

Elektrokemoterapija pri lokalnem zdravljenju napredovalega melanoma

Gregor Šerša, Zvonimir Rudolf, Snežna M Paulin-Košir, Janja Ocvirk, Maja Čemažar, Simona Kranjc, Breda Slekovec-Kolar, Marko Snoj

Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

Izhodišča. Elektrokemoterapija je način zdravljenja raka, ki združuje uporabo standardnih kemoterapevtikov in aplikacijo električnih pulzov na območje tumorja. Z električnimi pulzi povzročimo destabilizacijo celične membrane in s tem omogočimo lažje vstopanje citostatikov v celico, ki sicer slabo prehajajo skozi membrano. Tako se na mestu, kamor dovedemo električne pulze, večkrat poveča citotoksičnost citostatikov, kot sta cisplatin in bleomicin, s tem pa se poveča tudi njihova protitumorska učinkovitost. Zaradi selektivno povečanega vnosa samo na območju tumorja, je terapevtski indeks elektrokemoterapije zelo dober: dobra je namreč lokalna protitumorska učinkovitost brez stranskih pojavov, lokalnih ali sistemskih, zaradi kemoterapevtikov ali zaradi električnih pulzov. Po številnih predkliničnih raziskavah je bila elektrokemoterapija preizkušena tudi v mnogih kliničnih raziskavah.

Zaključki. Elektrokemoterapija je učinkovita na več histološko različnih tumorskih nodulih v koži ali podkožju, predvsem pa pri melanomu s 60–80 % objektivnih odgovorov tumorjev. Na voljo je nov generator električnih pulzov s pripadajočimi elektrodami, pripravljeni pa so tudi standardni postopki za zdravljenje z elektrokemoterapijo. S tem je omogočeno, da elektrokemoterapija postane standardno zdravljenje v onkologiji za uspešen lokalni nadzor rasti kožnih in podkožnih lezij melanoma.

Ključne besede: melanom, elektrokemoterapija, indikacije

Kaj je elektrokemoterapija?

Kemoterapija čvrstih tumorjev je učinkovita, če kemoterapevtiki vstopijo v tumorske celice in dosežejo svoje znotrajcelične tarče za citotoksično delovanje. Zato morajo po krvi priti do tumorja, tumorskih celic in skozi celično membrano v celico. Nekateri citostatiki, kot sta cisplatin in bleomicin, težko vstopajo v celico, ker je njihov tran-

sport preko celične membrane otežen. Ko pa so v celici, imajo učinkovito citotoksično delovanje.

Za povečanje vnosa citostatikov in prepustnost celičnih membran je na voljo več načinov, od kemičnih do fizikalnih. Med fizikalnimi je najbolj znana elektroporacija, ki jo že dalj časa uporabljamo pri delu na celičnih kulturah *in vitro* za vnašanje kemičnih spojin in tudi gole DNA. V zadnjih desetih letih je postala elektroporacija izvedljiva tudi *in vivo*, s primernimi električnimi pulzi, ki jih dovedemo na mesto, kjer želimo povečati prepustnost celičnih membran celic v tkivu.

Elektroporacija celic s pravokotnimi električnimi pulzi poveča citotoksičnost cisplatinu za 80-krat in bleomicinu za 800-krat.^{1,2} To izredno povečanje citotoksičnosti teh dveh citostatikov je možno tudi *in vivo* pri zdravljenju tumorjev. Kombinacijo zdravljenja s citostatiki in električnimi pulzi imenujemo **elektrokemoterapija**. Predklinične raziskave elektrokemoterapije s cisplatinom ali bleomicinom so pokazale, da je izredno učinkovita. Uporabljamo majhne odmerke citostatikov, ki nimajo stranskih učinkov in sami še nimajo protitumorskega učinka. Električne pulze dovedemo na tumor takrat, ko je v tumorju največja koncentracija citostatika. Tako dosežemo popolne odgovore tumorja na zdravljenje. Protitumorska učinkovitost je bila dokazana na različnih vrstah tumorjev, od sarkomov, karcinomov do melanoma ter na različnih živalih, kot so laboratorijske miši in podgane in v veterinarski medicini psi in konji.^{3,4}

Mehanizmov delovanja elektrokemoterapije je več. Elektroporacija povzroči povečanje koncentracije citostatikov v tumorskih celicah in s tem večjo citotoksičnost. Z električnimi pulzi, dovedenimi na tumor selektivno, v žilju tumorja začasno, a učinkovito ustavimo krvni pretok, bolj kot v normalnih tkivih, kjer je žilje bolje organizirano. S to začasno zaporo podaljšamo čas zadrževanja in delovanja citostatika v tumorju. Ker pa z električnimi pulzi elektroporiramo vse celice v tumorju, z elektrokemoterapijo povzročimo tudi poškodbe endotelija žil v tumorju in s tem na tumor delujemo žilnorazdiralno. Ta učinek bistveno prispeva k učinkovitosti elektrokemoterapije. S sproščanjem antigenov iz tumorskih celic pa se sproži še imunski odgovor, ki dodatno prispeva k protitumorski učinkovitosti elektrokemoterapije.^{4,5}

Klinične raziskave elektrokemoterapije

Prva klinična raziskava elektrokemoterapije z bleomicinom je bila objavljena leta

1991. Dokazala je, da je elektrokemoterapija učinkovita za lokalni nadzor rasti kožnih metastaz tumorjev glave in vratu.⁶ Izsledki te prve raziskave raziskovalne skupine z Inštituta Gustave Roussy v Villejuifu, pod vodstvom dr. Lluisa M. Mira, so spodbudili tudi nas in še druge skupine, da smo na podlagi svojih predkliničnih raziskav začeli s kliničnimi raziskavami. Pionirji elektrokemoterapije so tako bili onkološki centri v Villejuifu in Toulousu v Franciji, skupina v Tampu v ZDA in skupina na Onkološkem inštitutu v Ljubljani. V zadnjem času so klinične izkušnje z elektrokemoterapijo pridobili še nekateri drugi centri po svetu, na Danskem, Japonskem, v Mehiki, Avstriji, Italiji in Španiji.

Do sedaj je bilo v kliničnih raziskavah elektrokemoterapije zdravljenih več sto bolnikov.⁷⁻¹⁰ Glavnina bolnikov je imela kožne metastaze melanoma, zdravljeni pa so bili tudi bolniki z metastazami karcinomov glave in vratu, raka dojke, kožnih karcinomov in nekaj primerov s kožnimi metastazami hipernefroma, ovarijskega karcinoma in Kaposijevoga sarkoma.^{8,10} Rezultate vseh objavljenih kliničnih raziskav lahko povzamemo v ugotovitvi, da so dokazale zelo dobro protitumorsko učinkovitost elektrokemoterapije z bleomicinom in tudi s cisplatinom. Odstotek objektivnih odgovorov na zdravljenje je bil okrog 80%, izmed teh kar 70% popolnih ozdravitev tako zdravljenih tumorskih nodulov.^{8,10}

Protokol zdravljenja

Podrobno so postopki za zdravljenje z elektrokemoterapijo opisani v priporočilih, objavljenih v *European Journal of Cancer Supplements*, november 2006¹¹, na tem mestu pa jih na kratko povzemamo.

Z elektrokemoterapijo lahko zaenkrat zdravimo kožne in podkožne tumorske nodule. Pred aplikacijo citostatika se glede

na število in velikost nodulov ter na bolnikovo splošno stanje odločimo za lokalno ali sistemsko anestezijo. Izbira citostatika ni povezana s histološkim tipom tumorja, temveč s številom in velikostjo nodulov. Citostatik vbrizgamo intravensko ali intratumorsko in nato na tumor dovedemo električne pulze. Po intravenskem vbrizganju moramo dovesti električne pulze na tumor v 8–28 minutah, po intratumorskem vbrizganju citostatika pa takoj, oziroma v petih minutah. Za aplikacijo električnih pulzov uporabljamo generator električnih pulzov. Tega je razvil evropski konzorcij v okviru projekta, ki ga je Evropska skupnost financirala prav za zdravljenje z elektrokemoterapijo. Generator električnih pulzov CLINIPORATOR™ je varen in zanesljiv ter registriran za delo v kliničnem okolju. Za dovajanje električnih pulzov so na voljo različne elektrode, od ploščatih za manjše

tumorje do igelnih za zdravljenje večjih tumorjev (3 cm v premeru in tudi več ob ponavljajočih terapijah) (Slika 1).

Elektrokemoterapija ne povzroča stranskih pojavov, saj so odmerki citostatikov manjši od sicer uporabljenih v kemoterapevtskih shemah. Bleomicin lahko injiciramo intravensko v enkratnem odmerku 15.000 IU/m² ali intratumorsko 250–1000 IU/cm³ tumorja, cisplatin pa intratumorsko v odmerku 0,5–2 mg/cm³ tumorja. Neželjeni stranski pojavi ob dovajanju električnih pulzov na tumor so kontrakcije spodaj ležečih mišic. Uporabljamo pravokotne električne pulze napetosti 1100 do 1300 V/cm, dolžine 100 μs in frekvence 1 Hz ali 5 kHz. Pri standardnem zdravljenju z osmimi električnimi pulzi pride do kontrakcije mišic, kar je za bolnika razmeroma neprijetno in lahko tudi boleče. Vendar pa bolečina preneha takoj po koncu dovajanja električnih pulzov (~8



Slika 1. Postopek zdravljenja kožnih tumorskih nodulov z elektrokemoterapijo. **A.** Metastaza melanoma premera 1,5 cm pred zdravljenjem. **B.** Bolečine zaradi aplikacije električnih pulzov lahko preprečimo s splošno ali lokalno anestezijo. **C.** Citostatik (bleomicin ali cisplatin) injiciramo intratumorsko; bleomicin lahko damo v venski infuziji. **D.** Aplikacija električnih pulzov. **E.** Po zdravljenju se poznajo sledi kjer so bile prislonjene elektrode. **F.** Generator električnih pulzov CLINIPORATOR™ proizvajalca IGEA, s. r. l., Carpi, Italija, je bil razvit v evropskem projektu za zdravljenje bolnikov z elektrokemoterapijo in elektrogensko terapijo. Električne pulze dovedemo na tumor z različnimi elektrodami, ploščatimi ali igelnimi.

sekund). Pri uporabi električnih pulzov pri frekvenci 5 kHz je kontrakcija samo ena, skrajša se čas dovajanja pulzov.

Učinek elektrokemoterapije po enkratnem zdravljenju je popolno izginotje tumorskega nodula, kadar je zdravljenje primerno izvedeno.¹⁰ Popolni odgovori tumorjev na zdravljenje z elektrokemoterapijo so običajno trajni, z dobrim kozmetičnim učinkom. Pri večjih nodulih ter pri ponovno izraslih nodulih pa lahko zdravljenje z elektrokemoterapijo ponovimo, običajno v 4-8 tedenskem intervalu (Slike 2,3,4).^{8,9}

Indikacije za zdravljenje z elektrokemoterapijo

Elektrokemoterapija je paliativni pristop za učinkovit lokalni nadzor kožnih in pod-

kožnih metastaz melanoma, velikosti do treh centimetrov. Izvajamo jo lahko ambulantno, zato je hiter in cenen terapevtski postopek. Izkušnje centrov, ki uporabljajo elektrokemoterapijo v kliniki, lahko strnemo na nekaj indikacij, kjer jo lahko s pridom uporabljamo:

- Je učinkovit postopek za zdravljenje solitarnih ali multiplih tumorskih nodulov v koži ali podkožju različnih histologij.^{8,10}
- Je zdravljenje, ki poveča kakovost življenja pri bolnikih in bolnicah z napredovalo boleznijo.⁸⁻¹⁰
- Je terapija izbora pri tumorjih, ki so znova izrasli na mestu predhodnega zdravljenja (po kirurškem posegu ali v obsevalnem polju po radioterapiji).¹⁰
- Je neoadjuvantno zdravljenje kot cito-reduktivna terapija pred standardnim zdravljenjem.¹²



Slika 2. Učinek enkratne elektrokemoterapije s cisplatinom na podkožni metastazi bolnika z melanomom. Dvanajst tednov po zdravljenju je tumorski nodule v popolnem odgovoru, s pigmentacijo in dobrim kozmetičnim učinkom.



Slika 3. Primer dobrega lokalnega nadzora rasti dveh podkožnih metastaz na nogi bolnice z melanomom. Nodul številka 1 je bil zdravljen enkrat z elektrokemoterapijo s cisplatinom; tudi eno leto po zdravljenju je bil odgovor na zdravljenje popoln, z dobrim kozmetičnim učinkom. Nodul številka 2 je bil v dvomesečnih intervalih trikrat zdravljen z elektrokemoterapijo. Po vsakem zdravljenju je bil odgovor dober, čeprav je med zdravljenjem tumorski nodul znova izrastle. Eno leto in pol po končanem zdravljenju ni prišlo do ponovne izrasti tumorskih nodulov.

- Je organe ohranjajoče zdravljenje.^{12,13}
- Je uporabno zdravljenje pri krvavečih tumorjih (ustavitev pretoka krvi v tumorjih) in v nekaterih primerih zmanjša stopnjo bolečine, povzročene z rastjo tumorja.^{14,15}

Zaključki

Elektrokemoterapija je učinkovit način zdravljenje kožnih in podkožnih metastaz različnih vrst tumorjev, predvsem pa melanoma. Njene prednosti so možnost ambulantnega zdravljenja ter hitro in enostavno izvajanje. Enkratna terapija v približno 80% zdravljenih nodulih zagotovi dolgotrajen popoln odgovor. V primeru delnih odgo-

vorov je elektrokemoterapijo možno ponavljati v 4-6 tedenskih intervalih z enako učinkovitostjo.^{9,10}

Literatura

1. Belehradek J-Jr, Orłowski S, Poddevin B, Paoletti C, Mir L-M. Electrochemotherapy of spontaneous mammary tumours in mice. *Eur J Cancer* 1991; **27**: 73-6.
2. Serša G, Čemazar M, Miklavčič D. Antitumor effectiveness of electrochemotherapy with cis-diamminedichloroplatinum(II) in mice. *Cancer Res* 1995; **55**: 3450-55.
3. Gehl J. Electroporation: theory and methods, perspectives for drug delivery, gene therapy and research. *Acta Physiol Scand* 2003; **177**: 437-47.



Slika 4. Odgovor številnih kožnih metastaz melanoma po elektrokemoterapiji s cisplatinom injiciranim lokalno v tumor. Po dveh tednih so na zdravljenih metastazah nastale kraste, ki so nekaj tednov za tem odpadle. Viden dober protitumorski in kozmetični učinek.

4. Serša G, Čemažar M, Miklavčič D, Rudolf Z. Electrochemotherapy of tumours. *Radiol Oncol* 2006; **40**: 163-74.
5. Mir LM. Bases and rationale of the electrochemotherapy. *Eur J Cancer Suppl* 2006; **4**: 38-44.
6. Mir L-M, Belehradek M, Domenge C, Orłowski S, Poddevin B, Belehradek J Jr, et al. Electrochemotherapy, a new antitumor treatment: first clinical trial. *C R Acad Sci III* 1993; **313**: 613-8.
7. Gothelf A, Mir LM, Gehl J. Electrochemotherapy: results of cancer treatment using enhanced delivery of bleomycin by electroporation. *Cancer Treat Rew* 2003; **29**: 371-87.
8. Serša G. The state-of-the-art of electrochemotherapy before the ESOPE study: advantages and clinical uses. *Eur J Cancer Suppl* 2006; **4**: 52-9.
9. Serša G, Miklavčič D, Čemažar M, Rudolf Z, Pucihar G, Snoj M. Electrochemotherapy in treatment of tumours. *Eur J Surg Oncol* 2007; doi:10.1016/j.ejso.2007.05.016
10. Marty M, Serša G, Garbay JR, Gehl J, Collins CG, Snoj M, et al. Electrochemotherapy - An easy, highly effective and safe treatment of cutaneous and subcutaneous metastases: Results of ESOPE (European Standard Operating Procedures of Electrochemotherapy) study. *Eur J Cancer Suppl* 2006; **4**: 3-13.
11. Mir LM, Gehl J, Serša G, Collins CG, Garbay JR, Billard V, et al. Standard operating procedures of the electrochemotherapy: Instructions for the use of bleomycin or cisplatin administered either systemically or locally and electric pulses delivered by Cliniporator™ by means of invasive or non-invasive electrodes. *Eur J Cancer Suppl* 2006; **4**: 14-25.
12. Snoj M, Rudolf Z, Čemažar M, Jančar B, Serša G. Successful sphincter-saving treatment of anorectal malignant melanoma with electrochemotherapy, local excision and adjuvant brachytherapy. *Anti-Cancer Drugs* 2005; **16**: 345-8.
13. Shimizu T, Nikaido T, Gomyo H, Yoshimura Y, Horiuchi A, Isobe K, Ebara S, Takaoka K. Electrochemotherapy of digital chondrosarcoma. *J Ortop Sci* 2003; **8**: 248-51.
14. Gehl J, Geertsens PF. Efficient palliation of haemorrhaging malignant melanoma skin metastases by electrochemotherapy. *Melanoma Res* 2000; **10**: 585-9.
15. Gehl J, Geertsens PF. Palliation of haemorrhaging and ulcerated cutaneous tumours using electrochemotherapy. *Eur J Cancer Suppl* 2006; **4**: 35-7.