

# USO VETERINARIO DE LA DESMOPRESINA COMO ADYUVANTE PERIOPERATORIO DURANTE LA EXTIRPACIÓN DE TUMORES SÓLIDOS *TITULO INGLES*

**Hermo G<sup>1</sup>, Ripoll GV<sup>1</sup>, Farina HG<sup>1</sup>, Turic  
E<sup>2</sup>, Gobello C<sup>3</sup>, Gomez DE<sup>1</sup>, Alonso DF<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio de Oncología Molecular,  
Universidad Nacional de Quilmes  
R. Sáenz Peña 180, Bernal B1876BXD Buenos Aires,  
Argentina.

<sup>2</sup>Gerencia de Investigación y Desarrollo, Laboratorio  
Biogénesis-Bagó.

<sup>3</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias,  
Universidad Nacional de La Plata.

## **Resumen**

*La desmopresina (DDAVP, 1-deamino-8-D-arginina vasopresina) es un análogo sintético de la hormona antidiurética vasopresina. Luego de su administración, induce una rápida liberación del factor VIII de la coagulación y del factor de von Willebrand, entre otros efectos biológicos. La DDAVP ha sido empleada en animales con diabetes insípida y en ciertos desórdenes sanguíneos, siendo un agente hemostático seguro y efectivo en cirugías con alto riesgo de sangrado. Resultados recientes en modelos experimentales y en ensayos en caninos con tumores mamarios mostraron que la DDAVP despliega propiedades antitumorales significativas al ser aplicada por vía endovenosa como adyuvante perioperatorio durante la extirpación de la masa tumoral. El tratamiento reduce la recurrencia local, la diseminación linfática y la progresión metastásica a distancia, prolongando en caninos el tiempo libre de enfermedad luego de la cirugía.*

## **Abstract**

**Palabras clave** desmopresina, caninos, tumores  
mamarios, metastasis

**Key Words**

## Introducción

Las hormonas peptídicas de la neurohipófisis son transportadas desde el hipotálamo a la hipófisis por unas proteínas denominadas neurofisinas, y están involucradas en una amplia gama de efectos biológicos. La oxitocina induce la eyección de leche y la contracción del útero, mientras que la vasopresina se encarga principalmente de mantener el balance hidrosalino, causando un efecto antidiurético e incrementando la presión arterial (North, 1987). La vasopresina despliega también otras acciones, incluyendo la contracción del intestino, la glucogenólisis hepática, la agregación plaquetaria, la liberación del factor VIII de la coagulación y del factor de von Willebrand (FVW) y la potenciación del factor liberador de corticotropina (Richardson y Robinson, 1985). No obstante, estos últimos efectos tienen principalmente un interés farmacológico, ya que se presentan en concentraciones de vasopresina 50 a 1000 veces superiores respecto de las que se encuentran normalmente en el plasma (Richardson y Robinson, 1985). Como se muestra en la Fig. 1, la secuencia peptídica de la vasopresina incluye 9 aminoácidos, presentando un puente disulfuro entre los aminoácidos de las posiciones 1 y 6.

La desmopresina (DDAVP, 1-deamino-8-D-arginina vasopresina) es un análogo sintético de la vasopresina, descrito por primera vez en los años 60 (Zaoral y col., 1967). Con la deaminación de la cisteína en posición 1 se prolonga el efecto antidiurético y con la sustitución de D-arginina en lugar de la L-arginina en la posición 8 se reduce drásticamente el efecto vasopresor (Fig. 1). El efecto máximo de la DDAVP ocurre 6 a 10 horas luego de su administración y la duración del efecto varía entre 8 y 24 horas (Felman y Nelson, 1987; Krause, 1986; Nichols, 1989). En animales puede ser suficiente administrar una única dosis vespertina para el control de la nicturia. En seres humanos se documentaron algunos casos de resistencia a la terapia prolongada, no habiendo sido comprobado en perros o gatos.

El rango de dosis de DDAVP aplicada por vía parenteral en animales es de 0,5 a 2 microg/kg (i.v. o s.c.). La inyección parenteral de DDAVP es útil cuando la droga no es tolerada o adecuadamente absorbida a través de las vías intranasal o conjuntival. La ruta parenteral también se indica en el tratamiento de los procesos hemorrágicos, debido que los niveles sanguíneos de DDAVP requeridos para un efecto hemostático satisfactorio son 5 a 10 veces mayores que para la acción antidiurética (Richardson y Robinson, 1985; Johnson y col., 1986; Johnson y

Crane, 1986). La DDAVP es metabolizada por el hígado y el riñón, aunque es algo más lenta que la vasopresina. Cerca del 60 % es liberada por el riñón sin ser metabolizada (Richardson y Robinson, 1985).

## Efectos biológicos de la DDAVP

En contraste con la hormona vasopresina, que interacciona con varios receptores de membrana (V1a, V1b, V2 y V3), el análogo sintético DDAVP es un agonista selectivo del receptor V2. Este subtipo de receptor se expresa en los túbulos colectores del riñón y es responsable de la acción antidiurética de la hormona (Kaufmann y col., 2003 a). Además, el receptor V2 se expresa en las células endoteliales (Kaufman y col., 2003 b), mediando la mayoría de los efectos no renales de DDAVP. De manera interesante, la presencia del receptor de vasopresina fue demostrada en células epiteliales transformadas, y también documentada en varias variantes tumorales, incluido cáncer mamario y pulmonar (North, 2000). La expresión de receptores de neuropéptidos también fue detectada en diferentes líneas celulares de tumores humanos (Petit y col., 2001).

Los efectos vasopresor, glucogenolítico y agregante plaquetario de la vasopresina están mediados por receptores V1, dependientes de fosfatidilinositol, en tanto que la acción antidiurética y la liberación del factor VIII y FVW están mediados por receptores V2 dependientes de AMPc (Jard, 1985; Morel y col., 1987; Abramow y col., 1987). En los túbulos colectores del riñón, la activación del receptor V2 por vasopresina o DDAVP produce retención hídrica, merced a la inducción de la translocación de los canales de agua acuaporina-2, en un fenómeno de exocitosis mediado por AMPc (Yasui y col.)

El FVW es una glicoproteína que juega un rol primordial en el mantenimiento de la hemostasia del organismo, facilitando la adhesión de plaquetas al subendotelio. Funciona como un transportador del factor VIII de la coagulación, protegiéndolo de la degradación proteolítica. El FVW es sintetizado como una proteína precursora en las células endoteliales y megacariocitos. Este precursor sufre dimerización, glicosilación, clivaje proteolítico y ensamblado de los dímeros clivados en un gran multímero (500-15.000 kDa). Los multímeros de FVW son almacenados en gránulos secretores especializados denominados cuerpos de Weibel-Palade (Kaufmann y col., 2003 a). La DDAVP activa los receptores V2 e induce la secreción del FVW a través de la liberación de los cuerpos de Weibel-Palade. Por otra parte, DDAVP

induce un incremento en los niveles plasmáticos del factor VIII de la coagulación, aunque los mecanismos no se encuentran totalmente comprendidos. La DDAVP podría inducir la secreción del factor VIII o favorecer su protección de la degradación proteolítica por el incremento del FVW (White y col., 2004).

El rol de la DDAVP en la fibrinólisis fue uno de los primeros efectos descritos para este compuesto sintético. La actividad profibrinolítica de la DDAVP es debido al incremento del activador tisular del plasminógeno (tPA), una enzima proteolítica encargada de convertir el plasminógeno en plasmina y de esta manera iniciar la degradación de fibrina. Se piensa que el endotelio vascular es la principal reserva de tPA plasmático. En células endoteliales cultivadas, el tPA se expresa en niveles bajos. La expresión aumenta en respuesta a shock cardiogénico, trombina, histamina, ácido retinoico, factor de crecimiento del endotelio vascular y butirato de sodio, usualmente por aumento de la actividad transcripcional. No obstante, existen evidencias *in vitro* e *in vivo*, que indican que el tPA es secretado a partir de reservas celulares ya sintetizadas. En respuesta a DDAVP, se produce un incremento rápido del tPA plasmático, como ocurre con la administración sistémica de agentes beta-adrenérgicos (Wall y col., 1998). La co-localización del FVW y el tPA en el mismo compartimiento podría explicar el efecto coordinado de la DDAVP sobre los niveles plasmáticos de estas dos proteínas (Emeiss y col., 1997).

La DDAVP posee propiedades vasodilatadoras, asociadas a un descenso en las presiones sistólica y diastólica, aumento del gasto cardíaco y *rush* facial (Derx y col., 1983). Estudios de perfusión han demostrado que vasopresina y DDAVP ejercen un efecto vasodilatador directo luego de ser inyectados en forma intraarterial, por un mecanismo dependiente de óxido nítrico (Hayoz y col., 1997). Estas observaciones, sugieren una activación directa de la óxido nítrico sintetasa en el endotelio vascular, dependiente del receptor V2 y mediado por AMPc.

La molécula de adhesión P-selectina se expresa en células endoteliales contenida en los cuerpos de Weibel-Palade, como también en gránulos presentes en megacariocitos y plaquetas (McEver y col., 1989). Kanwar y col. demostraron que la DDAVP induce un incremento transitorio de la expresión de P-selectina sobre el endotelio de vena umbilical humana, como también en plaquetas humanas y de rata. Los primeros estudios indicaron que la expresión de P-selectina en las células endoteliales es muy importante durante el inicio de la interacción entre leucocitos y células endoteliales, conocido como ro-

damiento, requisito inicial para la adhesión y migración leucocitaria (Kanwar y col., 1995). Además, se ha demostrado que la DDAVP incrementa la capacidad de los monocitos sanguíneos de unirse activamente a las plaquetas, debido a la expresión de ligandos sialilados de P-selectina sobre la superficie de los monocitos (Pereira y col., 2003).

Algunos estudios mostraron que la inyección endovenosa de DDAVP es capaz de aumentar los niveles plasmáticos de norepinefrina (Grant y col., 1988). La administración central o periférica de DDAVP incrementaría la actividad locomotora en ratas en condiciones en las cuales se afecta la neuroquímica de la dopamina. Utilizando diferentes compuestos con actividad adrenérgica, se ha demostrado que la acción estimulante central de DDAVP involucra la liberación de dopamina y la activación de los receptores dopaminérgicos. Posiblemente, también los receptores alfa-adrenérgicos se encuentran involucrados (Di Michele y col., 1998).

## Efectos secundarios de la DDAVP

La DDAVP es segura para perros y gatos, según estudios en animales con diabetes insípida. La única complicación de cierta importancia es la inducción de intoxicación hídrica luego de aplicaciones repetidas. Esta complicación poco habitual, está en relación a alteraciones del componente inhibitorio del mecanismo de la sed y podría evitarse reduciendo la ingesta de líquidos. Es recomendable continuar la administración de DDAVP sólo cuando vuelve a manifestarse la poliuria. Idealmente, si la causa de la poliuria/polidipsia es incierta, debe medirse la natremia durante varios días después de iniciar la terapia antidiurética. Si hay hiponatremia, debe detenerse el tratamiento y reconsiderarse el diagnóstico (Ettinger y Feldman, 1997).

Los episodios trombóticos asociados al uso de DDAVP son infrecuentes. En una revisión de casos reportados en seres humanos, el riesgo protrombótico fue estimado en 0.0001% (Rodeghiero y col., 1991).

## Uso clínico de la desmopresina

Tradicionalmente, la DDAVP ha sido utilizada por sus propiedades antidiuréticas, como tratamiento de la diabetes insípida central y otras patologías que cursan con poliuria. Se introdujo más tarde su

uso en hemofilia A y enfermedad de von Willebrand, entre los desórdenes congénitos de la coagulación más frecuentes. En función de sus propiedades farmacológicas, las indicaciones clínicas para DDAVP se han ido expandiendo a otras enfermedades y situaciones clínicas.

## Diabetes insípida

La diabetes insípida es una condición patológica infrecuente, caracterizada por poliuria y polidipsia. Los signos y cambios bioquímicos son la consecuencia de la falta de vasopresina o de una insensibilidad renal a los efectos antidiuréticos de esta hormona. La falla en la producción o liberación podría deberse a una afección del sistema nervioso central, que involucra a la neurohipófisis, mientras que la falta de respuesta a la vasopresina afecta a animales con la denominada variante nefrogénica, debida a defectos genéticos, drogas (especialmente litio) u otros procesos patológicos específicos del riñón.

La diabetes insípida central (DIC) se caracteriza por la ausencia absoluta o relativa de la vasopresina circulante, y se clasifica como primaria (idiopática o congénita) y secundaria. La forma idiopática es la más corriente en medicina veterinaria, mientras que la congénita es bastante más rara. La DIC secundaria suele deberse a trauma o tumor craneano (Felman y Nelson, 1987; Post y col., 1989). La DIC postraumática puede resultar irreversible, pero con frecuencia persiste sólo por unos días o semanas (Post y col., 1989). La diabetes insípida nefrogénica (DIN) se asocia con la resistencia tubular a las acciones de la vasopresina (Authement y col., 1989). Esta insensibilidad del órgano efector parece relacionarse con un defecto de los receptores V2. La DIN congénita o primaria parece ser infrecuente en veterinaria (Felman y Nelson, 1987; Grunbaum y Moritz, 1991). En los seres humanos, la rara forma congénita de la DIN se supone recesiva y ligada a X (Felman y Nelson, 1987). Las causas de la DIN adquirida o secundaria, incluyen una variedad de trastornos renales y metabólicos, como pielonefritis, falla renal crónica, hipercalcemia, hipocaliemia, hiperadrenocorticismismo, hipertiroidismo, insuficiencia hepática y piómetra. La ingesta excesiva de agua a veces se clasifica como un tipo de diabetes insípida; puede derivar de un defecto en el mecanismo de la sed (forma dipsogénica) o ser una manifestación de alteraciones conductuales, en cuyo caso se la suele designar polidipsia primaria, polidipsia psicogénica o sed compulsiva (Felman y Nelson, 1987; Robeason, 1988; Post y col., 1989; Authement y col., 1989;

Grunbaum y Moritz, 1991; Robertson, 1984).

La DIC puede presentarse a cualquier edad, sin importar la raza o el sexo. Las formas primarias de la DIC y DIN tienden a ser raros defectos congénitos y por lo tanto se diagnostican más tempranamente (Felman y Nelson, 1987; Post y col., 1989; Grunbaum y Moritz, 1991). El examen físico en la mayoría de los perros o gatos con DIN y DIC primaria es inespecífico, a pesar de la presencia de poliuria, polidipsia, nicturia e incontinencia. La sed insaciable fuerza al animal a beber cualquier líquido que esté a su alcance, incluida su propia orina. Como estas mascotas buscan agua en forma constante, algunas se muestran inquietas, con anorexia parcial y pueden perder peso. Los animales con DIC secundaria a neoplasia hipotalámica o hipofisaria pueden tener signos adicionales. Estos incluyen desde deficiencias visuales, letargia, incoordinación, marcha desorientada y convulsiones, hasta múltiples alteraciones indefinidas (Nelson y col., 1989; Davidson y col., 1991; Eckersly y col., 1991; Bilzer, 1991).

## Coagulopatías hereditarias

Los desórdenes hemostáticos hereditarios provienen de la producción anormal de uno o más factores coagulantes específicos, ya sea debido a hipoproducción o generación de factores afuncionales. En la mayoría de los casos el trastorno comprende un solo factor, pero se han comunicado deficiencias hereditarias de múltiples factores en perros (Dodds, 1989; Fogh and Fogh, 1998; Otto y col., 1991; Randolph y col., 1986) y gatos (Dillon y Boudreaux, 1988; Littlewood and Evans, 1990).

La deficiencia del factor VIII (hemofilia A) es el defecto más común que ocurre en la mayoría de las razas caninas y en varias felinas (Dodds, 1989; Littlewood and Evans, 1990). Se hereda como un desorden recesivo ligado a X. La enfermedad se da casi con exclusividad en machos, pero se ha documentado la enfermedad natural en una perra (Murtaugh y Dodds, 1998).

Otra grave coagulopatía hereditaria relativamente común es la enfermedad de von Willebrand, con más de 50 razas caninas afectadas (Dodds, 1989). En algunas razas, la incidencia llega a ser elevada. En un estudio, el 73% de Doberman Pinscher, 30% de Terriers escoceses y 28% de Pastores de Shetland tuvieron concentraciones reducidas del FVW (Brooks y col., 1992). La intensidad de las tendencias hemorrágicas depende de la concentración y tipos de FVW presentes. La estructura multimérica del FVW arroja una variada y compleja presentación de sus formas funcionales (Johnson,



1998; Meyers y col., 1992). Los multímeros de mayor peso molecular tienen más actividad hemostática, debido al mayor número de receptores plaquetarios que ponen en juego (Meyers y col., 1992). En consecuencia, las variaciones en la tendencia hemorrágica entre las variantes de la enfermedad en los perros está determinada por las diferencias cuantitativas para la deficiencia de multímeros de alto peso molecular. La enfermedad de Von Willebrand de tipo I, la forma más común en los perros, es una enfermedad heterogénea resultante de la deficiencia generalizada de todos los multímeros de FVW. Se hereda como rasgo autosómico dominante incompleto. Los heterocigotos que portan el rasgo, son asintomáticos o tienen una tendencia hemorrágica leve a moderada (Dodds, 1989). Los homocigotos a menudo nacen muertos o fallecen al poco tiempo (Dodds, 1984). La enfermedad de tipo III es un déficit mucho más grave de todos los multímeros, sin detección de FVW (Raymond y col., 1990). Se hereda como rasgo autosómico recesivo en el Terrier escocés y en el Chesapeake Bay retriever. Los heterocigotos son asintomáticos, mientras que los homocigotos muestran tendencia hemorrágica moderada a intensa (Dodds, 1989). La enfermedad de tipo II es la más rara y se caracteriza por deficiencia de multímeros de alto peso molecular. Sólo se la identificó en una familia de Kurzhaar (Johnson y col., 1998; Raymond y col., 1990). La enfermedad de Von Willebrand ha sido comunicada en un gato Himalayo, aunque no se confirmó una base genética (French y col., 1987).

Los signos clínicos exhibidos por animales con coagulopatías hereditarias están influidos por muchos factores, comenzando por la magnitud del déficit y función del factor deficiente en la hemostasia normal. Las anormalidades hemostáticas graves cursan con episodios de hemorragia espontánea en el curso temprano de la vida y pueden producir muerte neonatal. Los pacientes con enfermedad de Von Willebrand tienen sintomatología que recuerda a los defectos plaquetarios, debido a la inadecuada adhesión plaquetaria mediada por el FVW durante la formación del tapón hemostático primario. Los signos clínicos suelen incluir epistaxis, sangrado estral o posparto prolongado y hematuria o melena por hemorragia en las superficies mucosas. El sangrado excesivo es común luego de la cirugía, extracción dental o si las uñas se recortan muy cerca de su base (Johnson y col., 1988; Meyers y col., 1992; Dodds, 1984). En el Doberman Pinscher con enfermedad de Von Willebrand, el aumento de la tendencia hemorrágica sucede durante la otoplastia cosmética, cuando los niveles de FVW son menores del

30 % del normal (Johnson y col., 1985). El aumento de la tendencia hemorrágica en perros enfermos puede deberse a estrés, desequilibrios hormonales o enfermedades concurrentes (como infecciones virales o bacterianas) que afectan el mecanismo hemostático (Dodds, 1984). El hipotiroidismo en los perros se asoció con bajas concentraciones plasmáticas del FVW, que aumentaba con la suplementación tiroidea (Dodds, 1984). No obstante, no se halló correlación entre el hipotiroidismo y las concentraciones plasmáticas de FVW (Lumsden y col., 1993).

El manejo de los animales con defectos graves de la coagulación se restringe en gran medida a la transfusión periódica de sangre entera o plasma durante los episodios hemorrágicos. La administración de DDAVP es una alternativa a la terapia transfusional en humanos y caninos con enfermedad de Von Willebrand. En los seres humanos, la administración de DDAVP aumenta los niveles plasmáticos del FVW a más del doble, presuntamente por liberación desde los sitios de depósito (Meyers y col., 1992; Giger y Dodds, 1989). La respuesta máxima se alcanza 1 ó 2 horas luego de la administración. El uso de DDAVP en dosis de 0.3 a 3 microg/kg en perros con enfermedad de Von Willebrand tipo I rindió resultados muy variables, con algunos animales que no demostraban un aumento relevante en los niveles de FVW (Meyers y col., 1992; Giger y Dodds, 1989; Johnstone y Crane, 1987). La administración de DDAVP parece inducir un aumento más significativo en la actividad del FVW, según lo determinado mediante estudios de agregación plaquetaria, asociado tal vez a una liberación de multímeros de alto peso molecular (Johnson y col., 1988; Graus y col., 1987). Los tiempos de sangría se acortan en la mayoría de los perros con enfermedad de Von Willebrand tipo I que recibieron DDAVP, sin una clara asociación en las variaciones en las concentraciones del FVW. Esto sugiere que la DDAVP puede afectar la hemostasia mediante mecanismos diferentes del FVW (Meyers y col., 1992).

## Desórdenes de la coagulación inducidos por drogas

La DDAVP contrarresta los efectos de algunas drogas antitrombóticas (Butler y col., 1993), acortando el tiempo de sangría prolongado que inducen una amplia variedad de agentes antiplaquetarios usados en clínica humana y veterinaria. Los principales mecanismos asociados con la disfunción plaquetaria medicamentosa incluyen la inhibición de

prostaglandinas y la interferencia con los receptores de membrana.

Uno de los grupos farmacológicos más comunes que inhiben la función plaquetaria corresponde a los antiinflamatorios no esteroides, que deberían usarse con cautela en animales que presentan defectos plaquetarios cualitativos hereditarios. Debido a la presencia de salicilatos en muchas preparaciones de venta libre con acción analgésica y antifebril, los problemas tóxicos de estas drogas pueden notarse en animales tratados de forma incorrecta por el propietario (Handagama, 1986). Los gatos son particularmente sensibles a la disfunción plaquetaria inducida por la aspirina debido a la carencia de glucoronil transferasa, la enzima necesaria para el metabolismo de los salicilatos (Handagama, 1986). Aunque se requiere más evidencia clínica, la DDAVP podría proveer una oportunidad para el manejo de los desórdenes de la hemostasia inducidos por estas drogas.

## Falla renal o hepática

En animales con falla renal se observan anomalías funcionales en las plaquetas. Los metabolitos de la urea responsables de estas disfunciones son poco conocidos, pero ciertos compuestos fenólicos que se acumulan en la uremia podrían inhibir la agregación plaquetaria. El sangrado propio de la uremia es usualmente mucocutáneo y refleja anomalías de las plaquetas o alteraciones hemostáticas vasculares. La DDAVP es una alternativa apropiada y segura para la profilaxis y tratamiento de las alteraciones hemorrágicas asociadas con uremia terminal (Lens y col., 1988).

En ocasiones la función plaquetaria se altera también durante las afecciones hepáticas, pero los mecanismos por los cuales se produce sangrado no son claros. No obstante, se reportó que la DDAVP podría ser útil en estas situaciones (Mannucci y col., 1986).

## Reducción de la pérdida de sangre durante la cirugía

Varios investigadores han evaluado si la DDAVP aporta beneficios durante cirugías en las cuales la pérdida de sangre es grande y podrían ser necesarias transfusiones sanguíneas repetidas. Las cirugías a corazón abierto con circulación extracorpórea son operaciones en las cuales es necesario adoptar medidas para preservar la sangre. Se han obtenido resultados variados y contradicto-

rios con el uso de DDAVP en este tipo de cirugías. La mayoría de los estudios no tuvieron un tamaño muestral suficiente para poder demostrar estadísticamente diferencias en relación a la administración de DDAVP.

Un meta-análisis de 17 ensayos clínicos controlados, con un total de cerca de 1200 pacientes humanos que experimentaron cirugía a corazón abierto, ha intentado poner en evidencia las ventajas y limitaciones del uso de DDAVP. En conjunto, la DDAVP reduce la pérdida de sangre en un 9%. Aunque DDAVP no tendría una acción relevante cuando las pérdidas son pequeñas, se encontró que el tratamiento es beneficioso en cirugías cardíacas donde la pérdida de sangre es mayor a 1 litro (Cattaneo y col., 1995).

## La DDAVP como agente antitumoral

Luego de describir el uso clínico corriente de la DDAVP, a continuación se presentarán los fenómenos biológicos que se asocian a la progresión metastásica del cáncer y se analizarán las propiedades antitumorales de la DDAVP en estudios preclínicos sobre modelos murinos y en un ensayo preliminar en perras con tumores mamarios malignos localmente avanzados. El conocimiento aportado por la literatura acerca de este compuesto sintético, será relacionado con las nuevas evidencias que muestran a la DDAVP como un potencial adyuvante (o neoadyuvante) de utilidad en la cirugía oncológica.

## Biología de la invasión tumoral y metástasis

Para formar un tumor secundario, las células agresivas del tumor primario deben invadir tejidos adyacentes, penetrar los vasos, y viajar hacia otros sitios donde se detienen, se extravasan y pueden comenzar un nuevo crecimiento (Fidler, 1991). La diseminación metastásica es la principal causa de mortalidad en los pacientes con cáncer. De todas las células tumorales que entran a la circulación sanguínea solamente una pequeña fracción, mucho menor al 1%, sobrevivirá para producir un tumor secundario. De tal manera que el proceso metastático puede ser considerado ineficiente, pero con frecuencia letal cuando se desarrolla y afecta a órganos vitales (Fidler, 1997).

La capacidad metastásica depende también de la angiogénesis, un fenómeno por el cual el tu-

mor induce la formación de nuevos vasos sanguíneos, comenzando por brotes capilares y progresando hacia la red vascular. Los nuevos vasos sanguíneos dentro y alrededor de la masa tumoral proveen nutrientes para el crecimiento tumoral y dan acceso a la circulación para la embolización de células metastásicas (Thorgeirsson y col., 1994). El proceso de invasión puede ser dividido en tres pasos secuenciales: (1) la adhesión de las células tumorales a la membrana basal u otras estructuras de la matriz extracelular, (2) la disgregación de la membrana basal por digestión proteolítica y (3) la migración de las células invasivas a través la membrana basal modificada (Liotta, 1986). Las similitudes biológicas observadas en los procesos de invasión tumoral y angiogénesis subrayan la función cooperativa de las células tumorales y las células endoteliales durante el proceso de progresión tumoral.

La adhesión de las células tumorales a la membrana basal involucra el anclaje específico a glicoproteínas de la matriz, tales como fibronectina, laminina y colágenos, las cuales se unen a una variedad de receptores de la superficie de las células tumorales. Para penetrar, las células invasoras deben romper segmentos locales en la estructura organizada de la lamina basal, un proceso regulado y preciso que involucra a enzimas proteolíticas. Una vez que las células tumorales ingresan al estroma, fácilmente pueden ganar acceso a los capilares sanguíneos neoformados o vasos linfáticos. Son cuatro las clases de proteasas relevantes en el proceso de invasión, incluyendo a serino-, aspartil-, cisteíno- y metalo-proteasas. A su vez, se describieron algunas subclases de metaloproteasas especialmente destacadas en la progresión metastásica (colagenasa intersticial, colagenasa tipo IV y estromelisin), como también de serinoproteasas (activador del plasminógeno de tipo uroquinasa). Se dispone de evidencias que indican que las células tumorales elaboran diferentes tipos de proteasas, las cuales junto con proteasas expresadas por células del microambiente tumoral – células endoteliales, fibroblastos y células inflamatorias – son capaces de degradar la compleja barrera que oponen membranas basales y demás matrices colágenas (Thorgeirsson y col., 1994).

La invasión y metástasis requieren de una activa motilidad celular, tanto por parte de las células endoteliales en la angiogénesis como también por las propias células tumorales. La migración es iniciada por pseudópodos, seguido por el avance de la célula completa. La locomoción involucra el ensamblado y desensamblado de filamentos de actina, gobernado por transducción de señales celulares es-

pecíficas (Gomez y col., 1999). Una vez que las células tumorales alcanzan una estructura vascular, están listas para circular dentro del torrente sanguíneo o la linfa y alcanzar sitios distantes.

Aunque un gran número de células cancerosas podrían liberarse a partir de un tumor primario agresivo, son pocas las que generan metástasis. Esta aparente “ineficiencia” del proceso metastásico mencionada más arriba, ha sido bien documentada en observaciones en seres humanos y en modelos animales. Mediante el conteo de colonias en los pulmones luego de aplicar una inyección endovenosa de células cancerosas en suspensión a animales de laboratorio, es posible obtener una cuantificación precisa de la formación de nódulos metastásicos (Weiss y col., 1982). Aún empleando tumores transplantables altamente agresivos, la eficiencia es del 0,1% o menos. Estudios cinéticos efectuados en ratones, apuntan a una masiva destrucción de células tumorales en la microcirculación. Como resultado de daños mecánicos por interacción con las paredes de la microvasculatura y de distintos mecanismos de respuesta inmunológica, las células tumorales son destruidas en minutos o en unas pocas horas (Weiss y col., 1983).

Siguiendo estas evidencias, se ha encontrado que las células viables individuales o no agregadas a menudo fallan para formar metástasis, mientras que las células tumorales que conforman conglomerados o émbolos multicelulares desarrollan una alta capacidad metastásica luego de ser inyectadas por vía venosa (Panis y col., 1992). Recientemente, Topal y col. han demostrado que células de cáncer colónico agregadas tienen una alta eficiencia metastásica en el hígado comparada con células no agregadas. Las metástasis hepáticas fueron observadas en 81% de las ratas después de una inyección intraportal de  $5 \times 10^5$  células tumorales bajo la forma de agregados multicelulares. En cambio, la eficiencia metastásica bajó al 16% después de la inyección de la misma cantidad de células viables pero en forma desagregada, como suspensión monocelular (Topal y col., 2003). Al agregarse, las células tumorales podrían sobrevivir en grandes aglomerados y ser atrapadas en la microcirculación, donde lograrían adherirse a las células endoteliales. De esta forma, serían capaces de soportar las agresiones mecánicas y evadir los mecanismos de defensa del hospedador, estando en condiciones de formar tumores secundarios.

Las células tumorales ingresadas a la corriente sanguínea interactúan con componentes del sistema hemostático. Esta interacción resulta en el depósito de fibrina alrededor de las células tumorales,

determinando la formación de microtrombos que incrementan la eficiencia del proceso de metástasis (Costantini y col., 1992). Este "capuchón" de fibrina aumenta las probabilidades de atrapamiento de las células tumorales en la microvasculatura del órgano blanco y también las protege de las agresiones del sistema inmune (Gunji y col., 1998). En línea con estos conceptos, hemos demostrado el incremento de la colonización pulmonar por células metastásicas de carcinoma mamario, cuando fueron administradas junto con un potente inhibidor sintético de la enzima profibrinolítica uroquinasa durante los primeros estadios de la formación de metástasis hemáticas. Se aportaron evidencias acerca de la formación de émbolos tumorales multicelulares en respuesta a la administración de la droga (Alonso y col., 1996).

## Manipulación tumoral y desarrollo de metástasis

La manipulación quirúrgica puede provocar la liberación de células tumorales viables hacia la circulación. La presencia de células cancerosas en la sangre periférica ha sido confirmada mediante técnicas de retrotranscripción seguida de reacción en cadena de la polimerasa en pacientes humanas operadas por cáncer mamario (Brown y col., 1995). De manera similar, la quimioterapia convencional podría causar un efecto movilizador sobre las células cancerosas. En un estudio prospectivo se demostró el reclutamiento de células tumorales hacia la sangre periférica, después del primer ciclo de quimioterapia en pacientes con cáncer de mama (Sabbatini y col., 2000). Otros autores han comunicado la presencia de células tumorales en una serie de ganglios linfáticos axilares luego de la manipulación de tumores mamarios (Carter y col., 2000). Al respecto, se describió la presencia de células epiteliales en el seno subcapsular del ganglio linfático drenante, que podría atribuirse a un mecanismo de transporte del epitelio tumoral, secundario a la manipulación biopsia o quirúrgica. Moore y col. han investigado mediante inmunohistoquímica si el patrón metastático del ganglio centinela en cáncer mamario está relacionado con la manipulación tumoral. Los datos sugirieron que la frecuencia de ganglios positivos se incrementaría con la manipulación tumoral (Moore y col., 2000).

Varios estudios experimentales en modelos animales han confirmado que la manipulación de tumores intrabdominales durante procedimientos de laparotomía o laparoscopia es un factor gravitante

en la diseminación metastásica (Mutter y col., 1999). En un modelo murino de esplenectomía laparoscópica de un adenocarcinoma, se demostró que la recurrencia portal disminuye con el incremento de la experiencia del cirujano, sugiriendo que las deficiencias en la técnica quirúrgica constituyen la principal causa de recurrencia (Lee y col., 2000). Se obtuvieron también interesantes resultados en un modelo experimental de cáncer mamario en ratones. Se inoculó en el tejido adiposo mamario células del adenocarcinoma TA3Ha y, más tarde, los tumores resultantes fueron extirpados quirúrgicamente en un intento curativo. En estas condiciones, la quimioterapia perioperatoria con doxorubicina redujo la recurrencia local, las metástasis axilares, y las metástasis pulmonares, y también prolongó el tiempo libre de enfermedad (Murthy y col., 1996).

## Efecto de la DDAVP sobre la diseminación tumoral en un modelo de cáncer mamario

Desde hace algunos años, hemos venido examinando el efecto de las hormonas neuropeptídicas sobre el modelo de carcinoma mamario F3II (Alonso y col., 1997). Reportamos que la vasopresina y el derivado sintético DDAVP pueden modular *in vitro* el crecimiento de células tumorales y la secreción de uroquinasa, una enzima profibrinolítica involucrada en las metástasis hemáticas. El incremento de la fibrinólisis entorno del émbolo tumoral podría prevenir el recubrimiento con fibrina intravascular y así disminuir la supervivencia de las células tumorales dentro de la circulación (Alonso y col., 1996). En ensayos *ex vivo*, estudiamos la formación de agregados multicelulares de células tumorales mamarias en presencia de plasma a partir de ratones controles o tratados con DDAVP. Luego de un corto tiempo, el plasma control fue capaz de inducir la agregación de las células tumorales, que quedaron atrapadas en un gel de fibrina coagulada. En contraste, en presencia de plasma de ratones tratados con DDAVP, la mayoría de las células tumorales permanecieron en una suspensión monocelular (Alonso y col., 1999).

Abordamos el estudio *in vivo* del efecto de la DDAVP sobre la colonización pulmonar experimental de células de cáncer mamario altamente agresivas en ratones singénicos Balb/c. La inyección endovenosa de DDAVP (1 a 2 microg/kg) al momento de la inoculación de células del carcinoma F3II, inhibió significativamente la formación de metástasis pulmonares experimentales. Se obtuvieron resul-



tados similares empleando el adenocarcinoma mamario parental LM3. En ambos casos, el número de nódulos pulmonares se redujo en cerca de un 70% en los ratones tratados con DDAVP. Se obtuvo también un efecto antimetastásico con la administración endovenosa de DDAVP 24 horas después de la inoculación de las células tumorales (Alonso y col., 1999). El pretratamiento *in vitro* de células cancerosas con concentraciones comparables de DDAVP, seguido por el lavado del compuesto, no afectó la capacidad metastásica, descartando la posibilidad que la DDAVP ejerza de manera directa la actividad antitumoral. En este sentido, en las dosis empleadas la DDAVP no produjo efectos citotóxicos directos ni afectó la viabilidad de células tumorales en suspensión o cultivadas en monocapas. En otra serie de experimentos *in vivo*, pudo comprobarse un efecto inhibitorio de la DDAVP endovenosa sobre la angiogénesis inducida por el tumor. El compuesto sería capaz de estimular la formación de angiostatina -un potente antiangiogénico natural derivado del plasminógeno- tanto en células cancerosas mamarias humanas como animales (Ripoll y col. 2004).

En principio, los experimentos sugieren fuertemente que el tratamiento con DDAVP estaría poniendo en juego mecanismos biológicos capaces de deteriorar la supervivencia o implantación de las células cancerosas liberadas desde el tumor primario. Considerando esta acción antitumoral, como también sus conocidas propiedades hemostáticas, la DDAVP se erige como un excelente candidato para ser aplicado como terapia adyuvante durante e inmediatamente después de la cirugía del cáncer. Para examinar esta potencial utilidad de DDAVP en oncología, investigamos el efecto sobre la diseminación locorregional hacia ganglios linfáticos y sobre las metástasis a distancia en pulmón. Se empleó un modelo murino preclínico de carcinoma mamario, sometiendo los tumores primarios a manipulación tumoral y extirpación quirúrgica.

Los ratones portadores de tumores mamarios fueron anestesiados y la masa tumoral subcutánea recibió una manipulación experimental a una presión controlada de 0,5 kg/cm<sup>2</sup> durante 2 minutos. Para examinar las propiedades antitumorales de DDAVP, los tumores recibieron tres manipulaciones experimentales semanales, seguidas por la extirpación quirúrgica de la lesión. La DDAVP fue administrada en forma endovenosa en dos dosis de 2 microg/kg, 30 minutos antes y 24 horas después de cada manipulación o cirugía. Al finalizar el experimento, los ratones fueron sacrificados y se efectuó una autopsia completa. La manipulación tumoral indujo una masi-

va diseminación hacia los ganglios axilares e incrementó hasta 6 veces el número de metástasis pulmonares. El tratamiento perioperatorio con DDAVP redujo dramáticamente la diseminación locorregional. La incidencia de ganglios axilares afectados en los animales tratados con DDAVP fue apenas del 12%, mientras que casi el 90% de los animales sin tratamiento mostraron metástasis linfáticas (Giron y col., 2002). En la mayoría de los animales tratados con DDAVP el análisis histopatológico de las muestras de ganglios axilares mostró histiocitosis sinusal sin presencia de células tumorales. La histiocitosis es considerada un indicador de resistencia antitumoral en pacientes con cáncer de mama (Loboda y col., 1982). En cambio, los ganglios de los animales control, evidenciaron metástasis masivas, sin signos de histiocitosis sinusal. Las metástasis pulmonares se redujeron en un 65% en los animales tratados con DDAVP al finalizar el experimento (Giron y col., 2002). La aplicación perioperatoria de DDAVP se mostró segura en las dosis utilizadas en este modelo preclínico, y se obtuvo acción antitumoral sin observarse efectos tóxicos de importancia.

## **Acción de la DDAVP sobre caninos con tumores mamarios malignos**

Los tumores de las glándulas mamarias en los caninos se encuentran entre las entidades patológicas más comunes en la consulta veterinaria (Johnston, 1993; Mc Ewen y Withrow, 1996; Moulton, 1990), y las neoplasias de la mama son las más frecuentes en los órganos reproductores de la hembra canina (Cotchin, 1954). Representan aproximadamente el 42% de la totalidad de los tumores caninos y el 82% de los que aparecen en los órganos reproductores femeninos (Brodey y col., 1983; Moulton, 1990; Gobello y Corrada 2001). El tratamiento de elección es la mastectomía (Mc Ewen y Withrow 1996) y el diagnóstico definitivo se basa en el estudio histológico de la mama afectada luego de su extirpación (Fergusson, 1985).

Hasta el momento, el uso de quimioterapia adyuvante en caninos con tumores malignos de glándula mamaria es incierto y los resultados son algo contradictorios (Hahn y col., 1992; Karayannopoulou y col. 2001; Mc Ewen y Withrow 1996; Ogilvie y col., 1989). La utilización de agentes antihormonales como adyuvantes está también restringida debido a los efectos colaterales severos que tienen en esta es-

pecie (Morris y col., 1993; Kitchell, 1995). Se torna difícil aconsejar al propietario de un animal la aplicación de terapia adyuvante luego de la cirugía, considerando los efectos adversos y la poca información publicada que apoye su uso. Por lo expuesto, se espera que ensayos futuros en esta especie se concentren en el desarrollo de nuevos protocolos con agentes adyuvantes seguros y efectivos.

Atendiendo a lo expuesto más arriba sobre las propiedades antitumorales de la DDAVP en modelos experimentales, decidimos evaluar sus efectos sobre el período libre de enfermedad y supervivencia en perras con tumores mamarios localmente avanzados, aplicando el compuesto de manera perioperatoria durante la mastectomía.

Se evaluaron más de 20 perras mestizas o de diferentes razas, no castradas, de entre 8 y 15 años y de 5 a 40 kg, que presentaron tumores mamarios malignos estadio III ó IV, según confirmación por biopsia diferida (Hampe y Misdorp, 1974). La presencia de metástasis pulmonares se descartó mediante radiografías de tórax. Las perras recibieron aleatoriamente DDAVP, en dos dosis endovenosas de 1 microg/kg en solución salina 30 minutos antes y 24 horas después del acto operatorio o sólo el vehículo salino en el mismo volumen y esquema que para los animales tratados (Tabla I). Las perras se premedicaron con sulfato de atropina (0,045 mg/kg s.c.), maleato de acepromazina (0,03 mg/kg s.c. y butorfanol (0,2 mg/kg, i.m.). La anestesia se indujo con tiopental sódico (8 mg/kg, i.v.) y luego de la intubación endotraqueal se mantuvo con halotano y oxígeno. Los tumores fueron extirpados mediante mastectomía y se eliminaron las mamas ipsilaterales, más la mama craneal y caudal respecto a la mama afectada. Los ganglios linfáticos fueron escindidos cuando a la palpación denotaba adenomegalia (Withrow, 1975; Patsikas y Dessiris, 1996). La masa tumoral y los ganglios se fijaron en formol al 10%, se aplicaron procedimientos de rutina para estudios histopatológicos, y los tumores mamarios se clasificaron acorde a Hampe y col. (Hampe y Misdorp, 1974).

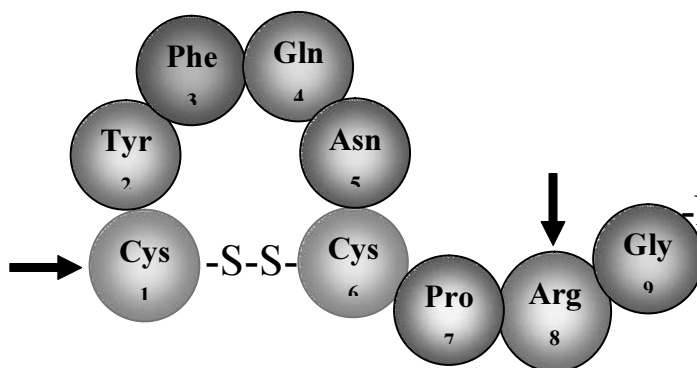
Las hembras se evaluaron clínicamente y por radiografías de tórax durante al menos 12 meses. La realizó un seguimiento trimestral, que consistió en la observación del estado general de la salud del animal, la palpación de la herida quirúrgica, ganglios linfáticos regionales, mamas y tejidos adyacentes. El diagnóstico de metástasis pulmonares se realizó mediante radiografías del tórax. Se evaluó recurrencia local, recurrencia regional y diseminación a distancia, a fin de valorar la supervivencia libre de enfermedad. La supervivencia global se evaluó des-

de la cirugía hasta la muerte del animal. Se investigó también el eventual desarrollo de efectos colaterales, muy en especial en los días posteriores a la cirugía. Los tumores diagnosticados resultaron ser en su mayoría carcinomas simples o complejos, además de algunos sarcomas. Según datos preliminares, cerca de la mitad de los animales del grupo control mostraron progresión durante los primeros tres meses luego de la cirugía, mientras que más del 90% de las perras tratadas con DDAVP perioperatoria continuaban libres de enfermedad luego del mismo período (Ripoll y col. 2005). Tanto la supervivencia libre de progresión como la supervivencia global se estarían prolongando significativamente con el uso de DDAVP, luego de al menos 1 año de seguimiento de los animales.

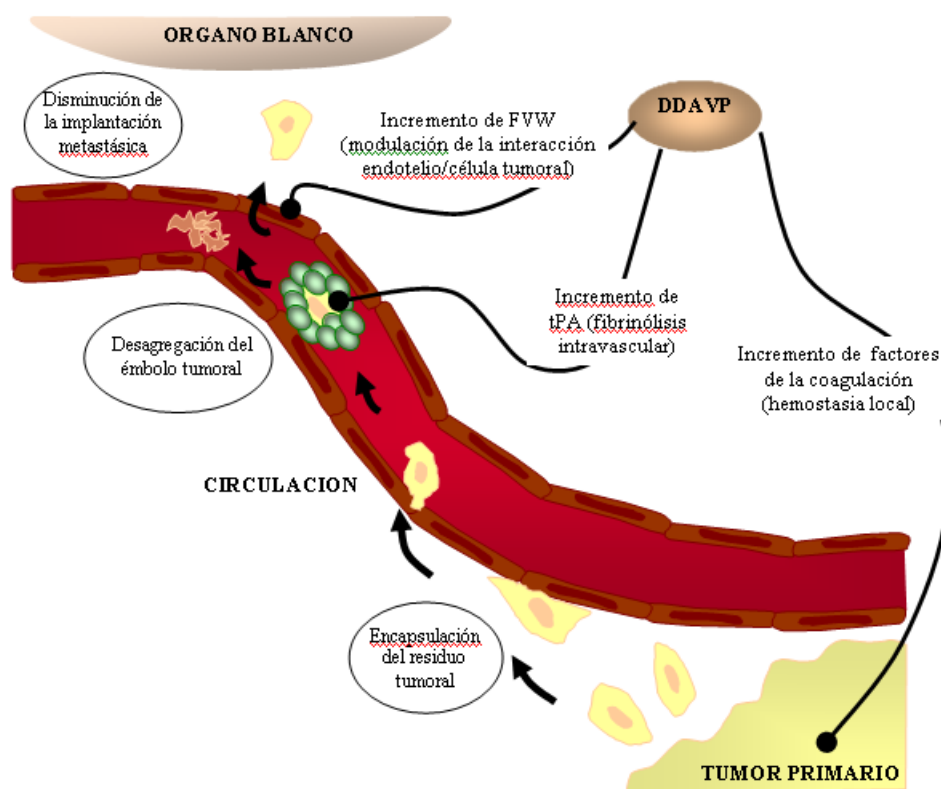
## **Análisis de los mecanismos de acción antitumoral de la DDAVP**

Desde hace más de cien años se ha reconocido una relación entre el sistema hemostático y las enfermedades tumorales malignas (Trousseau, 1865). Se describió un característico estado de hipercoagulación en portadores de cáncer, asociado a la capacidad de las células tumorales de producir directa o indirectamente la activación de la cascada de la coagulación, como también de activar o inhibir el proceso de fibrinólisis (Rickles y col., 2001). Así, tanto animales como seres humanos enfermos de cáncer pueden mostrar susceptibilidad para sufrir desórdenes tales como trombosis, embolismo pulmonar y coagulación intravascular diseminada, entre los más comunes (Loreto y col., 2000).

Un trabajo experimental reciente publicado por Terraube y col. (2006) demostró un incremento significativo del número de focos metastáticos en pulmón en ratones deficientes en FVW, comparados con ratones normales. Esta diferencia en el desarrollo de metástasis pudo ser corregida restaurando los niveles de plasmáticos de FVW. También encontraron una mayor supervivencia de las células tumorales en pulmón en ausencia de FVW, correlacionada con el mayor número de nódulos metastáticos pulmonares formados en esos animales. Este interesante hallazgo, sugiere fuertemente que el FVW juega un papel protector contra la diseminación tumoral in vivo, pudiendo dar un sustento directo a las propiedades antitumorales de la DDAVP, compuesto que es capaz de estimular la secreción de este factor desde reservas endoteliales.



**Fig. 1.** Estructura del nanopeptido vasopresina. El análogo sintético DDAVP difiere de la hormona natural por la desaminación de la cisteína en posición 1 y la incorporación de D-arginina en la posición 8 (flechas).



**Fig. 2.** Posibles mecanismos de acción antitumoral de la DDAVP. El incremento en los factores de coagulación luego del tratamiento con DDAVP durante la manipulación tumoral puede contribuir a una rápida encapsulación del residuo tumoral, limitando la intravasación de las células metastásicas. Asimismo, DDAVP incrementa la fibrinólisis, ayudando a disolver el coágulo de fibrina de las células cancerosas circulantes reduciendo la agregación celular, permitiendo su destrucción a través del sistema inmune. El aumento de los niveles del factor de von Willebrand (FVW) podría prevenir la diseminación metastásica, alterando la interacción de las células cancerosas con el endotelio en el órgano blanco.

**Tabla I –** Protocolo de tratamiento con DDAVP perioperatoria para cirugía oncológica.

Protocolo	Rango de dosis	D
<b>Perioperatorio</b>		
30 min antes y 24 horas después de la cirugía	0,3 a 4 µg/kg	

No obstante, vale remarcar que los efectos biológicos de DDAVP sobre células endoteliales y tumorales se muestran complejos. La acción hemostática de DDAVP parece ser esencial para mejorar y acelerar el proceso de cicatrización postoperatorio. En este contexto, la recurrencia local y a distancia de cáncer de mama podría deberse a la estimulación perioperatoria de células tumorales residuales (Reid y col., 1997). El período perioperatorio está también caracterizado por inmunosupresión y predispone a la diseminación tumoral (Vallejo y col., 2003). La administración de DDAVP perioperatoria podría ofrecer la oportunidad de modular tempranamente la injuria sobre el microambiente tisular y reducir la recurrencia locoregional de cáncer. El incremento de la coagulación después de los daños tisulares producidos por la cirugía podría contribuir a una rápida encapsulación de potenciales residuos tumorales, limitando la intravasación de células cancerosas. Es conocido que las moléculas proangiogénicas son producidas localmente en respuesta a daño tisular y cáncer. En pacientes con cáncer de mama se han detectado altas concentraciones de factores angiogénicos en fluidos quirúrgicos, por ello se estima que podrían ser bloqueados utilizando terapias locales o sistémicas perioperatorias (Hornbrey y col., 2003), como es el caso de la DDAVP. Otros agentes que previenen la pérdida de sangre han sido empleados durante cirugías oncológicas. La administración perioperatoria y postoperatoria de ácido tranexámico reduce las complicaciones en animales y en mujeres con cáncer de mama (Jong de y col., 1974; Oertli y col, 1994).

Por otra parte, se sabe que la DDAVP incrementa la fibrinólisis intravascular, pudiendo contribuir a disolver la fibrina de los émbolos de células tumorales circulantes y reducir la agregación de estas células (Alonso y col., 1999). Como se comentó, el depósito de fibrina alrededor de las células tumorales que ingresan al flujo sanguíneo mejora la supervivencia celular y la colonización del órgano blanco. En este sentido, en modelos murinos experimentales la implantación de células tumorales mamarias en sitios de traumatismo tisular pudo ser inhibido mediante la inyección de agentes profibrinolíticos, como estreptoquinasa y tPA recombinante (Murthy y col., 1991).

El efecto de la DDAVP parece ser ejercido en los estadios tempranos del proceso de diseminación, no solamente induciendo una rápida encapsulación de residuos tumorales y limitando la formación de émbolos intravasculares de células tumorales, sino también alterando la interacción de las células can-

cerosas con el endotelio (Fig. 2). Por ejemplo, la DDAVP podría modificar la adherencia de las células tumorales en los órganos blanco por alteración de la expresión de P-selectina sobre las células endoteliales (Kanwar y col., 1995) o plaquetas (Wun y col., 1995). También podría alterar la hemodinamia del flujo sanguíneo o inducir la lisis de las células tumorales a través de la producción de óxido nítrico a partir de la microvasculatura (Hirano y col, 1997). Tampoco es posible excluir potenciales efectos biológicos directos de la DDAVP sobre las células tumorales durante la intravasación y formación del foco metastásico. Debe recordarse que se publicó que células de cáncer mamario y pulmonar contienen secuencias normales de los genes de todos los receptores de vasopresina y expresan los receptores V1a y V1b, y además formas normales y una forma anormal del receptor V2 (North, 2000).

## Conclusiones y perspectivas

La DDAVP ha sido usada en animales con diabetes insipidus y con una amplia variedad de desórdenes sanguíneos. La DDAVP es un agente hemostático seguro y efectivo para usar en cirugías de animales con hemofilia o enfermedad de von Willebrand, y también en cirugías con abundante sangrado, como extracciones dentales, biopsias hepáticas y cortes de orejas (Johnson GS., y col., 1985; Johnson GS., y col., 1988; Meyers KM. y col., 1992; Dodds WJ, 1984). Las propiedades antitumorales de la DDAVP en modelos tumorales fueron comprobadas administrándola en forma endovenosa, en dosis cercanas a las utilizadas para obtener efecto antiurético o hemostático. Nuestras observaciones en modelos experimentales y en un estudio clínico en caninos con tumores mamarios en estadios localmente avanzados, indican beneficios evidentes de la aplicación de DDAVP como adyuvante perioperatorio en cirugías oncológicas. El potencial efecto dual de la DDAVP, reduciendo la pérdida de sangre y limitando la recurrencia tumoral o la diseminación metastásica, fundamentan este potencial uso clínico. Las evidencias experimentales y resultados clínicos en caninos indican efectos antitumorales de la DDAVP en cáncer de mama, aunque son de esperar similares beneficios en otros tumores sólidos agresivos.

La manipulación quirúrgica y el trauma tisular incrementan el crecimiento y dispersión de algunos tipos de células cancerosas. Sin embargo, cuando el proceso reparativo es rápido y completo, el sitio quirúrgico se vuelve menos favorable para la implan-



tación tumoral (Murthy y col., 1989). Luego de la cirugía, la recurrencia local de un tumor agresivo asociada a una progresión metastásica rápida, es más probable que dependa de una siembra perioperatoria de células tumorales, que de un fenómeno más tardío de recidiva local (Hornbrey y col., 2003).

En el futuro, seguramente se logrará una mejor comprensión de los complejos eventos biológicos que ocurren durante el período perioperatorio en pacientes con cáncer. Cualquiera sean los múltiples mecanismos de acción involucrados, las propiedades hemostáticas, profibrinolíticas y antitumorales de la DDAVP la erigen como una droga capaz de mejorar la hemostasia y el proceso reparativo luego de la cirugía y, al mismo tiempo, reducir la recurrencia o limitar la progresión de la enfermedad.

A diferencia de los quimioterápicos convencionales, en las dosis empleadas la DDAVP no posee efectos colaterales en el perro, y es un agente ya conocido respecto de sus perfil farmacológico, además de resultar seguro y práctico en su forma de aplicación (Papich, 2000). Las evidencias preliminares sobre el potencial uso clínico de la DDAVP durante el abordaje quirúrgico de los tumores caninos justifican la realización de ensayos más extensos y en distintas variantes tumorales. Se prevé que las estrategias terapéuticas perioperatorias conformen un área fructífera para la investigación en cáncer durante los próximos años.

## Bibliografía

1. Abramow M.; Beauwens R.; Cogan E. (1987) Cellular events in vasopressin action. *Kidney Int* 32 (suppl 21):56-66.
2. Alonso DF.; Bertolesi GE.; Farias EF.; Gomez DE.; Bal de Kier Joffé E. (1996) Inhibition of fibrinolysis by a synthetic urokinase inhibitor enhances lung colonization of metastatic murine mammary tumor cells. *Oncol Rep* 3: 1055-1058
3. Alonso DF.; Skilton G.; Farina HG.; De Lorenzo MS.; Gomez DE. (1997) Modulation of growth and urokinase secretion by vasopressin and closely related nonapeptides in metastatic mouse mammary tumor cells. *Int J Oncol* 10: 375-379.
4. Alonso DF.; Skilton, G.; Farias EF.; Bal de Kier Joffé E.; Gomez D. (1999) Antimetastatic effect of desmopressin in a mouse mammary tumor model. *Breast Cancer Res Treat* 57: 271-275.
5. Authement JM.; Boudrieau RJ.; Kaplan PM. (1989) Transient traumatically induced central diabetes insipidus in dog. *JAVMA*. 194:683-685.
6. Bilzer T. (1991) Tumors of the hypophysis as a cause of both Cushing's syndrome and diabetes insipidus in dogs. *Tierärztliche Praxis* 19:276.
7. Brodey RS.; Goldschmidt MA.; Roszel JR. (1983) Canine mammary gland neoplasms. *J.Am.Anim. Hosp. Assoc.* 19:61-90.
8. Brooks M.; Dodds WJ.; Raymond SL. (1992) Epidemiologic

features of von Willebrand disease in Doberman pinschers, Scottish terriers and Shetland sheep-dogs: 260 cases (1984-1988). *JAVMA* 200: 1123-1127.

9. Brown DC.; Purushotham AD.; Birnie GD.; George WD. (1995) Deteccion of intraoperative tumor cell dissemination in patients with breast cancer using reverse transcription and polymerase chain reaction. *Surgery* 117: 95-101.

10. Butler KD.; Dolan SL.; Talbot MD.; Wallis RB. (1993). Factor VIII and DDAVP reverse the effect of recombinant desulphato-hirudin (CGP 39393) on bleeding in the rat. *Blood Coagul Fibrinol* 4: 459-464.

11. Carter BA.; Jensen RA.; Simpson JF.; Page DL. (2000) Benign transport of breast epithelium into axillary lymph nodes after biopsy. *Am J Clin Pathol* 113: 259-265.

12. Cattaneo M.; Harris AS.; Stromberg U.; Mannucci PM. (1995) The effect of desmopressin on reducing blood loss in cardiac surgery. A meta-analysis of double-blind, placebo-controlled trials. *Thromb Haemost* 74: 1064-1070.

13. Constantini V. y Zacharski LR. (1992) The role of fibrin in tumor metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 11: 283-290.

14. Cotchin F. (1954) Further observations on neoplasias in dogs with particular reference to site of origin and malignancy. *Br. Vet. J.* 110: 218.

15. Davidson MG.; Nasisse MP.; Breitschwerdt EB.; Thrall DE.; Page RL.; Jamieson VE.; English RV. (1991) Acute blindness associated with intracranial tumors in dogs and cats: Eight cases (1984-1989) *JAVMA* 199:755-758.

16. Derkx FH.; Man in 't Veld AJ.; Jones R.; Reid JL.; Schalekamp MA. (1983). DDAVP (1-desamino-8-D-arginine vasopressin): an antagonist of the pressor action of endogenous vasopressin? *J Hypertens Suppl.* 1: 58-61.

17. Di Michele S.M.; Ericson U.; Sillen JA.; Engel; Soderpalm B. (1998). The role of catecholamines in desmopressin induced locomotor stimulation. *J Neural Transm* 105: 1103-1115.

18. Dillon AR. y Boudreaux MK. (1988) Convined factors IX and XII deficiencies in a family of cats. *JAVMA* 193:833.

19. Dodds WJ. (1984) Von Willebrand's disease in dogs. *Mod Vet Pract* 65:681.

20. Dodds WJ. Hemostasis. (1989) En Kaneko JJ (ed): *Clinical biochemistry of domestic animal*. San Diego. Academic Press. 274-315.

21. Eckersley GN.; Geel JK.; Kriek NP (1991) A craniopharyngioma in a seven-year-old dog. *JS Afr Vet Assoc* 62:65-67.

22. Emmeis JJ.; Van den Eijnden-Schrauwen Y.; Van den Hoogen CM.; De Priester W.; Westmuckett A.; Lupu F. (1997). An endothelial storage granule for tissue-type plasminogen activator. *J Cell Biol*; 139: 245-56.

23. Ettinger SJ.; Feldman EC. (1997) Enfermedad pituitaria hipotalamica. *Tratado de medicina interna veterinaria*. 4ta ed. Intermedica. 1724-1740.

24. Feldman EC y Nelson RW. (1987) Polydipsia and polyuria. *In* Feldman EC and Nelson RW (ed): *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. Philadelphia. WB Saunders 1-28.

25. Ferguson RH. (1985) Canine mammary gland tumors. *Vet Clin. North Am Small Animal Pract.* 15: 501-511.
26. Fidler IJ. (1991) Cancer metastasis. *Br Med Bull* 47: 157-177.
27. Fidler IJ. (1997) Molecular Biology of Cancer: Invasion and Metastasis. En DeVita, Cancer Principles & Practice of Oncology. 5<sup>th</sup> Ed. Lippincott-Raven, 165-152.
28. Fogh JM y Fogh IT. (1998) Inherited coagulation disorders. *Vet Clin North Am. Small Anim Pract* 18:231.
29. Forrester S. (1992) Symposium on paraneoplastic disorders. *Vet. Med. Jan.* 26.
30. French TW.; Fox LE.; Randolph JF.; Dodds WJ. (1987) A bleeding disorder (von Willebrand disease) in a Himalaya cat. *JAVMA* 190:437.
31. Giger U y Dodds WJ. (1989) Effect of desmopressin in normal dogs and dogs with von Willebrand's disease. *Vet Clin Pathol* 18:39.
32. Giron S.; Tejera AM.; Ripoll GM.; Gomez DE.; Alonso DF. (2002) Desmopressin inhibits lung and lymph node metastasis in a mouse mammary carcinoma model of surgical manipulation. *J Surg Oncol* 81: 38-44.
33. Gobello C. y Corrada Y. (2001) Canine mammary tumors: An endocrine clinical approach. *J. Small Animal Pract* 23 (8): 705-708.
34. Gomez DE.; Skilton G.; Alonso DF.; Kazanietz MG. (1999) The role of protein kinase C and novel phorbol ester receptors in tumor cell invasion and metastasis. *Oncol Rep* 6: 1363-1370.
35. Grant MB.; Guay C.; Lottenberg R. (1988) Desmopressin stimulates parallel norepinephrine and tissue plasminogen activator release in normal subjects and patients with diabetes mellitus. *Thromb Haemost* 59: 269-272.
36. Grunbaum EG y Moritz A. (1991) The diagnosis of nephrogenic diabetes insipidus in the dog. *Tierarzliche Praxis* 19:539.
37. Gunji Y. y Gorelik G. (1998) Role of fibrin coagulation in protection of murine tumor cells from destruction by cytotoxic cells. *Cancer Res* 48: 5216-5221.
38. Hahn KA.; Richardson RC.; Knapp DW. (1992) Canine malignant mammary neoplasia: Biologic behavior, diagnosis, and treatment alternatives. *J Am Anim Hosp Assoc* 28:251-257.
39. Hampe JF. y Misdorp W. (1974) Tumours and dysplasias of the mammary gland. *Bull WHO.* 50:111-133.
40. Handagama P. (1986) Salicylate toxicity. En Kirk RW (ed): *Current veterinary therapy IX.* Philadelphia. WB Saunders. 524-527.
41. Hayoz D.; Weber R.; Pechere A.; Burnier M. y Brunner HR. (1997) Heterogeneous vascular response to vasopressin: radial artery versus forearm blood flow. *J Hypertens* 15: 35-41.
42. Hirano S. (1997) In vitro and in vivo cytotoxic effects of nitric oxide on metastatic cells. *Cancer Lett* 115:57-62.
43. Honn K. y Tang D. (1992) Adhesion molecules and tumor cell interaction with endothelium and subendothelial matrix. *Cancer Metas Rev.* 11: 353-375.
44. Hormbrey E.; Han C.; Roberts A.; McGrouther DA. y Harris AL. (2003) The relationship of human wound vascular endothelial growth factor (VEGF) after breast cancer surgery to circulating VEGF and angiogenesis. *Clin Cancer Res* 9: 4332-4339.
45. Jard S. (1985) Vasopressin receptors in diabetes insipidus. In Robinson AG and Czernichow P (eds): *Diabetes Insipidus.* Basel Karger. 89-104.
46. Johnson GS.; Schlink GT.; Fallon RK.; Moore CP. (1985) Hemorrhage from the cosmetic otoplasty of Doberman pinschers with von Willebrand 's disease. *Am J Vet res* 46:1335.
47. Johnson GS. (1998) Canine von Willebrand 's disease. A heterogeneous group of bleeding disorders. *Vet Clin North Am Sm Anim Pract* 18:195.
48. Johnson GS.; Kraus KH.; Turrentine MA.; Dean PW. (1986) DDAVP-induced increases in coagulation factor VIII and von Willebrand Factor in the plasma of conscious dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 9:370-375.
49. Johnston IB y Crane S. (1986) The effects of desmopressin on hemostatic parameters in the normal dog. *Can J Vet Res.* 50:265.
50. Johnston SD. (1993) Reproductive System (mammary neoplasia) In: Slatter DH (ed): *Textbook of small animal surgery.* Saunders, WB. Philadelphia. 2185-2192.
51. Johnstone IB y Crane S. (1987) The effects of desmopressin on plasma factor VIII / von Willebrand 's factor activity in dogs with von Willebrand 's disease. *Can J Vet Res* 51:189.
52. Jong de JC; Nelems JM; Smit Sibinga CT; Wildevuur CR. (1974) The influence of tranexamic acid on thrombocytopenia caused by artificial surfaces. *Trans Am Soc Artif Intern Organs.* 20 B:596-603.
53. Kanwar S.; Woodman RC.; Poon MC.; Murohara T.; Lefer AM.; Davenpeck KL.; y Kubes P. (1995) Desmopressin induces endothelial P-selectin expression and leukocyte rolling in postcapillary venules. *Blood* 86: 2760-2766.
54. Karayannopoulou M.; Kaldrymidou E.; Constantinidis TC.; Dessiris A. Adjuvant post-operative chemotherapy in bitches with mammary cancer. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 2001 Mar;48(2):85-96.
55. Kaufmann JE. y Vischer UM. (2003a) Cellular mechanisms of the hemostatic effects of desmopressin (DDAVP). *J Thromb Haemos* 1: 682-689.
56. Kaufmann JE.; Iezzi M.; Vischer UM. (2003b) Desmopressin (DDAVP) induces NO production in human endothelial cells via V2 receptor- and cAMP-mediating signalling. *J Thromb Haemos* 1: 821-828.
57. Keck T.; Banafsche R.; Werner J. (2001) Desmopressin impairs microcirculation in donor pancreas and early graft function after experimental pancreas transplantation. *Transplantation* 72:202-209.
58. Kitchell BE. (1995) Mammary tumors. En: Bonagura JD (ed), *Kirk's Current Veterinary Therapy XII.* Philadelphia, WB Saunders. 1098-1102.
59. Krause KH. (1986) The use the desmopressin in diagnosis and treatment of diabetes insipidus in cats. *Comp Contin.* Ed 9:752.
60. Kraus KH.; Turrentine MA.; Johnson GS. (1987) Multimeric

analysis of von Willebrand factor before and after desmopressin acetate (DDAVP) was administered intravenously and subcutaneously in male beagle dogs. *Am J Vet Res* 48: 1376-1379.

61. Lee SW.; Gleason NR.; Bessler M.; Whelan RL. (2000) Port site recurrence rates in a murine model of laparoscopic splenectomy decreased with increased experience. *Surg Endosc* 14: 805-811.

62. Lens XM.; Caasals J.; Oliva JA.; Pascual R.; Carrió J.; Mallafré JM. (1988). Trastornos de la coagulación en la insuficiencia renal: modificaciones por la desamino-8-D-arginina vasopresina. *Med Clin (Barc)* 90: 603-606.

63. Littlewood JD y Evans RJ. (1990) A combined deficiency of factor VIII and contact activation defect in a family of cats. *Br Vet J* 146:30.

64. Liotta LA. (1986) Tumor invasion and metastasis-role of extracellular matrix. *Cancer Res* 46: 1-7.

65. Loboda VI. y Grinevich IA. (1982) Sinus histiocytosis of the regional lymph nodes as an indicator of antitumor resistance in breast cancer. *Arkh Patol* 44:45-49.

66. Loreto MF.; De Martinis M.; Corsi MP.; Modesti M.; Ginaldi L. (2000) Coagulation and cancer: implications for diagnosis and management. *Pathol Oncol Res.*6(4):301-312.

67. Lumsden JH. (1993) Prevalence of hypothyroidism and von Willebrand 's disease in Doberman pinscher and the observed relationship between thyroid, von Willebrand, and cardiac status. *J Vet Intern Med* 7:115.

68. Mannucci PM.; Vicente V.; Vianello L.; Cattaneo M.; Alberca I.; Coccato MP.; Faioni E.; Mari D. (1986). Control trial of desmopressin (DDAVP) in liver cirrhosis and other conditions associated with prolonged bleeding time. *Blood* 67: 1148-1153.

69. MC Ewen EG. y Withrow SJ. (1996) Tumors of the mammary glands. En: Withrow, S.J.; Mc Ewen, E.G (eds), *Small Animal Clinical Oncology* 2<sup>nd</sup> ed, WB Saunders, Philadelphia. 356-372.

70. McEver RP.; Beckstead JH.; Moore KL.; Marshall-Carlson L.; Bainton DF. (1989) GMP-140, a platelet alpha-granule membrane protein, is also synthesized by vascular endothelial cells and is localized in Weibel-Palade bodies. *J Clin Invest* 84: 92-99.

71. Meyers KM. (1992) Canine von Willebrand's disease: Pathobiology, diagnosis, and short-term treatment. *Comp Contin Ed* 14:13.

72. Moore KH.; Thaler HT.; Tan LK.; Borgen PI.; Cody HS. (2004) Immunohistochemically detected tumor cells in the sentinel lymph nodes of patients with breast carcinoma: biologic metastasis or procedural artifact? *Cancer* 100: 929-934.

73. Morel F.; Imbert-Teboul M.; Chabardes D. (1987) Receptors to vasopressin and other hormones in the mammalian kidney. *Kidney Int* 32:512-520.

74. Morris JS.; Dadson JM.; Bostock DE. (1993) Use of tamoxifen in control of canine mammary neoplasia. *Vet Rec* 133: 539-542.

75. Moulton JE. Tumors of the mammary gland (1990) En: *Tumours in Domestic Animals*, 3<sup>rd</sup> eds. Ed. Moulton JE. University of California Press, Berkeley. 518-552.

76. Murtaugh RJ. y Dodds WJ. (1998) Hemophilia A in a female

dog. *JAVMA* 193: 351.

77. Murthy MS.; Goldschmidt RA.; Rao LN.; Ammirati M.; Buchmann T.; Scanlon EF. (1989) The influence of surgical trauma on experimental metastasis. *Cancer* 64: 2035-2044.

78. Murthy MS.; Scanlon EF.; Reid SE.; Xang XF. (1996) Pre-, peri-, and postoperative chemotherapy for breast cancer: Is one better than the other? *J Surg Oncol* 61: 273-277.

79. Murthy MS.; Summaria LJ.; Miller RJ.; Wyse TB.; Goldschmidt RA.; Scanlon EF. (1991). Inhibition of tumor implantation sites of trauma by plasminogen activators. *Cancer* 68: 1724-1730.

80. Mutter D.; Hajri A.; Tasseti V.; Solis-Caxaj C.; Aprahamian M.; Marescaux J. (1999). Increased tumor growth and spread after laparoscopy vs laparotomy: Influence of tumor manipulation in a rat model. *Surg Endosc* 13: 365-370.

81. Nelson RW.; Ihle SL.; Feldman EC. (1989) Pituitary macroadenomas and macroadenocarcinomas in dogs treated with mitotane for pituitary dependent hyperadrenocorticism: 13 cases (1981-1986). *JAVMA* 194:1612-1617.

82. Nichols R. (1989) Diabetes Insipidus. In Kirk RW (ed): *Current Veterinary Therapy X*. Philadelphia. WB Saunder. 973-978.

83. North WG. (1987) Biosynthesis of vasopressin and neurophysins. In: *Vasopressin: Principles and properties*. D.M. Gash and G.J. Boer (eds). Plenum Press, New York, pp175-209.

84. North WG. (2000) Gene regulation of vasopressin and vasopressin receptors in cancer. *Exp Physiol* 85: 27S-40S.

85. Oertli D.; Laffer U.; Habertuer F.; Kreuter U.; Harder F. (1994) Perioperative and postoperative tranexamic acid reduces the local wound complication rate after surgery for breast cancer. *Br J Surg* 81: 856-859.

86. Ogilvie GK.; Reynolds HA.; Richardson RC.; Withrow SJ.; Morris AM.; Henderson RA.; Klausner JS.; Fowler JD.; Mc Caw D. (1989) Phase 2 evaluation of doxorubicin for treatment of various canine neoplasms. *J Am Vet Med Assoc*. 195 (11):1580-1583.

87. Otto CM.; Dodds WJ.; Greene CE. (1991) Factor XII and partial prekallikrein deficiencies in a dog with recurrent gastrointestinal hemorrhage. *JAVMA* 198: 128-131.

88. Panis Y.; Ribeiro J.; Chrétien Y.; Nordlinger B. (1992) Dormant liver metastases: an experimental study. *Br J Surg* 79: 221-223.

89. Papich MG. (2000) Table of common drugs: approximate dosages In: Bonagura JD (ed) *Kirk's Current Veterinary Therapy XIII. Small Animal Practice*. Saunders, WB. Philadelphia. 1241-1264.

90. Patsikas MN. y Dessiris AK. (1996) The lymph drainage of the mammary glands in the bitch: a lymphographic study. *Anat. Histol. Embryol.* 25, 131-143.

91. Pereira A.; Del Valle Honorato M.; Sanz C. (2003) DDAVP enhances the ability of blood monocytes to form rosettes with activated platelets by increasing the expression of P-selectin sialylated ligands on the monocyte surface. *Br J Haematol* 120: 814-820.

92. Petit T.; Davidson KK.; Lawrence RA.; von Hoff DD; Izbicka

- E. (2001). Neuropeptide receptor status in human tumor cell lines. *Anticancer Drugs* 12: 133-136.
93. Post K. y col. (1989) Congenital central diabetes insipidus in two sibling Afghan pups. *JAVMA* 194:1086.
94. Randolph JF.; Center SA.; Dodds WJ. (1986) Factor XII deficiency and von Willebrand disease in a family of miniature poodle dogs. *Cornell Vet* 76:3-10.
95. Raymond SL, Jones DW, Brooks MB, Dodds WJ. (1990) Clinical and laboratory features of a severe form of von Willebrand's disease in Shetland sheepdogs. *JAVMA*. 197:1342-1346.
96. Reid SE.; Kaufman MW.; Murthy S.; Scanlon EF. (1997) Perioperative stimulation of residual cancer cells promotes local and distant recurrence of breast cancer. *J Am Coll Surg* 185: 290-306.
97. Richardson DW. y Robinson AG. (1985) Desmopressin. *Ann Intern Med* 103: 228-239.
98. Rickles FR.; Shoji M.; Abe K. (2001) The role of the hemostatic system in tumor growth, metastasis, and angiogenesis: tissue factor is a bifunctional molecule capable of inducing both fibrin deposition and angiogenesis in cancer. *Int J Hematol*. 73(2):145-150.
99. Ripoll GV.; Girón G.; Tejera AM.; Gomez DE.; Alonso DF. (2004) La desmopresina (DDAVP) modifica la producción de angiostatina y reduce la angiogénesis inducida por células tumorales mamarias. *Medicina (Buenos Aires)* 64 (Supl. 2): 364.
100. Ripoll GV.; Hermo G.; Torres P.; Gobello C.; Gomez DE.; Alonso DF. (2005) Evaluación de la desmopresina (DDAVP) perioperatoria en caninos con tumores mamarios espontáneos. *Medicina (Buenos Aires)* 65 (Supl. 2): 73-74.
101. Robeason GL. (1988) Differential diagnosis of polyuria. *Annu Rev Med* 39: 425.
102. Robertson GL. (1984) Abnormalities of thirst regulation. *Kidney Int* 25: 460.
103. Rodeghiero F.; Castaman G.; Manucci PM. (1991) Clinical indications for desmopressin (DDAVP) in congenital and acquired von Willebrand disease. *Blood Rev* 5: 155-161.
104. Sabbatini RF.; Morselli M.; Depenni M.; Cagossi R.; Luppi K.; Torelli M.; Silingardi G. (2000) Detection of circulating tumor cells by reverse transcriptase polymerase chain reaction of maspin in patients with breast cancer undergoing conventional-dose chemotherapy. *J Clin Oncol* 18: 3196-3197.
105. Tefferi A. y Nichols WL. (1997) Acquired von Willebrand disease: concise review of occurrence, diagnosis, pathogenesis, and treatment. *Am J Med* 103: 536-540.
106. Terraube V.; Pendu R.; Baruch D.; Gebbink MF.; Meyer D.; Lenting PJ.; Denis CV. (2006) Increased metastatic potential of tumor cells in von Willebrand factor-deficient mice. *J Thromb Haemost*. 4(3):519-26.
107. Thorgeirsson UP.; Lindsay CK.; Cottam DW.; Gomez DE. (1994) Tumor invasion, proteolysis and angiogenesis. *J Neuro Oncol* 18: 89-103.
108. Topal B.; Roskams T.; Fevery J.; Penninckx F. (2003) Aggregated colon cancer cells have a higher metastatic efficiency in the liver compared with non-aggregated cells: an experimental study. *J Surg Res* 112: 31-37.
109. Trousseau A. (1865) Phlegmasia alba dolens. En: *Clinique Medicale de l'hôtel Dieu de Paris* 3. Paris, France; JB Baillieri et Fils 654-712.
110. Vallejo R.; Hord ED.; Barna SA.; Palma JS.; Ahmed S. (2003) Perioperative immunosuppression in cancer patients. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 22: 93-100.
111. Vicente V.; Laso J.; Alberca I.; Moraleda J.; Estelles A.; Aznar J. (1991). Repeated infusions of DDAVP induce low response of VIII:C and vW:F but not of plasminogen activators (tPA and u-PA). *Thromb Haemost* 65: 977.
112. Wall U.; Jern S.; Tengborn L.; Jern C. (1998) Evidence of a local mechanism for desmopressin-induced tissue-type plasminogen activator release in human forearm. *Blood* 91: 529-537.
113. Weiss L.; Mayhew E.; Rapp DG.; Holmes JC. (1982) Metastatic inefficiency in mice bearing B16 melanomas. *Br. J. Cancer* 45:55.
114. Weiss L.; Ward PM.; Holmes JC. (1983). Liver to lung traffic of cancer cells. *Int. J Cancer* 32: 79.
115. White B.; Lawler P.; Riddell A.; Nitu-Whalley IC.; Hermans C.; Lee CA.; Brown SA. Response to desmopressin of factors XI, X and V in patients with factor VIII deficiency and von Willebrand disease. *Br J Haematol*. 2004 Jul;126(1):100-104.
116. Withrow, S. (1975). Surgical management of canine mammary tumors. *Vet Clin N Am Small Anim. Pract.* 5 (3) 495-501.
117. Wun T.; Paglieroni TG.; Lachant NH. (1995) Desmopressin stimulates the expression of P-selectin on human platelets in vitro. *J Lab Clin Med* 126: 401-409.
118. Yasui M.; Zelenin SM.; Celsi G.; Aperia A. Adenylate cyclase-coupled vasopressin receptor activates AQP2 promoter via a dual effect on CRE and AP1 elements. *Am J Physiol*. 1997 Apr;272(4 Pt 2):F443-450.
119. Zaoral M.; Kole J.; Sorm F. (1967). Synthesis of 1-deamino-8-D-amino-butyrine vasopressin, 1-deamino-8-D-lysine vasopressin and 1-deamino-8-D-arginine vasopressin. *Collection Czechoslov Chem Commun* 32: 1250-1257.