

Protocolo europeo de investigación en electroquimioterapia[#]

L. M. Mir

Bases de la electroquimioterapia

La electroquimioterapia^{1,2} es la combinación de impulsos eléctricos muy cortos (100 microsegundos), aunque intensos, y de fármacos anticancerosos que no entran en las células por simple difusión a través de la membrana celular. Los impulsos eléctricos utilizados modifican transitoriamente las propiedades de la membrana celular, resultando en la permeabilización reversible de la célula. De los fármacos anticancerosos habitualmente utilizados para el tratamiento de los pacientes, la bleomicina es el más adaptado a una combinación con los impulsos eléctricos permeabilizantes puesto que el incremento de la toxicidad de la bleomicina puede ser de varios millares de veces³. De esta forma, una dosis habitual de bleomicina (10 a 15 mg/m² inyectados por vía intravenosa) permite obtener resultados antitumorales intensos (desaparición de los nódulos tumorales tratados por los impulsos eléctricos). El cisplatino y las otras sales del platino, también se utilizan con estos impulsos, resultando en un incremento de 5 a 10 veces de la citotoxicidad del cisplatino *in vivo*. Habitualmente, con electrodos aplicados sobre la piel (no invasivos), se utilizan 8 impulsos de 100 microsegundos y 1300 voltios por centímetro a la frecuencia de repetición de 1 hertzio (es decir, uno por

segundo). El voltaje aplicado es pues función de la distancia entre los electrodos, que no suele rebasar el centímetro. El protocolo es tan rápido que si es necesario se hacen varias aplicaciones para cubrir aquellos nódulos cuyo diámetro rebasaría ampliamente el centímetro. Nódulos de hasta 3 centímetros pueden tratarse fácilmente con el material actualmente disponible. Los electrodos pueden ser externos, para impulsos eléctricos transcutáneos, en cuyo caso se aplican el polo positivo y el polo negativo de ambas parte del nódulo tumoral cutáneo o transcutáneo. Los electrodos también pueden ser invasivos, a base de agujas que penetran los tumores.

Resultados clínicos anteriores

Los resultados clínicos anteriores han sido recapitulados en dos recientes publicaciones^{4, 5}. La primera concentra los datos obtenidos utilizando la bleomicina. La bleomicina es una molécula radiomimética que ha sido utilizada en general en combinación con otros fármacos debido a su poca actividad antitumoral. De hecho, pudimos demostrar que esta bajísima actividad era debida a la poquísima cantidad de bleomicina capaz de entrar en las células. En cambio, en combinación con los impulsos eléctricos permeabilizantes, la bleomicina puede atravesar la membrana celular y desarrollar toda su potencia citotóxica. Todos los ensayos preclínicos y clínicos han demostrado una eficacia muy elevada de esta combinación, con porcentajes de regresión completa variables según la forma de aplicar la electroquimioterapia en estos estudios iniciales, pudiendo llegar al 100% en algunos de ellos. Esta eficacia ha sido observada en todos los tipos de tumores tratados. Esto es debido al hecho de que los impulsos eléctricos son un efector físico que actúa sobre todas

UMR8121 CNRS
Institut Gustave-Roussy
Villejuif. Francia

[#] Trabajo presentado en las 3^{as} Jornadas Oncológicas Internacionales, Madrid 17-19 junio 2004.

las células, de cualquier origen. Luego la bleomicina penetra y efectúa los cortes citotóxicos del ADN. A las dosis de bleomicina recomendadas (10 a 15 mg/m² inyectados por vía intravenosa), la bleomicina provoca una catástrofe (muerte) mitótica: sólo las células que quieren dividirse rápidamente (las células tumorales) mueren, mientras las células normales, que no se dividen, van a sobrevivir aunque hayan sido electropermeabilizadas y aunque la bleomicina haya entrado en las células⁶. Por tanto, hay un efecto diferencial sobre las células normales y las tumorales que puede explicar la buena preservación de los órganos tratados (ver detalles más adelante).

Desarrollos recientes

En el marco del 5th FP de la Comisión Europea el proyecto "Cliniporator" QLK3-1999-00484 ha permitido el desarrollo de investigación fundamental sobre la electropermeabilización de las células de varios tejidos (músculo, hígado, tumores, etc) y de investigación tecnológica para la elaboración de un equipo apropiado para las aplicaciones biomédicas de la electropermeabilización (además de la electroquimioterapia hay que señalar la electrogeneterapia, o terapia génica no viral que se basa en el uso de impulsos eléctricos apropiados para la introducción de ADN dentro de las células y provocar su transformación).

Este equipo (Fig. 1), el CLINIPORATOR™, ha recibido la testificación CE de conformidad a las normas europeas y es actualmente el dispositivo más moderno y sofisticado del mercado. Incluye una pantalla para la programación del tratamiento: introducción del código paciente, de la fecha, del tipo de electrodos utilizados, lo que provoca la oferta de los parámetros óptimos de los impulsos (pero que el operador puede rechazar para imponer sus propios parámetros). Todos los parámetros de los impulsos, así como las curvas completas del voltaje y del amperaje de cada impulso son almacenados en la memoria del CLINIPORATOR™ y son accesibles a partir del código de identificación de cada paciente. Esto permite asegurarse la calidad del tratamiento de cada nódulo tratado.

Protocolo europeo de investigación en electroquimioterapia

Desde mediados de 2003, un protocolo experimental de electroquimioterapia se está desarrollando a nivel europeo (en Francia, Irlanda, Dinamarca y Eslovenia), con la intención de redactar los procedimientos operacionales standard (proyecto ESOPE, *European Standard Operating Procedures for Electrochemothe-*

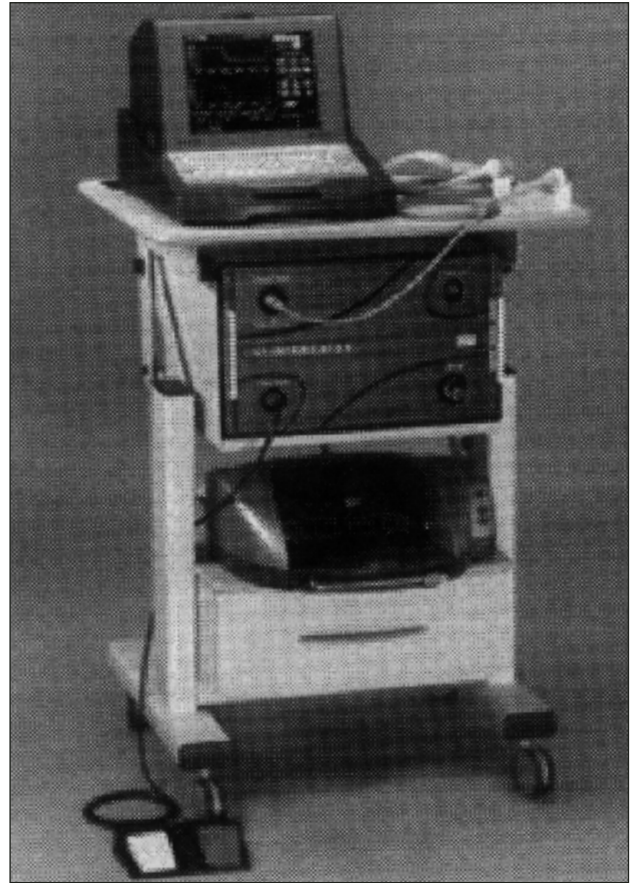


Fig. 1. El nuevo material para electroquimioterapia desarrollado en el proyecto europeo.

rapy and Electrogenetherapy, QLK3-2002-02003). En particular, se está investigando en detalle la forma de aliviar al paciente de las sensaciones que acarrear los impulsos eléctricos, por anestesia local cuando la talla y la localización de los nódulos tratados lo permiten, o por anestesia general en el caso contrario. La adecuación de diferentes tipos de electrodos con relación a la talla y la localización de los nódulos tratados también se estudia en este proyecto. Estas SOP se harán públicas próximamente. Los resultados clínicos son equivalentes a los resultados anteriores. Una innovación del CLINIPORATOR™ es la posibilidad de aplicar los 8 impulsos a una frecuencia de repetición muy alta, con lo cual el segundo impulso se aplica durante el período refractario del precedente. Lo cual significa que el paciente sólo tiene una contracción y una sensación pese a que se apliquen 8 impulsos distintos (se sabe que la permeabilización que se obtendría con un solo impulso de $8 \times 100 = 800$ microsegundos sería mucho menos eficaz que la que se obtiene con la repetición de 8 impulsos consecutivos).

Conclusiones

La electroquimioterapia es una nueva posibilidad de tratamiento local de nódulos tumorales que debe ofrecerse al paciente, en particular cuando otras formas de tratamiento presentan sus límites. En efecto, la electroquimioterapia ha sido aplicada en territorios previamente irradiados o en casos en los cuales la cirugía puede resultar muy mutilante: la preservación de los órganos afectados por basocelulares (oreja, labio, nariz) fue completa, con una eficacia (regresión completa) del 99% a cuatro años. La electroquimioterapia es segura y acarrea pocos riesgos. La quimioterapia se administra a dosis que no provocan ningún efecto secundario. El material presenta niveles de seguridad muy altos. Las mejores indicaciones se distinguirán en futuros ensayos, pero es interesante resaltar que la electroquimioterapia es interesante en todos aquellos casos en que los nódulos son hemorrágicos. En efecto, la observación que siempre ha sido efectuada es el paro instantáneo del sangrado después del tratamiento. Utilizando un radiomimético (la bleomicina) y un procedimiento físico, la electroquimioterapia debería interesar también a los especialistas de la radioterapia.

Agradecimientos

Se agradecen la contribución del CNRS, del Instituto Gustave-Roussy y de la Comisión Europea (proyectos QLK3-1999-00484 y QLK3-2002-02003) en el desarrollo de la electroquimioterapia. Más información sobre la electroquimioterapia puede obtenerse en <http://www.cliniporator.com>

Bibliografía

1. Belehradek M, Domenge C, LuboinsLi B, Orłowski S, Belehradek J Jr, Mir LM. Electrochemotherapy, a new antitumor treatment: first clinical phase 1-11 trial report. *Cancer* 1993; 72:3694-700.
2. Mir LM et al. Effective treatment of cutaneous and subcutaneous malignant tumours by electrochemotherapy. *Br J Cancer* 1998; 77:2336-42.
3. Orłowski S, Belehradek J Jr, Paoletti C, Mir LM. Transient electroporation of cells in culture. Increase of the cytotoxicity of anticancer drugs. *Biochem Pharmacol* 1988; 37:4727-33.
4. Gothelf A, Mir LM, Geil J. Electrochemotherapy: results of cancer treatment using enhanced delivery of bleomycin by electroporation. *Cancer Treat Rev* 2003; 29:371-87.
5. Sersa G, Cemazar M, Rudolf Z. Electrochemotherapy: advantages and drawbacks in treatment of cancer patients. *Cancer Therapy* 2003; 1:133-42.
6. Mekid H, Tounekti O, Spatz A, Cemazar M, El Kebir FZ, Mir LM. In vivo evolution of tumor cells after the generation of DNA double strand breaks. *British Journal of Cancer* 2003; 88:1761-3.