

## **Subproject 24: Treatment of canine sarcoma with chemotherapy and hyperthermia followed by immunotherapy with lymphocytes.**

**Principal Investigator:** *Belinda Pinto Simões*

### **Introduction**

The protective effect of fever against tumor growth described by Ehrlich was little acknowledged until recently when hyperthermia began to be investigated in cancer control. Hyperthermia has great influence on the effect of chemotherapy and immunotherapy. Hyperthermia depletes glutathione and consequently exacerbates the cytotoxic effects of chemotherapeutic agents. The beneficial effect of hyperthermia has been demonstrated in randomized studies comparing neoadjuvant chemotherapy with or without association with hyperthermia. Local hyperthermia can also amplify the effect of chemotherapy when given as liposomal preparation. The principle has been shown to be effective in rat sarcomas. The beneficial effect of hyperthermia can be further enhanced by the addition of immunotherapy. Sristava and colleagues evaluated the role of Heat shock proteins (HSP) that normally have its expression increased after hyperthermia. HSPs act as chaperones to tumor antigens and present them to NK cells. We have observed dramatic responses in single patients treated with chemotherapy, hyperthermia and donor lymphocytes from the HLA-haploidentical mother. The incidence of soft tissue sarcomas are common tumors of childhood. Given the experimental nature of the proposal and that characteristics of sarcomas in dogs are very similar of human ones, we intend to evaluate this therapy in canine model. Initially, we will neoadjuvant chemotherapy with or without hyperthermia followed by immunotherapy with previously collected lymphocytes. After this procedure, the dogs will be submitted to conventional surgical treatment. Some open questions must be answered with this approach, such as the number and composition of infused cells, the need of previous NK activation with IL-2, whether autologous cells will be effective or allogeneic cells will be necessary.

### **Objective**

To evaluate the therapeutic efficacy and mechanisms of the treatment of canine sarcoma with chemotherapy and hyperthermia followed by immunotherapy with lymphocytes.

### **Activities**

- 1. To treat canine sarcoma with neoadjuvant chemotherapy with or without hyperthermia, followed by immunotherapy with previously collected lymphocytes. After these procedures, the dogs will be submitted to conventional surgical treatment;*
- 2. To evaluate the efficacy of the therapeutic approach;*
- 3. To standardize the infusion of lymphocytes collected before chemotherapy (to determine the number and composition of infused lymphocytes, to assess whether activation of NK-cells with IL-2 is required; to assess whether autologous cells will be effective or allogeneic cells will be necessary.*

### Implementation schedule related to six-year project:

Activity	Semester											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	■	■	■	■								
2			■	■	■	■						
3					■	■	■	■	■	■		

### Researchers

*Hans-Jochem Kolb (International collaborator)*

Mirela Tinucci Costa

Jose Alexandre Marzagão Barbuto

### References

Bauer F et al. *Pediatr Hematol Oncol*. 2013 May;30(4):263-72.

Hossann M et al. *J Control Release* 2010; 147:436

Issels RD et al. *Lancet Oncol* 2010 11:561–67

Limmer S et al. *Pharm Res* 2014

Srivastava P et al. *Cancer Immunol* 2012; 12:5

## **SUBPROJETO 24:** Tratamento de sarcoma canino com quimioterapia e hipertemia seguida por imunoterapia com linfócitos

**Pesquisador Responsável:** *Belinda Pinto Simões*

### **Introdução**

O efeito protetivo da febre contra o crescimento tumoral descrito por Ehrlich foi pouco reconhecido até recentemente quando a hipertermia começou a ser investigada no controle do câncer. A hipertermia tem grande influência sobre o efeito da quimioterapia e da imunoterapia. Ao depletar glutatona, ela exacerba os efeitos citotóxicos de agentes quimioterápicos. O efeito benéfico da hipertermia foi demonstrado em estudos randomizados comparando-se quimioterapia neoadjuvante com e sem hipertermia associada. Hipertermia regional também pode amplificar o efeito da quimioterapia quando dado como preparo lipossomal. Este princípio foi verificado ser efetivo em sarcomas em ratos. Este efeito benéfico da hipertermia pode ser ainda melhorado com a adição de imunoterapia. Sristava e colaboradores avaliaram o papel das proteínas Heat shock (HSP) que costumam aumentar sua expressão pós hipertermia. As HSPs funcionam como chaperonas para antígenos tumorais e desta maneira os apresentam para as células NK. Em um caso notamos resposta clínica dramática em criança tratada com hipertermia e infusão de linfócitos haploidênticos da mãe portadora de sarcoma refratário. A incidência de sarcomas de partes moles são tumores frequentes da infância. Tendo em vista o caráter experimental da proposta e a presença de tumor muito semelhante ao humano em cães, pretendemos estudar tal terapia em modelo canino. Inicialmente, faremos uma quimioterapia neoadjuvante com ou sem hipertermia seguida por imunoterapia com linfócitos previamente coletados. Após tal procedimento, os cães serão submetidos ao tratamento cirúrgico convencional. Algumas questões em aberto devem ser respondidas com esta abordagem como o número e a composição das células infundidas, se devemos ativar os linfócitos NK com IL-2 previamente, se células autólogas serão capazes de exercer efeito ou se necessitamos de células alogênicas.

### **Objetivos**

Avaliar a eficácia terapêutica e mecanismos do tratamento de sarcoma canino com quimioterapia e hipertemia seguida por imunoterapia com linfócitos.

### **Metas**

*1. Realizar o tratamento de cães acometidos com sarcoma com quimioterapia neoadjuvante com ou sem hipertermia, seguida por imunoterapia com linfócitos previamente coletados. Após tais procedimentos, os cães serão submetidos ao tratamento cirúrgico convencional;*

2. Avaliar a eficácia dessa abordagem terapêutica;

3. Padronizar a infusão de linfócitos previamente coletadas antes da quimioterapia (determinar o número e a composição dos linfócitos infundidos; avaliar se a ativação prévia dos linfócitos NK com IL-2 será necessária; avaliar se células autólogas serão capazes de exercer efeito ou se necessitamos de células alogênicas).

#### Cronograma de execução referente a seis anos de projeto

Metas	Semestres											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	■	■	■	■								
2			■	■	■	■						
3					■	■	■	■	■	■		

#### Pesquisadores Colaboradores Internacional:

*Hans-Jochem Kolb*