

ELECTROQUIMIOTERAPIA, UNA ALTERNATIVA PROMETEDORA PARA MEJORAR TERAPIAS EN CÁNCER: AVANCES RECIENTES EN LA INVESTIGACIÓN PRECLÍNICA Y CLÍNICA

Sayma Vizcarra Ramos¹; Hernández-Gutiérrez Rodolfo¹; Herrera-Rodríguez Sara Elisa^{2*}.
Correo electrónico: savizcarra_al@ciatej.edu.mx

¹ laboratorio Biotecnología Médico y farmacéutica, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. Guadalajara, Jalisco, México

^{2*} laboratorio de Inocuidad. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. Subsede sureste Mérida, Yucatán, México.

RESUMEN

La electroquimioterapia es un tratamiento que consiste en la administración intravenosa y/o intratumoral de fármacos antineoplásicos, sobre todo, aquellos que presentan baja o nula permeabilidad (bleomicina y cisplatino) a través de la membrana plasmática de las células tumorales, seguido de la aplicación de pulsos eléctricos de alta intensidad en un proceso conocido como electroporación. La electroporación induce un aumento de la permeabilidad de la membrana plasmática, facilitando el ingreso de los fármacos quimioterapéuticos e incrementando su concentración intracelular y, por consiguiente, su efecto citotóxico logrando minimizar los efectos secundarios comunes de la quimioterapia (cuando la administración de fármacos se realiza intratumoralmente). La efectividad del tratamiento se debe al incremento del efecto citotóxico del fármaco, a efectos antivascuales y a la inducción de una respuesta inmune sistémica. En la última década se han realizado diversos estudios para evaluar la efectividad del tratamiento en modelos preclínicos y clínicos, encontrando que es un tratamiento seguro y efectivo a nivel local para cáncer de colon, mama, próstata y melanoma.

Palabras clave: cancer, electroquimioterapia, efecto citotóxico, metastasis

ABSTRACT

Electrochemotherapy is a therapy in which chemotherapeutic drugs with low or null membrane permeability are administered, intravenously or intratumorally, to a patient followed by the application of high intensity electric pulses in a process known as electroporation. Electroporation modifies cell permeability facilitating the uptake of chemotherapeutic drugs increasing its intracellular concentration and, therefore, increasing its cytotoxic effect thus minimizing side effects of chemotherapy. Treatment effectiveness is explained by the increasing of drug's cytotoxic effect, antivascular effects and the induction of a systemic immune response. Over the last decade, research has been made to evaluate the effectiveness of the treatment on preclinical and clinical models finding that is an effective and safe local treatment for colon, breast and prostate cancer and melanoma.

Key words: cancer, cytotoxic effect, electrochemotherapy, metastasis

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer es la causa principal de muerte en 57 países, representando un problema de salud grave a nivel mundial (Bray et al. 2021). En el año 2020 se registraron alrededor de 19,292,789 casos nuevos a nivel global y 9,958,133 de estos casos resultaron en decesos (Ferlay et al. 2020). El tratamiento o terapia que se emplea depende del grado de

riesgo de la enfermedad y del tipo de cáncer que se trate, entre los tratamientos más comunes se incluyen cirugía, radioterapia, quimioterapia, inmunoterapias y tratamientos hormonales, no obstante, la quimioterapia es el tratamiento más empleado en la actualidad (Bukowski et al. 2020).

La quimioterapia consiste en la administración sistémica de fármacos cuyo propósito es inhibir la proliferación celular y, por consiguiente, el crecimiento tumoral, la aparición y desarrollo acelerado de la metástasis. La desventaja principal de este tratamiento es la inespecificidad de los fármacos, pues estos no solo atacan células tumorales, sino que también afectan a células normales o "sanas", ocasionando una serie de efectos secundarios que deterioran la salud y disminuyen la calidad de vida los pacientes (Amjad et al., 2022; Chu y Sartorelli, 2018).

Por otro lado, algunas características fisicoquímicas de los fármacos quimioterapéuticos, como su polaridad, influyen en la concentración de estos, en el interior de las células. Para alcanzar las concentraciones intracelulares suficientes que produzcan efectos citotóxicos en las células tumorales, se requiere administrar a los pacientes, dosis elevadas del fármaco lo que resulta en una elevada toxicidad y efectos adversos en los pacientes (Probst et al. 2018). Con el propósito de reducir la dosificación de fármacos quimioterapéuticos y disminuir la toxicidad, así como los efectos secundarios provocados, se han desarrollado diversas estrategias, entre ellas, la administración de pulsos eléctricos (en un proceso conocido como electroporación) que incrementan la permeabilidad de las membranas celulares y permiten elevar la concentración intracelular de los fármacos (Campana et al. 2019; Cemazar y Sersa. 2019). El tratamiento que combina la administración de fármacos quimioterapéuticos con electroporación es conocido como electroquimioterapia. En la actualidad, la electroquimioterapia es un tratamiento local recomendado para diversos tipos de cáncer cuyo uso es frecuente en Europa, pues se ha comprobado su efectividad en diversos estudios clínicos (Gehl et al. 2018; Probst et al. 2018). El propósito del artículo es reunir información acerca de los avances recientes de la electroquimioterapia durante la última década, en estudios preclínicos y clínicos.

ELECTROPORACIÓN

La electroporación es un fenómeno biofísico que ocurre en las membranas celulares cuando son expuestas a campos eléctricos pulsados de alta intensidad y durante periodos cortos permitiendo mejorar su permeabilidad a agentes que no ingresarían fácilmente en circunstancias normales (Esmaeili y Friebe 2019; Lapińska et al. 2022). Los procesos físicos y químicos que ocurren dentro las membranas durante este proceso no son del todo claros, sin embargo, la explicación más aceptada indica que el campo eléctrico aplicado induce un voltaje transmembranal que reorienta

moléculas de agua dentro de la bicapa lipídica de las membranas celulares lo que induce la formación de poros acuosos o “nanoporos” que funcionan como vías de entrada temporales para iones y moléculas (Campana et al. 2019; Esmaili y Friebe, 2019). Dependiendo de la intensidad del campo eléctrico, la duración del pulso eléctrico y algunas características celulares como el tamaño y la curvatura membranal, la electroporación puede clasificarse en dos tipos: electroporación reversible (ER) y electroporación irreversible (EIR) (Lapińska et al. 2022).

ELECTROPORACIÓN REVERSIBLE

La electroporación reversible (ER), como su nombre lo indica, permite a la célula regresar a su estado original reparando y cerrando los poros formados minutos después de la exposición al campo eléctrico, con el objetivo de mejorar, principalmente, el transporte y acumulación de fármacos quimioterapéuticos en el interior celular mientras preserva la viabilidad celular (Figura 1A). Para que el proceso sea considerado como ER se recomienda utilizar: a) 8 pulsos eléctricos de onda cuadrada de 100 μ s; b) amplitud de 100-1000 volts (V), dependiendo de la distancia entre electrodos y su forma; c) 1300 V/cm de relación de voltaje sobre distancia y d) frecuencia de repetición de pulso de 5000 Hz (Campana et al. 2019; Esmaili y Friebe, 2019; Bonferoni et al. 2021).

ELECTROPORACIÓN IRREVERSIBLE

Las condiciones de la electroporación irreversible incluyen mayor cantidad de pulsos (80-100) y mayor amplitud (por encima de 3000 V) las cuales provocan que la célula no regrese a su estado original ocasionando una disrupción irrevocable de la membrana celular y un desbalance bioquímico letal que llevan a la inducción de la muerte celular (Campana et al. 2019) (Figura 1B). Gracias a su capacidad de inducir la muerte celular, la EIR puede ser utilizada como una técnica ablativa no térmica para tratar tumores que no son candidatos para cirugía o ablaciones térmicas (Bonferoni et al. 2021).

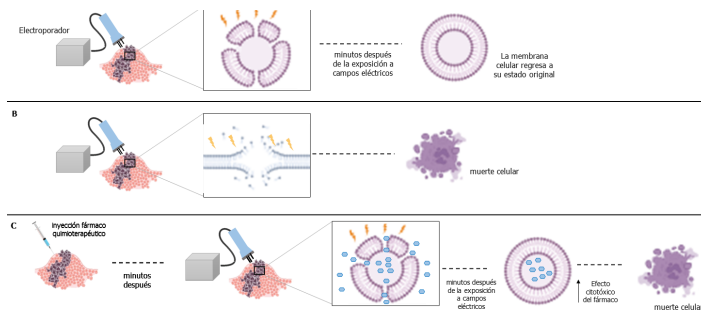


Figura 1. A) Electroporación reversible. B) Electroporación irreversible. C) Electroquimioterapia.

ELECTROQUIMIOTERAPIA

Cuando se aplica la electroporación reversible en una terapia, y se utilizan fármacos quimioterapéuticos, se llama electroquimioterapia (EQT) y ha demostrado ser efectiva a nivel local. El objetivo es, incrementar la permeabilidad de la membrana y así permitir la difusión de fármacos no permeables o de baja permeabilidad, para lograr incrementar significativamente su efecto citotóxico sobre células tumorales, permitiendo así reducir la dosis del fármaco para minimizar sus efectos secundarios (Cemazar y Sersa 2019; Lapińska et al. 2022).

Se ha comprobado científicamente que esta terapia posee actividad antitumoral en ensayos preclínicos y clínicos en distintos tipos de cáncer (Ueki et al. 2008; Probst et al. 2018; Wichtowski et al. 2019). Esta actividad antitumoral es provocada por el incremento de la cantidad de fármaco al interior celular y el efecto citotóxico del fármaco, gracias al incremento de la permeabilidad de la membrana que permite aumentar la concentración de los fármacos, por ejemplo, bleomicina y cisplatino, en el interior celular (Campana et al. 2019). Adicionalmente, puede deberse a efectos de una respuesta vasoconstrictora local por la electroporación que retarda la dispersión del fármaco y permite aumentar el tiempo de exposición de las células tumorales al fármaco, a este proceso se le conoce como bloqueo vascular, y adicionalmente, ocurre la muerte de la vasculatura tumoral provocada por el efecto citotóxico del fármaco en células endoteliales (Jarm et al. 2010). Por último, se ha demostrado que el daño celular provocado por EQT induce la liberación de patrones moleculares asociados al daño (DAMPs por sus siglas en inglés), los cuales activan a las células presentadoras de antígeno, que posteriormente desencadenan una respuesta inmune adaptativa contra las células tumorales produciendo células T citotóxicas que se encargan de atacar específicamente a las células tumorales, generando así una respuesta inmune sistémica contra dichas células remanentes y contra aquellas con propiedades metastásicas (Calvet y Mir 2016; Lapińska et al. 2022) (Figura 2).

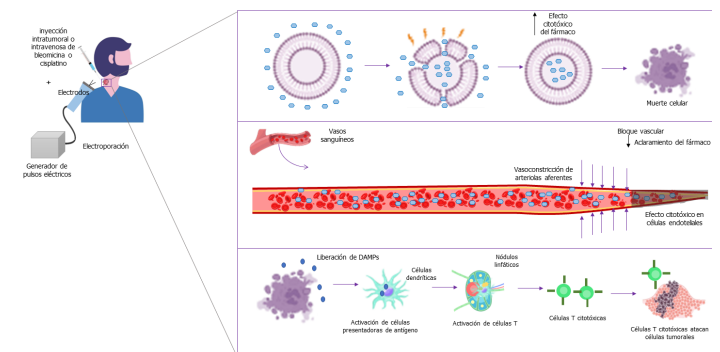


Figura 2. Mecanismo de acción de EQT. La actividad antitumoral de la terapia es provocada por: 1) El incremento del efecto citotóxico del fármaco 2) Efectos antivasculares 3) Respuesta inmune sistémica.

FÁRMACOS EN

ELECTROQUIMIOTERAPIA

Uno de los propósitos de la electroquimioterapia es facilitar la penetración e inducir una alta concentración intracelular de los fármacos y por consecuencia incrementar el efecto citotóxico de fármacos quimioterapéuticos con baja o nula permeabilidad a la membrana celular, induciendo así la muerte de las células tumorales y, por ende, la desaparición del tumor (Cemazar y Sersa 2019). Los fármacos más empleados en ensayos preclínicos y clínicos de EQT son la bleomicina y el cisplatino (Campana et al. 2019).

La bleomicina, se utiliza en el tratamiento paliativo de células escamosas, carcinoma testicular y tumores de células germinales. Este medicamento se utiliza para tratar linfoma de Hodgki y no-Hodgkin, carcinoma renal y sarcoma de tejidos blandos. Es un fármaco altamente hidrofílico con actividad de endonucleasa, cuyo efecto citotóxico depende de su concentración intracelular. Cuando la concentración intracelular es baja, el fármaco actúa mediante el arresto del ciclo celular en fase G2 deteniendo la progresión de la replicación celular. En cambio, cuando se alcanzan concentraciones intracelulares altas, el fármaco produce el rompimiento de las cadenas dobles del ADN lo que induce la apoptosis celular, además se generan especies reactivas de oxígeno que dañan el ADN (Campana et al. 2019; Calvet y Mir; 2016). En tratamiento con EQT puede ser administrado vía intratumoral o intravenosa y se ha comprobado que puede incrementar hasta 1000 veces su efecto citotóxico (Probst et al. 2018).

Por otro lado, el cisplatino es un agente quimioterapéutico que se utiliza para tratar diferentes tipos de cáncer, como, cáncer testicular, de ovario, vejiga, cáncer de pulmón de células no pequeñas y de cabeza y cuello. Es un compuesto de coordinación de platino con baja permeabilidad. El 50% del fármaco es transportado hacia el interior celular mediante difusión pasiva. Este fármaco actúa formando enlaces dentro del ADN que inhiben los mecanismos de síntesis, replicación y reparación del ADN y conducen a la apoptosis. El incremento de la actividad citotóxica con EQT es menor que con bleomicina (80 veces) y solo se administra vía intratumoral (Campana et al. 2019; Bonferoni et al. 2021).

ELECTROQUIMIOTERAPIA ABRE LA PERSPECTIVA DE USO PARA OTROS TIPOS DE CÁNCER

En los últimos años, gracias a la efectividad antitumoral de EQT se ha escalado de ensayos preclínicos a clínicos de forma rápida (Cemazar y Sersa 2019). En 2006 se

establecieron los procedimientos operatorios estándar de electroquimioterapia en un estudio realizado por el proyecto ESOPE (Procedimientos Operativos Estándar Europeos). En este estudio se establecieron las instrucciones para la administración de bleomicina y cisplatino en ensayos clínicos (Mir et al. 2006). En 2018 se publicó una actualización del procedimiento gracias a diversos ensayos clínicos que demostraron la efectividad de EQT en tumores de mayor tamaño (Gehl et al 2018). Desde entonces se continúan desarrollando nuevos estudios clínicos y preclínicos para evaluar la efectividad antitumoral de electroquimioterapia en melanoma y cáncer de mama, así mismo, se han realizado algunos estudios en cáncer de próstata.

CÁNCER DE PRÓSTATA

La efectividad de EQT en el tratamiento de cáncer de próstata ha sido evaluada en muy pocos estudios, por lo que la información disponible es limitada. Los estudios preclínicos han utilizado modelos in vivo murinos. Por ejemplo, en el estudio de Ueki y colaboradores (2008) el modelo in vivo consistió en ratones desnudos con xenotransplantes tumorales provenientes de la línea celular de cáncer de próstata PC-3 a los cuales se les administró bleomicina (25 mg/kg) mediante una inyección intratumoral y 15 minutos después se aplicaron los pulsos eléctricos en el tumor (10 pulsos de 500 V/cm). El tratamiento suprimió efectivamente el crecimiento tumoral, adicionalmente se observó que la incidencia de células apoptóticas es significativamente mayor en el tratamiento con bleomicina más electroporación en comparación con los tratamientos en los que se aplicó bleomicina y electroporación por separado, indicando que EQT reduce el tamaño tumoral mediante la inducción de apoptosis celular.

En 2017 se reportó un caso del tratamiento de EQT para un paciente de 67 años con cáncer de próstata con infiltración en el esfínter uretral, no candidato para cirugía y radioterapia (debido a un alto riesgo de sufrir impotencia e incontinencia) y con tratamiento de privación de andrógenos previo. Se aplicó EQT con bleomicina según los lineamientos propuestos por el ESOPE (Procedimientos Operativos Estándar Europeos). Después de 6 meses del tratamiento no se encontraron señales de actividad tumoral en los tejidos u órganos cercanos, se produjeron efectos adversos leves como hematuria leve de próstata, leve incontinencia de urgencia transitoria y malestar debido al cateterismo, incluso la toxicidad del tratamiento fue baja, sugiriendo que EQT es un tratamiento seguro y efectivo para el tratamiento de cáncer de próstata (Klein et al. 2017).

CONCLUSIÓN

La EQT es un tratamiento efectivo y seguro en distintos tipos de cáncer, sin embargo, al ser una terapia local se requiere que los tumores tratados sean de fácil acceso y presenten buena vascularización para aumentar su efectividad. Específicamente, se requieren más estudios que evalúen la efectividad de EQT en cáncer de próstata para determinar si es un tratamiento recomendable para pacientes con este tipo de cáncer. Es una posibilidad que la localización de los tumores de cáncer de próstata sea una causa importante en la ausencia de estudios clínicos.

Los ensayos preclínicos han logrado determinar que la EQT reduce el tamaño de tumores a través de la destrucción de células mediante apoptosis. Por otro lado, ensayos clínicos han sido de gran utilidad para determinar la efectividad de EQT en pacientes con cáncer en etapas metastásicas demostrando que la EQT es un tratamiento seguro y efectivo que presenta baja toxicidad gracias a la disminución de las dosis terapéuticas de los fármacos empleados para quimioterapia.

Finalmente, la versatilidad y las evidencias citadas en el presente trabajo de revisión, sobre la efectividad de EQT abre una puerta muy interesante, nos referimos a la aplicación y evaluación de la EQT con nanotecnología.

REFERENCIAS

Amjad MT, Chidharla A, Kasi A (2022) Cancer Chemotherapy [online]. Treasure Island (FL): StatPearls. Available from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564367/#_NBK564367_pubdet_ [fecha de revisión 10 Agosto 2022].

Bonferoni, Maria Cristina, Giovanna Rasso, Elisabetta Gavini, Milena Sorrenti, Laura Catenacci, Maria Luisa Torre, Sara Perteghella, Luca Ansaloni, Marcello Maestri, and Paolo Giunchedi (2021) "Electrochemotherapy of Deep-Seated Tumors: State of Art and Perspectives as Possible "EPR Effect Enhancer" to Improve Cancer Nanomedicine Efficacy" *Cancers* 13(17):443

Bray F, Laversanne M, Weiderpass E, Soerjomataram I (2021) The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. *Cancer* 127(16):3029-3030

Bukowski K, Kciuk M, Kontek R (2020) Mechanisms of Multidrug Resistance in Cancer Chemotherapy. *Int J Mol Sci*. 21(9):3233.

Calvet CY, Mir LM (2016) The promising alliance of anti-cancer electrochemotherapy with immunotherapy. *Cancer Metastasis Rev* 35(2):165-177.

Campana, L. G., Miklavčič, D., Bertino, G., Marconato, R., Valpione, S., Imarisio, I., Dieci, M. V., Granziera, E., Cemazar, M., Alaibac, M., & Sersa, G (2019) Electrochemotherapy of superficial tumors - Current status: Basic principles, operating procedures, shared indications, and emerging applications. *Semin Oncol* 46(2):173-191

Cemazar M, Sersa G (2019) Recent Advances in Electrochemotherapy. *Bioelectricity* 1(4):204-213.

Chu E, Sartorelli AC (2018) Cancer chemotherapy. *Lange's Basic and Clinical Pharmacology* 948-76.

Esmaeili N, Friebe M. Electrochemotherapy (2019) A Review of Current Status, Alternative IGP Approaches, and Future Perspectives. *J Healthc Eng* 2019; 2784516.

Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M (2020) *Global Cancer Observatory: Cancer Today*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <https://gco.iarc.fr/today> [fecha de revisión 11 Agosto 2022].

Gehl, J., Sersa, G., Matthiessen, L. W., Muir, T., Soden, D., Occhini, A., Quaglino, P., Curatolo, P., Campana, L. G., Kunte, C., Clover, A., Bertino, G., Farricha, V., Odili, J., Dahlstrom, K., Benazzo, M., & Mir, L. M (2018) Updated standard operating procedures for electrochemotherapy of cutaneous tumours and skin metastases. *Acta Oncol* 57(7):874-882.

Jarm T, Cemazar M, Miklavcic D, Sersa G (2010) Antivascular effects of electrochemotherapy: implications in treatment of bleeding metastases. *Expert Rev Anticancer Ther* 10(5):729-746. doi:10.1586/era.10.43

Klein N, Gunther E, Zapf S, El-Idrissi R, Atta J, Stehling M (2017) Prostate cancer infiltrating the bladder sphincter successfully treated with Electrochemotherapy: a case report. *Clin Case Rep* 5(12):2127-2132

Łapińska Z, Szwedowicz U, Choromańska A, Saczko J (2022) Electroporation and Electrochemotherapy in Gynecological and Breast Cancer Treatment. *Molecules* 27(8):2476

Mir LM, Gehl J, Sersa G, Collins CG, Garbay J-R, Billard V (2006) Standard operating procedures of the electrochemotherapy: Instructions for the use of bleomycin or cisplatin administered either systemically or locally and electric pulses delivered by the Cliniporator™ by means of invasive or non-invasive electrodes. *EJC Suppl* 4(11):14-25.

Probst U, Fuhrmann I, Beyer L, Wiggermann P (2018) Electrochemotherapy as a New Modality in Interventional Oncology: A Review. *Technol Cancer Res Treat* 17:1533033818785329

Ueki T, Uemura H, Nagashima Y, Ohta S, Ishiguro H, Kubota Y (2008) Antitumour effect of electrochemotherapy with bleomycin on human prostate cancer xenograft. *BJU Int*. 102(10):1467-1471

Wichtowski M, Murawa D, Kulcenty K, Zaleska K (2017) Electrochemotherapy in Breast Cancer - Discussion of the Method and Literature Review. *Breast Care (Basel)*. 12(6):409-414.