

Elektrokemoterapija malignega melanoma Electrochemotherapy of malignant melanoma

Gregor Serša¹, Borut Štabuč¹, Tanja Čufer¹, Boris Jančar¹, Damijan Miklavčič²,
Maja Čemažar¹ in Zvonimir Rudolf¹

¹Onkološki inštitut Ljubljana, ²Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani, Slovenija

Povzetek: Elektrokemoterapija je način zdravljenja raka, ki združuje uporabo standardnih kemoterapevtikov in aplikacijo električnih pulzov na področje tumorja. Električni pulzi povzročijo elektroporacijo, to je prehodno destabilizacijo celičnih membran, kar omogoči lažji prehod citostatikov v citosol in s tem njihovo večjo učinkovitost. Elektrokemoterapija se je pokazala učinkovita z dvema citostatikom, bleomicinom in cisplatinom. Dobri klinični rezultati so znani pri zdravljenju mnogih kožnih in podkožnih tumorjev, ploščato celičnega karcinoma glave in vratu, bazalioma, malignega melanoma, adenokarcinomov in Kaposijevega sarkoma. Veliko študij je bilo opravljenih na bolnikih z malignim melanomom. Rezultati so obetavni, saj je popolnih odgovorov na elektrokemoterapijo z bleomicinom kot tudi s cisplatinom več kot 80%. Elektrokemoterapija nakazuje nov pristop k zdravljenju kožnih zasevkov malignega melanoma z uporabo električnih pulzov kot načina dostavljanja citostatikov v celice.

Ključne besede: melanom-zdravljenje; bleomicin; cisplatin; električna stimulacija; elektrokemoterapija, elektroporacija

Abstract: Electrochemotherapy is a novel cancer treatment approach, that combines application of electric pulses to a tumor with standard chemotherapeutic drugs. Electric pulses induce transient and reversible cell membrane destabilization that results in facilitated drug delivery into the cells, and consequently their better antitumor effectiveness. Electrochemotherapy has proved to be effective with two cytostatic agents, bleomycin and cisplatin. Good clinical results have been reported in the treatment of cutaneous and subcutaneous tumor nodules of squamous head and neck carcinoma, malignant melanoma, squamous cell carcinoma, adenocarcinoma and Kaposi's sarcoma. The percentage of complete responses to the electrochemotherapy treatment is above 80%. Therefore, electrochemotherapy is a promising new approach in the treatment of cutaneous and subcutaneous tumor nodules of malignant melanoma that utilizes the application of electric pulses to the tumor as a drug delivery system.

Key words: melanoma-therapy; bleomycin; cisplatin; electric stimulation therapy; electrochemotherapy; electroporation

Kaj je elektrokemoterapija?

Kemoterapija kot sistemsko zdravljenje pogosto povzroča neželene stranske pojave zaradi premajhne selektivnosti kemoterapevtikov za tumorske celice. V želji da bi kemoterapevtike čim bolj selektivno vnesli v tumorske celice iščemo različne načine dostavljanja zdravil. Princip dostavljanja zdravil je, da kemoterapevtik pripeljemo v tumorske celice, kjer zdravilo deluje samo na maligne celice, ne pa tudi na zdrave celice organizma. Cilj takšne terapije je torej usmeriti delovanje zdravil na tumor brez neželenih stranskih pojavov na organizmu.

Trenutno je znanih več načinov dostavljanja zdravil. Možno je intratumorsko injiciranje citostatikov, drugi, sistemski pristopi pa so uporaba monoklonskih protiteles, vezava citostatikov na magnetne nosilce, uporaba liposomov in drugih nosilcev. Med drugimi pristopi, ki delujejo lokalno, sta tudi uporaba kemične in fizikalne metode za destabilizacijo celične membrane, ki omogočajo lažji vstop zdravila v celice.¹

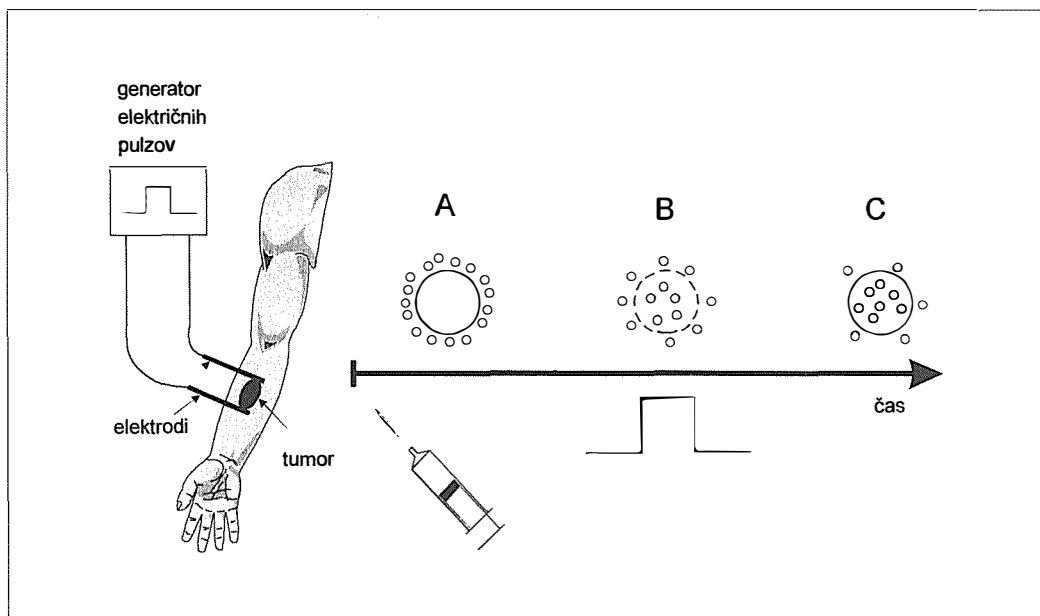
Elektroporacija kot dostavljanje zdravil

Elektroporacija je fizikalni način dostavljanja zdravil. Z električnimi pulzi visoke napetosti destabiliziramo celično membrano, da na njej nastanejo kratko in dolgoživeče elektropore. Kakšne so te elektropore, do sedaj še niso ugotovili, dokazano pa je, da je to metoda, s katero lahko vnesemo v celico snovi, ki sicer težko prehajajo membrano. To so lahko molekule, ki so prevelike in za njih ni transportnih mehanizmov skozi membrano, ali pa hidrofilne molekule, ki težje prehajajo skozi membrano zaradi svoje kemične sestave. Znano je, da lahko z elektroporacijo vnašamo v celice barvila, protitelesa, DNK in različna zdravila, med njimi tudi kemoterapevtike (Slika 1).^{2,3}

Delovanje elektrokemoterapije

Kadar uporabimo elektroporacijo za vnos citostatikov v celice, imenujemo to metodo elektrokemoterapija.² Ko z električnimi pulzi enosmerne napetosti povzročimo destabilizacijo celične membrane moramo seveda zagotoviti zadostno količino citostatika ob celici. Zaradi olajšanega prehoda preide v celico večja količina citostatika. Za elektrokemoterapijo so primerni citostatiki, ki težko prehajajo celično membrano, a so zelo učinkoviti znotraj celice. Poznamo dva citostatika, ki sta uporabna v elektrokemoterapiji: bleomicin in cisplatin. Bleomicin je bil prvi, ki so ga uporabili. Dokazali so, da z elektroporacijo povečamo njegovo citotoksičnost za več sto krat.⁴ Citotoksičnost cisplatina se poveča za 70 krat, kar je sicer manj kot pri bleomicinu, a je zato cisplatin sam dosti bolj citotoksičen, saj je njegova prehodnost skozi membrano le delno otežena.⁵

Prednost te metode dostavljanja zdravil je, da jo lahko uporabimo *in vivo* na tumorjih poskusnih živali in v zadnjem času tudi pri zdravljenju tumorjev na koži in v podkožju bolnikov z rakom. Do sedaj je bilo narajenih veliko predkliničnih študij na različnih tumorjih miši in podgan.¹ Kemoterapevtik vbrizgamo intravenozno ali intratumorsko. Ko dosežemo maksimalno koncentracijo citostatika v tumorju, delujemo na tumor z električnimi pulzi. Tudi *in vivo* sta se bleomicin in cisplatin v elektrokemoterapiji pokazala kot zelo uspešna kemoterapevtika. Običajno je potrebno le nekaj minut, da dosežemo maksimalno koncentracijo kemoterapevtika v tumorju. Električne pulze apliciramo z elektrodama iz nerjavečega jekla, ki ju prislonimo na tumor. Za boljši kontakt med elektrodama in kožo uporabimo prevodni gel. Električni pulzi so pravokotne oblike, običajno z napetostjo/cm 1200-1300 V/cm, frekvenco 1 Hz in dolžino 100 μ s. Dosedanje študije so pokazale, da je potrebno največ 8 pulzov za optimalno elektroporacijo tumorja.



Slika 1. Princip delovanja elektroporacije, kot tri stopenjskega procesa. Začasne, kratkoživeče elektropore nastanejo pri elektroporaciji celice z električnim poljem, ki je višji kot je membranski potencial. Celice elektroporiramo z električnimi pulzi pravokotne oblike, določene amplitude, dolžine 100 μ s in frekvence 1 Hz. Take elektropore se združujejo, po določenem času pa postopoma prihaja do zlepljanja (resealing) elektropor, ne da bi vplivali na preživetje celic.

Figure 1. Principles of electroporation, as three steps process. At electric field intensity higher than a critical threshold, short lived electropores are formed in the plasma membrane. Cells are electroporated with square wave electric pulses of the particular amplitude, pulse length 100 μ s, and frequency 1 Hz. In the second step pores are accumulated and expanded. In the third step electropores are resealing, without affecting cell viability.

Predklinične študije so pokazale, da je elektrokemoterapija z bleomicinom kot tudi s cisplatinom zelo uspešna pri zdravljenju malignega melanoma, karcinomov in sarkomov.^{1,2,6} Rezultati kažejo, da s kombinirano uporabo nizkih doz citostatikov, ki same ne povzročijo večjega protitumorskega učinka, in aplikacijo električnih pulzov, ki nimajo učinka na rast tumorja, v elektrokemoterapiji dosežemo visok odstotek popolnih odgovorov na terapijo. S primernimi dozami lahko dosežemo tudi popolno ozdravitev. Posledice elektrokemoterapije so za normalna tkiva minimalne. Ko odpade krasta, ki se običajno pojavi po tednu ali dveh, je koža po celjenju brez brazgotine. Elektrokemoterapija tudi nima sistemskih stranskih pojavov, pojavljajo se le kontrakcije mišic, ki so izpostavljene električnim pulzom, vendar bo-

lečina izzveni takoj za tem v nekaj sekundah.

Mehanizmi delovanja elektrokemoterapije

Osnovni princip elektrokemoterapije je uporaba električnih pulzov za dostavljanje citostatikov v tumorske celice. Ker so v tumorju prisotne tudi stromalne celice in žilje tumorja, z elektroporacijo celotnega tumorja vplivamo tudi na te celice. V svetlini žil je koncentracija citostatika visoka, zato pričakujemo, da elektroporacija omogoči vnos citostatikov tudi v endotelne celice tumorskih žil. Tudi te, ravno tako kot tumorske celice, propadejo; kot posledica njihovega propada je krvni pretok v tumorju oviran. Taka terapija deluje na krvožilje tumorja in elektrokemoterapija vključuje tudi ta mehanizem delovanja. Pri

zdravljenju tumorjev z elektrokemoterapijo z bleomicinom smo ugotovili, da se pretok krvi v tumorju zelo hitro zmanjša, tako da po 24 urah ne zasledimo več prekrvavitve v tumorju.⁷ Podobno učinkuje tudi elektrokemoterapija s cisplatinom.

Tretji mehanizem delovanja je vpliv samih električnih pulzov na pretok krvi. Njihov učinek je precejšen, saj z električnimi pulzi, kakršne uporabljamo pri elektrokemoterapiji, zmanjšamo pretok krvi na 20%. Po nekaj urah se pa pretok ponovno vzpostavi in v enem dnevu doseže prvotno raven. Zmanjšan pretok krvi skozi tumor zadrži molekule zdravila v tumorju dalj časa, kar pomeni, da ostane v tumorju visoka koncentracija citostatika, in je njegovo delovanje s tem podaljšano.⁸

Zadnji mehanizem, ki je udeležen pri elektrokemoterapiji pa je imunski sistem. Kot enkratna terapija je elektrokemoterapija zelo upešna, vendar vedno ostaja v tumorju nekaj celic, ki niso bile izpostavljene dovolj visokemu električnemu polju za elektroporacijo, in njihova poškodba ni smrtna, zato lahko ponovno začno rasti. Na te celice sicer lahko vplivamo s ponovitvijo elektrokemoterapije. Majhno število preostalih klonogenih celic pa lahko uniči imunski sistem organizma. Ta lahko s svojim delovanjem prispeva k večji uspešnosti terapije. Znano je, da je v imunsko zavrtih živalih elektrokemoterapija dosti manj uspešna.⁹ Zato poskušamo z dodatno imunoterapijo, to je z dodajanjem stimulatorjev imunskega odziva, kot sta IL-2 in TNF- α , povečati uspešnost elektrokemoterapije.^{10,11}

Klinični rezultati

Prvi klinični rezultati elektrokemoterapije so iz leta 1991, ko je Lluís M. Mir z inštituta Gustave Roussy objavil študijo elektrokemoterapije z bleomicinom na bolnikih s ploščato celičnim karcinomom v področju glave in vratu.¹² Od takrat je bilo po vseh do sedaj objav-

ljenih podatkih z elektrokemoterapijo zdravljenih več kot 100 bolnikov, načrtujejo pa se nove klinične študije. Kmalu po objavi prvih rezultatov so se pridružili tudi drugi centri, med njimi tudi Onkološki inštitut Ljubljana. Večina rezultatov je bilo objavljenih o elektrokemoterapiji z bleomicinom na tumorjih ploščato celičnega karcinoma v področju glave in vratu, malignega melanoma, bazalioma, adenokarcinoma in Kaposijevega sarkoma.¹²⁻²² Kmalu za tem, ko smo ugotovili, da je elektrokemoterapija s cisplatinom tako uspešna kot z bleomicinom, smo pričeli načrtovati in tudi izvedli prvo klinično študijo elektrokemoterapije s cisplatinom. Večina bolnikov je imela maligni melanom, poročali pa smo tudi o rezultatih pri ploščato celičnem karcinomu v področju glave in vratu, bazaliomu in adenokarcinomu.^{23,24}

Načini terapije s citostatiki

Uporabljena sta bila dva načina injiciranja bleomicina in cisplatina pred aplikacijo električnih pulzov, intravenozni in intratumorski.

Doza bleomicina pri intravenoznem načinu apliciranja je bila 10-15 mg/m² v bolusu ali 5.6 mg/m² v infuziji. Bleomicin je bil injiciran najmanj 3 min pred aplikacijo električnih pulzov, da smo dosegli maksimalno koncentracijo zdravila v tumorju. Dokazali pa so tudi, da je terapevtsko okno za elektrokemoterapijo do 20 min po injiciranju bleomicina. Bleomicin so injicirali tudi intratumorsko, približno 0.6 mg/cm³ v 30 sekundah, 10 minut pred aplikacijo električnih pulzov.²²

Doza cisplatina pri intravenoznem načinu aplikacije je bila odvisna od standardnega načina zdravljenja bolnikov s kemoterapevtsko shemo, ki je vsebovala cisplatin. Cilj takšnega protokola je bil dokazati, da je mogoče dodatno izboljšato delovanje cisplatina na kožnih lezijah z aplikacijo električnih pulzov. Po protokolu intratumorskega apliciranja cisplatina smo injicirali 0.25 do 2 mg cisplatina, odvisno od velikosti tumorskega nodula (povprečno 1 mg/cm³).^{23,24}

Načini aplikacije električnih pulzov

Princip elektrokemoterapije vključuje aplikacijo pravokotnih električnih pulzov direktno na tumor po injiciranju citostatikov. V študijah so uporabili različno pripravljene elektrode, ki so zelo podobne med seboj. Pristopa sta bila do sedaj dva. Prvi, ki so ga uporabili, je bil aplikacija električnih pulzov s prislonitvijo kovinskih elektrod na kožo. Konstrukcija je bila enostavna, z nosilcem iz izolacijskega materiala, v katerem sta bili vpeti dve kovinski elektrodi z medsebojno razdaljo 6-7 mm (Slika 2). Boljši kontakt med elektrodami in kožo je zagotovil prevodni gel. Električne pulze lahko generiramo s komercialno pripravljenimi aparaturnimi. V naši študiji smo uporabili elektropulzator Jouan GHT 1287 (Jouan, Francija). Elektroporacijo smo izvedli z 8 pulzi, 1300 V/cm, frekvence 1 Hz, dolžine pulza 100 μ s. Ker je razdalja med elektrodami omejena na 7 mm, je potrebno tumorske nodule, večje od 7 mm, zdraviti z več aplikacijami tako, da po elektroporaciji enega dela nadaljujemo z elektroporacijo sosednjega, dokler ne izvedemo elektroporacije na celotnem predelu tumorja.¹³

Drugi način aplikacije električnih pulzov je z igelnimi elektrodami. Te elektrode so konstruirane tako, da je na nosilcu iz izolacijskega materiala vstavljenih 6 igel. Električni

parametri so enaki kot pri prejšnji vrsti elektrod, le da z njimi apliciramo 6 električnih pulzov. Prednost takih elektrod je, da omogočajo boljšo razporeditev električnega polja tudi v globlje ležečem tkivu. Slabost pa je v tem, da s tem vdramo v organizem in je potrebna dosti večja pozornost pri sterilnosti postopka.²²

Stranski pojavi

Večina študij je bila narejenih brez splošne anestezije, le z lokalno anestezijo. Lokalno apliciramo lidokain v spreju ali injiciramo v okolico tkiva, kjer bomo aplicirali električne pulze. Splošna anestezija je potrebna le v primeru, ko imamo velike tumorje, pri katerih je potrebno veliko aplikacij električnih pulzov. Električni pulzi povzročijo nelagodno pekočo bolečino na koži in kontrakcijo spodaj ležečih mišic, ki jo lahko omilimo s predhodno uporabo analgetikov. Tudi kontrakcije mišic so boleče, vendar jih večina bolnikov dobro prenaša. Prednost je v tem, da po aplikaciji bolniki nimajo več bolečin, po krajšem opazovalnem obdobju lahko odidejo domov in ne potrebujejo posebne oskrbe zdravljene tumorja, saj ne prihaja do nekroz.¹³

Tabela 1. Klinični rezultati elektrokemoterapije z bleomicinom po intravenoznem in intratumorskem načinu injiciranja pri malignem melanomu

Table 1. Summary of electrochemotherapy with intravenous and intratumor bleomycin clinical trials results on malignant melanoma patients

Inštitucija	Število bolnikov	Število nodulov	Način injiciranja bleomicina	Tip elektrod	Klinični odgovor na zdravljenje (%)			
					NC	PR	CR	OR
Intravenozno								
Tampa	3	10	i.v. infuzija	Ploščate	50	20	30	50
Ljubljana	7	30	i.v. bolus	Ploščate	10	10	80	90
Toulouse	4	54	i.v. bolus	Ploščate	4	87	9	96
Skupno	14	94			11	55	34	89
Intratumorsko								
Tampa	2	8	Intratumorsko	Ploščate	0	0	100	100
Tampa	8	63	Intratumorsko	Igelne	2	13	85	98
Skupno	10	71			1.5	11	87.5	99

Elektrokemoterapija z bleomicinom

V primeru zdravljenja malignega melanoma je odgovor na kemoterapijo v območju med 20-45%, od tega je manj kot 5% popolnih odgovorov. V Tabeli 1 so navedeni rezultati študij elektrokemoterapije, ki so bile opravljene na bolnikih z malignim melanomom. Skupno število bolnikov, ki so bili zdravljeni, je bilo 24, skupno število tumorjev je bilo 165. Študije so bile opravljene v treh centrih za zdravljenje raka, med njimi tudi na Onkološkem inštitutu Ljubljana.²² Vsi bolniki, ki so bili vključeni v študije, so bili pred tem zdravljeni z drugimi vrstami standardnih zdravljenj, kirurgijo, radioterapijo ali kemoterapijo. V tabeli so prikazani rezultati tako po intravenoznem kot tudi po intratumorskem načinu injiciranja bleomicina. Elektrokemoterapija po intravenoznem injiciranju bleomicina je bila uspešna pri 89% zdravljenih tumorjev, od tega je bilo 34% popolnih odgovorov. Popolni odgovori so se pojavili po dveh tednih in v daljšem opazovalnem času do enega leta ni bilo ponovne rasti tumorjev na mestu terapije.

Intratumorska aplikacija bleomicina se je pokazal uspešnejša pri zdravljenju melanomskih zasevkov kot intravenozna. Objektivni odgovor je bil dosežen pri 99% tumorjev, zdravljenih z elektrokemoterapijo, od teh je bilo kar 87.5% popolnih odgovorov in tudi po 20 mesecih opazovalnega obdobja ni prišlo do ponovne rasti tumorjev. Niti pri intravenozni niti pri intratumorski aplikaciji ta terapija ni preprečila rasti novih tumorjev na drugih lo-

kalizacijah kljub visoki uspešnosti elektrokemoterapije pri zdravljenju zasevkov.²²

Elektrokemoterapija s cisplatinom

Po uspešnih predkliničnih študijah smo začeli s klinično raziskavo elektrokemoterapije s cisplatinom pri bolnikih s kožnimi zasevki različnih tumorjev. Glavna lokalizacija, pri kateri smo vključili največ bolnikov, je bila maligni melanom, poleg tega pa so opisani tudi primeri zdravljenja ploščato celičnega karcinoma glave in vratu, bazalioma in adenokarcinoma.²³

Intravenozni način injiciranja cisplatina nismo testirali kot samostojni način zdravljenja, temveč kot izboljšanje učinka na dostopnih tumorjih z aplikacijo električnih pulzov ob standardni kemoterapiji z infuzijo cisplatina. Naši še neobjavljeni podatki na šestih bolnikih s kožnimi zasevki malignega melanoma kažejo, da elektroporacija tumorjev poveča učinek cisplatina. Ugotovili smo tudi, da je po elektrokemoterapiji učinek trajnejši, saj je prišlo do ponovne rasti tumorjev kasneje kot pri tumorjih, zdravljenih samo s kemoterapijo.

Intratumorski način injiciranja cisplatina pri elektrokemoterapiji se je pokazal uspešnejši kot intravenozni.²⁴ V študijo je bilo vključenih 10 bolnikov z malignim melanomom, ki so bili pred tem zdravljeni z drugimi vrstami standardnih zdravljenj, kirurgijo, radioterapijo ali kemoterapijo (Tabela 2). Cisplatin smo injicirali intratumorsko, takoj za tem pa aplicirali električne pulze, tako da smo po-

Tabela 2. Klinični rezultati elektrokemoterapijo po intratumorskem načinu injiciranja cisplatina pri 10 bolnikih z malignim melanomom, štiri tedne po terapiji

Table 2. Summary of electrochemotherapy with intratumor cisplatin clinical trial results on 10 malignant melanoma patients, four weeks after therapy

Terapija	Število nodulov	Klinični odgovor na zdravljenje				
		PD Št. (%)	NC Št. (%)	PR Št. (%)	CR Št. (%)	OR Št. (%)
Kontrola	22	14 (64)	8 (36)			0 (0)
Električni pulzi	2	1 (50)	1 (50)			0 (0)
Cisplatin	27	9 (33)	8 (30)	5 (19)	5 (19)	10 (38)
Elektrokemoterapija	82	6 (7)	12 (15)	8 (10)	56 (68)	64 (78)



Slika 2. Učinek elektrokemoterapije s cisplatinom na kožne zasevke malignega melanoma. Po intratumorskem injiciranju cisplatina smo na tumor aplicirali osem električnih pulzov. Aplikator sestavljajo dve ploščati elektrodi vpeti v nosilec, ki je iz izolacijskega materiala. Viden je dober učinek terapije v različnih časovnih intervalih. Leto in pol po terapiji ni prisotnosti tumorja z dobrim kozmetičnim učinkom in le manjšo brazgotino.

Figure 2. Antitumor effectiveness of electrochemotherapy with cisplatin on skin metastases of malignant melanoma. After intratumoral cisplatin injection on the cutaneous nodule electric pulses were applied. Applicator consisted of two plate electrodes fixed in insulating holder. Good antitumor effect is demonstrated at various time points after the treatment. Also good cosmetic effect is seen.

krili celotno tumorsko maso. V študijo je bilo vključenih 133 zasevkov različnih velikosti (od 2 do 3000 mm³), od teh je bilo 133 zdravljenih z elektrokemoterapijo, 27 samo s cisplatinom, 2 samo z električnimi pulzi, 22 je bilo kontrolnih. Štiri tedne po zdravljenju smo dosegli objektivni odgovor pri 78% zasevkov, ki so bili zdravljeni z elektrokemoterapijo in pri 38% zasevkov, ki so bili zdravljeni samo s cisplatinom. Aplikacija samo električnih pulzov na tumorje ni vplivala na njihovo rast. Bolniki so dobro prenašali zdravljenje z elektrokemoterapijo, z minimalno brazgotino in depigmentacijo kože. Po daljšem opazovalnem času (124 tednov) smo ugotovili, da je bila elektrokemoterapija s cisplatinom uspešna pri kontroli rasti 77% tumorjev zdravljenje samo s cisplatinom pa v 19%, kar je visoko značilna razlika (Slika 2).

Perspektive zdravljenja z elektrokemoterapijo

Elektrokemoterapija z opisanimi elektrodami je zelo uspešen način zdravljenja površinskih tumorjev. V veliko primerih je takšno zdravljenje potrebno, saj je pogosto treba premagati problem lokalne rasti tumorja in težave, ki jih ta rast povzroča. Prednost take terapije z intratumorskim injiciranjem citostatikov je v uspešnem zdravljenju ponovno zraslih tumorjev, ki se pojavljajo v že obsevanem področju ali v področju kirurške brazgotine. Poseben problem predstavljajo področja, ki so slabo prekravljena in nedostopna za sistemsko terapijo. Elektrokemoterapija z intratumoskim injiciranjem citostatikov je v teh primerih uspešna.

Z razvojem novih elektrod, ki bodo omogočale elektroterapijo obsežnejših tumorskih

mas, bo mogoče enostavneje zdraviti tudi večje tumorje. Igelne elektrode omogočajo tudi zdravljenje tumorjev v notranjih organih. Nekaj kliničnih študij o zdravljenju jetrnih zasevkov že poteka. Prednost elektrokemoterapije je tudi v tem, da aplikacija električnih pulzov začasno ustavi pretok krvi, zato je nevarnost krvavitve tudi dobro prekrvavljenih tumorjev majhna.²⁵

Elektrokemoterapija je bila uspešna na vseh do sedaj zdravljenih tumorjih. Razlog za to sta bleomicin in cisplatin, ki sta zelo citotoksična, ko se vežeta na DNK, z elektroporacijo pa jima omogočimo njuno delovanje. Seveda lahko pričakujemo, da se bodo nekateri tumorji boljše odzivali na eno vrsto citostatikov kot na drugo. Zaenkrat rezultati kažejo, da je odzivnost malignega melanoma nekoliko večja na elektrokemoterapijo z bleomicinom, kot s cisplatinom, za druge vrste tumorjev pa je to še potrebno ugotoviti. Obenem moramo upoštevati, da je cisplatin sam tudi dokaj uspešen pri zdravljenju, predvsem ko ga injiciramo intratumorsko. Zato lahko pričakujemo večjo varnost kombiniranega delovanja elektrokemoterapije s cisplatinom, kot samega cisplatina, saj z elektroporacijo ne uspemo vedno začasno destabilizirati membrane vseh celic v tumorju.^{22,24}

Aplikacija električnih pulzov na tumor, i.e. elektroporacija, ima še vrsto drugih biomedicinskih aplikacij. Če naštejemo samo nekatere: podaljšano zadrževanje zdravil v tumorju zaradi začasne ustavitve pretoka krvi v tumorju, uporaba v kombinaciji z bioreduktivnimi drogami, ki uspešno delujejo v značajni koncentraciji kisika in uporaba v elektrogenski terapiji za vnos genov v celice in vivo ter vnos drugih snovi, ki so se tudi pokazale kot zanimive, npr. BSH pri terapiji z zajetjem nevtronov v boru. Elektrokemoterapija lahko ima tudi pomembno mesto pri dostavljanju radiosenzibilizatorjev v tumorje, med njimi tudi bleomicina in cisplatina.

Zaključek

Na koncu bi radi poudarili, da je elektrokemoterapija v zasnovi lokalni način zdravljenja, ki uvaja fizikalni pristop dostavljanja zdravil, uveljavljenih citostatikov v široki klinični praksi. Elektrokemoterapija je trenutno zelo uspešna pri zdravljenju dostopnih kožnih zasevkov malignega melanoma in tudi drugih vrst tumorjev. Z razvojem in izpopolnitvijo njenega tehničnega postopka lahko pričakujemo, da bo uporabna tudi pri zdravljenju globlje ležečih tumorjev in tumorjev v notranjih organih. Ne smemo pozabiti tudi drugih prednosti, kot so enostavnost postopka, kratek čas, ki je potreben za terapijo, in dejstva, da je izvedljiva tudi kot ambulanten poseg.

Zahvala

Zahvaljujemo se Ministrstvu za znanost in tehnologijo Republike Slovenije, ki je finančno podprlo projekt.

Literatura

1. Serša G. Electrochemotherapy: Animal model work review. In: Jaroszeski MJ, Heller R, Gilbert R, eds. *Methods of molecular medicine. Electrically mediated delivery of molecules to cells*. Totowa: Humana Press;1999; 37: 119-36.
2. Mir LM, Orlowski S. Mechanisms of electrochemotherapy. *Adv Drug Deliver Rev* 1999; 35: 107-18.
3. Maček Lebar A, Serša G, Čemažar M, Miklavčič D. Elektroporacija. *Med Razgl* 1998; 37: 339-54.
4. Orlowski S, Belehradek JrJ, Paoletti C, Mir LM. Transient electroporabilization of cells in culture. Increase of the cytotoxicity of anticancer drugs. *Biochem Pharmacol* 1988; 37: 4727-33.
5. Serša G, Čemažar M, Miklavčič D. Antitumor effectiveness of electrochemotherapy with cis-diamminedichloroplatinum(II) in mice. *Cancer Res* 1995; 55: 3450-5.

6. Jaroszeski MJ, Gilbert R; Heller R. Electrochemotherapy: An emerging drug delivery method for the treatment of cancer. *Adv Drug Deliver Rev* 1997; **26**: 185-97.
7. Serša G, Čemažar M, Miklavčič D, Chaplin DJ. Tumor blood flow modifying effect of electrochemotherapy with bleomycin. *Anticancer Res*, 1999; in press.
8. Serša G, Čemažar M, Parkins CS, Chaplin DJ. Tumour blood flow changes induced by application of electric pulses. *Eur J Cancer* 1999; **35**: 672-7.
9. Serša G, Miklavčič D, Čemažar M, Belehradek JrJ, Jarm T, Mir LM. Electrochemotherapy with CDDP on LPB sarcoma: Comparison of the antitumor effectiveness in immunocompetent and immunodeficient mice. *Bioelectroch Bioener* 1997; **43**: 279-83.
10. Mir LM, Roth C, Orlowski S, Quintin-Colonna F, Fradelizi D, Belehradek JrJ, Kourilsky P. Systemic antitumor effects of electrochemotherapy combined with histoincompatible cells secreting interleukin-2. *J Immunother* 1995; **17**: 30-8.
11. Serša G, Čemažar M, Menart V, Gaberc-Čurin V, Miklavčič D. Anti-tumor effectiveness of electrochemotherapy with bleomycin is increase by TNF- α (on SA-1 tumors in mice. *Cancer Letters* 1997; **116**: 85-92.
12. Mir LM, Belehradek M, Domenge C, Orlowski S, Poddevin B, et al. Electrochemotherapy, a novel antitumor treatment: First clinical trial. *CR Acad Sci Paris* 1991; **313**: 613-8.
13. Mir LM, Glass LF, Serša G, Teissie J, Domenge C, Miklavčič D, et al. Effective treatment of cutaneous and subcutaneous malignant tumors by electrochemotherapy. *Br J Cancer* 1998; **77**: 2336-42.
14. Rudolf Z, Štabuc B, Čemažar M, Miklavčič D, Vodovnik L, Serša G. Electrochemotherapy with bleomycin: The first clinical experience in malignant melanoma patients. *Radiol Oncol* 1995; **29**: 229-35.
15. Domenge C, Orlowski S, Luboinski B, De Baere T, Belehradek JrJ, Mir L M. Antitumor electrochemotherapy. New advances in the clinical protocol. *Cancer* 1996; **77**: 956-63.
16. Heller R, Jaroszeski M, Glass F, Messina JL, Rapaport DP, Fenske NA, et al. Phase I/II trial for the treatment of cutaneous and subcutaneous tumors using electrochemotherapy. *Cancer* 1996; **77**: 964-71.
17. Reintgen DS, Jaroszeski MJ, Heller R. Electrochemotherapy, a novel approach to cancer. *The Skin Cancer Foundation Journal* 1996; **14**: 17-19.
18. Glass L F, Jaroszeski M, Gilbert R, Reintgen DS, Heller R. Intralesional bleomycin-mediated electrochemotherapy in 20 patients with basal cell carcinoma. *J Am Acad Derm* 1997; **37**: 596-9.
19. Panje W R, Hier M P, Garman G R, Harrel E, Goldman A, Bloch I. Electroporation therapy of head and neck cancer. *Am Otol Rhinol Laryngol* 1998; **107**: 779-85.
20. Heller R, Jaroszeski MJ, Reintgen DS, Puleo CA, DeConti RC, Gilbert RA, Glass LF. Treatment of cutaneous and subcutaneous tumors with electrochemotherapy using intralesional bleomycin. *Cancer* 1998; **83**: 148-57.
21. Kubota Y, Mir LM, Nakada T, Sasagawa I, Suzuki H, Aoyama N. Successful treatment of metastatic skin lesions with electrochemotherapy. *J Urol* 1998; **160**: 1426.
22. Heller R, Gilbert R, Jaroszeski MJ. Clinical applications of electrochemotherapy. *Adv Drug Deliver Rev* 1999; **35**: 119-29.
23. Serša G, Štabuc B, Čemažar M, Jančar B, Miklavčič D, Rudolf, Z. Electrochemotherapy with cisplatin: Potentiation of local cisplatin antitumor effectiveness by application of electric pulses in cancer patients. *Eur J Cancer* 1998; **34**: 1213-8.
24. Serša G, Štabuc B, Čemažar M, Miklavčič D, Rudolf Z. Electrochemotherapy with cisplatin: Clinical experience in malignant melanoma patients. *Clin Cancer Res* 1999; in press.
25. Ramirez LH, Orlowski S, An DJ, Bindoula G, Djodic R, Ardouin P et al. Electrochemotherapy of liver tumours in rabbits. *Br J Cancer* 1998; **77**: 2104-11.