

## Elektrokemoterapija

### Electrochemotherapy

Gregor Serša in Maja Čemažar

#### Povzetek

Elektrokemoterapija je lokalna ablativna terapija, ki temelji na uporabi elektroporacije, kot dostavnega sistema za citostatika bleomicin ali cisplatin. Njena uporaba je predvsem za zdravljenje kožnih tumorjev, kot so kožne metastaze melanoma ali bazalno celični karcinomi. Elektrokemoterapija je v smernicah mnogih evropskih držav. Učinkovitost elektrokemoterapije je v povprečju za vse vrste kožnih tumorjev, 86% objektivnih odgovorov (OR) in 71% popolnih odgovorov (CR) po enkratni terapiji. Za zdravljenje so objavljeni standardizirani postopki, na voljo je certificiran generator električnih pulzov in različni tipi elektrod. Obstajajo pa razlike v stopnji odgovorov med različnimi tumorji. Bazalno celični so najbolj občutljivi, melanomski tumorji pa manj. Klinični napovedni dejavniki so zato vrsta tumorjev, ter velikost tumorjev in predhodna zdravljenja. Elektrokemoterapija povzroča imunogeno celično smrt in deluje kot in situ vakcinacija. Nedavne študije so dokazale sinergizem njenega delovanja z zaviralci imunskih kontrolnih točk pri bolnikih z melanomom.

**Ključne besede:** kožni tumorji, kožne metastaze, elektrokemoterapija

#### Kaj je elektrokemoterapija?

Elektrokemoterapija je sedaj že dobro uveljavljena lokalna ablativna terapija, ki se uporablja v približno 170 centrih po Evropi. Terapevtski pristop je sestavljen iz uporabe citostatika in aplikacije električnih pulzov, kot lokalnega dostavnega sistema za citostatike. Z aplikacijo električnih pulzov na tumor povzročimo elektroporacijo celic, ki postanejo permeabilne za molekule, ki sicer ne bi oziroma bi težko prehajale celično membrano. Elektroporacija začasno vzpostavi v membrani permeabilne strukture, ki omogočijo difuzijo molekul v celice. V nekaj sekundah, do minutah se te spremembe v membrani povrnejo v prvotno stanje. V elektrokemoterapiji se uporabljata dva citostatika, bleomicin in cisplatin. Bleomicin težko prehaja membrano, zato se njegova citotoksičnost z elektroporacijo poveča do 1000 krat, cisplatin pa nekaj desetkrat.

Elektrokemoterapija je bila dobro raziskana na pred kliničnem nivoju. S poskusi na tumorskih modelih na laboratorijskih miših, so bili optimizirani električni pulzi, ki imajo najboljši in vivo učinek, kot tudi njihovo število in pogoji za pokritost električnega polja v tumorju, ter doze citostatikov. V pred kliničnih poskusih se je tako pokazalo, da 8 električnih pulzov, jakosti 1300 V/cm, dolžine 100  $\mu$ s in frekvence 1 Hz, povzroči dobro elektroporacijo vrste različnih tumorjev za dober protitumorski učinek citostatikov. Enaki električni pulzi se uporabljajo tudi v kliniki, za zdravljenje kožnih tumorjev, različnih histologij.

Vrsta raziskav je tudi opredelila mehanizme, ki opredeljujejo učinek elektrokemoterapije. Prvi in najpomembnejši je povečana dostava citostatikov v celice. Dokazano je bilo, da se oba, bleomicin in cisplatin, signifikantno kopičita v tumorjih s pomočjo elektroporacije. Drugi mehanizem delovanja elektrokemoterapije so njeni vaskularni učinki. Aplikacijo električnih pulzov povzroči vazokonstrikcijo, zato se tudi citostatika dlje časa zadržujeta v tumorju. Poleg tega pa elektroporacija povzroči permeabilizacijo endotelijskih celic, kar sproži tudi žilno razdiralni učinek. Zato je elektrokemoterapija primerna tudi za zdravljenje krvavečih tumorjev. Tretji učinek pa je imunomodulatorni. Elektrokemoterapija sproži imunogeno celično smrt, tako z bleomicinom, kot tudi s cisplatinom. Zato se sproži lokalni imunski odziv, ki pripomore k celokupnem učinku elektrokemoterapije. To je učinek, ki je lasten še mnogim drugim ablativnim terapijam, in tudi radioterapiji. Nekaj dokazov pa je že zbranih na pred kliničnem nivoju, da je zato smiselno kombinirati elektrokemoterapijo z imunoterapijo, tako imunostimulatorno, kot tudi z inhibitorji imunskih kontrolnih točk.

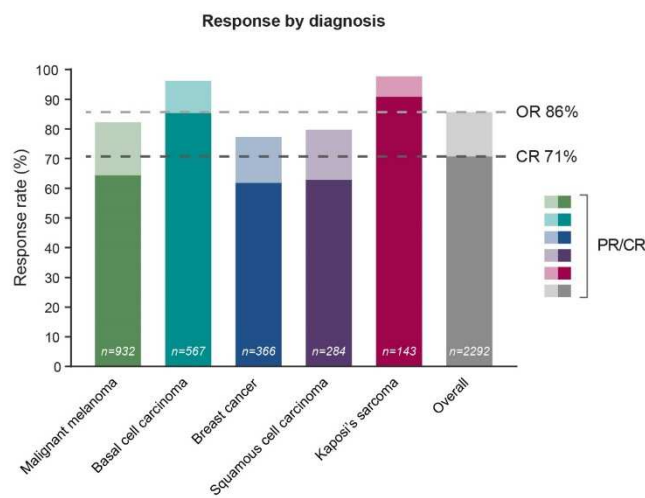
## Klinični rezultati zdravljenja z elektrokemoterapijo

Prva multicentrična klinična študija zdravljenja z elektrokemoterapijo je bila objavljena leta 2006. Študija je bila zasnovana z namenom uporabiti pripravljene standardizirane postopke za elektrokemoterapijo na bolnikih s kožnimi tumorji, velikosti do 3 cm, različnih histologij. Bleomicin se je injiciral intravensko ali intratumoralno, cisplatin pa samo intratumoralno. Uporabljene so bile različne konfiguracije elektrod in generator električnih pulzov, ki so ga razvili v predhodnem EU projektu. V kliničnem EU projektu- ESOPE, smo tako pripravili standardizirane postopke zdravljenja in nedvoumno pokazali učinkovitost zdravljenja z elektrokemoterapijo. Rezultati projekta so pokazali od 70-90% lokalno kontrolo rasti tumorjev, i.e. 85% objektivnih odgovorov, tako melanomskih metastaz, kot metastaz raka dojke in drugih histologij. Ta objava je sprožila širšo uporabo elektrokemoterapije po Evropi, najprej predvsem v Italiji, kjer je tudi proizvajalec generatorja električnih pulzov, nato pa še po ostalih centrih, in predvsem v Nemčiji.

Centri, ki izvajajo elektrokemoterapijo se v veliki večini združujejo v InspECT konzorciju (International Network for Sharing Practice of Electrochemotherapy). Ta konzorcij zbira podatke o zdravljenju njihovih bolnikov, in tako tvori široko bazo, ki ima možnost analize različnih aspektov zdravljenja z elektrokemoterapijo. Tako je pred objavljen članek, ki je analiziral rezultate elektrokemoterapijo na 987 bolnikih in tumorskih nodulih. Učinek zdravljenja, nodule, in ne glede na histologijo bil OR 85% (70 CR; 15% delnih (PR); 11% stabilna bolezen (SD); 2% napredovanje bolezni (PD)), in glede na OR (61% CR; 22% PR; 12% SD; 3% PD). zaznali razliko v odzivih tumorjev glede histologijo, najboljši odziv je bil zaznan Kaposijevem sarkomu in bazalno karcinomu, slabši pa pri malignem raku dojke in ploščato celičnem

(Slika1,2). Iz kliničnih podatkov lahko napovedni dejavnik zdravljenja odvisen od tumorjev, poleg tega pa se slabše odzivajo pa predhodno že zdravljeni tumorji. nam je zdelo, da je potrebnih več raziskav, ki bi opredelile biološke napovedne dejavnike. Tako na nivoju značilnosti tumorskih celic, kot tudi tumorskega mikrookolja. Vemo, da je vaskularizacija tumorjev zelo pomembna za izid zdravljenja z elektrokemoterapijo. Predvidevamo, in na tumorskih modelih smo že dokazali, da so dobro ožiljeni tumorji z dobro mikrocirkulacijo krvi bolj občutljivi na elektrokemoterapijo. Žal pa kliničnih podatkov o tem še ni.

Drugi dejavnik, ki se nam zdi zelo je imunogenost tumorjev. Na tumorskih smo že pokazali, da je z večanjem imunogenosti tumorjev njihova večja. Tako je bil tudi v predkliničnih maligni melanom najmanj odziven drugi strani pa smo pokazali, da z zdravljenjem z interlevkinom-12 (IL-12) povečamo odzivnost tumorjev. Najbolj protitumorski učinek povečan pri manj tumorjih in najmanj pri bolj imunogenih odgovorijo dobro že na samo terapijo z elektrokemoterapijo. Elektrokemoterapijo bi *situ* vakcinacijo organizma. Klinična študija, potrjuje to možnost. V InspECT bazi smo napredovalno boleznijo in s kožnimi metastazami melanoma, ki so bili zdravljeni s pembrolizumabom in smo



Slika 1. Odgovori kožnih tumorjev na elektrokemoterapijo po enkratnem zdravljenju. Gehl J et al. 2018



Slika 2. Zdravljenje in učinek elektrokemoterapije bazalnoceličnega karcinoma na nosu bolnika.

kratkim bil zdravljenja z 2482 glede na tumorjev, je odgovorov bolnika 83% Smo pa na pri celičnem melanomu, karcinomu izluščimo, da je histologije večji tumorji in Pomembno pa se

pomemben modelih odzivnost poskusih tumor. Na adjuvantnim lahko je bil imunogenih tumorjih, ki

lahko imeli kot *in* ki smo jo objavili zbrali bolnike z

jim kožne metastaze dodatno zdravili z elektrokemoterapijo. Študija je pokazala da, v primerjavi s primerljivima skupinama bolnikov, ki so bili zdravljeni samo z elektrokemoterapijo in skupino, ki je bila zdravljena samo s pembrolizumabom, elektrokemoterapija doprinese k lokalnem učinku na kožnih metastazah, kot tudi izboljša sistemski odgovor zdravljenja, tako na oddaljenih zasevkih kot tudi s povečanim celokupnim preživetjem. Zato se nam zdi smiselno, da gredo raziskave v smeri kombiniranega zdravljenja elektrokemoterapije z zaviralci imunskih kontrolnih točk, ali pa z imunogeno terapijo, ki jo razvijamo, s plazmidom z zapisom za IL-12.

Učinki elektrokemoterapije na kožnih tumorjih so sedaj že dobro znani in primerljivi z učinkovitostjo drugih ablativnimi terapijami, kar je pokazala meta-analiza. Se pa elektrokemoterapija razvija tudi v smeri zdravljenja globoko ležečih tumorjev. V ta namen se izpopolnjujejo tehnični pristopi, z razvojem novih vrst elektrod. Prve študije na jetrnih tumorjih, trebušni slinavki, rektalnih tumorjih kažejo približno enako stopnjo odgovorov, kot pri kožnih tumorjih. Razvijajo in uveljavljajo pa se perkutani, endoskopski in laparoskopski pristopi.

## Literatura

1. Marty M, Serša G, Garbay JR, Gehl J, Collins CG, Snoj M, Billard V, Geertsens PF, Larkin JO, Miklavčič D, Pavlović I, Paulin-Kosir SM, Čemažar M, Morsli N, Soden DM, Rudolf Z, Robert C, O'Sullivan GC, Mir LM. Electrochemotherapy – An easy, highly effective and safe treatment of cutaneous and subcutaneous metastases: Results of ESOPE (European Standard Operating Procedures of Electrochemotherapy) study. *EJC Suppl* 2006; **4**: 3-13.
2. Gehl J, Sersa G, Wichmann Matthiessen L, Muir T, Soden D, Occhini A, Quaglino P, Curatolo P, Campana L, Kunte C, Clover AJP, Bertino G, Farricha V, Odili J, Dahlstrom K, Benazzo M, Mir LM. Updated standard operating procedures for electrochemotherapy of cutaneous tumours and skin metastases. *Acta Oncol* 2018, **57**: 874-882.
3. Campana LG, Miklavcic D, Bertino G, Marconato R, Valpione S, Imarisio I, Vittoria Dieci M, Granziera E, Cemazar M, Alaibac M, sersa G. Electrochemotherapy of superficial tumors – Current status: Basic principles, operating procedures, shared indications, and emerging applications. *Sem Oncol* 2019; **46**: 173-91.
4. Clover AJP, deTerlizzi F, Bertino G, Curatolo P, Odili J, Campana LG, et al. Electrochemotherapy in the treatment of cutaneous malignancy: Outcomes and subgroup analysis from the cumulative results from the pan-European International Network for Sharing Practice in Electrochemotherapy gatabase for 2482 lesions in 987 patients (2008-2019). *Eur J Cancer* 2020; **138**: 30-40.
5. Sersa G, Ursic K, Cemazar M, Heller R, Bosnjak M, Campana LG. Biological factors of the tumor response to electrochemotherapy: review of evidence and a research roadmap. *EJSO* 2021; **47**: 1836-46.
6. Ursic K, Kos S, Kamensek U, Cemazar M, Miceska S, Markelc B, Bucek S, Staresinic B, Kloboves Prevodnik V, Heller R, Sersa G. Potentiation of electrochemotherapy effectiveness by immunostimulation with IL-12 gene electrotransfer in mice is dependent on tumor immune status. *J Controlled Release* 2021; **332**: 623-35.
7. Campana LG, Peric B, Mascherini M, Spina R, Kunte C, Kis E, Rozsa P, Quaglino P, Pritchard Jones R, Clover AJP, Curatolo P, Giorgione R, Cemazar M, de Terlizzi F, Bosnjak M, Sersa G. Combination of pembrolizumab with electrochemotherapy in cutaneous metastases from melanoma: A comparative retrospective study from the InspECT and Slovenian Cancer Registry. *Cancers* 2021; **13**: 4289.