



Medicina  
Multidisciplinare

*e-news*

2009/2010

ONCOLOGIA

[www.medicinamultidisciplinare.it](http://www.medicinamultidisciplinare.it)



# Indice

## Gestione di metastasi cutanee mediante elettrochemioterapia: il progetto INSPECT

*J. Gehl, L. W. Matthiessen, A. Humphreys, G. Kessell, T. Muir;*

*Department of Oncology at Herlev Hospital, University of Copenhagen, Herlev, Denmark; Department of Oncology, James Cook University Hospital, Middlesbrough, England; Department of Anaesthesia, James Cook University Hospital, Middlesbrough, England; Department of Plastic Surgery, James Cook University Hospital, Middlesbrough, England.*

*J Clin Oncol 2010; 28:15S (Abstr 8579). . . . . p. 8*

## L'elettrochemioterapia nel controllo di metastasi cutanee da carcinoma mammario localizzate nella zona toracica. Risultati preliminari

*Louise Wichmann Matthiessen<sup>1</sup>, Claus Kamby<sup>1</sup>, Helle Westergren Hendel<sup>2</sup>, Helle Hjorth Johannesen<sup>3</sup>, Julie Gehl<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup> Department of Oncology at Herlev Hospital, University of Copenhagen, Denmark.*

*<sup>2</sup> Department of Clinical Physiology and Nuclear Medicine at Herlev Hospital, University of Copenhagen, Denmark.*

*<sup>3</sup> Department of Radiology at Herlev Hospital, University of Copenhagen, Denmark.*

*ECCO/ESMO, Berlino, Settembre 2009. . . . . p. 14*

## L'elettrochemioterapia nella chirurgia ricostruttiva oncologica: relazione preliminare su cinque casi

*J. Tassinari, G. Orlandino, R. Ardito\*, T. Fabrizio*

*Unità di Chirurgia Plastica Ricostruttiva, \*Unità di Oncologia Medica Ospedale Oncologico della Basilicata, Rionero in Vulture, Potenza.*

*Rivista Italiana di Chirurgia Plastica 2008; 40:55-60. . . . . p. 19*

## Metastasi cutanee da melanoma maligno: una indagine clinica e prognostica

*P. Savoia, P. Fava, T. Nardò, S. Osella-Abate, P. Quaglino and M. G. Bernengo,*

*Dipartimento di Scienze Biomediche e Oncologia Umana, Sezione di Clinica e Dermatologia Oncologica, Università di Torino.*

*Italia Melanoma Research 2009; 19:321-326. . . . . p. 24*

## Chirurgia e radioterapia nel trattamento del melanoma cutaneo

*A. Testori, P. Rutkowski, J. Marsden, L. Bastholt, V. Chiarion-Sileni, A. Hauschild & A. M. M. Eggermont.*

*Annals of Oncology 2009; 20(6):22-29. . . . . p. 30*

## Elettrochemioterapia con bleomicina: risultati clinici di un'esperienza monocentrica su 52 pazienti

*Luca G. Campana<sup>1</sup>, Simone Mocellin<sup>1</sup>, Michela Basso<sup>2</sup>, Oliviero Puccetti<sup>3</sup>, Gian Luca De Salvo<sup>2</sup>, Yanna Chiarion-Sileni<sup>2</sup>, Antonella Vecchiato<sup>2</sup>, Luigi Corti<sup>2</sup>, Carlo R. Rossi<sup>1</sup>, and Donato Nitti<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> *Department of Oncological and Surgical Sciences, Istituto di Clinica Chirurgica Generale II, Policlinico Universitario, 6- Piano Via Giustiniani 2, 33128 Padova, Italy;*

<sup>2</sup> *Istituto Oncologico Veneto, Via Gattamelata 64, 35128 Padova, Italy;*

<sup>3</sup> *Oncologia Medica, Thiene, Via Boldrini, Vicenza, Italy.*

*Ann Surg Oncol 2009; 16(1):191-199. . . . . p. 40*

## Carcinoma metastatico a cellule basali con differenziazione squamosa

*Fabrizio Fantini, MD; Giulio Gualdi, MD; Augusto Cimitan, MD; Alberto Giannetti, MD. Clinica Dermatologica, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia.*

*Arch Dermatol 2008; 144(9):1186-1188. . . . . p. 49*

## L'elettrochemioterapia con bleomicina endovenosa nel trattamento locale di metastasi cutanee da melanoma

*P. Quaglino, MD<sup>1</sup>, C. Mortera, MD<sup>1</sup>, S. Osella-Abate, PhD<sup>1</sup>, M. Barberis, MD<sup>1</sup>, M. Illengo, MD<sup>2</sup>, M. Rissone, MD<sup>1</sup>, P. Savoia, MD<sup>1</sup> and M. G. Bernengo, MD<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> *Department of Biomedical Sciences and Human Oncology, Section of Clinics and Oncological Dermatology, University of Turin, v. Cherasco 23, 10126 Torino, Italy*

<sup>2</sup> *Section of Anaesthesia, San Giovanni Battista Hospital, Turin, Italy.*

*Ann. Surg. Oncol* 2008; 15(8):2215-2222. .... p. 54

## L'elettrochemioterapia nel trattamento dei tumori

*G. Sersa<sup>a</sup>, D. Miklavcic<sup>b</sup>, M. Cemazar<sup>a</sup>, Z. Rudolf<sup>a</sup>, G. Pucihar<sup>b</sup>, M. Snoja,\**

<sup>a</sup> *Institute of Oncology Ljubljana, Zaloska 2, SI-1000 Ljubljana, Slovenia*

<sup>b</sup> *University of Ljubljana, Faculty of Electrical Engineering, Trzaska 25, SI-1000 Ljubljana, Slovenia.*

*European Journal of Surgical Oncology (EJSO)* 2008; 34: 232-240. .... p. 63

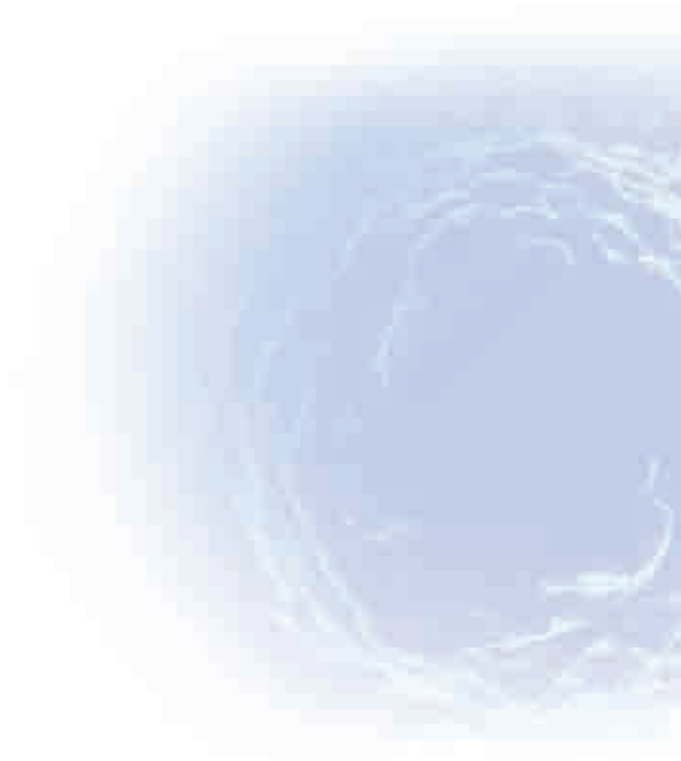
## Trattamento del sarcoma di Kaposi del pene con elettrochemioterapia

*Pietro Curatolo, MD\*, Monica Mancini, MD\*, Arianna Ruggiero, MD\*, Rita Clerico, MD\*,*

*Piero Di Marco, MD°, And Stefano Calvieri, MD\**

*\*Department of Dermatology and °Department of Anesthesia and Intensive Care Unit, University of Rome "La Sapienza" Rome, Italy.*

*Dermatol Surg* 2008;34:1-5. .... p. 72





Illustrissima Dottoressa, Illustrissimo Dottore,

IGEA dal 1980 si pone l'obiettivo di realizzare dispositivi medici per migliorare la qualità di vita dei pazienti. Un impegno che guida negli anni le scelte aziendali.

Scienza, innovazione, progettualità, tecnologia, qualità, efficacia e sicurezza sono i criteri guida per lo sviluppo di dispositivi medici innovativi in collaborazione con il medico.

Nel 2000 IGEA ha deciso di affrontare una nuova sfida: sviluppare la biofisica oncologica, l'applicazione di stimoli fisici a sistemi biologici in campo oncologico. L'obiettivo è offrire al paziente una terapia efficace, sicura, di semplice utilizzo e con minimi effetti collaterali.

IGEA vuole fornire, con questa raccolta di newsletter, un contributo all'aggiornamento del medico sull'elettrochemioterapia.

## Gestione di metastasi cutanee mediante elettrochemioterapia: il progetto INSPECT

*J. Gehl, L. W. Matthiessen, A. Humphreys, G. Kessel, T. Muir;*

*Department of Oncology at Herlev Hospital, University of Copenhagen, Herlev, Denmark; Department of Oncology, James Cook University Hospital, Middlesbrough, England; Department of Anaesthesia, James Cook University Hospital, Middlesbrough, England; Department of Plastic Surgery, James Cook University Hospital, Middlesbrough, England.*

*J Clin Oncol 2010; 28:15S (Abstr 8579)*

L'elettrochemioterapia è una modalità sicura ed efficace di trattamento delle metastasi cutanee. Mediante l'applicazione di brevi impulsi elettrici è possibile permeabilizzare transitoriamente la membrana cellulare (elettroporazione). Ciò consente il libero passaggio di molecole al citosol cellulare in pochi minuti. La citotossicità di bleomicina viene incrementata di più di 300 volte se la somministrazione è associata ad impulsi elettrici. Cliniporator (IGEA, Carpi) consente di rilasciare in modo sicuro e gli impulsi elettrici e fornisce la misura in tempo reale della

corrente elettrica nel tessuto tumorale, indice di una elettroporazione efficace.

L'applicazione di impulsi a tumori cutanei deve essere preceduta da anestesia locale o generale. Viene qui illustrata una situazione di trattamento dove il paziente riceve iniezione locale di bleomicina seguita dall'applicazione di impulsi in anestesia locale. L'applicazione di impulsi dura solo pochi minuti.

L'efficacia della bleomicina nel trattamento di noduli tumorali viene con l'elettroporazione aumentata di centinaia di volte, consentendo un unico tratta-



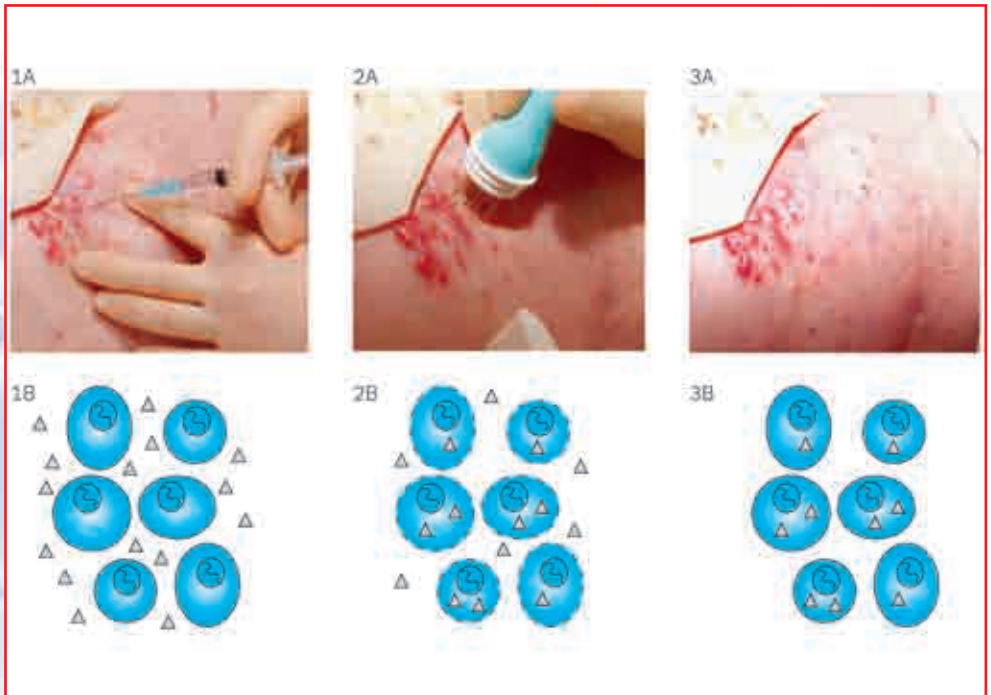


Figura 1. Procedura di elettroporazione II: Viene iniettata bleomicina nel sito tumorale, a una concentrazione di 1000 IU/ml (1 U/ml). Quando vengono applicati gli impulsi elettrici le cellule vengono permeabilizzate e il farmaco entra. Dopo alcuni minuti, le cellule si richiudono e il farmaco extracellulare viene asportato mentre le molecole rimangono intrappolate all'interno delle cellule.

mento ed offrendo sollievo palliativo al paziente. Vengono qui esposti i risultati di uno studio non-randomizzato, provenienti dalle strutture in UK e Danimarca. In questo progetto sono stati arruolati pazienti in maniera prospettica dagli ambiti di chirurgia oncologica e chirurgia plastica per la gestione palliativa di tumori cutanei non trattabili o non rispondenti alle terapie convenzionali. Trattamenti ed esiti sono stati registrati nel database dell'International Network for Sharing Practice in ElectroChemotherapy (INSPECT). I pazienti sono stati sottoposti ad anestesia generale o locale e, a seconda del numero e delle dimensioni dei noduli tumorali, è stata sommi-

nistrata bleomicina per via intra-tumorale ed endovenosa. Gli impulsi elettrici sono stati somministrati mediante un elettroporatore ad onda quadra (Cliniporator, IGEA, Carpi), utilizzando brevi sequenze di impulsi ad alto voltaggio applicati con elettrodi ad ago. In caso ci fossero aree non sufficientemente coperte dal primo ciclo di trattamento è stato somministrato un ulteriore trattamento. 51 pazienti, tra il 2007 ed il 2010, hanno ricevuto un totale di 65 trattamenti di elettrochemioterapia su 196 lesioni (massimo 7 per paziente) dovute a melanoma maligno (40%), cancro al seno (29%), altri adenocarcinomi (10%), carcinoma a cellule squamose (6%) o altri

<b>Diagnosi</b>	<b>Totale (n)</b>	<b>Totale (%)</b>	<b>Herlev (%)</b>	<b>Middlesbrough (%)</b>
ADE	5	10	15	0
BCC	5	10	9	11
CS	15	29	33	21
MM	21	40	36	47
ALT	3	6	0	16
SCC	3	6	6	15

Tabella 1. Istologia tumorale: Distribuzione delle istologie tumorali: ADE (adenocarcinoma, escluso cancro al seno), BCC (carcinoma basocellulare), CS (Cancro al seno), MM (melanoma maligno), ALT (altri), SCC (carcinoma a cellule squamose).

tipi di cancro (16%). Il follow-up mediano (FUP) è stato di 79 giorni. Il FUP per > 60 giorni (85 noduli inferiori a 3 cm, 12 noduli maggiori di 3 cm) ha mostrato un tasso complessivo di risposta nei tumori inferiori a 3 cm dell'86%, con risoluzione completa in 58 (68%), risposta parziale in 15 (18%), nessuna va-

riazione in 5 (6%) e progressione della malattia in 5 (6%). I tumori di dimensioni più ampie (>3 cm) presentavano un tasso di risposta inferiore. Il trattamento è stato ben tollerato, con il 90% dei pazienti che affermavano che avrebbero potenzialmente accettato ulteriore elettrochemioterapia in caso di bisogno.

<b>Follow-up &gt; 60 giorni per 97 noduli</b>				
	<b>Totale (n)</b>	<b>Totale (%)</b>	<b>Herlev (%)</b>	<b>Middlesbrough (%)</b>
CR	58	60	54	68
PR	18	19	20	17
SD	11	11	18	2
PD	7	7	4	12
N/D	3	3	5	0

<b>Dimensione noduli</b>	<b>N</b>	<b>CR</b>	<b>PR</b>	<b>SD</b>	<b>ND</b>	<b>PD</b>	<b>%</b>	<b>CR</b>	<b>PR</b>	<b>SD</b>	<b>ND</b>	<b>PD</b>
<= 3 cm	85	58	15	5	2	5		68	18	6	2	6
> 3 cm	12	0	3	6	1	2		0	25	50	8	17

Tabella 2. Tassi di risposta in funzione della dimensione tumorale. CR: risposta completa; PR: risposta parziale; SD: malattia stabile; PD: progressione della malattia; ND: non definito. I pazienti con metastasi cutanee resistenti ai farmaci rappresentano una sfida.

La elettrochemioterapia è efficace nel ridurre la dimensione e la sintomatologia delle metastasi cutanee. Il ruolo dell'elettrochemioterapia come trattamento palliativo è molto interessante in quanto il trattamento è ben tollerato e il più delle volte può essere eseguito come procedura day-surgery in anestesia locale o generale.



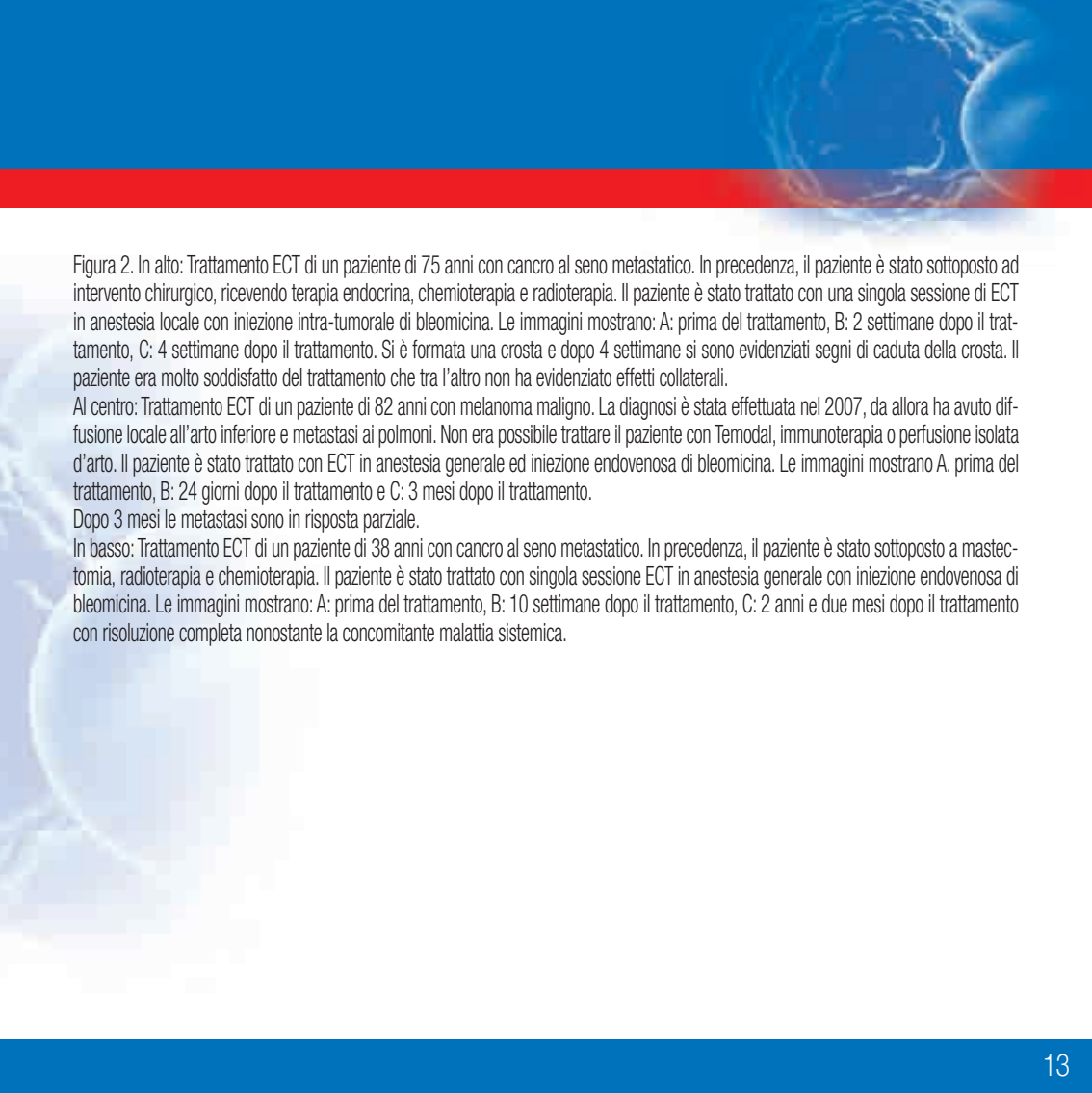


Figura 2. In alto: Trattamento ECT di un paziente di 75 anni con cancro al seno metastatico. In precedenza, il paziente è stato sottoposto ad intervento chirurgico, ricevendo terapia endocrina, chemioterapia e radioterapia. Il paziente è stato trattato con una singola sessione di ECT in anestesia locale con iniezione intra-tumorale di bleomicina. Le immagini mostrano: A: prima del trattamento, B: 2 settimane dopo il trattamento, C: 4 settimane dopo il trattamento. Si è formata una crosta e dopo 4 settimane si sono evidenziati segni di caduta della crosta. Il paziente era molto soddisfatto del trattamento che tra l'altro non ha evidenziato effetti collaterali.

Al centro: Trattamento ECT di un paziente di 82 anni con melanoma maligno. La diagnosi è stata effettuata nel 2007, da allora ha avuto diffusione locale all'arto inferiore e metastasi ai polmoni. Non era possibile trattare il paziente con Temodal, immunoterapia o perfusione isolata d'arto. Il paziente è stato trattato con ECT in anestesia generale ed iniezione endovenosa di bleomicina. Le immagini mostrano A. prima del trattamento, B: 24 giorni dopo il trattamento e C: 3 mesi dopo il trattamento.

Dopo 3 mesi le metastasi sono in risposta parziale.

In basso: Trattamento ECT di un paziente di 38 anni con cancro al seno metastatico. In precedenza, il paziente è stato sottoposto a mastectomia, radioterapia e chemioterapia. Il paziente è stato trattato con singola sessione ECT in anestesia generale con iniezione endovenosa di bleomicina. Le immagini mostrano: A: prima del trattamento, B: 10 settimane dopo il trattamento, C: 2 anni e due mesi dopo il trattamento con risoluzione completa nonostante la concomitante malattia sistemica.

# L'elettrochemioterapia nel controllo di metastasi cutanee da carcinoma mammario localizzate nella zona toracica.

## Risultati preliminari

Louise Wichmann Matthiessen <sup>1</sup>, Claus Kamby <sup>1</sup>, Helle Westergren Hendel <sup>2</sup>, Helle Hjorth Johannesen <sup>3</sup>, Julie Gehl <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Oncology at Herlev Hospital, University of Copenhagen, Denmark.

<sup>2</sup>Department of Clinical Physiology and Nuclear Medicine at Herlev Hospital, University of Copenhagen, Denmark.

<sup>3</sup>Department of Radiology at Herlev Hospital, University of Copenhagen, Denmark.  
ECCO/ESMO, Berlino, Settembre 2009.

### **Recidive alla parete toracica da carcinoma mammario**

L'incidenza a 10 anni di recidiva loco-regionale da cancro al seno è circa del 13% successivamente a mastectomia e del 12% dopo intervento chirurgico conservativo al seno e radioterapia <sup>(1)</sup>. Il trattamento di una recidiva loco-regionale di

cancro al seno dopo mastectomia rimane una sfida dal punto di vista clinico. I pazienti soffrono spesso di ulcerazioni cutanee dolorose, versamenti maleodoranti e sanguinamento. In questi casi ai pazienti vengono proposti vari tipi di trattamento, chirurgia, radioterapia, poli-chemioterapia e terapie endocrine. Le opzioni terapeutiche

comprendono di norma l'asportazione chirurgica o ulteriori sessioni radioterapiche, tuttavia, le percentuali di controllo a lungo termine con questi approcci sono raramente ottimali. La recidiva locale incontrollata rappresenta una grave preoccupazione per il paziente, sebbene solo raramente lo conduca alla morte <sup>(2)</sup>.

L'elettrochemioterapia è un trattamento altamente efficace per noduli tumorali <sup>(3,4)</sup> e potrebbe rappresentare un importante strumento per il controllo sintomatico di questa manifestazione del cancro al seno.

### **Elettrochemioterapia nelle metastasi cutanee da carcinoma mammario localizzate nella zona toracica**

#### *Obiettivi dello studio*

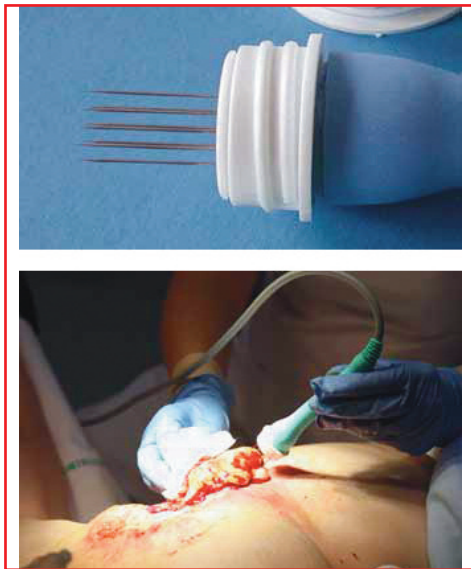
L'obiettivo primario è quello di valutare l'efficacia e la tollerabilità della elettrochemioterapia come trattamento palliativo di recidive loco-regionali di cancro al seno di dimensioni maggiori di 3 cm in diametro.

Gli Obiettivi secondari sono quelli di valutare il Dual Time Point scanning PET associato a scanning CT quale metodica di valutazione del trattamento, nonché il grado di soddisfazione del paziente giudicato tramite la Derriford Appearance Scale, [www.derriford.info](http://www.derriford.info).

### **Materiali e metodi**

Questo è uno studio clinico spontaneo di Fase II. La dimensione del campione programmata è di 28 pazienti (con recidiva loco-regionale di cancro al seno e lesioni maggiori di 3 cm in diametro) basato su progetto ottimale a due stadi per studi clinici di Fase II di Simon <sup>(5)</sup>.

Piano di Trattamento: i pazienti vengono trattati secondo le standard operating procedures della elettrochemioterapia <sup>(6,7)</sup> utilizzando Cliniporator (IGEA, Carpi). I pazienti vengono seguiti per un anno dalla data del trattamento, è possibile, in caso la zona da trattare sia più ampia di quanto gestibile in una unica seduta, effettuare più sessioni (fino a tre) di elettrochemioterapia.



Elettrochemioterapia in anestesia generale. L'elettrodo ad ago (in alto) viene inserito nel tumore (sotto) e vengono somministrati gli impulsi elettrici. L'elettrodo viene spostato per coprire la totalità del tumore.

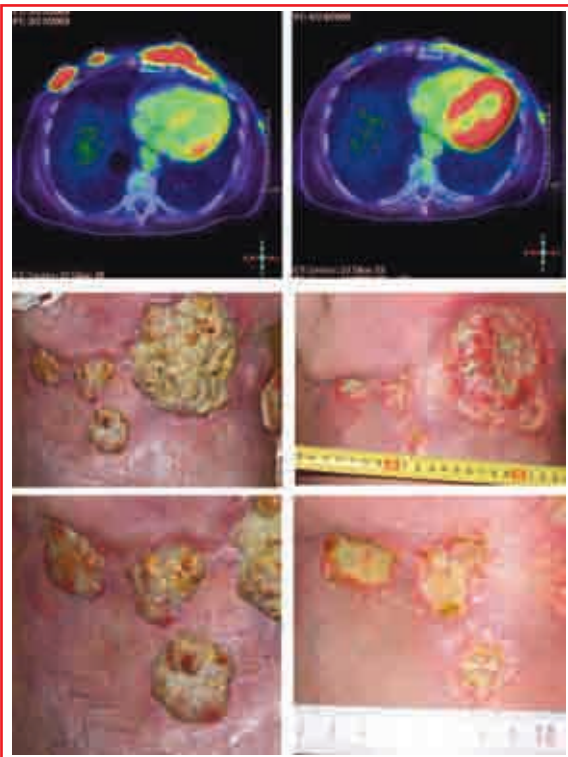
## Risultati

Ad oggi, sono stati trattati 6 pazienti all'interno del protocollo. È stata osservata una considerevole riduzione della massa tumorale in tutti i 6 casi ed in 5 dei 6 pazienti l'area trattata non è progredita dopo trattamento, in un periodo di follow-up di 2 mesi, mentre è stata osservata progressione nelle aree non trattate. Si è ottenuta remissione della sintomatologia specialmente in tre dei quattro pazienti con tumori ulcerati. Non è stato osservato alcun effetto collaterale di rilievo.

## Conclusioni

L'elettrochemioterapia si dimostra promettente nel controllo di metastasi cutanee da carcinoma mammario di grandi dimensioni localizzate nella zona toracica, specialmente se ulcerate, associate ad odore, essudazione e sanguinamento. Le informazioni e l'esperienza derivanti da questo studio potranno potenzialmente beneficiare anche pazienti affetti da altri tipi di carcinoma.





Un case history: paziente di 64 anni con cancro al seno bilaterale recettore negativo, HER2 – negativo, precedentemente trattata con radioterapia (2 Gy x 24 in entrambi i lati e re-irradiata con 3 Gy x 10 al lato sinistro, trattamento sistemico con CEF, Taxotere, Gemcitabin, Vinorelbine e Xeloda) e nonostante ciò, progressione continua delle lesioni cutanee.

Le immagini sulla sinistra mostrano la scansione PET-CT e la fotografia delle lesioni prima del trattamento con elettrochemioterapia; le immagini sulla destra mostrano la scansione PET-CT e la fotografia 1 mese dopo due sessioni con elettrochemioterapia. La PET-CT mostra minor tessuto tumorale con minore attività. Nell'immagine in basso è chiaramente visibile la demarcazione fra pelle sana (con i segni degli aghi) ed il tessuto tumorale necrotico, che evidenzia la conservazione di tessuto sano.

## Bibliografia

1. Gehl J. *Electroporation: theory and methods, perspectives for drug delivery; gene therapy and research.* *Acta Physiol Scand* 2003;177(4):437-47.
2. Gehl J, Skovsgaard T, Mir LM. *Enhancement of cytotoxicity by electroporation: an improved method for screening drugs.* *Anti-Cancer Drugs* 1998;9(4):319-25.
3. Gothelf A, Mir LM, Gehl J. *Electrochemotherapy: results of cancer treatment using enhanced delivery of bleomycin by electroporation.* *Cancer Treatment Reviews* 2003;29(5):371-87.
4. Orlowski S, Belehradek J, Jr., Paoletti C, Mir LM. *Transient electroporation of cells in culture. Increase of the cytotoxicity of anticancer drugs.* *Biochemical Pharmacology* 1988;37(24):4727-33.
5. Simon R. *Optimal two-stage designs for phase II clinical trials.* *Control Clin Trials* 1989 Mar;10(1):1-10
6. Marty M, Sersa G, Garbay JR, Gehl J, Collins CG, Snoj M, et al. *Electrochemotherapy, An easy, highly effective and safe treatment of cutaneous and subcutaneous metastases: Results of ESOPE (European Standard Operating Procedures of Electrochemotherapy) study.* *EJC Supplements* 2006;4(11):3-13.
7. Mir LM, et al. *Standard operating procedure of the electrochemotherapy: instructions for the use of bleomycin or cisplatin administered either systemically or locally and electric pulses delivered by the Cliniporator by means of invasive or non-invasive electrodes.* *EJC* 2006;Suppl 4:14-25.

# L'elettrochemioterapia nella chirurgia ricostruttiva oncologica: relazione preliminare su cinque casi

*J. Tassinari, G. Orlandino, R. Ardito\*, T. Fabrizio*

*Unità di Chirurgia Plastica Ricostruttiva, \*Unità di Oncologia Medica Ospedale Oncologico della Basilicata, Rionero in Vulture, Potenza.*

*Rivista Italiana di Chirurgia Plastica 2008; 40:55-60.*

L'elettrochemioterapia (ECT) è una nuova opportunità terapeutica efficace e semplice per il trattamento locale delle lesioni tumorali del tessuto cutaneo e sottocutaneo, indipendentemente dalla loro istologia. L'ECT è il risultato di due effetti: elettroporazione della membrane cellulare e somministrazione di bassi dosaggi di farmaco. L'ECT si basa sull'applicazione locale di brevi ed intensi impulsi elettrici che rendono permeabile la membrana cellulare in modo reversibile,

facilitando l'ingresso del farmaco nella membrana cellulare e incrementando indirettamente gli effetti citotossici sui tessuti esposti.

L'elettrochemioterapia può essere utilizzata per rimuovere lesioni di piccole o medie dimensioni, per eliminare lesioni di grosse dimensioni in sedute ripetute o per operare una notevole riduzione del volume del tumore creando le condizioni per procedere alla rimozione chirurgica della lesione. La ECT può essere impiegata in pazienti con le-

sioni o metastasi cutanee o sottocutanee singole o multiple.

Gli Autori presentano qui cinque casi di pazienti trattati con elettrochemioterapia applicata con Cliniporator (IGEA, Carpi).

Un caso rappresentativo e molto accuratamente documentato viene riportato di seguito: Paziente C.G., maschio di 77 anni, affetto da carcinoma a cellule squamose della regione laterocervicale che nonostante una precedente asportazione chirurgica seguita da chemioterapia e radioterapia (Figure 1 e 2) ha generato una recidiva locale.

Il paziente è stato sottoposto ad elettrochemioterapia a scopo citoriduttivo, seguita da asportazione chirurgica della lesione.

Il paziente è stato trattato con elettrochemioterapia sotto guida ecografica: applicazione di impulsi elettrici n° 13, frequenza 5 kHz, bleomicina e.v. 17.000 IU (Figure 3, 4).

Dopo l'elettrochemioterapia si è osservata una notevole riduzione della massa tumorale e si è determinata la formazione di un piano sul fascio va-



Figura 1. Recidiva di carcinoma a cellule squamose alla regione cervicale destra.

scolare-nervoso del collo che ha consentito l'asportazione completa del tumore e la ricostruzione plastica del collo 20 giorni dopo il trattamento ECT (Figure 5, 6, 7).



Figura 2. Risonanza Magnetica Nucleare della regione latero-cervicale; evidenza di lesione neoplastica di 3 cm di ampiezza sulla destra del collo. Chiara presenza di tumore cutaneo e sottocutaneo.



Figura 3. Il trattamento ECT con controllo ecografico per evitare nervi cervicali e pedicelli vascolari.



Figura 4. Evidente riduzione del tumore dopo trattamento ECT e tracciato per l'asportazione chirurgica.



Figura 5. Esame ecografico della regione trattata: dopo 20 giorni dalla ECT. È evidente la riduzione del carcinoma al 50% della sua dimensione iniziale, il pedicello vascolare è completamente libero dal tumore.



Figura 6. Regione latero-cervicale destra dell'asportazione chirurgica.



Figura 7. Regione del collo dopo ricostruzione.

## Conclusioni

Il Team Rionero in Vulture ha impiegato l'elettrochemioterapia per ridurre e, successivamente, rimuovere chirurgicamente masse tumorali precedentemente inoperabili. L'elettrochemioterapia è risultata molto efficace e sicura, consentendo all'Unità di Chirurgia Plastica Ricostruttiva di offrire una efficace palliazione dei sintomi a pazienti molto gravi.

La tecnica di elettrochemioterapia nella chirurgia ricostruttiva oncologica può risolvere casi difficili, a causa dell'inoperabilità del tumore per posizione,

istologia e, soprattutto, per le dimensioni.  
L'elettrochemioterapia in chirurgia ricostruttiva on-

cologica può essere di aiuto in casi gravi, inoperabili o, comunque, non responsivi.

## Bibliografia

1. Jaroszeski M.J., Dang V., Pottinger C., Hickey J., Gilbert R., Heller R.: «Toxicity of anticancer agents mediated by electroporation *in vitro*». *Anticancer Drugs*, 11, 201, 2000.
2. Gothelf A., Mir L.M., Gehl J.: «Electrochemotherapy: results of cancer treatment using enhanced delivery of bleomycin by electroporation». *Cancer Treat. Rev.*, 29, 371, 2003.
3. Sersa G., Stabuc B., Cemazar M., Miklavcic D., Rudolf Z.: «Electrochemotherapy with cisplatin: clinical experience in malignant melanoma patients». *Clin. Cancer Res.*, 6, 863, 2000.
4. Byrne C.M., Thompson J.F., Johnston H. et al.: «Treatment of metastatic melanoma using electroporation therapy with bleomycin (electrochemotherapy)». *Melanoma Res.*, 15, 45, 2004.
5. Miklavcic D., Pucihar G., Pavlovic M. et al.: «The effect of high frequency electric pulses on muscle contractions and antitumor efficiency *in vivo* for a potential use in clinical electrochemotherapy». *Bioelectrochemistry*, 65, 121, 2005.
6. Takkenberg R.B., Vrouwenrats B.C., van Geel A.N. et al.: «Palliative isolated limb perfusion for advanced limb disease in Stage IV melanoma patients». *J. Surg. Oncol.*, 91, 107, 2005.
7. Stevens G.: «Radiation therapy in locally advanced melanoma». In: Thompson J.F., Morton D.L., Kroon B.B.R. (eds.). *Textbook of melanoma*. London, Martin Dunitz, 305, 2004.
8. Snoj M., Rudolf Z., Cemazar M., Jancar B., Sersa G.: «Successful sphincter-saving treatment of anorectal malignant melanoma with electrochemotherapy, local excision and adjuvant brachytherapy». *Anti-Cancer Drugs*, 16, 345, 2005.
9. Kubota Y., Tomita Y., Tsukigi M., Karachi H., Motoyama T., Mir L.M.: «A case of perineal malignant melanoma successfully treated with electrochemotherapy». *Melanoma Res.*, 15, 133, 2005.

## Metastasi cutanee da melanoma maligno: una indagine clinica e prognostica

*P. Savoia, P. Fava, T. Nardò, S. Osella-Abate, P. Quaglino and M. G. Bernengo  
Dipartimento di Scienze Biomediche e Oncologia Umana, Sezione di Clinica e Dermatologia Oncologica,  
Università di Torino, Italia.  
Melanoma Research 2009, 19:321-326.*

### **Introduzione**

Non di rado nel decorso clinico dei tumori solidi, con una frequenza variabile fra lo 0,6 ed il 10%, si presentano delle metastasi cutanee, nella maggior parte dei casi associate a malattia avanzata e gravate da prognosi sfavorevole.

Il coinvolgimento cutaneo ed/o sottocutaneo è un evento frequente nel comune decorso clinico del melanoma maligno e può rappresentare una fase sia precoce che avanzata della progressione della malattia. Sulla base della distanza dal melanoma

primario, le metastasi cutanee possono essere descritte come ‘satellitosis’, ‘in-transit disease’ o melanomi cutanei ‘distanti’ che originano da disseminazione ematogena.

Il tipico aspetto clinico è rappresentato da papule pigmentate ed/o noduli, anche se forme e aspetto possano essere eterogenei e siano state descritte un ampio spettro morfologico di lesioni. Questa affezione è spesso angustiante per il paziente, dato che le lesioni cutanee aumentano progressivamente in numero e dimensione



e sono spesso complicate da ulcerazioni, sanguinamenti e dolore.

### **Lo studio**

In questo studio è stato analizzato un database di 4.865 pazienti con melanoma, diagnosticati e seguiti in maniera prospettica per un periodo di 30 anni, con particolare attenzione ai pazienti con coinvolgimento cutaneo secondario, allo scopo di chiarire meglio le caratteristiche clinico patologiche e di valutare l'impatto di differenti schemi di coinvolgimento cutaneo sulla prognosi.

Il primo sito di recidiva è stato definito come: (i) 'locoregionale', in presenza di metastasi cutanee satelliti o 'in-transit' cresciute fra il sito del melanoma primario ed il linfonodo regionale e (ii) 'distante', in presenza di localizzazioni cutanee oltre il linfonodo regionale.

La progressione della malattia è stata documentata nel corso del follow-up in 1.674 di 4.030 pazienti con melanoma primario inclusi

nello studio; in 733 casi è stato evidenziato un interessamento cutaneo locoregionale o distante.

La valutazione dell'insorgenza delle metastasi cutanee ha evidenziato:

1. in 413 (56.3%) di 733 pazienti con lesioni cutanee, la cute è risultata il primo sito di apparizione di metastasi dopo diagnosi di melanoma primario;
2. mentre 208 (28.4%) pazienti hanno sviluppato metastasi cutanee successivamente all'insorgenza di comprovata malattia metastatica ai linfonodi regionali;
3. in 23 pazienti (3.1%) è stato riscontrato coinvolgimento cutaneo successivo a disseminazione viscerale;
4. in 89 pazienti (12%) sono state rilevate metastasi cutanee al momento della diagnosi di metastasi nodali o viscerali, anche se non è stato possibile identificare l'esatto momento della loro apparizione [Tabella 1].

La figura 1 mostra un differente schema di in-

**Tabella 1 Siti di interessamento cutaneo basati sul tempo di recidiva**

<b>Metastasi cutanee</b>	<b>Regionali (n)</b>	<b>Distanti (n)</b>	<b>Totale, N (%)</b>
Al primo sito metastatico	369	44	413 (56.3)
Dopo interessamento linfonodale	134	74	208 (28.4)
Dopo interessamento viscerale	8	15	23 (3.1)
In concomitanza a viscerale ed/o linfonodalea	70	19	89 (12.1)
Totale, N (%)	581 (79.3)	152 (20.7)	733 (100)

In questo gruppo sono stati inclusi tutti i pazienti nei quali sono state riscontrate metastasi cutanee al momento della diagnosi di metastasi viscerali o nodali, anche se l'insorgenza di interessamento cutaneo non era valutabile in modo preciso.

teressamento cutaneo (locoregionale vs. disseminato), correlato al tempo di insorgenza ( $\chi^2$ : 81.12;  $P < 0.001$ ). Quando sono insorte le metastasi al primo sito di recidiva, è stata osservata preponderanza di localizzazioni locoregionali. Quando esse si sono manifestate successivamente a dissezione dei linfonodi regionali, sembravano essere locoregionali in 134 di 208 pazienti (64.4%) ed interessamenti cutanei distanti nei restanti 74 pazienti (35.6%). Per con-

tro, metastasi cutanee disseminate erano osservate frequentemente dopo coinvolgimento viscerale (15 di 23 casi; 65%) [Figura 1].

### **Conclusioni**

Le metastasi cutanee rappresentano un evento relativamente frequente nella storia naturale di melanoma. L'incidenza riportata varia sensibilmente, dal 2 al 20%; in questo studio, la cute è stata interessata in circa il 18% dei pazienti con

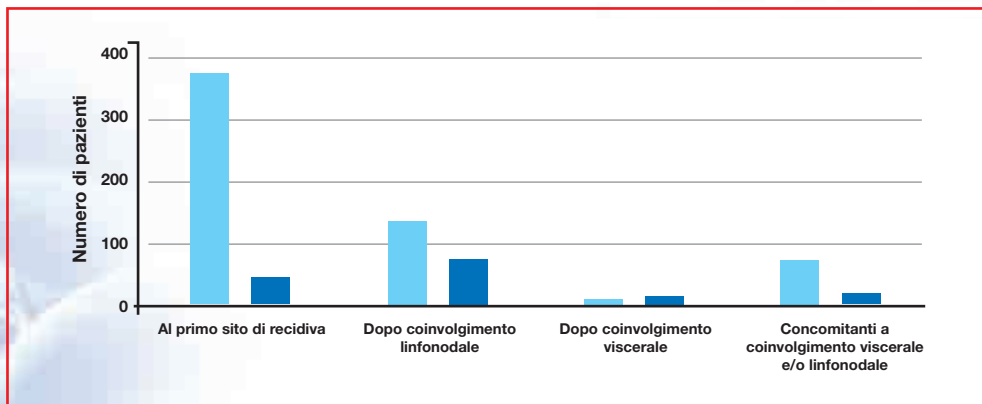


Figura 1. Differenti schemi di interessamento cutaneo (locoregionale vs. disseminato), correlati al tempo di insorgenza ( $\chi^2$ : 81.12;  $P < 0.001$ )

melanoma. Lo sviluppo di metastasi cutanee è stato documentato sia come evento precoce che avanzato.

In questo studio, il sito di recidiva è stato definito come locoregionale o distante sulla base dell'AJCC aggiornato. L'interessamento locoregionale è il modo più comune in cui si presentano le metastasi cutanee, per circa l'80% dei casi, mentre le metastasi distanti sono state

documentata solo nel 20% dei pazienti. L'interessamento locoregionale si è osservato più frequentemente come primo sito di recidiva, mentre le metastasi distanti sono comparse in pazienti con malattia metastatica avanzata e si sono evidenziate come primo sito di recidiva solo in 44 pazienti (10.6%).

Le terapie locali (chirurgia, perfusione isolate d'arto, elettrochemioterapia) possono rappre-

sentare la prima scelta in pazienti con localizzazione locoregionale, grazie alla loro relativamente positiva prognosi, rispetto a quelli con interessamento cutaneo distante.

Recentemente è stata chiaramente evidenziata l'efficacia dell'elettrochemioterapia nel trattamento del melanoma. In un lavoro precedentemente pubblicato dagli stessi autori, è stata ottenuta con elettrochemioterapia, un risposta nel 93% dei casi, con 58% di remissione completa e senza alcuna evidenza di recidiva nel corso di un follow-up mediano di 21 mesi. Inoltre, il trattamento è risultato generalmente ben tollerato, con meno effetti collaterali rispetto alla perfusione d'arto e, in aggiunta, richiede solo minima sedazione generale; le sessioni di elettrochemioterapia possono anche essere ripetute a brevi intervalli.

Perciò, l'elettrochemioterapia può rappresentare una valida risorsa terapeutica, specialmente per quei pazienti con metastasi cutanee regionali.

Per contro, pazienti con metastasi cutanee disseminate associate ad un significativamente più breve TTP verso la malattia metastatica avanzata (17.8 mesi), possono avvantaggiarsi di trattamenti sistemici più aggressivi.

Sfortunatamente, le metastasi di melanoma cutaneo e viscerale sono relativamente chemio-resistenti. Attualmente, la percentuale di pazienti con malattia metastatica cutanea che ottengono remissione completa è inferiore al 5% ed il numero di pazienti con risposta durevole è ancora più basso. Perciò, in questi pazienti è decisamente consigliata l'associazione di trattamenti locali e sistemici. In conclusione, questo studio mostra che lo schema dell'interessamento metastatico cutaneo dipende dal sito del melanoma primario ed è strettamente correlato all'esito clinico, specialmente rispetto allo sviluppo dell'interessamento viscerale. Ciò deve essere considerato nella gestione e stratificazione di pazienti arruolati negli studi clinici.

## Bibliografia

1. Spencer PS, Helm TN. Skin metastases in cancer patients. *Cutis* 1987; 39:119–121.
2. Lookingbill DP, Spangler N, Helm KF. Cutaneous metastases in patients with metastatic carcinoma: a retrospective study of 4020 patients. *J Am Acad Dermatol* 1993; 29:228–236.
3. Schwartz RA. Cutaneous metastatic disease. *J Am Acad Dermatol* 1995; 33:161–182.
4. Cohn-Cedermark G, Ma<sup>o</sup>nsson-Brahme E, Rutqvist LE, Larsson O, Singnomklao T, Ringborg U. Outcomes of patients with local recurrence of cutaneous malignant melanoma: a population-based study. *Cancer* 1997; 80:1418–1425.
5. Kretschmer L, Preusser K-P, Neumann C. Locoregional cutaneous metastasis in patients with therapeutic lymph node dissection for malignant melanoma: risk factors and prognostic impact. *Melanoma Res* 2002; 12:499–504.
6. Rols MP, Bachaud JM, Giraud P, Chevreau C, Roche H, Teissie J. Electrochemotherapy of cutaneous metastases in malignant melanoma. *Melanoma Res* 2000; 10:468–474.
7. Gøthelf A, Mir M, Gelh J. Electrochemotherapy: results of cancer treatment using enhanced delivery of bleomycin by electroporation. *Cancer Treat Rev* 2003; 29:371–387.
8. Quaglino P, Mortera C, Osella-Abate S, Barberis M, Illengo M, Rissone M, et al. Electrochemotherapy with intravenous bleomycin in the local treatment of skin melanoma metastases. *Ann Surg Oncol* 2008; 15:2215–2222.
9. Zrada S, Laucius JF, Nathan F, Sato T, Mastrangelo MJ, Berd D. Complete remission of metastatic melanoma after treatment with the Darmouth regimen. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001; 20:361a.

## Chirurgia e radioterapia nel trattamento del melanoma cutaneo

*A. Testori, P. Rutkowski, J. Marsden, L. Bastholt, V. Chiarion-Sileni, A. Hauschiled, A. M. M. Eggermont. Annals of Oncology 2009; 20(6);22-29.*

La diagnosi precoce associata ad una appropriata terapia chirurgica rappresenta attualmente il solo trattamento curativo per il melanoma.

La chirurgia dovrebbe garantire sia il controllo locale della malattia che la sopravvivenza a lungo termine, in assenza di squilibri funzionali ed/o conseguenze estetiche.

Lo scopo del presente articolo è quello di fornire raccomandazioni aggiornate sulla gestione chirurgica del melanoma.

### **Chirurgia dei tumori primari**

Le lesioni cutanee che con alta probabilità sono riconducibili al melanoma dovrebbero fare riferimento al sistema ABCDE (A, asimmetria; B, bordi irregolari; C, variazioni cromatiche; D, diametro >5 mm; E, spessore) o al sistema Glasgow. Tuttavia, >50% dei melanomi sono lesioni de novo che potrebbero non presentare le caratteristiche sopra descritte.

L'incisione bioptica è essenziale per diagnosi accurata e microstaging. Ciò determina la scelta di

ulteriore terapia e fornisce importanti informazioni prognostiche. L'esame microscopico dovrebbe comprendere la valutazione dello spessore Breslow (mm), la presenza di ulcerazioni, l'indice mitotico ( $0 > 1/\text{mm}^2$ ), il livello Clark, la dimensione del margine laterale e di profondità (mm) e la presenza di metastasi locali.

L'indice mitotico è il terzo più importante fattore prognostico indipendente e sarà introdotto nel nuovo sistema di staging AJCC quale standard di riferimento.

L'incisione biotica viene normalmente effettuata con margine laterale di 2 mm ed un orlo di grasso sottodermico. La biopsia ad incisione o perforazione può essere eseguita per lesioni difficili da rimuovere per via della dimensione o dell'ubicazione.

Prima degli anni '70, i margini dell'incisione terapeutica variavano da 3 a  $>5$  cm. Tuttavia, da allora, sei studi prospettici randomizzati (Tabella 1) hanno valutato l'effetto dell'ampiezza dei margini di escissione sulle percentuali di ri-

correnza locale e sulla sopravvivenza. I tassi di controllo locale sono risultati simili in cinque di questi studi, ma uno ha evidenziato un incremento del 25% delle recidive loco-regionali in pazienti con margini ristretti.

Sono stati condotti tre studi sui melanomi inferiori ai 2 mm: il French Cooperative Group Trial e lo Scandinavian Melanoma Group Study hanno comparato margini di 2 cm con margini di 5 cm ed il Melanoma Program Trial no. 10 dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha confrontato margini di 1 e 3 cm. Nessuno di questi studi ha dimostrato un beneficio per margini più ampi (Tabella 1).

Per i melanoma di spessore intermedio (1–4 mm), 486 pazienti dello Studio Intergroup sono stati randomizzati per margini da 2 cm o 4 cm. Le percentuali di recidiva locale (2,1% rispetto a 2,6%, rispettivamente) ed i tassi di sopravvivenza totale (ST) risultavano simili (79% rispetto a 81%, rispettivamente). Nel gruppo di

**Tabella 1. Studi clinici sui margini chirurgici di escissione radicale in melanomi primari (%)**

<b>Studio Clinico [a]</b>	<b>Pazienti (n)</b>	<b>Spessore (mm) [b]</b>	<b>Margini (cm)</b>	<b>Sopravvivenza totale (%)</b>
French Cooperative Group	336	≤2	2 o 5	87/86 (10-anni)
Swedish Melanoma Group	389	≤2	2 o 5	90/93 (5-anni)
WHO Melanoma Group Trial No. 10	612	≤2	1 o 3	87/87 (10-anni)
Intergroup Melanoma Surgical Trial	486	1-4	2 o 4	80/82 (6-anni)
UK Melanoma Study Group	900	≥2	1 o 3	Non riportato; il tasso di rischio di morte 80/82 (6 anni) era simile in entrambi i gruppi (5 anni)
Swedish Melanoma Trial Group	1000	>2	1 o 4	Risultati finali non riportati; I risultati preliminari indicavano assenza di differenze (5 anni)

[a] La sopravvivenza totale non è risultata statisticamente significativa.

[b] Breslow.

pazienti con margini di 2 cm, si sono resi necessari trapianti cutanei solo nell'11% dei casi, rispetto al 46% dei casi nel gruppo con margini di 4 cm ( $P < 0.001$ ). Due studi di ampie dimen-

sioni sono stati eseguiti su pazienti con melanomi di spessore superiore ai 2 mm: lo studio UK Melanoma Study Group (MSG) su 900 pazienti ha messo a confronto margini di 1 e 3 cm



e lo studio Scandinavian su 936 pazienti ha comparato margini da 2 a 4 cm.

Nello studio UK MSG, la ST era simile in entrambi i gruppi, sebbene si riscontrasse una percentuale del 25% più elevata di recidiva loco-regionale nel gruppo con margini ristretti [tasso di rischio (TR) 1,26; P = 0.05]. Nello studio Scandinavian, i cui pazienti randomizzati con melanoma >2,0 mm (pT3, pT4) con margini fra 2 e 4 cm, non ha evidenziato differenze nell'esito per sopravvivenza senza malattia (SSM) o ST.

Sono disponibili meno dati sui melanomi più spessi di 4 mm, dato che condizioni in questa fascia di spessore sono poco comuni. Uno studio ampio, ma non randomizzato, ha mostrato che escissioni con margini più ampi di 2 cm non presentano alcun impatto sulle percentuali di recidiva locale, SSM ed ST. Gli studi UK MSG e Scandinavian comprendevano pazienti con melanomi >4 mm. In generale, la gestione chirurgica del melanoma primario consiste in escissione e chiusura primaria.

In alcuni sottogruppi di pazienti, le raccomandazioni sui margini di escissione si basano unicamente sul giudizio soggettivo. Per i melanomi in situ, il margine raccomandato è di 0,5 cm. Sono stati raccomandati margini più ampi per melanomi desmoplastici a causa della loro aumentata tendenza alla recidiva locale.

L'asse longitudinale di escissione dovrebbe essere nella direzione del drenaggio linfatico e parallela all'asse longitudinale dell'arto. Ciò diminuisce il rischio di linfadenoma (specialmente in caso di successiva dissezione di linfonodo). La chiusura primaria senza orecchio di cane generalmente richiede che l'asse maggiore di una incisione ellittica sia almeno tre volte più lungo dell'asse minore.

La resezione dovrebbe comprendere anche il tessuto sottocutaneo fino a, ma non includendo, la fascia muscolare sottostante. La maggior parte delle ferite con margini di 1–2 cm di escissione possono essere chiuse primariamente. In una minoranza di casi vengono uti-

**Tabella 2. Raccomandazioni per i margini di escissione di melanoma primario basate sullo spessore del tumore**

<b>Spessore del tumore (Breslow)</b>	<b>Margine di escissione definitivo raccomandato</b>
In situ	0,5 cm
≤2,0 mm	1,0 cm
>2,0 mm	2,0 cm

lizzati innesti in fenditura cutanea o lembi ad andamento casuale. Innesti a spessore pieno sono generalmente utilizzati su viso e mani per migliori risultati estetici e cosmetici e possono essere prelevati dalla parte posteriore dell'orecchio, dalla regione sovraclavicolare o inguinale o da un sito di sentinel node biopsy (SNB – biopsia di linfonodi sentinella).

I melanomi del palmo e della pianta del piede, dell'unghia e di capo e collo dovrebbero probabilmente essere trattati, come di consueto, sulla

base dello spessore del tumore. Generalmente, i pazienti con tali lesioni sono stati esclusi dagli studi clinici. Esistono pochi dati soddisfacenti sui margini chirurgici e la chemioterapia coadiuvante per i melanomi della mucosa ed anogenitali.

I melanomi primari localizzati sulle superfici mucose rappresentano <3% di tutti i melanomi, ma sono aggressivi, con solamente il 20% di pazienti vivi a 5 anni. Nelle mucose, i più frequenti sono testa e collo (≥50%), tratto genitale femminile (perlopiù vulva, 20%) e regione ano-rettale (~20%). I più rari sono i melanomi primari originanti da siti del tratto urinario e stomaco/intestino.

L'individuazione precoce è improbabile a causa dell'ubicazione anatomica nascosta. La diagnosi deve essere stabilita dopo biopsia a pieno spessore delle lesioni sospette con l'eccezione di piccole lesioni adatte a biopsia da incisione. La biopsia con incisione dovrebbe comprendere un campione rappresentativo del margine della lesione per facilitare il patologo nel differen-

ziare un melanoma primario della mucosa da una metastasi di melanoma della mucosa.

I melanomi sottoungueali rappresentano <1% dei casi di riferimento terziari. Può solo essere considerata l'amputazione di un dito della mano o del piede. Attualmente sono pratica comune gli approcci di amputazione distale che preservi la funzione o anche quelli di non amputazione. Per i melanomi del viso, si potrebbero compromettere i normali margini di escissione al fine di preservare le caratteristiche estetiche e le funzioni. Non sono disponibili dati per quantificare eventuali esiti avversi di questa pratica. Il melanoma dell'orecchio è trattato mediante escissione a cuneo o con parziale o completa pinnectomy, a seconda dello spessore tumorale e della preferenza del paziente per ricostruzione o protesi.

La Lentigo maligna (LM) è un tipo di melanoma in-situ ed è comunemente localizzata sul capo o sul collo di pazienti >50 anni. Il rischio di progressione a melanoma lentigo maligna invasivo (MLM) è ben noto ma scarsamente quantificato.

Le lesioni possono crescere a 5–10 cm o più. La biopsia è soggetta ad errori di campionamento e potrebbe erroneamente indicare malattia benigna o mancare l'invasione precoce.

La definizione clinica potrebbe essere scarsa, ma può essere aiutata da illuminazione sotto lampada di Wood. Il margine chirurgico richiesto da LM non è stato confermato da alcuno studio randomizzato controllato: 5 mm o più è la norma e fornisce percentuali di cura del 90–95%.

Negli ultimi 10 anni, la procedura sperimentale di SNB è stata utilizzata in modo crescente nella chirurgia dei linfonodi regionali. La SNB consente l'identificazione del primo linfonodo di drenaggio; in caso di positività per melanoma, l'esecuzione di una successiva linfoadenectomia può migliorare la sopravvivenza.

La linfoscintigrafia ed il mapping linfatico è una parte essenziale della procedura SNB, dato che il drenaggio linfatico non può essere previsto accuratamente. La linfoscintigrafia fornisce informazioni topografiche sul numero di bacini linfonodali

e di linfonodi sentinella (SN). Successivamente a linfoscintigrafia e 10 min dopo iniezione intradermica di colorante Vital Blue negli stessi siti del colloide, può essere eseguita la procedura chirurgica. Il Vital Blue non dovrebbe mai essere usato nella testa e nel collo per via del rischio di lasciare un tatuaggio permanente su una parte visibile della pelle o durante la gravidanza. Nel corso della procedura SNB viene utilizzata una sonda  $\gamma$ -detector ( $\gamma$  DP) per seguire il tracciante radioattivo verso un SN singolo o multiplo. Ciò consente una dissezione sicura e minima verso l'SN. La SNB fornisce informazioni accurate di staging, ma, al momento, non viene accreditata di alcun valore terapeutico. Viene generalmente utilizzata in pazienti con melanomi primari di spessore  $\geq 1.0$  mm, sebbene alcuni ricercatori mettano in dubbio la sua utilità in melanomi più spessi di 4 mm. Per melanomi  $< 1$ mm di spessore Breslow possono anche essere presi in considerazione ulcerazioni, tasso mitotico Clark IV e V, tasso mitotico per  $\text{mm}^2$  e scelta del paziente. I bacini più frequentemente

colpiti sono il collo, l'ascella e l'inguine; il coinvolgimento della fossa poplitea o dei linfonodi epitrocleari è raro. La linfadenectomia nel melanoma ha due scopi: potrebbe essere curativa o potrebbe semplicemente prevenire nuove recidive nel sito. Entrambi possono essere ottenuti solo mediante rimozione meticolosa e completa di tutti i nodi a rischio coinvolti. In generale, ciò significa dissezione di tutti e cinque i livelli di linfonodi del collo e di parotidectomia superficiale in caso il sito primario sia ritenuto drenare ai nodi parotidei, tutti e tre i livelli dell'ascella ed i nodi superficiale, inguino-femorale profondo ed ilio-otturatore. I linfonodi pelvici dovrebbero sempre essere inclusi se ingranditi all'imaging pre-operatorio.

### **Chirurgia delle recidive loco-regionali**

La terminologia delle metastasi fra il melanoma primario ed i linfonodi di drenaggio è confusa, incoerentemente definita e di scarso aiuto. In melanomi primari adeguatamente trattati, i termini recidiva locale, metastasi locale, metastasi in-

transito e metastasi satellite sembrano rappresentare tutte lo stesso processo biologico di diffusione intralinfatica oltre il sito di resezione terapeutica. Dato che tutti sono caratterizzati da prognosi sfavorevole, dovrebbero essere trattati in modo simile e sono complessivamente definiti più propriamente come metastasi in transito (in-transit metastases - ITM). È importante rilevare che nel melanoma primario ove non sia stato eseguito adeguato trattamento chirurgico, la recidiva di melanoma nella ferita o in regioni adiacenti potrebbe rappresentare ricrescita di malattia primaria residua piuttosto che metastasi. In questa situazione sarebbe saggio trattare la lesione come melanoma primario spesso, dato che ciò potrebbe costituire una possibilità di cura.

### **Metastasi in-transito**

Il trattamento coadiuvante precoce di melanomi primari ad alto rischio degli arti con chemioterapia regionale potrebbe gestire in modo efficace le ITM subcliniche e migliorare la sopravvivenza.

Sebbene studi in retrospettiva su perfusione di arti isolati (isolated limb perfusion - ILP) con melfalan indicassero un miglioramento nell'esito in melanomi primari ad alto rischio, uno studio prospettico randomizzato di comparazione con resezione ampia ed ILP coadiuvante in 832 pazienti non ha evidenziato alcun beneficio. I tassi di progressione verso metastasi sistemiche e ST risultavano invariati con solo un modesto miglioramento nel controllo locoregionale.

Il trattamento delle ITM degli arti dipende dal loro numero, ubicazione e dimensione.

Le ITM asportabili dovrebbero essere trattate chirurgicamente con margini stretti ma netti. L'amputazione non è indicata e non migliora la sopravvivenza. Con ITM dermiche multiple, può essere impiegata ablazione con laser a biossido di carbonio ma il tasso di recidiva è molto elevato e questa tecnica è limitata a lesioni <1 cm di diametro.

Altre modalità locali incluse la radioterapia, la crioterapia, iniezioni intralesionali e l'elettro-

chemioterapia possono essere utilizzate in situazioni specifiche. La chemioterapia regionale con ILP od infusione di arti isolati (ILI) è una metodica per trattare ITM multiple e frequentemente ricorrenti.

L'elettrochemioterapia è indicata nel trattamento palliativo di lesioni metastatiche superficiali; diversi studi hanno riportato percentuali di risposta superficiale addirittura del 90% con elettrochemioterapia.

## **Radioterapia**

La radioterapia è indicata in pazienti selezionati con lentigo maligna, melanoma e come adiuvante in pazienti con malattia metastatica regionale. La radioterapia è indicata anche come palliazione, specialmente nelle metastasi ossee e al cervello.

## **Bibliografia**

1. Salopek TG, Slade J, Marghoob AA et al. Management of cutaneous malignant melanoma by dermatologists of the American Academy of Dermatology. I. Survey of biopsy practices of pigmented lesions suspected as melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1995; 33: 441–450.
2. Gimotty PA, Elder DE, Fraker DL et al. Identification of high-risk patients among those diagnosed with thin cutaneous melanomas. *J Clin Oncol* 2007; 25:1129–1134.
3. Lens MB, Dawes M, Goodacre T, Bishop JA. Excision margins in the treatment of primary cutaneous melanoma: a systematic review of randomized controlled trials comparing narrow vs wide excision. *Arch Surg* 2002; 137: 1101–1105.
4. Cohn-Cedermark G, Rutqvist LE, Andersson R et al. Long term results of a randomized study by the Swedish Melanoma Study Group on 2 cm versus 5 cm resection margins for patients with cutaneous melanoma with a tumor thickness of 0.8–2.0 mm. *Cancer* 2000; 89: 1495–1501.
5. Thompson JF, Kam PC, Waugh RC, Harman CR. Isolated limb infusion with cytotoxic agents: a simple alternative to isolated limb perfusion. *Semin Surg Oncol* 1998; 14: 238–247.
6. Mir LM, Belehradek M, Domenge C et al. Electrochemotherapy, a new antitumor treatment: first clinical trial. *C R Acad Sci III* 1991; 313: 613–618.
7. Gehl J, Geertsen PF. Efficient palliation of haemorrhaging malignant melanoma skin metastases by electrochemotherapy. *Melanoma Res* 2000; 10: 585–589.
8. Strom EA, Ross MI. Adjuvant radiation therapy after axillary lymphadenectomy for metastatic melanoma: toxicity and local control. *Ann Surg Oncol* 1995; 2: 445–449.
9. Chang DT, Amdur RJ, Morris CG, Mendenhall WM. Adjuvant radiotherapy for cutaneous melanoma: comparing hypofractionation to conventional fractionation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 66: 1051–1055.
10. Sampson JH, Carter JH Jr, Friedman AH, Seigler HF. Demographics, prognosis, and therapy in 702 patients with brain metastases from malignant melanoma. *J Neurosurg* 1998; 88: 11–20.
11. Ewend MG, Carey LA, Brem H. Treatment of melanoma metastases in the brain. *Semin Surg Oncol* 1996; 12: 429–435.
12. Tarhini AA, Agarwala SS. Management of brain metastases in patients with melanoma. *Curr Opin Oncol* 2004; 16

## Elettrochemioterapia con bleomicina: risultati clinici di un'esperienza monocentrica su 52 pazienti

*Luca G. Campana<sup>1</sup>, Simone Mocellin<sup>1</sup>, Michela Basso<sup>2</sup>, Oliviero Puccetti<sup>3</sup>, Gian Luca De Salvo<sup>2</sup>,  
Vanna Chiarion-Sileni<sup>2</sup>, Antonella Vecchiato<sup>2</sup>, Luigi Corti<sup>2</sup>, Carlo R. Rossi<sup>1</sup>, and Donato Nitti<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Department of Oncological and Surgical Sciences, Istituto di Clinica Chirurgica Generale II,  
Policlinico Universitario, 6- Piano Via Giustiniani 2, 33128 Padova, Italy;*

*<sup>2</sup>Istituto Oncologico Veneto, Via Gattamelata 64, 35128 Padova, Italy;*

*<sup>3</sup>Oncologia Medica, Thiene, Via Boldrini, Vicenza, Italy.*

*Ann Surg Oncol 2009; 16(1):191-119.*

Nell'ambito di uno studio prospettico non randomizzato, sono stati sottoposti ad ECT 52 pazienti consecutivi con metastasi superficiali da differenti tipologie di tumore e non idonei ad intervento chirurgico o radioterapia.

È stata somministrata Bleomicina per via endovenosa o intratumoralmente. Mediante due tipi di elettrodo ad ago (parallelo e/o esagonale), con

Cliniporator, (IGEA, Carpi). I 52 pazienti sono stati valutati, mediante esame fisico ed ultrasonografico, nonché con analisi del sangue a 2, 4, 8, 12 e 16 settimane e successivamente secondo il follow-up standard, la risposta tumorale secondo la Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) e la tossicità locale e sistemica.



I pazienti la cui malattia è stata ritenuta non rispondente o parzialmente rispondente alla terapia alla visita di 4 settimane sono stati inseriti nel programma di ritrattamento.

In quanto trattamento locale, la ECT non ha causato la comparsa di metastasi in aree anatomiche precedentemente non affette al di fuori del campo di trattamento; pertanto, questi noduli sono stati considerati nuove lesioni e perciò indicati per ulteriore applicazione ECT. La durata della risposta è stata considerata dalla data di ottenimento della risposta alla recidiva/progressione oppure all'ultimo follow-up in caso di assenza locale di malattia. La correlazione fra la completa risposta locale ed il diametro massimo della lesione target è stata valutata mediante il test di tendenza Cochran-Armitage.

È stata valutata la qualità della vita del paziente mediante un questionario dedicato prima del trattamento (prima sessione ECT) e ad 1 e 2 mesi successivamente. In conseguenza della valutazione di ipotesi multiple, è stato considerato sta-

tisticamente significativo un valore di  $P < 0,01$ .

Dei 52 pazienti arruolati, 34 avevano metastasi da melanoma in transito e, di queste, 20 casi erano di stadio III dell'American Joint Committee on Cancer e 14 di Stadio IV (11 di malattia parenchimatosa). Undici pazienti presentavano recidive alla parete toracica da carcinoma della mammella. I rimanenti pazienti avevano sarcoma dei tessuti molli localmente ricorrente ( $n = 5$ ), ricorrenza avanzata locale di carcinoma del collo e del capo ( $n = 1$ ) e carcinoma epidermoide loco-regionale recidivante posto nel tronco ( $n = 1$ ). Nessuno presentava coinvolgimento tumorale parenchimatoso. I noduli tumorali erano prevalentemente situati nella regione del capo e del collo, nel tronco e negli arti in 5, 28 e 19 pazienti rispettivamente.

Trentadue (62%) dei 52 pazienti erano stati trattati precedentemente almeno con due cicli di chemio od immunoterapia sistemica senza risposta superficiale e 12 (31%) dei 39 pazienti con melanoma o sarcoma erano stati trattati con

chemioterapia loco-regionale (perfusione isolata dell'arto o perfusione stop flow). Almeno 1 mese dopo la ECT, 25 (48%) di 52 pazienti sono stati sottoposti a trattamenti convenzionali, principalmente chemioterapia sistemica, secondo il giudizio dell'oncologo.

L'attività antitumorale è stata rilevata in tutti i tipi di tumore e sia nelle metastasi da melanoma che in quelle non-melanoma (è stata ottenuta ri-

sposta completa [CR] in 17 su 34 pazienti con melanoma ed in 9 su 18 pazienti non-melanoma). Un mese dopo la prima applicazione ECT, 125 (47%) delle 267 lesioni target hanno raggiunto CR, 126 (47%) risposta parziale (PR) e 16 (6%) nessuna variazione (NC).

Per quanto concerne i fattori influenzanti la risposta tumorale, si è osservata una correlazione inversa fra la risposta completa locale ed il dia-

Tipo di tumore	Dimensione del tumore					Confluente
	< 5 mm	6 - 10 mm	11-20 mm	21-30 mm	> 30 mm	
Melanoma	25	55	47	10	34	-
Mammella	8	32	14	9	8	-
Sarcoma	-	8	2	-	5	-
Cancro squamoso	-	-	-	-	8	-
Cancro del capo e del collo	-	-	-	-	-	1
Totale	33 (12,4%)	95 (35,7%)	63 (23,7%)	19 (7,1%)	55 (20,7%)	1 (0,4%)

metro massimo della lesione target (Test di tendenza Cochran-Armitage,  $P=0,0035$ ): 66% per tumori  $\leq 1,5$  cm, 36% per noduli fra 1,6 e 3 cm e 28% per quelli  $>3$  cm.

Sono state trattate 608 lesioni alla prima sessione terapeutica ECT, con dimensioni comprese fra 2 e 57 (media, 22) mm. Nel totale dei noduli ( $N=608$ ), 262 (43%) hanno evidenziato CR, 306 (50%) PR e 40 (7%) NC.

Un mese dopo la prima applicazione ECT è stata ottenuta risposta obiettiva in 50 (96%) su 52 pazienti.

In particolare, secondo i criteri RECIST, ci sono state 26 risposte complete (50%) e 24 parziali (46%). In due pazienti (4%) non c'è stata variazione nella dimensione tumorale.

Il trattamento delle lesioni tumorali ha dato luogo ad una reazione infiammatoria, risoltasi alla fine del follow-up in 46 (88%) di 52 pazienti. La tossicità dermatologica loco-regionale è stata lieve: sono state osservate reazioni al sito di iniezione di grado I-II secondo i comuni criteri tossicologico-

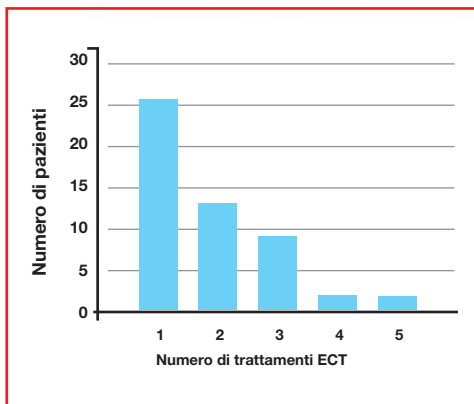


Figura 1. Distribuzione dei pazienti secondo il numero di trattamenti di elettrochemioterapia effettuati.

Fra i 26 pazienti complete responders alla prima sessione ECT, 17 erano localmente liberi da malattia dopo un follow-up mediano di 9 (range 2-21) mesi.

27 pazienti sono stati sottoposti ad un secondo ciclo di ECT (14 a causa di PR, 7 per nuove lesioni, 4 sia per PR che per nuove lesioni, 2 per risposta NC), di questi 18 hanno evidenziato CR locale e 9 PR. In totale sono stati elettroporati 257 noduli tumorali nella seconda applicazione ECT.

Di questi, 169 sono scomparsi completamente (65,7%) ed 86 hanno ottenuto PR (34,3%).

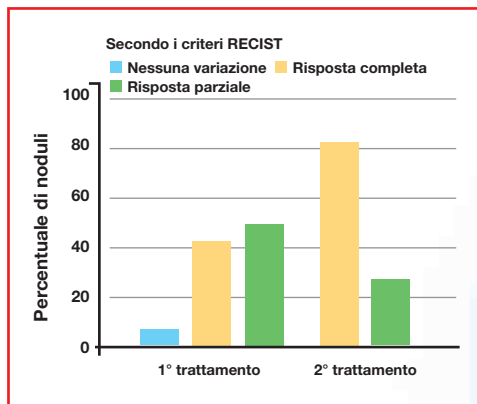


Figura 2. Risposta tumorale locale dopo la prima applicazione di elettrochemioterapia su 608 noduli e dopo il secondo trattamento su 257 noduli. NC: nessuna variazione; CR: risposta completa; PR: risposta parziale secondo il Response Evaluation Criteria in Solid Tumors criteria.

gici in quattro pazienti.

Il questionario per la valutazione della percezione del paziente è stato completato in 36 casi (69%). I segni correlati alla patologia, quando presenti, sono risultati i seguenti: difficoltà a se-

dersi (come conseguenza del trattamento di vaste aree tumorali sulla schiena, n = 4), cammino (per noduli tumorali al piede, n = 2), fare il bagno (per malattia ulcerativa, n = 2), fasciature (per trasudamenti, n = 7), masticazione (nodulo tumorale sulla mucosa orale, n = 1) e dolore (n = 22).

Trentaquattro (94%) su 36 pazienti hanno segnalato un impatto positivo della ECT su uno o più degli elementi studiati prima e dopo il trattamento (guarigione, sanguinamento, danno estetico, attività quotidiane, relazioni sociali, controllo del dolore). Quasi tutti i pazienti (93%) hanno espresso un beneficio locale, come dimostrato dal miglioramento dei punteggi di valutazione delle ulcerazioni e del sanguinamento, con valutazione di un aspetto estetico migliore da parte di 31 su 36 pazienti. Fra questi pazienti, cinque con noduli tumorali sulla regione del capo e del collo hanno indicato un miglioramento nell'aspetto esteriore alle osservazioni ad 1 e 2 mesi. Nove pazienti hanno segnalato un miglioramento in alcune attività quotidiane in conseguenza del

trattamento del tumore e sei nelle relazioni sociali (Fig. 3). È stato rilevato un miglior controllo del dolore in 9 su 22 pazienti con noduli tumorali dolorosi. Globalmente, 34 su 36 pazienti sono stati soddisfatti del trattamento, 1 incerto ed 1 non soddisfatto; 34 (94%) di 36 pazienti sono stati soggetti a ulteriori ECT in caso di recidiva. La somma dei punteggi ottenuti nei sei fattori considerati (sanguinamento, ulcerazioni, estetica, dolore, attività quotidiane, relazioni sociali) riportata al termine della ECT (ad 1 mese e 2 mesi) era statisticamente significativa se comparata con quella registrata prima del trattamento ( $P < 0,005$ ).

### Commento

Nel complesso, in questa esperienza il tasso di risposta locale dopo 1 mese dalla prima ECT è stato notevole ed è aumentato ulteriormente dopo la seconda applicazione ECT. Inoltre, considerata la severità dei casi trattati (il 27% dei pazienti presentava noduli  $>3$  cm), questo studio

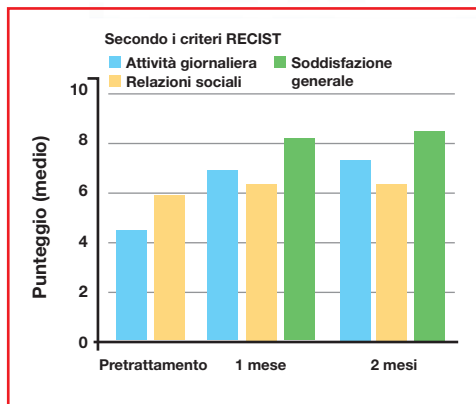


Figura 3. Risultati dei noduli tumorali trattati riferiti dai pazienti secondo un questionario di otto elementi. In figura si possono notare i punteggi medi per Attività quotidiana (0 = danno grave, 10 = nessuna lamentela); Relazioni sociali (0 = danno grave, 10 = nessuna lamentela) e Soddisfazione generale (0 = minima, 10 = massima).

supporta l'indicazione di trattamento con ECT anche per noduli  $>3$  cm, sebbene in questi casi la risposta tumorale possa richiedere applicazioni multiple. Infatti, la risposta locale era inversa-

mente correlata con il diametro massimo delle lesioni target: il diametro medio dei noduli con CR era 15 mm, mentre quello delle lesioni regredite parzialmente è stato di 30 mm. Questi dati sono in accordo con esperienze cliniche precedenti e recenti.

Gli incoraggianti risultati ottenuti con il trattamento ECT non modificano la storia naturale della malattia, poiché un numero considerevole di pazienti è andato incontro a progressione viscerale o ha manifestato nuove lesioni metastatiche superficiali. Tuttavia, i pazienti possono trarre beneficio da applicazioni aggiuntive di ECT e mantenere un buon controllo delle manifestazioni cutanee del tumore.

Le metastasi cutanee possono avere un impatto negativo sulla qualità di vita del paziente, specialmente se richiedono intensive fasciature, perciò il loro trattamento potrebbe assicurare la preservazione delle funzionalità del paziente ed il suo benessere. Negli ultimi anni, si è sviluppato un interesse crescente ad incorporare i punti

di vista dei pazienti, al momento di misurare i benefici clinici delle terapie antitumorali.

Nell'ambito degli strumenti validati per la valutazione della qualità di vita, nessun questionario è specifico per i trattamenti locali palliativi delle metastasi superficiali.

In questo studio è stata elaborata una intervista basata su otto punti per valutare la percezione del paziente dell'impatto della malattia superficiale e del suo trattamento nella popolazione allo studio. Quasi tutti i pazienti hanno riportato un miglioramento nelle condizioni cutanee locali, aspetto fisico o attività quotidiane e relazioni sociali. Questa percezione positiva del trattamento, insieme con la limitata tossicità connessa alla ECT, verosimilmente spiega l'elevato tasso di accettazione del ri-trattamento. In effetti, sarebbe giustificato uno studio con una valutazione successiva della qualità di vita nel periodo di the follow-up per validare questi dati favorevoli.

In conclusione, l'esito favorevole ottenuto dai 52 pazienti in questo studio indica che la ECT è

un'opzione di trattamento affidabile che può migliorare la loro funzione, migliorando così la cura fornita dal trattamento palliativo.

Può distruggere con successo le metastasi superficiali di differenti tipi di tumore e la sua limitata tossicità, anche in aree che richiederebbero altrimenti interventi chirurgici sfiguranti, può

consentire l'associazione ad altre terapie anti-cancro. I benefici ottenuti in termini di qualità della vita, sebbene preliminari, dovrebbero essere presi in considerazione come un notevole risultato e necessitano di essere ulteriormente valutati dopo formale validazione del questionario dedicato.

## **Bibliografia**

1. Chen C, Smye SW, Robinson MP, et al. Membrane electroporation theories: a review. *Med Biol Eng Comput.* 2006;44:5-14.
2. Somiari S, Glasspool-Malone J, Drabick JJ, et al. Theory and in vivo application of electroporative gene delivery. *Mol Ther.* 2000;3:178-87.
3. Heller R, Jarozeski MJ, Atkin A, et al. In vivo gene electroinjection and expression in rat liver. *FEBS Lett.* 1996;389:225-8.
4. Cemazar M, Sersa G. Electrotransfer of therapeutic molecules into tissues. *Curr Opin Mol Ther.* 2007;9:554-62.
5. Mossop BJ, Barr RC, Henshaw W, et al. Electric fields in tumors exposed to external voltage sources: implication for electric field mediated drug and gene delivery. *Ann Biochem Eng.* 2006;34:1564-72.
6. Mir LM. Therapeutic perspectives of in vivo cell electroporability. *Bioelectrochemistry.* 2000;53:1-10.
7. Belehradek M, Domenge C, Luboinski B, et al. Electrochemotherapy, a new antitumor treatment. First clinical phase I-II trial. *Cancer.* 1993;72:3694-700.
8. Mir LM, Orlowski S. Mechanisms of electrochemotherapy. *Adv Drug Del Rev.* 1999;35:107-18.
9. GonthelF A, Mir LM, Gehl J. Electrochemotherapy: results of cancer treatment using enhanced delivery of bleomycin by electroporation. *Cancer Treat Rev.* 2003;29:371-87.
10. Sers'a G. The state-of-the-art of electrochemotherapy before the ESOPE study; advantages and clinical use. *EJC Suppl.* 2006; 4:52-9.
11. Mir LM, Gehl J, Sersa G, et al. Standard operating procedures of the Electrochemotherapy: instructions for the use of bleomycin or cisplatin administered either systemically or locally and electric pulses delivered by the Cliniporator by means of invasive or noninvasive electrodes. *EJC Suppl.* 2006;4:14-25.

12. Marty M, Sers̃a G, Garbay JR, et al. Electrochemotherapy An easy, highly effective and safe treatment of cutaneous and subcutaneous metastases: results of ESOPE study. *EJC Suppl.* 2006;4:3-13.
13. Therasse P, Arbuick SG, Eisenhauer EA. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92:205-16.
14. Rolz-Cruz G, Kim CC. Tumor invasion of the skin. *Dermatol Clin.* 2008;26:89-102.
15. Rols MP, Bachaud JM, Giraud P, et al. Electrochemotherapy of cutaneous metastases in malignant melanoma. *Melanoma Res.* 2000;10:468-74.
16. Giardino R, Fini M, Bonazzi V, et al. Electrochemotherapy a novel approach to the treatment of metastatic nodules on the skin and subcutaneous tissues. *Biomed Pharmacol.* 2006;60:458-62.
17. Garbay JR, Billard V, Bernat C, et al. Successful repetitive treatments by Electrochemotherapy of multiple unresectable Kaposi sarcoma nodules. *EJC Suppl.* 2006;4:29-31.
18. Whelan MC, Larkin JO, Collins CG, et al. Effective treatment of an extensive recurrent breast cancer which was refractory to multimodal therapy by multiple applications of Electrochemotherapy. *EJC Suppl.* 2006;4:32-4.
19. Colombo GL, Di Matteo S, Mir LM. Cost-effectiveness of Electrochemotherapy with the Cliniporator vs other methods for the control and treatment of cutaneous and subcutaneous tumors. *Ther Clin Risk Manag.* 2008;4:1-8.
20. Mir LM, Glass LF, Sersa G, et al. Effective treatment of cutaneous and subcutaneous malignant tumours by electrochemotherapy. *Br J Cancer.* 1998;77:2336-42.
21. Byrne MC, Thompson JF, Johnston H, et al. Treatment of metastatic melanoma using electroporation therapy with bleomycin (electrochemotherapy). *Melanoma Res.* 2005;15:45-51.
22. Gaudy C, Richard MA, Folchetti G, et al. Randomized controlled study of Electrochemotherapy in the local treatment of skin metastases of melanoma. *J Cutan Med Surg.* 2006, 10:115-21.
23. Larkin JO, Collins CG, Aarons S, et al. Electrochemotherapy: aspects of preclinical development and early clinical experience. *Ann Surg.* 2007;245:469-79.
24. Quaglini P, Mortera C, Osella-Abate S, et al. Electrochemotherapy with intravenous bleomycin in the local treatment of skin melanoma metastases. *Ann Surg Oncol.* 2008;15:2215-22.
25. Domenge C, Orłowski S, Luboinski B, et al. Antitumor electrochemotherapy: new advances in the clinical protocol. *Cancer.* 1996;77:956-63.



## Carcinoma metastatico a cellule basali con differenziazione squamosa

*Fabrizio Fantini, MD; Giulio Gualdi, MD; Augusto Cimitan, MD; Alberto Giannetti, MD.  
Clinica Dermatologica, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia.  
Arch Dermatol. 2008;144(9):1186-1188.*

Sintesi dell'articolo originale a cura della Redazione di "Medicina Multidisciplinare" Un uomo di 75 anni è stato visitato presso la nostra clinica per una lesione cutanea in progressiva espansione all'ascella destra. Il percorso clinico del paziente evidenziava radioterapia locale per idrosadenite e progressiva ipoestesia del braccio destro negli ultimi mesi. L'esame fisico rivelava un nodulo pigmentato (1,5 x 1,0 cm) fissato ai piani profondi, in un'area di pelle atrofica e cicatrizzata.

È stata eseguita un'ampia incisione cutanea, insieme a linfadenectomia ascellare. In sede chirurgica era evidente una massa profondamente infiltrata avvolta da tessuto fibroso, che raggiungeva la tonaca avventizia della vena ascellare. I reperti dell'esame istopatologico hanno evidenziato un carcinoma a cellule basali (BCC) con differenziazione squamosa infiltrato nei tessuti molli perivascolari. I linfonodi erano negativi alle cellule tumorali.

Dopo 1 anno si è presentata una recidiva locale, consistente in noduli perilesionali cutanei e sottocutanei nel braccio linfedematoso e nell'ascella. È stata eseguita un'ampia incisione chirurgica dei tessuti molli ascellari con resezione parziale della vena ascellare (sostituita con la safena). Dopo un ulteriore anno, l'esame di follow-up clinico e strumentale ha rivelato metastasi mediastiniche, polmonari ed ossee. Un progressivo, massivo linfedema del braccio destro superiore, con esteso coinvolgimento cutaneo e sottocutaneo di lesioni multiple nodulari ed a placche, perlopiù ulcerate, ha condotto ad un danno funzionale grave, peggiorandone fortemente la mobilità e la qualità di vita del paziente. In particolare, si è sviluppata un'ampia ed ulcerata placca neoplastica nell'ascella destra, nel della lesione originale. È stata avviata chemioterapia sistemica con cisplatino e fluorouracile, con risultati solo parziali e temporanei. A causa del rischio e della morbidità della chirurgia palliativa, si è deciso di provare l'utilità della ECT nel controllo della diffusione cutanea

del tumore e per ridurre la disabilità del paziente. Nella prima sessione di terapia, sono state selezionate 2 lesioni nodulari sul braccio destro (Figura A) ed 1 sulla schiena per la ECT con bleomicina intralesionale, secondo le procedure ESOPE.(1)

Nei giorni successivi l'ECT è stata osservata una risposta rapida, con necrosi ulcerativa delle 2 lesioni seguita da progressivo restringimento tumorale, con esito di guarigione clinica in 1-3 mesi (Figura B). La regressione dei noduli tumorali è stata confermata istologicamente mediante biopsia cutanea eseguita dopo 2 mesi, che ha rivelato fibrosi dermica in assenza di noduli tumorali (Figure C-D). È stata eseguita una seconda sessione ECT con bleomicina intralesionale 1 mese dopo su 3 differenti noduli, con simile esito. Una ulteriore sessione ECT con bleomicina endovenosa (15000 IU/m<sup>2</sup>, seguita da elettroporazione entro 8-28 minuti) eseguita 2 mesi dopo su diverse altre lesioni cutanee del braccio destro e del tronco hanno prodotto com-

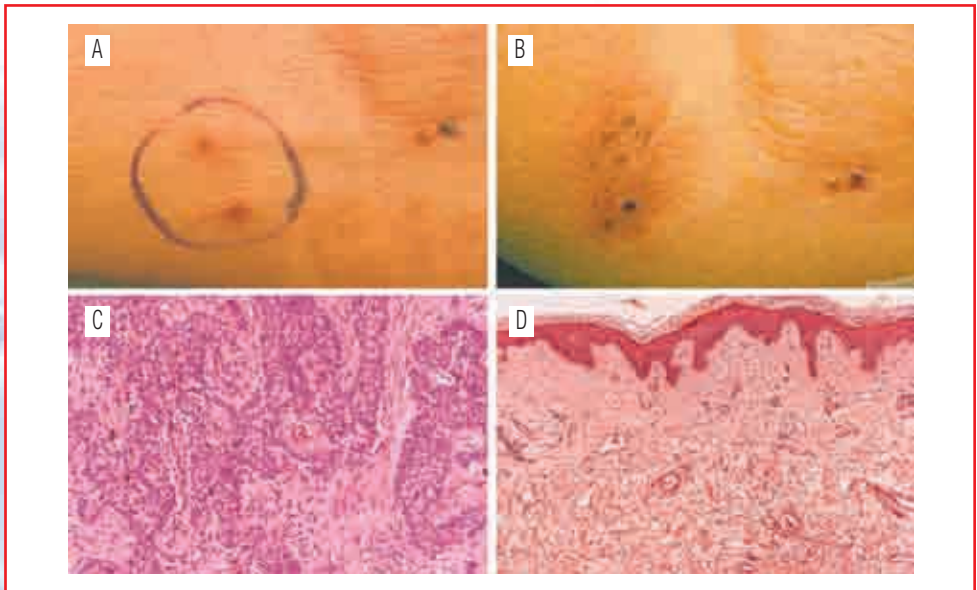


Figura. Aspetti clinici (A e B) ed istologici (C e D) dei noduli di carcinoma a cellule basali (BCC) nel braccio destro trattato con elettrocoaguloterapia. A, Noduli metastatici pretrattati scelti per il primo test con ECT (cerchio); B, aspetto clinico ad 1 mese dopo la ECT. Notare il restringimento dei noduli (circondati dai segni degli elettrodi) e la reazione infiammatoria in atto. I due noduli sulla destra non sono stati trattati. C, Aspetto istologico prima della ECT. Notare la differenziazione squamosa focale fra i filamenti infiltrati di cellule basali (ematossilina-eosina, ingrandimento originale X100). D, Reperti istologici 3 mesi dopo ECT mostrano completa regressione delle metastasi di BCC (ematossilina-eosina, ingrandimento originale X50).

pleta regressione clinica delle lesioni. Tre mesi dopo, una improvvisa estesa trombosi venosa profonda alle gambe complicata da perforazione intestinale ed insufficienza renale acuta hanno condotto alla morte rapida. Non è stata eseguita autopsia. Fino al decesso del paziente, non è stato rilevato segno di recidiva tumorale in tutti i siti trattati.

## Commento

L'elettrochemioterapia si è dimostrata una terapia efficace e ben tollerata per i tumori solidi sia in studi sperimentali che clinici.<sup>(2,3)</sup> In diversi studi clinici, l'ECT con bleomicina ha fornito le migliori percentuali di risposta nel BCC nell'ambito di diversi tumori cutanei primari e secondari,<sup>(2,4-6)</sup> con risposta completa fino al 94,4% dei casi dopo 1 sessione di trattamento.<sup>(4)</sup> Abbiamo perciò deciso di utilizzare ECT con bleomicina nei nostri pazienti quale trattamento palliativo per ridurre il peso del tumore ed il disagio del paziente. Dopo i primi risultati favorevoli con bleomicina

intralesionale, siamo passati alla somministrazione endovenosa per trattare più lesioni nella stessa sessione. Nella scelta fra somministrazione intralesionale ed endovenosa, si dovrebbero considerare le possibili differenze nella distribuzione del farmaco nella zona del tumore (per es., in casi di difetti di circolazione) e gli aspetti pratici terapeutici e tecnici (es, il numero di noduli da trattare, gli effetti collaterali e quelli tossici dose-dipendenti, la tempistica fra la somministrazione del farmaco e l'elettroporazione). Nel nostro caso, entrambe le modalità di ECT si sono dimostrate efficaci nel controllo locale di metastasi cutanee di BCC in condizioni cliniche (numero, disseminazione e vicinanza delle lesioni, grave linfoedema dell'arto), mentre altri approcci, quali la chirurgia o la radioterapia, sarebbero stati inadatti e pericolosi, per via dell'elevato rischio di ulcerazioni, sanguinamento, infezione e ritardata guarigione. È stata osservata guarigione completa per intenzione secondaria entro 3 mesi, con effetti colla-

terali minimi. La risposta terapeutica è avvenuta senza alcun incremento di morbilità per il paziente in condizioni di conservazione del tessuto ed a basso rischio per le dosi minime di bleomicina, anestesia locale ed assenza di ferite chirurgiche. Per quanto noto a noi, il nostro caso è il primo a verificare il ruolo potenziale della ECT quale terapia palliativa nel BCC metastatico. L'elettrochemioterapia ha consentito il trattamento rapido di lesioni multiple, riducendo no-

tevolmente i rischi, i tempi passivi e gli effetti collaterali tipici di chirurgia, radioterapia e chemioterapia sistemica. In conclusione, l'ECT rappresenta una efficace, sicura e ben tollerata opzione terapeutica per il trattamento di tumori cutanei difficili da trattare, e vale la pena di tenerla in considerazione in casi selezionati nei quali l'estensione delle lesioni o le condizioni del paziente fanno sì che siano controindicate le tecniche tradizionali.

## ***Bibliografia***

1. Mir LM, Gehl J, Sersa G, et al. Standard operating procedures of the electrochemotherapy: instructions for the use of bleomycin or cisplatin administered either systemically or locally and electric pulses delivered by the Cliniporator by means of invasive or non-invasive electrodes. *Eur J Cancer Supplements*. 2006;4(11): 14-25.
2. Gothelf A, Mir LM, Gehl J. Electrochemotherapy: results of cancer treatment using enhanced delivery of bleomycin by electroporation. *Cancer Treat Rev*. 2003; 29(5):371-387.
3. Marty M, Sersa G, Garbay JR. Electrochemotherapy—an easy, highly effective and safe treatment of cutaneous and subcutaneous metastases: results of ESOPE (European Standard Operating Procedures of Electrochemotherapy) study. *Eur J Cancer Supplements*. 2006;4(11):3-13.
4. Heller R, Jaroszeski MJ, Reintgen DS, et al. Treatment of cutaneous and subcutaneous tumors with electrochemotherapy using intralesional bleomycin. *Cancer*. 1998;83(1):148-157.
5. Glass LF, Pepine ML, Frenske NA, et al. Bleomycin-mediated electrochemotherapy of metastatic melanoma. *Arch Dermatol*. 1996;132(11):1353-1357.
6. Rodriguez-Cuevas S, Barroso-Bravo S, Almanza-Estrada J, et al. Electrochemotherapy in primary and metastatic skin tumors: phase II trial using intralesional bleomycin. *Arch Med Res*. 2001;32(4):273-276.

## L'elettrochemioterapia con bleomicina endovenosa nel trattamento locale di metastasi cutanee da melanoma

*P. Quaglino, MD<sup>1</sup>, C. Mortera, MD<sup>1</sup>, S. Osella-Abate, PhD<sup>1</sup>, M. Barberis, MD<sup>1</sup>, M. Illengo, MD<sup>2</sup>, M. Rissone, MD<sup>1</sup>, P. Savoia, MD<sup>1</sup> and M. G. Bernengo, MD<sup>1</sup>*

*1 Department of Biomedical Sciences and Human Oncology, Section of Clinics and Oncological Dermatology, University of Turin, v. Cherasco 23, 10126 Torino, Italy*

*2 Section of Anaesthesia, San Giovanni Battista Hospital, Turin, Italy.*

*Ann. Surg. Oncol 2008; 15(8): 2215-2222.*

### **Introduzione**

Il trattamento delle metastasi cutanee è tuttora difficile e dipende dalla dimensione e dal numero delle lesioni. In presenza di lesioni single localizzate, la chirurgia rappresenta il trattamento elettivo.

Di recente è stata proposta una nuova modalità di trattamento per le metastasi cutanee di varia origine tumorale, compreso il melanoma, consistente in impulsi elettrici uniti a bleomicina

somministrata sul sito della lesione o per via endovenosa (elettrochemioterapia, ECT). La membrana cellulare viene permeabilizzata in modo efficiente dagli impulsi elettrici, consentendo l'ingresso delle molecole direttamente nel citosol.

Solamente pochi studi hanno valutato in modo specifico l'attività clinica della ECT in pazienti con melanoma, la maggior parte dei quali con utilizzo di bleomicina intralesionale. Inoltre, la

maggior parte di questi studi è stata eseguita su limitati numeri di lesioni cutanee e non ha raccolto dati completi di follow-up e durata della risposta clinica.

### **Lo studio**

In questo studio è stato trattato con ECT, con iniezione endovenosa di bleomicina in anestesia totale, un gruppo di 14 pazienti con melanoma per un totale di 233 metastasi cutanee/sottocutanee. Gli obiettivi dello studio erano di valutare l'efficacia clinica della bleomicina endovena con ECT in termini di percentuale e durata dell'effetto clinico, nonché di analizzare i potenziali vantaggi terapeutici di sessioni ripetute di ECT.

I pazienti sono stati ammessi allo studio secondo i seguenti criteri ESOPE: melanoma cutaneo confermato istologicamente, patologia cutanea e/o subcutanea ricorrente non suscettibile di intervento chirurgico, noduli tumorali cutanei e/o subcutanei misurabili e adatti all'applicazione di impulsi elettrici, età  $\geq 18$  anni, indice di Karnow-

sky  $\geq 70$ , aspettativa di vita di almeno 3 mesi e periodo di wash-out di almeno 3 settimane successive ai precedenti trattamenti.

Sono stati identificati come eleggibili allo studio quattordici pazienti con melanoma in stadio III. Tutti presentavano patologia cutanea ricorrente dopo uno o più trattamenti chirurgici radicali; inoltre, quattro pazienti erano recidivanti a seguito di un intervento di perfusione isolata d'arto e due erano stati trattati con chemioterapia sistemica. Nessuno dei pazienti era stato trattato precedentemente con bleomicina.

Tutti i trattamenti sono stati eseguiti presso la 1a Clinica Dermatologica dell'Università di Torino mediante l'apparecchiatura Cliniporator (IGEA, Carpi) (Fig. 1).

Tutti i pazienti sono stati trattati in condizioni di lieve anestesia generale, consistente in pretrattamento con benzodiazepina orale (chlordemetildiazepam), induzione con farmaco anestetico endovenoso a breve durata d'azione (propofol 2.5 mg/kg), inalazione di vapore anestetico (sevoflu-

rane 2%), e ventilazione assistita aria/ossigeno 40%. L'analgesia post-chirurgica era costituita da paracetamolo endovena. (1 g).

Sono stati utilizzati tre differenti tipi di elettrodi. Gli elettrodi a lamella (B), adatti al trattamento di piccole lesioni superficiali senza perforazione della cute, sono elettrodi composti da due lamelle di acciaio inossidabile parallele con distanze variabili fra i 6 e gli 8 mm.

Gli elettrodi lineari (C) ed esagonali (D) ad aghi, adatti al trattamento di noduli tumorali più spessi e profondi. Gli elettrodi lineari (costituiti da due file parallele di aghi con spaziatura di 4 mm fra loro) si usano per il trattamento di piccoli noduli, mentre quelli esagonali (sei aghi che formano un esagono ed un ago al centro con spaziatura di 8 mm fra loro) per noduli voluminosi (>1 cm di diametro).

Cliniporator (Figura 1) genera impulsi elettrici ad onda quadra con frequenze di erogazione di 1-5,000 Hz. È stata utilizzata bleomicina endoveneosa (15 mg/m<sup>2</sup>) in tutti i casi, somministrata in



Figura 1. Cliniporator (IGEA, Carpi).

un lasso di tempo fra i 30 sec. ed 1 min. Gli impulsi elettrici sono stati erogati da 8 a 28 min. successivamente all'infusione di bleomicina al fine di otte-



nere una risposta ottimale, utilizzando le concentrazioni tissutali di farmaco più appropriate. Un intervallo di tempo di 20 min è stato sufficiente a trattare fino a 30 lesioni.

L'efficacia del trattamento è stata valutata 8 settimane dopo la sessione di ECT. I risultati sono stati classificati secondo le linee guida dell'Organizzazione Mondiale per la Sanità (OMS) come: patologia progressiva (PP) per incremento nella dimensione del tumore >25%; nessuna variazione (NV) per incremento nella dimensione del tumore <25% o diminuzione <50%; risposta parziale (RP) per diminuzione nella dimensione del tumore >50% per almeno 4 settimane; e CR per totale scomparsa clinica del tumore.

## **Risultati**

### *Prima sessione ECT*

È stato incluso nello studio un totale di 14 pazienti in stadio III. L'effetto clinico, valutato 8 settimane dopo l'ECT, è stato ottenuto in 13 su 14 pazienti (93%) con completa regressione clinica di tutte le

metastasi in sette pazienti (50%) e RP in sei pazienti. Solo in un paziente non si è riscontrata risposta clinica. La CR clinica è stata confermata dall'esame istologico ed immunoistochimico in una lesione indice (area contenente il maggior numero di lesioni tumorali) di ciascun paziente. La figura 2 mostra un esempio di risposta completa. Sono state trattate tutte le metastasi cutanee clinicamente rilevabili. Il numero medio di lesioni per paziente era di 10, per un totale di 160 metastasi trattate; quattro pazienti presentavano più di 20 lesioni (21, 24, 26, e 29, rispettivamente). È stato ottenuto un risultato obiettivo in 153/160 (95%) lesioni, con una percentuale di CR del 62% (Tabella 1A). Non sono state osservate differenze nella percentuale di risposta clinica fra metastasi cutanee e sottocutanee. La dimensione delle lesioni è stato il parametro maggiormente predittivo per l'efficacia. Infatti, è stata ottenuta risposta clinica in 123/124 (99%) metastasi di dimensione  $\leq 1$  cm<sup>2</sup> ed in 30/36 (83%) lesioni più ampie ( $X^2 = 13.2$ ;  $p < 0.001$ ). Le differenze nella percentuale di rispo-

sta erano ancora maggiori se si confrontava il tasso di CR (72% in metastasi  $\leq 1$  cm<sup>2</sup> contro 28% in lesioni  $> 1$  cm<sup>2</sup>;  $X^2 = 21.1$ ;  $p < 0.001$ ).

### *Sessioni ECT ripetute*

È stata eseguita una ulteriore sessione ECT in sette pazienti su 73 nuove metastasi sviluppatesi al di fuori dell'area di trattamento iniziale (Tabella 1B). L'attività dell'ECT è stata mantenuta anche se la percentuale di risposta (86%) era significativamente inferiore rispetto a quella ottenuta in seguito al trattamento iniziale ( $X^2 = 5.14$ ,  $p = 0.023$ ); tali risultati erano principalmente ascrivibili alla diminuzione di efficacia nelle metastasi di dimensioni  $> 1$  cm<sup>2</sup> ( $X^2 = 5.0$ ,  $p = 0.025$ ). In totale sono state trattate 233 metastasi con una singola sessione ECT. Le lesioni di dimensione inferiore ad 1 cm<sup>2</sup> erano 184 (79%), con un diametro mediano di 7 mm (range 2–13 mm). 49 lesioni su 233 metastasi (21%) erano  $> 1$  cm<sup>2</sup>, con diametro mediano di 15 mm (range 11–75 mm). Il tasso di risposta ottenuto è stato del 93% con

una percentuale di CR del 58% (Tabella 1). La risposta clinica è stata del 98% per lesioni  $\leq 1$  cm<sup>2</sup> e del 73% per lesioni  $> 1$  cm<sup>2</sup> ( $X^2 = 30.43$ ,  $p < 0.001$ ); analogamente, il tasso di CR è stato del 68% e del 22%, rispettivamente ( $X^2 = 31.1$ ,  $p < 0.001$ ). Ventinove lesioni in tre pazienti (25 PR e 4 NC dopo la prima ECT) sono state sottoposte ad una seconda sessione e cinque di esse ad una terza sessione per valutare se la risposta clinica iniziale potesse essere migliorata a seguito di ritrattamento. È stata ottenuta ulteriore risposta in 21/29 metastasi (72%). Quindici delle metastasi ritratte erano lesioni indice. Sono state ottenute 9 CR, di cui cinque in lesioni  $> 1$  cm<sup>2</sup>.

### *Durata dell'effetto clinico*

Nessuna delle metastasi per le quali era stata ottenuta CR hanno recidivato dopo un follow-up mediano di 21 mesi (range 5–28 mesi); d'altra parte, 54/80 lesioni PR hanno evidenziato un incremento  $> 25\%$ . A 2 anni, la percentuale di controllo locale del tumore era del 74.5% (Fig. 3);

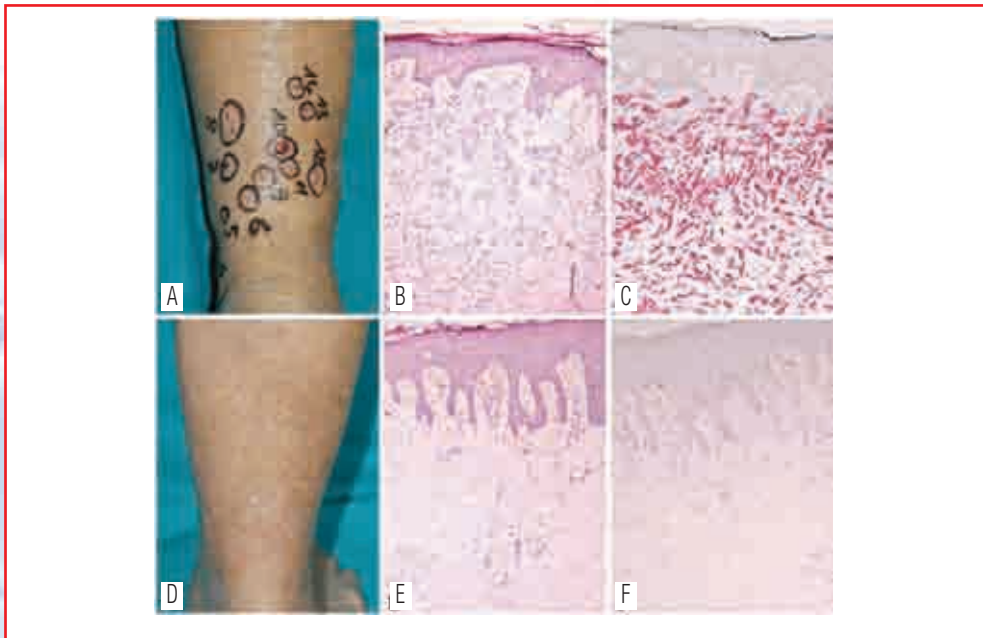


Figura 2. Quadro clinico (A), istologico (B; ematossilina-eosina) ed immunistochimico (C; HMB-45) precedente il trattamento in una paziente femmina con numerose metastasi localizzate al polpaccio (notare che tutte le lesioni evidenziate sono state trattate con impulsi elettrici); è stata osservata completa regressione clinica di tutte le metastasi cutanee (D) a 2 mesi dalla sessione ECT, confermata dalla scomparsa delle cellule di melanoma cutanee HMB-45+ (E, istologia; F, immunistochimica).

**Tabella 1. Percentuali di risposta ECT in metastasi trattate con singola sessione ECT**

Sessione ECT	Ampiezza	Numero di lesioni	Percentuale di risposta totale	CR (%)	PR (%)	NC (%)
A		160	153 (95%)	99 (62%)	54 (34%)	7 (4%)
	≤1 cm <sup>2</sup>	124	123 (99%)	89 (72%)	34 (27%)	1 (1%)
	≥1 cm <sup>2</sup>	36	30 (83%)	10 (28%)	20 (55%)	6 (17%)
B		73	63 (86%)	37 (51%)	26 (35%)	10 (14%)
	≤1 cm <sup>2</sup>	60	57 (95%)	36 (60%)	21 (35%)	3 (5%)
	≥1 cm <sup>2</sup>	13	6 (46%)	1 (8%)	5 (38%)	7 (54%)
Totale		233	216 (93)	136 (58%)	80 (34%)	17 (8%)

A: Risultati della sessione iniziale ECT. - B: ECT eseguita su nuovi noduli sviluppatasi all'esterno dei settori inizialmente trattati.  
TOTALE: A + B.

### *Effetti collaterali*

Sono stati riscontrati eritema e lieve edema al sito di trattamento delle lesioni in tre pazienti risoltisi in pochi giorni. Inoltre, sono stati notati segni degli elettrodi ed erosioni epidermiche superficiali in tutti i casi, seguiti da cicatrici guarite entro

un mese dall'ECT. I pazienti non hanno riferito di dolore locale od altri sintomi soggettivi. Non è stata riscontrata tossicità ematologica.

### **Discussione**

Le peculiari caratteristiche della popolazione in

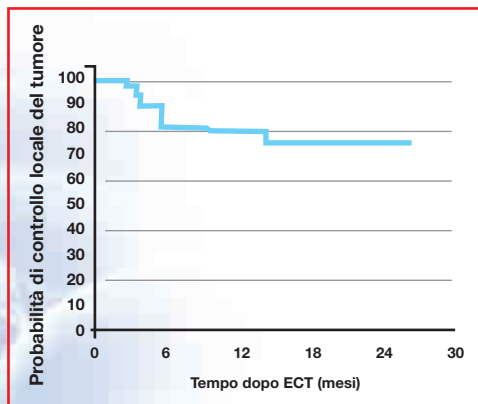


Figura 3. Curva di controllo locale del tumore (numero di lesioni trattate n = 233).

questo studio risiedono nell'elevato numero di lesioni trattate (n=233) e nella conseguente somministrazione di sessioni ECT allo stesso paziente su metastasi residue.

Anche il periodo di follow-up (mediana 21 mesi) è più lungo di quelli riportati in letteratura; ad esempio, il follow-up mediano riferito allo studio ESOPE è stato di 4.5 mesi. I risultati ottenuti con-

fermano decisamente l'attività clinica e la tollerabilità della ECT eseguita con bleomicina e.v. in sedazione generale come da procedure operative di trattamento in modalità D come riportato nello studio ESOPE.

È stata ottenuta risposta clinica nel 93% delle lesioni trattate, nell'ambito delle quali il 58% ha evidenziato CR confermata istologicamente nelle lesioni indice. L'importanza dell'ottenimento di CR è sottolineata dal fatto che nessuna delle lesioni CR ha recidivato nel follow-up, come già riportato da altri autori; complessivamente, il controllo locale dei tumori è stato del 74.5% a 2 anni. Una risposta positiva è stata inoltre ottenuta in quattro pazienti recidivanti dopo perfusione antitumorale isolata all'arto ed in due che erano refrattari alla sola chemioterapia.

L'attività clinica della ECT indica chiaramente uno specifico ruolo di queste procedure nelle strategie terapeutiche dei pazienti con melanoma di stadio III con piccole metastasi cutanee non gestibili chirurgicamente. Le più elevate percentuali

di risposta e durata di risposta ottenute con ECT rispetto alla chemioterapia standard evidenziano decisamente l'importanza dell'elettroporazione nell'incremento della disponibilità del farmaco chemioterapico all'interno di cellule scarsamente permeabili.

La ECT è facilmente gestibile in termini di tossicità sistemica e ha un favorevole rapporto costo-beneficio. Inoltre, l'anestesia generale con ECT è lieve e di minore durata, supporto analgesico più blando e percentuale di complicazioni inferiori a quelle richieste per ILP (Isolated Limb Perfu-

sion), consentendo così l'esecuzione di sessioni ECT in più brevi intervalli temporali.

Ulteriori studi dovrebbero identificare altri farmaci più efficienti da somministrare in associazione ad impulsi elettrici. In aggiunta, potrebbero essere valutate strategie di trattamento con nuovi farmaci coadiuvanti (immunomodulatori, antiangiogenici, anticorpi monoclonali) da somministrare successivamente alle sessioni ECT nell'intento di ridurre l'emergenza di nuove lesioni esterne alle aree di trattamento.

# L'elettrochemioterapia nel trattamento dei tumori

G. Sersa<sup>1</sup>, D. Miklavcic<sup>2</sup>, M. Cemazar<sup>1</sup>, Z. Rudolf<sup>1</sup>, G. Pucihar<sup>2</sup>, M. Snoj<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Oncology Ljubljana, Zaloska 2, SI-1000 Ljubljana, Slovenia

<sup>2</sup>University of Ljubljana, Faculty of Electrical Engineering, Trzaska 25, SI-1000 Ljubljana, Slovenia.

*European Journal of Surgical Oncology (EJSO) 2008; 34:232-240.*

## Introduzione

L'elettrochemioterapia è un trattamento locale che associa farmaci chemioterapici all'elettroporazione, vale a dire l'applicazione di brevi ed intensi impulsi elettrici al tumore. L'applicazione di impulsi elettrici causa una permeabilizzazione della membrana cellulare; ciò consente un aumento del trasporto trans membrana di farmaci antitumorali non permeabili o scarsamente permeabili, quali bleomicina o cisplatino, che possiedono elevata citotossicità intrinseca 1-7 e ne potenzia l'azione antitumorale.

## Meccanismo d'azione dell'elettrochemioterapia

Il meccanismo d'azione principale dell'elettrochemioterapia è l'elettroporazione delle cellule tumorali, che aumenta l'efficacia del farmaco consentendogli di raggiungere i bersagli intracellulari. Questo incremento dell'efficacia del farmaco nei tumori è stato dimostrato per bleomicina e cisplatino: l'accumulo di questi due farmaci nei tumori è stato aumentato da due a quattro volte, rispetto al trattamento di tumori senza elettropo-

razione.<sup>8-10</sup> L'effetto citotossico dell'elettrochemioterapia nei tumori non è limitato esclusivamente alle cellule tumorali.

L'elettrochemioterapia agisce anche sulle cellule stromali, incluse le cellule endoteliali del rivestimento dei vasi sanguigni del tumore, dando luogo alla loro morte, interruzione del flusso sanguigno al tumore e, conseguentemente a cascata la morte delle cellule tumorali circostanti i vasi. Questo meccanismo dell'elettrochemioterapia che disgrega la vascolarizzazione del tumore contribuisce alla sua efficacia antitumorale ed è stato dimostrato sia per bleomicina che per cisplatino.<sup>11-13</sup> Sono state osservate differenze di efficacia antitumorale dell'elettrochemioterapia in animali da esperimento immunocompetenti ed immunodeficienti, a dimostrazione del coinvolgimento della risposta immunitaria nell'efficacia antitumorale. Il ritardo di crescita tumorale osservato in topi immunocompetenti è stato doppio rispetto a quelli immunodeficienti inoltre, in topi immuno competenti, è stato possibile curare

un'alta percentuale (80%) di tumori, mentre nessun tumore è stato curato nei topi immunodeficienti.<sup>14</sup> Grazie al massiccio versamento antigenico tumorale negli organismi dopo elettrochemioterapia viene indotta una risposta immunitaria sistemica, la quale può essere intensificata con ulteriore trattamento con modificatori biologici di risposta come IL-2, IL-12, GM-CSF e TNF- $\alpha$ .<sup>4,15,16</sup>

## Studi Clinici

Il primo studio clinico su noduli tumorali di testa e collo è stato pubblicato nel 1991,<sup>5</sup> e seguito da diversi altri studi.<sup>17-21</sup> Sono stati trattati più di frequente noduli di melanoma cutaneo singoli o multipli ma è stata dimostrata risposta anche in noduli metastatici al seno, testa e collo, così come sarcoma di Kaposi, ipernefroma, condrosarcoma e carcinoma delle cellule basali.<sup>6</sup> Nel presente articolo sono stati presi in considerazione i risultati di questi trials e riassunti nella Tabella 1 come studi precedenti lo studio ESOPE.



**Tabella 1. Risposta clinica all'elettrochemioterapia nello studio clinico ESOPE e nei precedenti studi clinici**

Elettrochemioterapia	Pazienti	Noduli	Risposta (%)				
			PD	NC	PR	CR	OR
Prima dello studio ESOPE	247	1009	6	11	19	64	83
Studio ESOPE	41	171	5	10	11	74	85

In tutti gli studi clinici conosciuti ad oggi, incluso lo studio ESOPE, sono stati trattati 288 pazienti: sono stati trattati 782 noduli tumorali con elettrochemioterapia e bleomicina e 398 noduli tumorali con elettrochemioterapia e cisplatino.

### **Studio ESOPE**

Gli studi clinici sull'elettrochemioterapia precedenti allo studio ESOPE sono stati eseguiti con diversi protocolli di trattamento, elettrodi differenti e differenti generatori di impulsi. Perciò vi era necessità di uno studio prospettico non randomizzato multicentrico. Questo progetto, lo studio ESOPE, è stato condotto da un consorzio di 4 centri oncologici nell'ambito del 5° Programma Quadro della Commissione Europea. È stata valutata la risposta al trattamento con elettrochemioterapia per tipo di

tumore, farmaco utilizzato, via di somministrazione e tipo di elettrodi utilizzati. 22 I risultati di questo studio di possono riassumere come segue:

- È stato ottenuto un tasso di risposta obiettiva 23 dell'85% (tasso di risposta completa: 73.7%) nelle lesioni trattate con elettrochemioterapia, indipendentemente dall'istologia del tumore e dal metodo o dalla via di somministrazione del farmaco utilizzati. Sono stati trattati prevalentemente noduli tumorali da melanoma; sono stati inoltre trattati tumori al seno, al colon, carcinoma cutaneo a cel-

lule squamose, carcinoma cutaneo della cervice, e noduli tumorali di Kaposi e leiomiomasarcoma cutaneo e sottocutaneo in sequenza discendente.

- A 150 giorni dal trattamento, il tasso di controllo locale del tumore con elettrochemioterapia era dell'88% con bleomicina somministrata per via endovenosa, del 73% con bleomicina somministrata intratumoralmente e del 75% con cisplatino per via intratumorale, a dimostrazione del fatto che tutti e tre gli approcci al trattamento si sono dimostrati ugualmente efficaci nel controllo locale del tumore.
- Il trattamento di noduli in aree precedentemente irradiate è stato ugualmente efficace rispetto a quelli effettuati in aree che non erano state precedentemente irradiate (tasso di risposta obiettiva 88.2% contro 81.4%, rispettivamente).
- Gli effetti collaterali dell'elettrochemioterapia sono lievi e ben tollerati (contrazione muscolare e dolore durante l'applicazione dell'impulso elettrico). L'accettabilità del trattamento è stata dimostrata con interviste ai pazienti; il 93% ha risposto che avrebbe accettato nuovamente il trattamento se prescritto. I

risultati dello studio ESOPE sono paragonabili ai risultati di studi eseguiti in precedenza sull'efficacia dell'elettrochemioterapia (Tabella 1).<sup>6,22</sup>

### **Procedura di trattamento**

Il prerequisito per una elettrochemioterapia efficace è una sufficiente concentrazione e distribuzione di farmaco nel tumore ed una distribuzione adeguata di campo elettrico (Fig. 1). Perciò è necessario seguire accurate procedure per ciascuna specifica condizione clinica, sia per via di somministrazione sistemica che locale di farmaco, e sia per bleomicina o cisplatino, seguiti da impulsi elettrici. Di qui la recente pubblicazione delle Procedure Operative Standard (SOP) riferite all'utilizzo del generatore di impulsi Cliniporator (IGEA, Carpi).<sup>25,26</sup>

### **Caratteristiche degli impulsi elettrici**

Gli impulsi elettrici somministrati sono stati, nella maggioranza dei casi riportati, 8 impulsi della durata di 100 microsecondi alla frequenza di 1 Hz, o più recentemente di 5 kHz.<sup>6,30</sup>

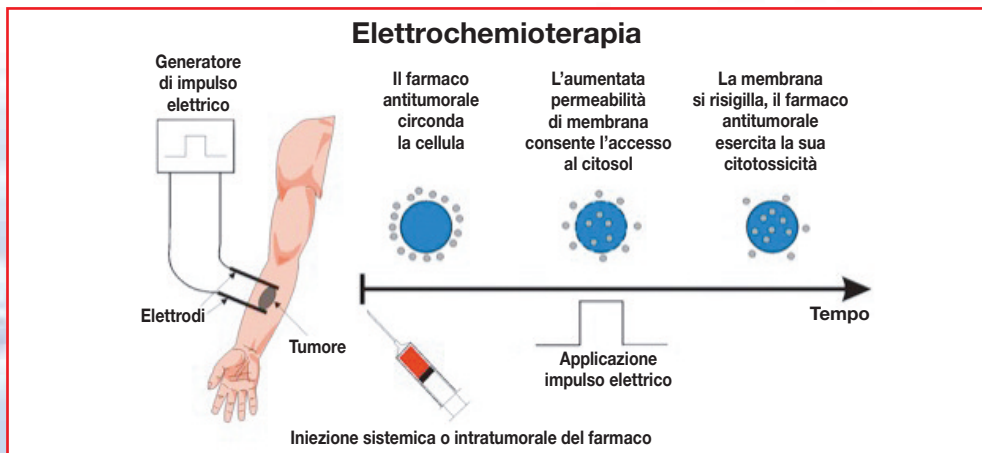


Figura 1. Principio dell'elettrochemioterapia. I farmaci non permeanti o scarsamente permeanti la membrana cellulare vengono iniettati sistemicamente o intratumoralmente, e vanno a circondare le cellule tumorali. L'applicazione di impulsi elettrici adeguati genera un aumento nella permeabilità di membrana che consente l'ingresso del farmaco antitumorale nelle cellule al fine di esercitare la propria azione citotossica (Mod. da 24).

### Tipi di elettrodi

Sebbene vi siano differenti tipi di elettrodi disponibili sul mercato,<sup>27</sup> di fatto possono essere ricondotti a due categorie distinte: elettrodi a lamelle ed elettrodi ad ago. Gli elettrodi a lamelle vengono utiliz-

zati per il trattamento di lesioni cutanee esofitiche o superficiali. Gli elettrodi ad ago sono di due tipi: gli aghi possono essere posizionati in due file parallele oppure in disposizione esagonale. Al contrario degli elettrodi a lamelle, gli elettrodi ad ago

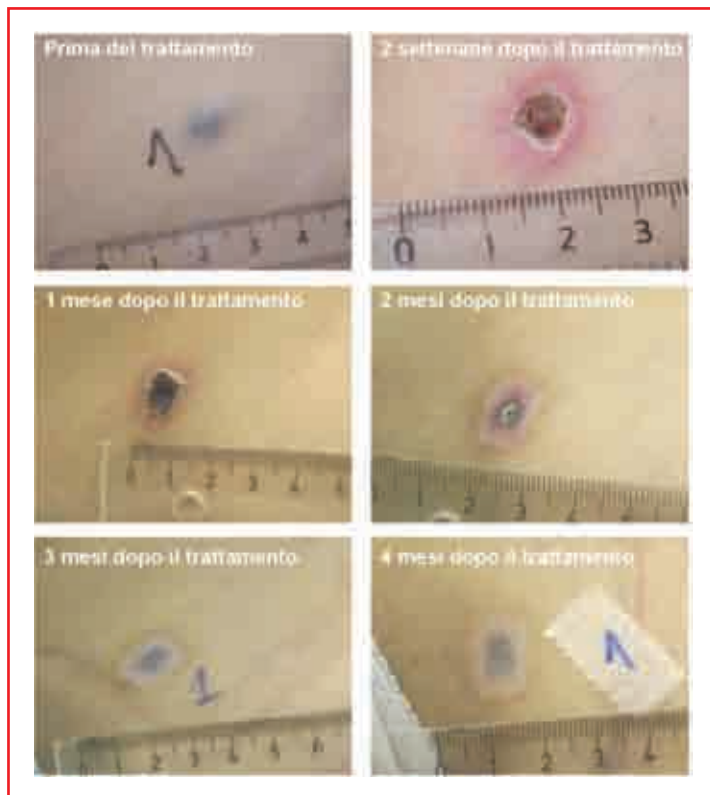


Figura 2. Risposta tipica dei noduli di melanoma dopo trattamento con elettrochemioterapia. Dopo il trattamento si forma una crosta che si sfalda dopo circa 2 mesi. Nell'area trattata la pigmentazione rimane per un lungo periodo.

devono essere inseriti attraverso il tessuto tumorale fino al margine inferiore del tumore.<sup>1,27-29</sup>

### **Impiego clinico**

L'elettrochemioterapia si è dimostrata efficace in vari tumori cutanei.<sup>6,22</sup> Attualmente, il suo utilizzo principale è il trattamento palliativo di noduli tumorali cutanei e sub cutanei con differente profilo istologico, dopo che tutte le altre modalità di trattamento si siano rivelate inefficaci o insufficienti. L'utilizzo più frequente è il trattamento di metastasi cutanee multiple di melanoma quando non sia possibile l'asportazione chirurgica a causa del loro numero o localizzazione.

In questi casi è possibile ottenere la remissione a lungo termine (fino a diversi anni) (Fig. 2).<sup>19,21,30</sup> L'elettrochemioterapia può inoltre essere utilizzata quale trattamento citoriduttivo precedente ad asportazione chirurgica in senso conservativo dell'organo. È stata utilizzata in questa modalità prima dell'intervento su melanoma anale conservativo dello sfintere<sup>31</sup> e nel condrosarcoma delle dita, im-

pedendo l'amputazione del dito.<sup>32</sup> Inoltre, l'elettrochemioterapia può essere utilizzata nel trattamento del carcinoma a cellule basali del viso, nell'intento di ottenerne la cura. In questo caso l'elettrochemioterapia oltre ad avere dimostrato benefici effetti antitumorali ha dato prova di garantire migliori risultati cosmetici rispetto all'intervento chirurgico.<sup>33</sup>

### **Conclusioni**

I trattamenti basati sull'elettroporazione rappresentano un esempio di successo nella trasposizione di nuove tecnologie nella pratica clinica. L'elettrochemioterapia, sia con bleomicina che con cisplatino, è efficace nel controllo locale di noduli tumorali cutanei e sub cutanei di differente istologia, e produce risposte complete a lungo termine dei tumori trattati fino al ~75%. Una volta consolidato l'impiego dell'elettrochemioterapia nella pratica clinica diffusa si potrà applicare il concetto dell'elettroporazione nell'ambito della terapia genica.

## Bibliografija

1. Miklavcic D, Corovic S, Pucihar G, Pavselj N. Importance of tumour coverage by sufficiently high local electric field for effective electrochemotherapy. *Eur J Cancer Suppl* 2006;4:45–51.
2. Miklavcic D, Semrov D, Mekid H, Mir LM. A validated model of in vivo electric field distribution in tissues for electrochemotherapy and for DNA electrotransfer for gene therapy. *Biochim Biophys Acta* 2000;1523:73–83.
3. Pucihar G, Kotnik T, Valic B, Miklavcic D. Numerical determination of transmembrane voltage induced on irregularly shaped cells. *Ann Biomed Eng* 2006;34:642–52.
4. Mir LM. Bases and rationale of the electrochemotherapy. *Eur J Cancer Suppl* 2006;4:38–44.
5. Mir LM, Belehradek M, Domenge C, et al. Electrochemotherapy, a new antitumor treatment: first clinical trial. *CR Acad Sci III* 1991;313:613–8.
6. Sersa G. The state-of-the-art of electrochemotherapy before the ESOPE study: advantages and clinical uses. *Eur J Cancer Suppl* 2006;4:52–9.
7. Byrne CM, Thompson JF. Role of electrochemotherapy in the treatment of metastatic melanoma and other metastatic and primary skin tumors. *Expert Rev. Anticancer Ther* 2006;6:671–8.
8. Belehradek Jr J, Orłowski S, Ramirez LH, Pron G, Poddevin B, Mir LM. Electroporability of cells and tissues assessed by the quantitative and qualitative electroloading of bleomycin. *Biochim Biophys Acta* 1994;1190:155–63.
9. Cemazar M, Milacic R, Miklavcic D, Dolzan V, Sersa G. Intratumoral cisplatin administration in electrochemotherapy: antitumor effectiveness, sequence dependence and platinum content. *Anticancer Drugs* 1998;9:525–30.
10. Sersa G, Cemazar M, Parkins CS, Chaplin DJ. Tumour blood flow changes induced by application of electric pulses. *Eur J Cancer* 1999;35:672–7.
11. Sersa G, Cemazar M, Miklavcic D, Chaplin DJ. Tumor blood flow modifying effect of electrochemotherapy with bleomycin. *Anticancer Res* 1999;19(SB):4017–22.
12. Gehl J, Skovsgaard T, Mir LM. Vascular reactions to in vivo electroporation: characterization and consequences for drug and gene delivery. *Biochim Biophys Acta* 2002;1569:51–8.
13. Sersa G, Krzic M, Sentjurc M, et al. Reduced blood flow and oxygenation in SA-1 tumours after electrochemotherapy with cisplatin. *Br J Cancer* 2002;87:1047–54.
14. Sersa G, Miklavcic D, Cemazar M, Belehradek Jr J, Jarm T, Mir LM. Electrochemotherapy with CDDP on LPB sarcoma: comparison of the anti-tumor effectiveness in immunocompetent and immunodeficient mice. *Bioelectrochem Bioener* 1997;43:279–83.
15. Sersa G, Cemazar M, Menart V, Gaberc-Porekar V, Miklavcic D. Antitumor effectiveness of electrochemotherapy is increased by TNF- $\alpha$  on SA-1 tumors in mice. *Cancer Lett* 1997;116:85–92.
16. Heller L, Pottinger C, Jaroszeski MJ, Gilbert R, Heller R. In vivo electroporation of plasmids encoding GM-CSF or interleukin-2 into existing B16 melanomas combined with electrochemotherapy induces long-term antitumour immunity. *Melanoma Res* 2000;10: 577–83.
17. Mir LM, Glass LF, Sersa G, et al. Effective treatment of cutaneous and subcutaneous malignant tumours by electrochemotherapy. *Br J Cancer* 1998;77:2246–42.
18. Heller R, Jaroszeski M, Perrott R, Messina J, Gilbert R. Effective treatment of B16 melanoma by direct delivery of bleomycin using electrochemotherapy. *Melanoma Res* 1997;7:10–8.

19. Sersa G, Stabuc B, Cemazar M, Miklavcic D, Rudolf Z. Electrochemotherapy with cisplatin: clinical experience in malignant melanoma patients. *Clin Cancer Res* 2000;6:863-7.
20. Bloom DC, Goldfarb PM. The role of intratumour therapy with electroporation and bleomycin in the management of advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Eur J Surg Oncol* 2005;31: 1029-35.
21. Byrne CM, Thompson JF, Johnston H, et al. Treatment of metastatic melanoma using electroporation therapy with bleomycin (electrochemotherapy). *Melanoma Res* 2005;15:45-51.
22. Marty M, Sersa G, Garbay JR, et al. Electrochemotherapy e an easy, highly effective and safe treatment of cutaneous and subcutaneous metastases: results of ESOPe (European Standard Operating Procedures of Electrochemotherapy) study. *Eur J Cancer Suppl* 2006;4: 3-13.
23. WHO. WHO handbook for reporting results of cancer treatment. Vol 48. Geneva: WHO Offset Publications; 1997, p. 22e27.
24. Dev SB. Killing cancer cells with a combination of pulsed electric fields and chemotherapeutic agents. *Cancer Watch* 1994;3:12-4.
25. Mir LM, Gehl J, Sersa G, et al. Standard operating procedures of the electrochemotherapy: instructions for the use of bleomycin or cisplatin administered either systemically or locally and electric pulses delivered by the Cliniporator\_ by means of invasive or non-invasive electrodes. *Eur J Cancer Suppl* 2006;4:14-25.
26. Domenge C, Orlowski S, Luboinski B, De Baere T, Belehradec Jr J, Mir LM. Antitumor electrochemotherapy: new advances in the clinical protocol. *Cancer* 1996;77:956-63.
27. Puc M, Corovic S, Flisar K, Petkovek M, Nastran J, Miklavcic D. Techniques of signal generation required for electroporpermabilization: survey of electroporpermabilization devices. *Bioelectrochemistry* 2004; 64:113-24.
28. Pavselj N, Bregar Z, Cukjati D, Batiuskaitė D, Mir LM, Miklavcic D. The course of tissue permeabilization studied on a mathematical model of a subcutaneous tumor in small animals. *IEEE Trans Biomed Eng* 2005;52:1373-81.
29. Snoj M, Cemazar M, Slekovec Kolar B, Sersa G. Effective treatment of multiple unresectable skin melanoma metastases by electrochemotherapy: case report. *Croat Med J* 2007;48:345-9.
30. Snoj M, Rudolf Z, Paulin-Kosir S, Cemazar M, Snoj R, Sersa G. Long lasting complete response in melanoma treated by electrochemotherapy. *Eur J Cancer Suppl* 2006;4(11):26-8.
31. Snoj M, Rudolf Z, Cemazar M, Jancar B, Sersa G. Successful sphincter-saving treatment of anorectal malignant melanoma with electrochemotherapy, local excision and adjuvant brachytherapy. *AntiCancer Drugs* 2005;16:345-8.
32. Shimizu T, Nikaido T, Gomyo H, et al. Electrochemotherapy of digital chondrosarcoma. *J Orthop Sci* 2003;8:248-51.
33. Glass LF, Fenske NA, Jaroszeski M, et al. Bleomycin-mediated electrochemotherapy of basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*

## Trattamento del sarcoma di Kaposi del pene con elettrochemioterapia

*Pietro Curatolo, MD\**, *Monica Mancini, MD\**, *Arianna Ruggiero, MD\**, *Rita Clerico, MD\**,  
*Piero Di Marco, MD°*, *And Stefano Calvieri, MD\**

*\* Department of Dermatology and °Department of Anesthesia and Intensive Care Unit, University of Rome "La Sapienza" Rome, Italy.  
Dermatol Surg 2008;34:1-5.*

L'elettrochemioterapia è una procedura che consiste nell'iniettare basse dosi di farmaci altamente citotossici (come bleomicina o cisplatino) seguiti da applicazioni di impulsi di corrente elettrica direttamente all'interno delle lesioni tumorali nel tessuto cutaneo o sottocutaneo, al fine di migliorare la permeabilità di membrane, la penetrazione del farmaco nella cellula e di conseguenza aumentare la citotossicità del farmaco. Ai corretti parametri di impulso, la formazione di pori sulla membrane della cellula

consente a farmaci a bassa permanenza quali bleomicina o cisplatino di entrare nelle cellule e perciò aumentare localmente la loro tossicità: fino a 10.000 volte per bleomicina e 80 volte per cisplatino.

In questo studio si è utilizzata elettrochemioterapia su un paziente con lesioni ricorrenti da sarcoma di Kaposi (SK) del pene come trattamento alternativo all'escissione chirurgica.

Quattordici mesi dopo il trattamento il paziente non evidenziava segni di ricorrenze locali.



## Il caso

Un uomo di 80 anni con negatività al virus HIV è stato ricoverato nel 2002 per SK del pene isolato. Le lesioni del glande del pene sono state trattate in una prima fase mediante chirurgia.

Per via della ricorrenza della malattia a livello locale, il paziente è stato successivamente trattato con 21 cicli di chemioterapia con vinblastina solfato per via endovenosa (10 mg a ciclo), dal gennaio 2002 al gennaio 2006. Nel giugno 2006, sono stati riscontrati un nodulo doloroso di colore bruno, della dimensione di 2 cm di diametro sul glande del pene e numerose papule rosso scuro, dal diametro variabile fra i 0.5 ed i 0.8 cm, localizzate sul solco coronale (Figura 1) la cui manifestazione era stata riferita dal paziente 3 mesi prima. A seguito del rifiuto del paziente a sottoporsi ad un ulteriore intervento chirurgico, gli è stato proposto un nuovo tipo di trattamento con elettrochemioterapia. Il paziente ha effettuato i consueti esami del sangue, gli esami della funzione polmonare e una radiogra-

fia toracica. Constatata la normalità degli esami, è stato proposto il trattamento di elettrochemioterapia al paziente che ha accettato. Il trattamento è avvenuto sotto anestesia locale. È stato effettuato un controllo continuo di pressione arteriosa, ritmo cardiaco ed ossimetria. È stata iniettata bleomicina per via endovenosa al dosaggio di 15.000 UI/m<sup>2</sup>. L'applicazione degli impulsi elettrici è stata eseguita 8 minuti dopo iniezione endovenosa di bleomicina. È stato posto a contatto della cute, su entrambi i lati della lesione tumorale, un elettrodo parallelo di metallo platinato, con spaziatura di 6 mm. Sono stati erogati cicli di 8 impulsi da 680V ad ogni nodulo ad una frequenza di 5kHz e durata di 100  $\mu$ s. L'elettrodo è stato posizionato in modo da coprire l'intera superficie tumorale. Il generatore di elettrodi e di impulsi (Cliniporator) è stato fornito da IGEEA, Carpi. Dopo la seduta di trattamento, il paziente è stato mantenuto in una sala di risveglio per 24 ore.

Ciascuna lesione è stata fotografata e misurata



Figura 1. (A) Nodulo color bruno, del diametro di 2 cm Sul glande del pene. (B) Numerose papule rosso scuro, dal diametro variabile fra 0.5 e 0.8 cm.

con calibro prima dell'applicazione dell'elettrochemioterapia e durante il follow-up. Inizialmente, sono stati osservati eritema non doloroso ed un leggero edema al sito di trattamento, che sono perdurati una settimana. È comparsa una ulcerazione entro 48-72 ore, seguita da una spessa crosta aderente e squamosa subito dopo. Dopo 4 settimane è stata riscontrata una risposta notevole, con necrosi completa di tutte le lesioni trattate (Figura 2).

## Discussione

La manifestazione primaria del SK classico sul pene non è comune e frequentemente si osserva in pazienti con AIDS, che sviluppano generalmente una forma aggressiva. Negli ultimi 20 anni, sono stati riportati in letteratura solo 13 casi di SK primario del pene non HIV-correlato. Il trattamento del SK primario del pene comprende chirurgia locale, laser terapia, radioterapia e chemioterapia. È stato utilizzato anche il trattamento adiuvante con interferone  $\alpha$  o  $\beta$ .



Figura 2. Dopo 4 settimane, necrosi completa di tutte le lesioni trattate.

Il caso qui descritto suggerisce che elettrochemioterapia del SK isolato del pene sia un trattamento ben tollerato ed efficace.

L'elettrochemioterapia può quindi rappresentare una alternativa alla chirurgia nei carcinomi cutanei maligni recidivanti. I vantaggi di questa te-



Figura 3. Dopo 2 mesi cicatrice atrofica al posto dei noduli trattati.

rapia risiedono nella sua semplicità, nella breve durata delle sedute di trattamento, nei bassi dosaggi chemioterapici, effetti collaterali trascurabili, preservazione del tessuto locale e migliore qualità di vita.

## Commento

Nel 1872, Moriz Kaposi (1837–1902) descrisse per primo la neoplasia oggi nota come sarcoma di Kaposi (SK). Dieci anni più tardi, Tommaso De Amicis dell'Università di Napoli osservò un'altra dozzina di pazienti con SK.

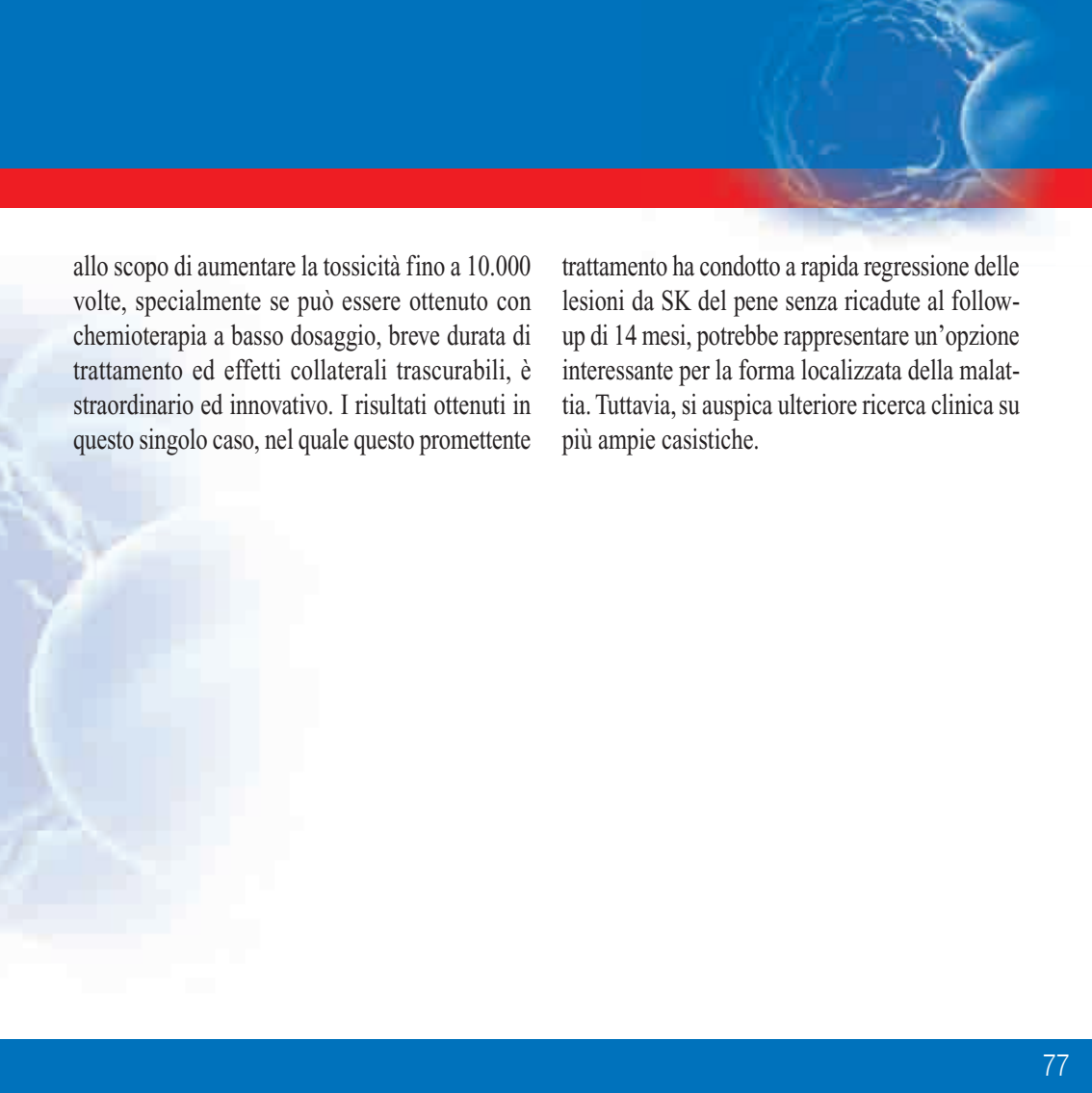
In Italia prosegue l'applicazione di approcci innovativi sul SK, più di recente sotto la guida ispirata del Professor Stefano Calvieri e del suo gruppo all'Università "La Sapienza" di Roma grazie all'impiego di un nuovo metodo di chemioterapia locale.

In Europa ed America il SK nel soggetto immunocompetente è di norma una neoplasia non dolorosa. Il decorso aggressivo inizialmente riscontrato da Kaposi è stato osservabile con la comparsa dell'AIDS, specialmente fra gli uomini omosessuali. Il SK fu per lungo tempo l'elemento identificativo originale di questa patologia che divenne nota come AIDS. L'AIDS è stata infatti identificata per la prima volta nel 1981 a seguito di tre segnalazioni di SK, due da New York ed una

da San Francisco, prima della diffusione della malattia in tutto il mondo. Il SK può manifestarsi in una grande varietà di localizzazioni anatomiche. Sebbene il SK primario del pene sia raro, specialmente in pazienti sieronegativi all'HIV, questa localizzazione è stata evidenziata da Micali ed associati e da altri.

L'utilizzo locale di farmaci citostatici per il SK ed altre neoplasie cutanee, inizialmente esplorato da Klein ed altri negli anni sessanta, è stato esteso ampiamente.

Recentemente è stata utilizzata l'elettrochemioterapia con buoni risultati nel trattamento di tumori primari e metastatizzati della pelle, incluso il melanoma. Questo nuovo concetto di somministrazione di farmaci citotossici sembra rappresentare un avanzamento importante rispetto alle tecniche di Klein, compreso l'uso di chemioterapia intralesionale con vinblastina per il SK. L'ingresso facilitato di un farmaco citotossico come bleomicina all'interno delle cellule tumorali grazie alla applicazione locale di corrente elettrica



allo scopo di aumentare la tossicità fino a 10.000 volte, specialmente se può essere ottenuto con chemioterapia a basso dosaggio, breve durata di trattamento ed effetti collaterali trascurabili, è straordinario ed innovativo. I risultati ottenuti in questo singolo caso, nel quale questo promettente

trattamento ha condotto a rapida regressione delle lesioni da SK del pene senza ricadute al follow-up di 14 mesi, potrebbe rappresentare un'opzione interessante per la forma localizzata della malattia. Tuttavia, si auspica ulteriore ricerca clinica su più ampie casistiche.





È un servizio offerto da



[www.igeamedical.com](http://www.igeamedical.com)