakzine behandelt wurden, lag bei 389 Tagen (13.9 Monate). In unserer Studie lag die MÜZ der 9 Hunde bei 161

Tagen (5.8 Monate). Eine mögliche Erklärung für diese eher kurze Überlebenszeit, könnte das bei allen Hunden bereits weit fortgeschrittene Tumorstadium (Stadium IV zum Zeitpunkt des Therapiebeginns) sein. Aufgrund der geringen Patientenzahl müssen unsere Ergebnisse aber mit Vorsicht interpretiert werden, dies war aber auch nicht der primäre Fokus unserer Arbeit.

Wir konnten in unserer Studie zeigen, dass die Nebenwirkungen der beiden gleichzeitig durchgeführten Therapien nicht verstärkt und somit die Lebensqualität der Patienten nicht negativ beeinflusst wurden. Der klinische Nutzen der Kombination von Strahlentherapie und Melanomvakzine muss anhand einer grösseren Anzahl Patienten ermittelt werden.

Dank

Wir danken Dr. Malgorzata Roos für die statistischen Analysen und der Stiftung vergleichender und spezialisierter Veterinärmedizin für die Unterstützung dieser Studie. Weiter möchten wir den Hundebesitzern für die Teilnahme an dieser Arbeit danken.

Utilisation combinée de la radiothérapie et d'un vaccin ADN tumoral dans le traitement du mélanome oral malin chez le chien: une étude pilote

Les mélanomes sont les tumeurs orales les plus fréquentes chez le chien. Elles sont caractérisées par une croissance rapide, une infiltration locale et une forte tendance aux métastases. Le but de la présente étude était d'appliquer simultanément une radiothérapie et un vaccin ADN tumoral et d'en évaluer les effets secondaires. On a postulé que les effets secondaires des deux traitements appliqués ensemble n'augmentaient pas. Le radiothérapie de 9 chiens a été effectuée hebdomadairement en 4 fractions de 8 gray chacune. Le vaccin a été appliqué 4 fois à 14 jours d'intervalle, la première application ayant lieu en même temps que la première séance de radiothérapie. Les réactions aiguës locales à la radiothérapie ont été évaluées selon le schéma VRTOG pendant 7 semaines. Chez aucun chien les inflammations de la muqueuse, les dermatites et les conjonctivites n'ont dépassé le stade 2. Chez 3 chiens, on a observé de la léthargie, une fièvre modérée et une enflure locale au point d'injection après la vaccination. En résumé, on peut constater que l'application simultanée des deux modes de traitement a été bien tolérée par tous les chiens.

Uso combinato di radioterapia e vaccini a DNA tumorali per il trattamento del melanoma orale maligno nei cani: uno studio pilota

I melanomi sono i tumori più frequenti nella bocca dei cani. Essi sono caratterizzati da una rapida crescita, infiltrazione locale e una forte tendenza alla metastasi. Lo scopo di questo studio era di applicare contemporaneamente la terapia di radiazioni con i vaccini a DNA tumorali e valutarne gli effetti collaterali. È stato ipotizzato che gli effetti collaterali di entrambe le terapie non sarebbero aumentati durante l'applicazione simultanea. L'irradiazione è stata eseguita su 9 cani in 4 frazioni di ognuna 8 Gray, una volta la settimana. Il vaccino è stato somministrato 4 volte ad intervalli di 14 giorni, la prima vaccinazione è stata somministrata alla prima frazione di radiazione. Le reazioni locali acute da radiazioni sono state valutate secondo lo schema di valutazione VRTOG per un periodo di 7 settimane. In nessun cane vi è stato un aggravamento della mucosite indotta da radiazioni, della dermatite e della congiuntivite di grado 2. In 3 cani, letargia, febbre lieve e locale gonfiore sono stati osservati nel punto dell'iniezione dopo la vaccinazione. In sintesi si può dire che l'applicazione simultanea delle due modalità di trattamento è stata ben tollerata da tutti i cani.

Literatur

- Alexander A. N., Huelsmeyer M. K., Mitzey A., Dubielzig R. R., Kurzman I. D., MacEwen E. G., Vail D. M.: Development of an allogeneic whole-cell tumor vaccine expressing xenogeneic gp100 and its implementation in a phase II clinical trial in canine patients with malignant melanoma. *Cancer Immunol. Immunother.* 2005, 55: 433–442.
- Bateman K. E., Catton P. A., Pennock P. W., Kruth S. A.: 0–7–21 Radiation therapy for the treatment of canine oral melanoma. *J. Vet. Intern. Med.* 1994, 8: 267–272.
- Bergman P. J., McKnight J., Novosad A., Charney S., Farrelly J., Craft D., Wulderk M., Jeffers Y., Sadelain M., Hohenhaus A. E., Segal N., Gregor P., Engelhorn M., Riviere I., Houghton A. N., Wolchok J. D.: Long-term survival of dogs with advanced malignant melanoma after DNA vaccination with xenogeneic human tyrosinase: a phase I trial. *Clin. Cancer Res.* 2003, 9: 1284–1290.
- Bergman P. J., Camps-Palau M. A., McKnight J. A., Leibman N. F., Craft D. M., Leung C., Liao J., Riviere I., Sadelain M., Hohenhaus A. E., Gregor P., Houghton A. N., Perales M. A., Wolchok J. D.: Development of a xenogeneic DNA vaccine program for canine malignant melanoma at the Animal Medical Center. *Vaccine* 2006, 22: 4582–4585.
- Blackwood L., Dobson J. M.: Radiotherapy of oral malignant melanomas in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1996, 209: 98–102.
- Boria P. A., Murry D. J., Bennett P. F., Glickman N. W., Snyder P. W., Merkel B. L., Schlittler D. L., Mutsaers A. J., Thomas R. M., Knapp D. W.: Evaluation of cisplatin combined with piroxicam for the treatment of oral malignant melanoma and oral squamous cell carcinoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2004, 224: 388–394.
- Bostock D. E.: Prognosis after surgical excision of canine melanoma. *Vet. Pathol.* 1979, 16: 32–40.
- Freeman K. P., Hahn K. A., Harris F. D., King G. K.: Treatment of dogs with oral melanoma by hypofractionated radiation therapy and platinum-based chemotherapy (1987–1997). *J. Vet. Intern. Med.* 2003, 17: 96–101.
- Harvey H. J., MacEwen E. G., Braun D., Patnaik A. K., Withrow S. J., Jongeward S.: Prognostic criteria for dogs with oral melanoma. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1981, 178: 580–582.
- Hogge G. S., Burkholder J. K., Culp J., Albertini M. R., Dubielzig R. R., Keller E. T., Yang N. S., MacEwen E. G.: Development of human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-transfected tumor cell vaccines for the treatment of spontaneous cancer. *Hum. Gene Ther.* 1998, 9: 1851–1861.
- Hornsey S.: The relationship between total dose, number of fractions and fractions size in the response of malignant melanoma in patients. *Br. J. Radiol.* 1978, 51: 905–909.
- Kosovsky J. K., Matthiesen D. T., Marretta S. M., Patnaik A. K.: Results of partial mandibulectomy for the treatment of oral tumors in 142 dogs. *Vet. Surg.* 1991, 20: 397–401.
- LaDue T., Klein M. K.: Veterinary Radiation Therapy Oncology Group. Toxicity of the veterinary radiation therapy oncology group. *Vet. Radiol. Ultrasound* 2001, 42: 475–476.
- Liao J. C., Gregor P., Wolchok J. D., Orlandi F., Craft D., Leung C., Houghton A. N., Bergman P. J.: Vaccination with human tyrosinase DNA induces antibody responses in dogs with advanced melanoma. *Cancer Immunol.* 2006, 6: 8–18.
- MacEwen E. G., Patnaik A. K., Harvey H. J., Hayes A. A., Mattus R.: Canine oral melanoma: comparison of surgery versus surgery plus *Corynebacterium parvum*. *Cancer Invest.* 1986, 4: 397–402.
- MacEwen E. G., Kurzman I. D., Vail D. M., Dubielzig R. R., Everlith K., Madewell B. R., Rodriguez C. O. Jr, Phillips B., Zwahlen C. H., Obradovich J., Rosenthal R. C., Fox L. E., Rosenberg M., Henry C., Fidel J.: Adjuvant therapy for melanoma in dogs: Results of randomized clinical trials using surgery, liposome-encapsulated muramyl tripeptide, and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Clin. Cancer Res.* 1999, 5: 4249–4258.
- Mouawad R., Sebert M., Michels J., Bloch J., Spano J. P., Khayat D.: *Treatment for metastatic malignant melanoma: old drugs and new strategies.* *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2009, 74: 27–39. Epub. Review.
- Murphy S., Hayes A. M., Blackwood L., Maglennon G., Pattinson H., Sparkes A. H.: Oral malignant melanoma – the effect of coarse fractionation radiotherapy alone or with adjuvant carboplatin therapy. *Vet. Comp. Oncology* 2005, 3: 222–229.
- Owen L. N.: *TNM classification of tumors in domestic animals.* World Health Organisation Geneva 1980.
- Proulx D. R., Ruslander D. M., Dodge R. K., Hauck M. L., Williams L. E., Horn B., Price G. S., Thrall D. E.: A retrospective analysis of 140 dogs with oral melanoma treated with external beam radiation. *Vet. Radiol. Ultrasound* 2003, 44: 352–359.
- Rassnick K. M., Ruslander D. M., Cotter S. M., Al-Sarraf R., Bruyette D. S., Gamblin R. M., Meleo K. A., Moor A. S.: Use of carboplatin for treatment of dogs with malignant melanoma: 27 cases (1989–2000). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2001, 218: 1444–1448.
- Rosenberg S. A., Yang J. C., Restifo N. P.: Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. *Nat. Med.* 2004, 10: 909–915.
- Smith S. H., Goldschmidt M. H., McManus P. M.: A comparative review of melanocytic neoplasms. *Vet. Pathol.* 2002, 39: 651–678.
- Terando A. M., Faries M. B., Morton D. L.: Vaccine therapy for melanoma: current status and future directions. *Vaccine* 2007, 25: B4–B16.
- Théon A. P., Rodriguez C., Madewell B. R.: Analysis of prognostic factors and patterns of failure in dogs with malignant oral tumors treated with megavoltage irradiation. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1997, 210: 778–784.
- Todoroff R. J., Brodey R. S.: Oral and pharyngeal neoplasia in the dog: a retrospective survey of 361 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1979, 175: 567–571.
- Wallace J., Matthiesen D. T., Patnaik A. K.: Hemimaxillectomy for the treatment of oral tumors in 69 dogs. *Vet. Surg.* 1992, 21: 337–341.
- William L. E., Packer R. A.: Association between lymph node size and metastasis in dogs with oral malignant melanoma: 100 cases (1987–2001). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2003, 222: 1234–1236.

142 Originalarbeiten/Original contributions

Withrow S. J. and Liptak J. M.: Cancer of the gastrointestinal tract, oral tumors. *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*, 4th Ed. Saunders Elsevier, St. Louis, MO, USA, 2007: 455–475.

Korrespondenz

Andrea Herzog
Animal Oncology and Imaging Center
Rothusstrasse 2a
6331 Hünenberg/Zug
Tel.: +41 (0)41 783 07 77
Fax: +41 (0)41 783 07 79
herzog@aoicenter.ch

Manuskripteingang: 23. März 2012

Angenommen: 7. Mai 2012