(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 739 384**

(51) Int. CI.:

A61N 1/40 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.08.2008 PCT/IB2008/002134**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **19.02.2009 WO09022225**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.08.2008 E 08789083 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.05.2019 EP 2183024**

(54) Título: **Tratamiento de parásitos con campos eléctricos**

(30) Prioridad:

14.08.2007 US 955719 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.01.2020

(73) Titular/es:

NOVOCURE LTD. (100.0%)
Matam Center, P.O. Box 15022
319805 Haifa, IL

(72) Inventor/es:

PALTI, YORAM y
GILADI, MOSHE

(74) Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCION

Tratamiento de parásitos con campos eléctricos

CAMPO TÉCNICO

Esta invención se refiere a la destrucción selectiva de células que se dividen rápidamente en un área localizada y, más particularmente, a la destrucción selectiva de células objetivo sin destruir las células cercanas no objetivo diana aplicando un campo eléctrico con características específicas in vitro o a una región en un paciente vivo.

ANTECEDENTES

Los parásitos eucariotas son los agentes causantes de muchas enfermedades como la malaria, la enfermedad del sueño africana, la giardiasis, la leishmaniasis, etc., y son responsables de la muerte de millones de personas en todo el mundo. Los parásitos también infectan a millones de animales de granja. Desafortunadamente, la resistencia a los medicamentos y los bajos índices terapéuticos limitan la efectividad de los tratamientos existentes.

Todos los organismos vivos proliferan por división celular, incluyendo cultivos celulares, microorganismos (como bacterias, micoplasmas, levaduras, protozoos y otros organismos unicelulares), hongos, algas, células vegetales, etc. Las células en división de los organismos pueden destruirse, o controlarse su proliferación, mediante métodos basados en la sensibilidad de las células en división de estos organismos a ciertos agentes. Por ejemplo, ciertos antibióticos detienen el proceso de multiplicación de las bacterias.

El proceso de división celular eucariota se denomina "mitosis", que implica fases bien definidas (ver Darnell et al., Molecular Cell Biology, New York: Scientific American Books, 1986, p. 149).). Durante la interfase, la célula replica el ADN cromosómico, que comienza a condensarse en la profase temprana. En este punto, los centriolos (cada célula contiene 2) comienzan a moverse hacia los polos opuestos de la célula. En la profase media, cada cromosoma está compuesto de cromátidas duplicadas. Los husos microtubulares irradian de regiones adyacentes a los centriolos, que están más cerca de sus polos. En la profase tardía, los centriolos han alcanzado los polos, y algunas fibras del huso se extienden hasta el centro de la célula, mientras que otras se extienden desde los polos hasta las cromátidas. Las células se mueven luego hacia la metafase, cuando los cromosomas se mueven hacia el ecuador de la célula y se alinean en el plano ecuatorial. Lo siguiente es la anafase temprana, durante la cual las cromátidas hijas se separan entre sí en el ecuador moviéndose a lo largo de las fibras del huso hacia un centrómero en los polos opuestos. La célula comienza a alargarse a lo largo del eje del polo; los husos polo a polo también se alargan. La anafase tardía tiene lugar cuando los cromosomas hijos (como se les llama ahora) alcanzan sus polos opuestos respectivos. En este punto, comienza la citocinesis a medida que el surco de escisión comienza a formarse en el ecuador de la célula. En otras palabras, la anafase tardía es el punto en el que comienza la compresión de la membrana celular. Durante la telofase, la citocinesis está casi completa y desaparecen los husos. Sólo una conexión de membrana relativamente estrecha une a los dos citoplasmas. Finalmente, las membranas se separan completamente, la citocinesis se completa y la célula vuelve a la interfase.

En la meiosis, la célula experimenta una segunda división, que implica la separación de los cromosomas hermanos en polos opuestos de la célula a lo largo de las fibras del huso, seguida de la formación de un surco de escisión y de división celular. Sin embargo, esta división no está precedida por la replicación de cromosomas, proporcionando una célula germinal haploide. Las bacterias también se dividen por la replicación cromosómica, seguida de separación celular. Sin embargo, como los cromosomas hijos se separan por unión a los componentes de la membrana; no hay ningún aparato visible que contribuya a la división celular como en las células eucariotas.

Es bien sabido que los tumores, particularmente los tumores malignos o cancerosos, crecen incontrolablemente en comparación con el tejido normal. Este crecimiento acelerado permite que los tumores ocupen un espacio cada vez mayor y dañen o destruyan el tejido adyacente al mismo. Además, ciertos cánceres se caracterizan por la capacidad de transmitir "semillas" cancerosas, incluyendo células individuales o grupos de células pequeñas (metástasis), a nuevas localizaciones donde las células cancerosas metastásicas crecen en tumores adicionales.

El rápido crecimiento de los tumores, en general, y los tumores malignos en particular, como se ha descrito anteriormente, es el resultado de la división o multiplicación celular relativamente frecuente de estas células en comparación con las células de tejidos normales. La división celular distintivamente frecuente de las células cancerosas es la base de la efectividad de los tratamientos contra el cáncer existentes, por ejemplo, la terapia de irradiación y el uso de varios agentes quimioterapéuticos. Tales tratamientos se basan en el hecho de que las células que experimentan división son más sensibles a la radiación y los agentes quimioterapéuticos que las células que no se dividen. Como las células tumorales se dividen con mucha más frecuencia que las células normales, es posible, en cierta medida, dañar o destruir selectivamente las células tumorales mediante radioterapia y/o

quimioterapia. La sensibilidad real de las células a la radiación, agentes terapéuticos, etc., también depende de las características específicas de los tipos diferentes de tipos de células normales o malignas. Por tanto, desafortunadamente, la sensibilidad de las células tumorales no es lo suficientemente alta como la de muchos tipos de tejidos normales. Esto disminuye la capacidad de distinguir entre células tumorales y células normales y, por lo tanto, los tratamientos contra el cáncer existentes típicamente provocan un daño significativo a los tejidos normales, limitando así la efectividad terapéutica de tales tratamientos. Además, el daño inevitable a otros tejidos hace que los tratamientos sean muy traumáticos para los pacientes y, a menudo, los pacientes no pueden recuperarse de un tratamiento aparentemente exitoso. Además, ciertos tipos de tumores no son sensibles en absoluto a los métodos de tratamiento existentes.

También hay otros métodos para destruir células que no se basan únicamente en la radioterapia o la quimioterapia. Por ejemplo, pueden usarse métodos ultrasónicos y eléctricos para destruir células tumorales además o en lugar de tratamientos convencionales. Los campos eléctricos y las corrientes se han usado con fines médicos durante muchos años. El más común es la generación de corrientes eléctricas en un cuerpo humano o animal mediante la aplicación de un campo eléctrico por medio de un par de electrodos conductores entre los cuales se mantiene una diferencia de potencial. Estas corrientes eléctricas se usan para ejercer sus efectos específicos, es decir, para estimular tejidos excitables, o para generar calor fluyendo en el cuerpo, ya que actúa como una resistencia. Los ejemplos del primer tipo de aplicación incluyen los siguientes: desfibriladores cardíacos, estimuladores de nervios y músculos periféricos, estimuladores cerebrales, etc. Las corrientes se usan para calentar, por ejemplo, en dispositivos para ablación tumoral, ablación de tejido cardiaco o cerebral con mal funcionamiento, cauterización, relajación del dolor reumático del músculo y otros dolores, etc.

Otro uso de los campos eléctricos con propósitos médicos implica la utilización de campos oscilantes de alta frecuencia transmitidos desde una fuente que emite una onda eléctrica, como una fuente de ondas de RF o de microondas que está dirigida a la parte del cuerpo que es de interés (es decir, objetivo). En estos casos, no hay conducción de energía eléctrica entre la fuente y el cuerpo; sino que la energía se transmite al cuerpo por radiación o inducción. Más específicamente, la energía eléctrica generada por la fuente llega a las proximidades del cuerpo a través de un conductor y se transmite desde este a través del aire o algún otro material aislante eléctrico al cuerpo humano.

En un método eléctrico convencional, la corriente eléctrica se suministra a una región del tejido objetivo usando electrodos que se colocan en contacto con el cuerpo del paciente. La corriente eléctrica aplicada destruye sustancialmente todas las células en las cercanías del tejido objetivo. Por tanto, este tipo de método eléctrico no discrimina entre diferentes tipos de células dentro del tejido objetivo y da como resultado la destrucción tanto de células tumorales como de células normales.

Los campos eléctricos que pueden usarse en aplicaciones médicas se pueden separar por tanto generalmente en dos modos diferentes. En el primer modo, los campos eléctricos se aplican al cuerpo o tejidos por medio de electrodos conductores. Estos campos eléctricos pueden separarse en dos tipos, concretamente (1) campos constantes o campos que cambian a velocidades relativamente lentas, y campos alternos de bajas frecuencias que inducen corrientes eléctricas correspondientes en el cuerpo o los tejidos, y (2) campos alternos de alta frecuencia (por encima de 1 MHz) aplicado al cuerpo por medio de los electrodos conductores. En el segundo modo, los campos eléctricos son campos alternos de alta frecuencia aplicados al cuerpo por medio de electrodos aislados.

El primer tipo de campo eléctrico se usa, por ejemplo, para estimular los nervios y los músculos, el ritmo del corazón, etc. De hecho, tales campos se usan en la naturaleza para propagar señales en las fibras nerviosas y musculares, el sistema nervioso central (SNC), el corazón., etc. El registro de tales campos naturales es la base para el ECG, EEG, EMG, ERG, etc. La intensidad de campo en estas aplicaciones, asumiendo un medio de propiedades eléctricas homogéneas, es simplemente el voltaje aplicado a los electrodos de estimulación/registro dividido por la distancia entre ellos. Estas corrientes pueden calcularse por la ley de Ohm y pueden tener efectos estimulantes peligrosos en el corazón y el SNC y pueden dar como resultados cambios de concentración de iones potencialmente dañinos. Además, si las corrientes son lo suficientemente fuertes, pueden provocar un calentamiento excesivo en los tejidos. Este calentamiento puede calcularse por la potencia disipada en el tejido (el producto del voltaje y la corriente).

Cuando tales campos y corrientes eléctricas son alternos, su potencia estimulante, sobre los nervios, músculos, etc., es una función inversa de la frecuencia. En frecuencias por encima de a 1-10 KHz, la potencia de estimulación de los campos se aproxima a cero. Esta limitación se debe al hecho de que la excitación inducida por la estimulación eléctrica está normalmente mediada por cambios de potencial de membrana, cuya velocidad está limitada por las propiedades de RC (constantes de tiempo del orden de 1 ms) de la membrana.

Independientemente de la frecuencia, cuando se aplican dichos campos de inducción de corriente, se asocian con efectos secundarios dañinos provocados por las corrientes. Por ejemplo, un efecto negativo son los cambios en la concentración iónica en los diversos "compartimentos" dentro del sistema, y los productos dañinos de

la electrólisis que tienen lugar en los electrodos, o el medio en el que están incrustados los tejidos. Los cambios en las concentraciones de iones tienen lugar cuando el sistema incluye dos o más compartimentos entre los cuales el organismo mantiene diferencias de concentración de iones. Por ejemplo, para la mayoría de los tejidos, [Ca^{++}] en el fluido extracelular es de aproximadamente $2X10^{-3}$ M, mientras que en el citoplasma de las células típicas su concentración puede ser tan baja como 10^{-7} M. Una corriente inducida en dicho sistema por un par de electrodos, fluye en parte desde el fluido extracelular hacia las células y de nuevo hacia el medio extracelular. Aproximadamente el 2% de la corriente que fluye hacia las células es transportada por los iones de Ca^{++}. Por el contrario, como la concentración de Ca^{++} intracelular es mucho menor, solo una fracción despreciable de las corrientes que salen de las células es transportada por estos iones. Por tanto, los iones de Ca^{++} se acumulan en las células de tal manera que sus concentraciones en las células aumentan, mientras que la concentración en el compartimento extracelular puede disminuir. Estos efectos se observan para corrientes tanto CC como alternas (AC). La tasa de acumulación de los iones depende de las movilidades de los iones de la intensidad de corriente, la conductancia de los iones de la membrana, etc. Un aumento en [Ca^{++}] es perjudicial para la mayoría de las células y si es lo suficientemente alto llevará a la destrucción de las células. Consideraciones similares se aplican a otros iones. En vista de las observaciones anteriores, la aplicación de corriente a largo plazo a organismos vivos o tejidos puede dar como resultado un daño significativo. Otro problema principal que está asociado con tales campos eléctricos se debe al proceso de electrólisis que tiene lugar en las superficies de los electrodos. Aquí, las cargas se transfieren entre el metal (electrones) y la solución electrolítica (iones) de tal manera que se forman radicales activos cargados. Estos pueden provocar un daño significativo a las moléculas orgánicas, especialmente a las macromoléculas y, por tanto, dañar las células y tejidos vivos.

Por el contrario, cuando se inducen campos eléctricos de alta frecuencia, por encima de 1 MHz y habitualmente en la práctica en el rango de GHz, en los tejidos por medio de electrodos aislados, la situación es bastante diferente. Este tipo de campos generan solo corrientes capacitivas o de desplazamiento, en lugar de las corrientes de conducción de carga convencionales. Bajo el efecto de este tipo de campo, los tejidos vivos se comportan mayoritariamente de acuerdo con sus propiedades dieléctricas en lugar de sus propiedades conductoras eléctricas. Por lo tanto, el efecto de campo dominante es el que se debe a las pérdidas dieléctricas y al calentamiento. Por tanto, está ampliamente aceptado que en la práctica, los efectos significativos de tales campos en los organismos vivos, son solo aquellos debidos a sus efectos de calentamiento, es decir, debido a las pérdidas dieléctricas.

En la US-A-6.043.066 ('066) de Mangano, se presentan un método y un dispositivo que permiten que objetos discretos que tienen un núcleo interno conductor, rodeado por una membrana dieléctrica se inactiven selectivamente mediante campos eléctricos a través de la ruptura irreversible de su membrana dieléctrica. Una aplicación potencial para esto está en la selección y purga de ciertas células biológicas en una suspensión. De acuerdo con la patente '066, se aplica un campo eléctrico para apuntar a células seleccionadas para provocar la descomposición de las membranas dieléctricas de estas células tumorales, mientras que supuestamente no afecta adversamente a otras sub-poblaciones de células deseadas. Las células se seleccionan en base a diferencias intrínsecas o inducidas en un umbral de electroporación característico. Las diferencias en este umbral pueden depender de una serie de parámetros, incluyendo la diferencia en el tamaño de la célula.

El método de la patente '066 se basa, por lo tanto, en la suposición de que el umbral de electroporación de las células tumorales es suficientemente distinguible del de las células normales debido a las diferencias en el tamaño de las células y las diferencias en las propiedades dieléctricas de las membranas celulares. En base a esta suposición, el mayor tamaño de muchos tipos de células tumorales hace que estas sean más susceptibles a la electroporación y, por tanto, puede ser posible dañar selectivamente solo las membranas de células tumorales más grandes aplicando un campo eléctrico apropiado. Una desventaja de este método es que la capacidad de discriminar depende en gran medida del tipo de célula, por ejemplo, la diferencia de tamaño entre células normales y células tumorales es significativa solo en ciertos tipos de células. Otro inconveniente de este método es que los voltajes que se aplican pueden dañar algunas de las células normales y pueden no dañar todas las células tumorales debido a que las diferencias en tamaño y las propiedades dieléctricas de la membrana son en gran medida estadísticas y las geometrías y las propiedades dieléctricas de las células reales pueden variar significativamente.

La US-A-2007/0184020 divulga una combinación de ondas de radio con sustancias farmacológicamente activas.

La US-A-2004/0068296 divulga un aparato y un método para destruir selectivamente células en división aplicando un campo eléctrico que tiene ciertas características prescritas usando un aparato que está configurado para ser complementario a una parte específica del cuerpo.

La WO-A-2006/085150 se refiere a la destrucción selectiva de células en división rápida en un área localizada, y más particularmente, la destrucción selectiva de células en división sin destruir células que no se dividen aplicando un campo eléctrico con características específicas a un área objetivo en un paciente vivo.

Lo que se necesita en la técnica y hasta ahora no ha estado disponible es un aparato para destruir células

en división, en donde el aparato discrimina mejor entre células en división, incluyendo organismos unicelulares, y células que no se dividen, y es capaz de destruir selectivamente las células en división u organismos con sustancialmente ningún efecto sobre las células u organismos que no se dividen.

SUMARIO

En un aspecto, la presente invención proporciona un método in vitro para destruir o inhibir selectivamente el crecimiento de parásitos localizados dentro de una región objetivo de acuerdo con la reivindicación 1.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un aparato para el tratamiento de parásitos para destruir o inhibir selectivamente el crecimiento de parásitos localizados dentro de una región objetivo de un paciente de acuerdo con la reivindicación 8.

Mientras se dividen, las células son vulnerables al daño de por campos eléctricos de CA que tienen características de frecuencia e intensidad de campo específicas. Por lo tanto, la destrucción selectiva de las células que se dividen rápidamente puede lograrse imponiendo un campo eléctrico de CA en una región objetivo durante largos períodos de tiempo. Algunas de las células que se dividen mientras se aplica el campo se dañarán, pero las células que no se dividan no se dañarán. Esto daña selectivamente las células que se dividen rápidamente como los parásitos, pero no daña las células normales que no se están dividiendo. Como la vulnerabilidad de las células en división está fuertemente relacionada con la alineación entre el eje largo de las células en división y las líneas de fuerza del campo eléctrico, se obtienen mejores resultados mediante imponiendo secuencialmente el campo en diferentes direcciones.

La presente invención proporciona el tratamiento de parásitos mediante la destrucción selectiva de parásitos sin sustancialmente efecto sobre células de tejido normales. La presente invención permite la destrucción selectiva de células que experimentan división de una manera que es más efectiva y más precisa (por ejemplo, más adaptable para ser dirigida a objetivos específicos) que los métodos existentes. Además, la presente invención provoca un daño mínimo, si lo hay, al tejido normal y reduce o elimina por tanto muchos efectos secundarios asociados con los métodos de destrucción selectiva existentes, como la radioterapia y la quimioterapia. La destrucción selectiva de las células en división usando la presente invención no depende de la sensibilidad de las células a los agentes químicos o la radiación. En su lugar, la destrucción selectiva de las células en división se basa en características geométricas distinguibles de células que experimentan división, en comparación con células que no se dividen, independientemente de la geometría celular o el tipo de células que se están tratando.

El presente inventor ha observado que, pese a que diferentes células en su estado de no división pueden tener diferentes formas, por ejemplo, esféricas, elipsoidales, cilíndricas, "similares a panqueques", etc., el proceso de división de prácticamente todas las células se caracteriza por el desarrollo de un "surco de escisión" en la anafase tardía y la telofase. Este surco de escisión es una constricción lenta de la membrana celular (entre los dos conjuntos de cromosomas hijos) que aparece microscópicamente como una hendidura en el crecimiento (por ejemplo, un surco o muesca) que separa gradualmente la célula en dos nuevas células. Durante el proceso de división, hay un período transitorio (telofase) durante el cual la estructura celular es básicamente la de dos sub-células interconectadas por un "puente" estrecho formado del material celular. El proceso de división se completa cuando el "puente" entre las dos sub-células se rompe. La destrucción selectiva de parásitos, usando la presente invención, utiliza esta característica geométrica única de las células en división.

Cuando una célula o un grupo de células se encuentran bajo condiciones o entorno naturales, es decir, parte de un tejido vivo, están dispuestas rodeadas por un entorno conductor que consiste mayoritariamente de un fluido intercelular electrolítico y otras células que están compuestas mayoritariamente de un líquido intracelular electrolítico. Cuando se induce un campo eléctrico en el tejido vivo, aplicando un potencial eléctrico a través del tejido, se forma un campo eléctrico en el tejido y la distribución y configuración específicas de las líneas del campo eléctrico definen la dirección del desplazamiento de la carga, o trayectorias de corrientes eléctricas en el tejido, si las corrientes están de hecho inducidas en el tejido. La distribución y configuración del campo eléctrico depende de varios parámetros del tejido, incluyendo la geometría y las propiedades eléctricas de los diferentes componentes del tejido, y las conductividades, capacidades y constantes dieléctricas relativas (que pueden depender de la frecuencia) de los componentes del tejido.

El patrón de flujo de corriente eléctrica para las células que experimentan división es muy diferente y único en comparación con las células que no se dividen. Tales células incluyen la primera y la segunda sub-células, concretamente, una célula "original" y una célula recién formada, que están conectadas por un "puente" o "cuello" de citoplasma. Las corrientes penetran en la primera sub-célula a través de parte de la membrana ("el polo de la fuente de corriente"); sin embargo, no salen de la primera sub-célula a través de una parte de su membrana más cercana al polo opuesto ("el polo sumidero de corriente"). En cambio, las líneas de flujo de corriente convergen en el cuello o el puente del citoplasma, por lo que la densidad de las líneas de flujo de corriente aumenta considerablemente. Un proceso correspondiente, "imagen espejo", que tiene lugar en la segunda sub-célula, por el que las líneas de flujo de corriente divergen a una configuración de densidad más baja a medida que parten del puente, y finalmente sales de

la segunda sub-célula desde una parte de su membrana más cercana al sumidero de corriente.

Cuando un objeto polarizable se coloca en un campo convergente o divergente no uniforme, las fuerzas eléctricas actúan sobre él y lo arrastran hacia las líneas de campo eléctrico de mayor densidad. En el caso de una célula en división, las fuerzas eléctricas se ejercen en la dirección del puente de citoplasma entre las dos células. Como todos los orgánulos intercelulares y macromoléculas son polarizables, todos se fuerzan hacia el puente entre las dos células. La polaridad del campo es irrelevante para la dirección de la fuerza y, por lo tanto, puede usarse una energía eléctrica alterna que tiene propiedades específicas para producir sustancialmente el mismo efecto. También se apreciará que el campo eléctrico concentrado y no homogéneo presente en o cerca de la parte de puente o cuello ejerce en sí mismo fuertes fuerzas sobre cargas y dipolos naturales y puede llevar a la interrupción de estructuras asociadas con estos miembros.

El movimiento de los orgánulos celulares hacia el puente interrumpe la estructura celular y da como resultado un aumento de la presión en las proximidades de la membrana del puente de conexión. Se espera que esta presión de los orgánulos sobre la membrana del puente rompa la membrana del puente y se espera por tanto que la célula en división "explote" en respuesta a esta presión.

En una realización ejemplar, los campos eléctricos se aplican mediante electrodos aislados externos que se incorporan a una prenda de vestir y que se construyen de tal manera que los campos eléctricos aplicados sean de un tipo local que se dirigen a un área de tejido específica localizada.

De acuerdo con otra realización, los electrodos aislados tienen la forma de una sonda o catéter, etc., que se introducen en el cuerpo a través de vías naturales, como la uretra o la vagina, o están configurados para penetrar en el tejido vivo, hasta que los electrodos aislados se colocan cerca del área objetivo interna.

Por tanto, la presente invención utiliza campos eléctricos que caen en una categoría intermedia especial en relación con las aplicaciones de alta y baja frecuencia anteriores, ya que los presentes campos eléctricos son campos bio-efectivos que no tienen efectos estimulantes significativos ni efectos térmicos. Ventajosamente, cuando las células que no se dividen se someten a estos campos eléctricos, no hay efecto sobre las células; sin embargo, la situación es muy diferente cuando las células en división se someten a los presentes campos eléctricos. Por tanto, los campos eléctricos generados están dirigidos a las células en división y no se dirigen a las células que no se dividen que se encuentran en el tejido sano que rodea el área objetivo. Además, como el presente aparato utiliza electrodos aislados, los efectos negativos mencionados anteriormente obtenidos cuando se usan electrodos conductores, es decir, cambios en la concentración de iones en las células y la formación de agentes dañinos por electrólisis, no se producen con el presente aparato. Esto se debe a que, en general, no hay transferencia real de cargas entre los electrodos y el medio, y no hay flujo de carga en el medio donde las corrientes son capacitivas.

Los anteriores, y otros objetos, características y ventajas del presente aparato se harán evidentes a partir de la siguiente descripción leída junto con los dibujos acompañantes, en los que números de referencia similares designan los mismos elementos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Las FIGS. 1A-1E son ilustraciones simplificadas, esquemáticas, en sección transversal, de varias etapas de un proceso de división celular;
Las FIGS. 2A y 2B son ilustraciones esquemáticas de una célula que no se divide siendo sometida a un campo eléctrico;
La FIG. 3A representa la construcción de los electrodos usados en un experimento con parásitos;
La FIG. 3B representa una cámara de prueba usada en un experimento con parásitos;
La FIG. 3C representa una configuración que se usó para inducir campos en la cámara de prueba;
La FIG. 4 muestra el efecto del tratamiento de parásitos con campos eléctricos a diferentes frecuencias;
La FIG. 5 muestra el efecto del tratamiento de parásitos con campos eléctricos a diferentes intensidades archivadas;
Las FIGS. 6-C muestran una configuración de electrodos que facilita la aplicación de un campo eléctrico en diferentes direcciones; y
La FIG. 7 muestra una disposición tridimensional de electrodos sobre una parte del cuerpo que facilita la aplicación de un campo eléctrico en diferentes direcciones.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

Se hace referencia a las FIGS. 1A-1E que ilustran esquemáticamente varias etapas de un proceso de división celular. La FIG. 1A ilustra una célula 10 en su geometría normal, que puede ser generalmente esférica (como se ilustra en los dibujos), elipsoidal, cilíndrica, "tipo panqueque" o cualquier otra geometría celular, como se conoce en la técnica. Las FIGS. 1B-1D ilustran la célula 10 durante diferentes etapas de su proceso de división, lo que da como resultado la formación de dos nuevas células 18 y 20, que se muestran en la FIG. 1E.

Como se muestra en las FIGS. 1B-1D, el proceso de división de la célula 10 se caracteriza por una hendidura de crecimiento lento 12 que separa gradualmente la célula 10 en dos unidades, concretamente las sub-células 14 y 16, que eventualmente evolucionan hacia nuevas células 18 y 20 (FIG. IE). Como se muestra específicamente en la FIG. ID, el proceso de división se caracteriza por un período transitorio durante el que la estructura de la célula 10 es básicamente el de las dos sub-células 14 y 16 interconectadas por un "puente" estrecho que contiene material celular (citoplasma rodeado por membrana celular).

Se hace referencia ahora a las FIGS. 2A y 2B, que ilustran esquemáticamente la célula que no se divide 10 siendo sometida a un campo eléctrico producido mediante la aplicación de un potencial eléctrico alterno, a una frecuencia relativamente baja y a una frecuencia relativamente alta, respectivamente. La célula 10 incluye orgánulos intracelulares, por ejemplo, un núcleo 30. El potencial eléctrico alterno se aplica a través de los electrodos 28 y 32 que pueden unirse externamente a un paciente en una región predeterminada, por ejemplo, en las proximidades del tumor que se está tratando. Cuando la célula 10 se encuentra en condiciones naturales, es decir, parte de un tejido vivo, está dispuesta en un entorno conductor (en lo sucesivo referido como "conductor de volumen") que consiste mayoritariamente de un líquido intercelular electrolítico. Cuando se aplica un potencial eléctrico a través de los electrodos 28 y 32, algunas de las líneas de campo del campo eléctrico resultante (o la corriente inducida en el tejido en respuesta al campo eléctrico) penetran en la célula 10, mientras que el resto de las líneas de campo (o corriente inducida) fluyen en el medio circundante. La distribución específica de las líneas de campo eléctrico, que es sustancialmente consistente con la dirección del flujo de corriente en este caso, depende de la geometría y las propiedades eléctricas de los componentes del sistema, por ejemplo, las conductividades relativas y las constantes dieléctricas de los componentes del sistema, que pueden depender de la frecuencia. Para frecuencias bajas, por ejemplo, frecuencias menores que 10 KHz, las propiedades de conductancia de los componentes dominan completamente el flujo de corriente y la distribución del campo, y la distribución de campo es generalmente como se representa en la FIG. 2A. A frecuencias más altas, por ejemplo, a frecuencias de entre 10 KHz y 1 MHz, las propiedades dieléctricas de los componentes se vuelven más significativas y, eventualmente, dominan la distribución de campo, lo que da como resultado líneas de distribución de campo como se representa de manera general en la FIG. 2B.

Para campos eléctricos constantes (es decir, CC) o campos eléctricos alternos de frecuencia relativamente baja, por ejemplo, frecuencias por debajo de 10 KHz, las propiedades dieléctricas de los varios componentes no son significativas para determinar y calcular la distribución del campo. Por lo tanto, como una primera aproximación, con respecto a la distribución del campo eléctrico, el sistema puede representarse razonablemente por las impedancias relativas de sus varios componentes. Usando esta aproximación, el fluido intercelular (es decir, extracelular) y el fluido intracelular tienen cada uno una impedancia relativamente baja, mientras que la membrana celular 11 tiene una impedancia relativamente alta. Por tanto, bajo condiciones de baja frecuencia, solo una fracción de las líneas del campo eléctrico (o corrientes inducidas por el campo eléctrico) penetran en la membrana 11 de la célula 10. A frecuencias relativamente altas (por ejemplo, 10 KHz-1 MHz), por el contrario, la impedancia de la membrana 11 con relación a los fluidos intercelulares e intracelulares disminuye, y por tanto, la fracción de corrientes que penetran en las células aumenta significativamente. Cabe señalar que a frecuencias muy altas, es decir, por encima de 1 MHz, la capacitancia de la membrana puede acortar la resistencia de la membrana y, por lo tanto, la resistencia total de la membrana puede llegar a ser insignificante.

En cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente, las líneas de campo eléctrico (o corrientes inducidas) penetran en la célula 10 desde una parte de la membrana 11 más cercana a uno de los electrodos que generan la corriente, por ejemplo, más cercana al electrodo positivo 28 (también referido en la presente como "fuente"). El patrón de flujo de corriente a través de la célula 10 es generalmente uniforme porque, bajo la aproximación anterior, el campo inducido dentro de la célula es sustancialmente homogéneo. Las corrientes salen de la célula 10 a través de una parte de la membrana 11 más cercana al electrodo opuesto, por ejemplo, el electrodo negativo 32 (también referido en la presente como "sumidero").

La distinción entre las líneas de campo y el flujo de corriente puede depender de una serie de factores, por ejemplo, de la frecuencia del potencial eléctrico aplicado y de si los electrodos 28 y 32 están aislados eléctricamente. Para electrodos aislados que aplican un voltaje de CC o alterno de baja frecuencia, prácticamente no hay flujo de corriente a lo largo de las líneas del campo eléctrico. A frecuencias más altas, las corrientes de desplazamiento se inducen en el tejido debido a la carga y descarga del aislamiento del electrodo y las membranas celulares (que actúan en cierta medida como condensadores), y tales corrientes siguen las líneas del campo eléctrico. Los campos generados por electrodos no aislados, por el contrario, siempre generan alguna forma de flujo de corriente, específicamente, los campos de CC o alternos de baja frecuencia generan un flujo de corriente conductora a lo largo de las líneas de campo. Debe apreciarse, sin embargo, que el movimiento de orgánulos intracelulares polarizables de acuerdo con la presente invención (como se describe a continuación) no depende del flujo real de corriente y, por lo tanto, pueden usarse eficientemente tanto los electrodos aislados como los no aislados. Las ventajas de los electrodos aislados incluyen un menor consumo de energía, menos calentamiento de las regiones tratadas y una mejor seguridad para el paciente.

La FIG. 2 muestra esquemáticamente la distribución del campo resultante en el sistema. Como se ilustra, las líneas de fuerza, que también representan las líneas de flujo de corriente potencial a través del volumen celular en su mayoría en paralelo con las líneas de fuerza no distorsionadas (la dirección principal del campo eléctrico). En otras palabras, el campo dentro de las células es en su mayoría homogéneo. En la práctica, la fracción del campo o la corriente que penetra en las células está determinada por el valor de impedancia de la membrana celular en relación con la del fluido extracelular. Como el circuito eléctrico equivalente de la membrana celular es el de una resistencia y un condensador en paralelo, la impedancia es una función de la frecuencia. Cuanto mayor sea la frecuencia, menor será la impedancia, mayor será la fracción de la corriente de penetración y menor será la distorsión del campo (Rotshenker S. & Y. Palti, Changes in fraction of current penetrating an axon as a function of duration of stimulating pulse, J. Theor. Biol. 41; 401-407 (1973).

EJEMPLO

También se realizaron experimentos con *Crithidia fusciculata,* que es un parásito intestinal de insectos no patógeno usado comúnmente como organismo modelo para otras tripanosomátidas patógenas como la *Leishmania.* Las células de *C. fusciculata* tienen un tiempo de generación relativamente corto (2 horas) y son fáciles de cultivar en un medio definido.

La FIG. 3A representa la construcción de los electrodos 1610 usados en el experimento. Cada electrodo tiene 15 mm de largo y 5 mm de alto. Incluye un conductor eléctrico 1611 con su cara exterior recubierta con una capa de aislamiento de cerámica de niobato de plomo magnesio-titanato de plomo (PMN-PT) 1612, que tiene una constante dieléctrica alta (ε> 5000) de tal manera que su capacitancia era de aproximadamente 10 nF cada uno. La parte posterior del conductor 1611 se aisló usando una capa de 5 mm 1614 de epoxi de grado médico 353ND (Epoxy Technology, Billerica, MA, USA) y se conecta un cable 1613 al conductor 1611. Por supuesto, puede ser apropiado variar las dimensiones de los electrodos en función de la aplicación prevista.

La FIG. 3B representa una cámara de prueba que incluye cuatro electrodos 1610, dispuestos por parejas y colocados en una placa de Petri de 50 mm.1626. Los electrodos se mantuvieron en su lugar mediante un soporte de policarbonato 1624. Los campos eléctricos se generaron en la cámara de pruebas aplicando un voltaje de CA a través de una pareja de electrodos opuestos, luego aplicando un voltaje de CA a través de la otra pareja de electrodos opuestos, en una secuencia alterna para producir campos eléctricos en el medio que están orientados a 90º unos con respecto a los otros. Los electrodos se colocaron a 23 mm de distancia. Los electrodos se aislaron completamente del medio en la placa de Petri mediante el aislamiento cerámico 1614 sobre la cara del electrodo 1610, de modo que el campo se acopla capacitivamente a través de la capa 1614 a la región objetivo.

La FIG. 3C representa una configuración que se usó para inducir campos en la cámara de prueba 1620. La salida de un generador de onda sinusoidal 1632 (Modelo 662, OR-X, Israel) se envía a un amplificador de RF 1634 (75A250, AR worldwide, Souderton, PA, USA), y la salida del amplificador de RF 1634 se dirige a un relé de conmutación de dirección de campo 1636 que impone la onda sinusoidal amplificada entre los electrodos superior e inferior o entre los electrodos derecho e izquierdo. El relé de conmutación está configurado para alternar entre esos dos estados periódicamente, conmutando d este modo la dirección del campo en el intervalo deseado.

La temperatura se midió continuamente usando un termopar tipo T aislado (Omega, Stamford, CT) con su punta colocada en el centro de la cámara 1620. Los termopares se conectaron a un registrador de datos de termopares TC-08 (Pico Technologies, Reino Unido) cuya salida estaba conectada al ordenador 1630.

Como los campos eléctricos están asociados con la producción de calor, la temperatura de la cámara se mantuvo en el valor deseado mediante el control de retroalimentación del ordenador de la amplitud de la forma de onda en la entrada del amplificador de potencia. Las intensidades de campo eléctrico en el medio de cultivo se midieron usando una sonda coaxial protegida que tiene dos puntas expuestas fijas a una distancia de 1 cm. La sonda se conectó, a través de un cable coaxial, a un medidor de alcance flotante 190B (Fluke, Países Bajos). Las intensidades de campo se midieron al final de cada tratamiento sumergiendo la sonda en el medio de cultivo, de tal manera que los dos puntos de medición estuvieran en paralelo con las líneas del campo eléctrico. Las intensidades de campo se expresan como voltaje pico a pico por centímetro de distancia (V/cm).

Para los experimentos descritos a continuación, se cultivaron parásitos de *C. fusciculata* en medios BHI que contenían 0,0025% (p/v) de Hemin (Sigma) y 0,8% (v/v) de Penicilina\Estreptomicina (03-031-1, Biological industries, Beit Haemek, Israel). Los cultivos de caldo de parásitos frescos se cultivaron en 3 ml de medio líquido a 28º C durante 15 horas en un agitador orbital (200 RPM) y se diluyeron en caldo BHI fresco a una absorbancia predeterminada a 595 nm (Biowave Cell Density Meter, WPA, Reino Unido) que produjo la CFU deseada por ml.

Se realizó un experimento de dependencia de frecuencia aplicando campos eléctricos a diferentes frecuencias a parásitos en placas de agar blando. Los cultivos de parásitos durante la noche se diluyeron en caldo BHI fresco a una OD que corresponde a los recuentos celulares de $1X10^8$ unidades formadoras de colonias (UFC)/ml. Los cultivos se diluyeron adicionalmente hasta una concentración final de $1X10^7$ CFU en BHI que contenía

0,34% de agar (Difco) que se fundió y se mantuvo en un baño caliente a 42º C antes de la adición de los parásitos. Se añadió indicador de crecimiento Azul de Alamar (AbD Serotec, Oxford, Reino Unido) a una concentración final del 10%. Se agitó el cultivo y se vertieron inmediatamente 7 ml en placas de Petri que contenían la cámara del campo (ver FIG. 3B). Después de que se solidificase el agar, se colocó 1 ml de BHI no inoculado que contenía un 10% de azul de Alamar sobre el agar. Las placas se colocaron dentro de un incubador pre-enfriado ajustado a 10º C (FOC 225I, Velp Scientifica). En cada frecuencia probada, los campos se aplicaron durante 6 horas y la dirección del campo se cambió cada 300 ms usando la configuración descrita anteriormente en relación con las FIGS. 3A-C. La intensidad de campo se varió durante el transcurso de la prueba entre 2 y 10 V/cm para mantener la temperatura deseada.

En el grupo de control, las placas se colocaron en una cámara similar sin aplicar ningún campo, y las cámaras se colocaron en una incubadora precalentada de temperatura controlada configurada para mantener la temperatura igual que la del grupo tratado. La temperatura de la cámara alcanzó 28,0 ± 0,2º C en el plazo de los primeros 15 minutos del experimento tanto en el grupo tratado como en el grupo de control. Al final del tratamiento, las placas se colocaron dentro de un lector de microplacas (Infinite 200, Tecan, Austria) y se determinó la OD del agar entre los electrodos a 550 y 595 nm. La cantidad de células crecidas se calculó usando la fórmula siguiente: (OD_{595nm} de pozos tratados -OOD_{550nm} de pozos tratados)-(OD_{595nm} de pozos antes del tratamiento-OD_{550nm} de pozos antes del tratamiento). El porcentaje de crecimiento para cada pocillo se calculó dividiendo los resultados de azul de Alamar de los pocillos de experimentos por el del control. Los resultados del ensayo de azul de Alamar se correlacionaron con el número de parásitos como se determina mediante recuentos directos usando un microscopio.

La dependencia de la frecuencia del efecto de los campos sobre el crecimiento de *C. fusciculata* se probó entre 100 kHz y 20 MHz. Las frecuencias de campo más altas no se probaron debido a las limitaciones del equipo. Los resultados, basados en el ensayo de azul de Alamar, se muestran en la FIG. 4 y se expresan en %. Estos resultados muestran que la máxima efectividad tuvo lugar a 10 MHz.

Se realizó un experimento de dependencia de la intensidad aplicando campos eléctricos a diferentes frecuencias a parásitos en caldo líquido. Los cultivos de parásitos durante la noche se diluyeron en caldo BHI fresco a una DO que corresponde a los recuentos celulares de $1X10^7$ unidades formadoras de colonias (UFC)/ml. El indicador de crecimiento: Azul de Alamar (AbD Serotec, Oxford, Reino Unido) se añadió a una concentración final del 10%. Se llenaron placas de petri que contienen la cámara de campo (ver FIG. 3B) con 7,5 ml de los cultivos diluidos y se colocaron dentro de una incubadora pre-enfriada a 10º C (FOC 2251, Velp Scientifica). Se dispensaron dos alícuotas de 250 µl de las placas de experimento y de las placas de controlen una placa de 96 micropocillos (Nunclon™ Δ, Nunc, Dinamarca) y la DO se determinó espectrofotométricamente con un lector de microplacas (Infinite 200, Tecan, Austria) a 550, 595 nm. A cada intensidad probada, los campos se aplicaron durante 17 horas y la dirección del campo se cambió cada 300 ms usando la configuración descrita anteriormente en relación a las FIGS. 3A-C. Como las intensidades de campo más altas añaden más energía térmica a las muestras, la temperatura ambiente se varió para mantener la temperatura de la muestra al nivel deseado.

En el grupo de control, las placas se colocaron en una cámara similar sin aplicar ningún campo, y las cámaras se colocaron en una incubadora precalentada de temperatura controlada configurada para mantener la temperatura igual que la del grupo tratado. La temperatura de la cámara de campo alcanzó 28,0 ± 0,2º C en el plazo de los primeros 5 minutos del experimento tanto en el grupo tratado como en el grupo de control. Al final del tratamiento, el fondo de la placa se raspó con un raspador de células y los cultivos se agitaron arriba a abajo varias veces mediante pipeteo. Se dispensaron cuatro alícuotas de 250 µl en una placa de 96 micropocillos (Nunc) y se determinó la OD espectrofotométricamente con un lector de microplacas a 750 nm. Las densidades ópticas (OD) de los espacios en blanco, que consistían en BHI no inoculado, se restaron de las OD de las placas inoculadas. El porcentaje de crecimiento para cada pocillo se calculo dividiendo la OD de los pocillos por la del control ($OD_{750\ nm}$ de pocillos tratados/OD_{750nm} del pocillo de control)X100. Para el ensayo de azul de Alamar, el porcentaje de crecimiento se calculó como se ha descrito anteriormente.

Los resultados, basados en el ensayo de azul de Alamar, se representan en la FIG. 5, expresados en %. Estos resultados muestran que la inhibición del crecimiento depende de la intensidad de campo, alcanzando una meseta en justo sobre un 50% de inhibición para campos de 10 MHz con intensidades de alrededor de 2 V/cm. Se logró una inhibición similar cuando se aplicaron campos de 0,1 MHz, pero las intensidades de los campos requeridas eran mucho más altas (9-10 V/cm). Tener en cuenta que la desviación de la unidad en los puntos de datos más a la izquierda en la FIG. 5 se atribuye al hecho de que se aplicó un campo muy pequeño (0.01 V) en lugar de un campo cero.

Para aplicaciones in vivo, no de acuerdo con la presente invención, los campos pueden aplicarse solos o en combinación con un agente terapéutico antiparasitario. La aplicación práctica de campos para la inhibición de parásitos ya sea en humanos, animales o ex vivo puede llevarse a cabo de varias maneras, incluyendo, pro no limitadas a: (a) aplicar los campos a una localización tópica definida colocando electrodos en las proximidades del área deseada (por ejemplo, alrededor de la herida provocada la leishmaniasis); (b) aplicar los campos a un órgano colocando los electrodos tópicamente alrededor del órgano (por ejemplo, el tratamiento de parásitos intestinales

colocando electrodos en la piel del abdomen y la espalda) (c) aplicar los campos mediante la implantación de los electrodos en el interior del cuerpo; (d) aplicar los campos en parásitos sanguíneos fuera del cuerpo durante la diálisis; (e) aplicar los campos en los hábitats de crecimiento/replicación de los parásitos; y (f) aplicar los campos a un depósito de agua que contiene el organismo objetivo. Otros usos potenciales incluyen aplicar los campos a alimentos o agua para prevenir el desarrollo de parásitos, por ejemplo, colocando electrodos dentro de un depósito o recipiente de agua, y aplicando los campos al agua.

Dependiendo de la localización de la región objetivo dentro del cuerpo, los electrodos pueden colocarse o en el cuerpo del paciente o implantarse en el cuerpo del paciente. Tener en cuenta que las frecuencias de rango de Megahercios que se descubrieron que eran eficaces contra los parásitos prácticamente no tienen impacto en las células eucariotas, por lo que la especificidad es excelente, y los efectos secundarios adversos no son una preocupación importante. Opcionalmente, pueden aplicarse diferentes frecuencias a la región objetivo, ya sea simultánea o secuencialmente, para apuntar a uno o más tipos de parásitos que pueden estar presentes, como se ha tratado anteriormente en relación con las otras realizaciones. Los campos también pueden aplicarse en dos o más direcciones diferentes, como se describe a continuación en relación a las FIGS. 6A-C y 7. Los métodos descritos en la presente también pueden usarse in vitro, de acuerdo con los métodos de la presente invención, por ejemplo, para combatir parásitos en alimentos, en medios, cultivos celulares, etc.

El inventor ha reconocido que la aplicación del campo en diferentes direcciones aumentará secuencialmente el poder de destrucción global, ya que la orientación del campo que es más eficaz para matar células en división se aplicará a una mayor población de células en división. A continuación se describen una serie de ejemplos para aplicar el campo en diferentes direcciones.

Las FIGS. 6A, 6B y 6C muestran un conjunto de 6 electrodos E1-E6, y cómo se puede cambiar la dirección del campo a través del tejido objetivo 1510 aplicando la señal de CA desde el generador 1 (mostrado en la FIG. 1) a través de diferentes parejas de electrodos. Por ejemplo, si la señal de CA se aplica a través de los electrodos E1 y E4, las líneas de campo F serían verticales (como se muestra en la FIG. 6A), y si la señal se aplica a través de los electrodos E2 y E5, o a través de los electrodos E3 y E6, las líneas de campo F serían diagonales (como se muestra en las FIGS. 6B y 6C, respectivamente). Se pueden obtener direcciones de campo adicionales aplicando la señal de CA a través de otras parejas de electrodos. Por ejemplo, se podría obtener un campo aproximadamente horizontal aplicando la señal a través de los electrodos E2 y E6.

En una realización, la señal de CA se aplica entre las varias parejas de electrodos secuencialmente. Un ejemplo de esta disposición es aplicar la señal de CA a través de los electrodos E1 y E4 durante un segundo, luego aplicar la señal de CA a través de los electrodos E2 y E5 durante un segundo, y luego aplicar la señal de CA a través de los electrodos E3 y E6 durante un segundo. Esta secuencia de tres partes se repite durante el período de tratamiento deseado. Como la eficacia en la destrucción de la célula depende en gran medida de la orientación de la célula, alternar el campo entre las diferentes direcciones aumenta la posibilidad de que el campo se oriente en una dirección que favorezca la destrucción de la célula por lo menos parte del tiempo.

Por supuesto, la configuración de 6 electrodos mostrada en las FIGS. 6A-C es solo uno de las muchas posibles disposiciones de electrodos múltiples, y muchas otras configuraciones de tres o más electrodos podrían usarse en base a los mismos principios.

La aplicación del campo en diferentes direcciones secuencialmente no está limitada a realizaciones bidimensionales, y la FIG. 7muestra cómo la aplicación secuencial de señales en diferentes conjuntos de electrodos puede extenderse a tres dimensiones. Una primera matriz de electrodos A1-A9 está dispuesta alrededor de la parte del cuerpo 1500, y una última matriz de electrodos N1-N9 está dispuesta alrededor de la parte del cuerpo 1500 a una distancia W de la primera matriz. Opcionalmente, pueden añadirse matrices adicionales de electrodos entre la primera matriz y la última matriz, pero estas matrices adicionales no se ilustran por claridad (para no ocultar los electrodos A5-A9 y B5-B8 en la parte posterior de la parte del cuerpo 1500).

Como en la realización de la FIG. 6, la dirección del campo a través del tejido objetivo puede cambiarse aplicando la señal de CA desde el generador 1 (mostrado en la FIG. 1) a través de diferentes parejas de electrodos. Por ejemplo, la aplicación de la señal de CA entre los electrodos A2 y A7 daría como resultado un campo en una dirección de adelante hacia atrás entre esos dos electrodos, y la aplicación de la señal de CA entre los electrodos A5 y A9 daría como resultado un campo aproximadamente vertical entre esos dos electrodos. De manera similar, la aplicación de la señal de CA a través de los electrodos A2 y N7 generaría líneas de campo diagonales en una dirección a través de la parte del cuerpo 1500, y la aplicación de la señal de CA a través de los electrodos A2 y B7 generaría líneas de campo diagonales en otra dirección a través de la parte del cuerpo.

Usar una matriz tridimensional de electrodos también hace posible energizar múltiples parejas de electrodos simultáneamente para inducir campos en las direcciones deseadas. Por ejemplo, si se proporciona una conmutación adecuada para que los electrodos A2 a N2 estén todos conectados a un terminal del generador, y para que los electrodos A7 a N7 estén todos conectados al otro terminal del generador, el campo resultante sería una

lámina que se extiende en una dirección de adelante hacia atrás para la anchura W completa. Después de que el campo de adelante hacia atrás se mantenga durante un tiempo adecuado (por ejemplo, un segundo), el sistema de conmutación (no mostrado) se reconfigura para conectar los electrodos A3 a N3 a un terminal del generador, y los electrodos A8 a N8 al otro terminal del generador. Esto da como resultado un campo en forma de lámina que se rota alrededor del eje Z en aproximadamente 40º° con respecto a la dirección del campo inicial. Después de mantener el campo en esta dirección durante una duración adecuada (por ejemplo, un segundo), se activa el siguiente conjunto de electrodos para rotar el campo 40º adicionales a su siguiente posición. Esto continúa hasta que el campo vuelve a su posición inicial, en cuyo punto se repite todo el proceso.

Opcionalmente, el campo con forma de lámina rotatorio se puede añadir (secuencialmente en el tiempo) a los campos diagonales descritos anteriormente, para apuntar mejor a células objetivo que están orientadas a lo largo de esos ejes diagonales.

Como el campo eléctrico es un vector, las señales pueden aplicarse opcionalmente a combinaciones de electrodos simultáneamente para formar un vector resultante deseado. Por ejemplo, un campo que se rota alrededor del eje X en 20º con respecto a la posición inicial puede obtenerse cambiando los electrodos A2 a N2 y A3 a N3 todos a un terminal del generador, y cambiando los electrodos A7 a N7 y A8 a N8 todos al otro terminal del generador. La aplicación de las señales a otras combinaciones de electrodos dará como resultado campos en otras direcciones, como apreciarán los expertos en las técnicas pertinentes. Si se implementa un control informático apropiado de los voltajes, la dirección del campo puede incluso ser barrida a través del espacio de una manera continua (es decir, suave), en oposición a la manera escalonada descrita anteriormente.

Por tanto, la presente invención proporciona un método in vitro eficaz, simple para destruir o inhibir selectivamente el crecimiento de organismos parásitos, mientras que las células u organismos que no se dividen no se ven afectados sustancialmente al usar el método en una muestra que contiene ambos tipos de células u organismos.

Aunque la invención se ha mostrado y descrito particularmente con referencia a las realizaciones preferidas de la misma, los expertos en la técnica entenderán que pueden realizarse varios cambios en la forma y los detalles sin apartarse del alcance de la invención.

REIVINDICACIONES

1. Un método in vitro para destruir o inhibir selectivamente el crecimiento de parásitos localizados dentro de una región objetivo (1620), que comprende el paso de:

acoplar capacitivamente un campo eléctrico de CA en la región objetivo (1620);
en donde la fuerza del campo eléctrico en por lo menos una parte de la región objetivo (1620) está entre 0,5 V/cm y 10 V/cm, en donde el campo eléctrico está configurado para interrumpir los parásitos localizados dentro de la región objetivo (1620) y para dejar las células que no se dividen localizadas dentro de la región objetivo (1620) sustancialmente sin daño;
caracterizado porque:

la frecuencia del campo eléctrico está entre 1,5 MHz y 20 MHz; y
el paso de acoplamiento se repite hasta que se alcanza una meseta a más del 50% en la inhibición del crecimiento de los parásitos dentro de la región objetivo (1620).

2. El método de la reivindicación 1, en el que la frecuencia del campo eléctrico está entre 10 MHz y 20 MHz, opcionalmente 10 MHz.

3. El método de la reivindicación 1, en el que el campo eléctrico tiene una primera orientación durante un primer intervalo de tiempo y una segunda orientación durante un segundo intervalo de tiempo, y por lo menos una parte del primer intervalo de tiempo y el segundo intervalo de tiempo son mutuamente exclusivas, opcionalmente la primera orientación es generalmente perpendicular a la segunda orientación, y opcionalmente el primer intervalo de tiempo es de 300 ms y el segundo intervalo de tiempo es de 300 ms.

4. El método de la reivindicación 1, que comprende además el paso de:
administrar un agente terapéutico a la región objetivo (1620) de tal manera que una dosis del agente terapéutico esté presente en la región objetivo (1620) mientras se realiza el paso de acoplamiento.

5. El método de la reivindicación 1, en el que la intensidad del campo eléctrico está entre 2 V/cm y 10 V/cm, opcionalmente 2 V/cm.

6. El método de la reivindicación 1, que comprende además el paso de:

medir la temperatura en la región objetivo (1620); y
mantener la temperatura en la región objetivo (1620) a un valor deseado mediante el control de retroalimentación informático basado en la temperatura medida en la región objetivo (1620).

7. El método de la reivindicación 1, para el tratamiento de parásitos transmitidos por el agua.

8. Un aparato para el tratamiento de parásitos para destruir o inhibir selectivamente el crecimiento de parásitos localizados dentro de una región objetivo (1620) de un paciente, el aparato comprendiendo:

una primera pareja de electrodos aislados (1610), cada uno con una superficie que acopla capacitivamente un campo eléctrico en la región objetivo (1620); y
una fuente de voltaje de CA (1632, 1634) conectada operativamente a los electrodos (1610);
en donde la fuente de voltaje de CA (1632, 1634) y los electrodos (1610) están configurados de tal manera que cuando los electrodos (1610) se colocan contra la región objetivo (1620) y la fuente de voltaje de CA (1632, 1634) se activa, el campo eléctrico de CA se acopla capacitivamente a la región objetivo (1620) a través de los electrodos (1610);
en donde la fuerza del campo eléctrico en por lo menos una parte de la región objetivo (1620) está entre 0,5 V/cm y 10 V/cm, en donde el campo eléctrico está configurado para interrumpir los parásitos localizados dentro de la región objetivo (1620) y para dejar las células que no se dividen localizadas dentro de la región objetivo (1620) sustancialmente sin daño:
caracterizado porque:
la frecuencia del campo eléctrico está entre 1,5 MHz y 20 MHz.

9. El aparato de la reivindicación 8, en el que la frecuencia del campo eléctrico está entre 10 MHz y 20 MHz, opcionalmente 10 MHz.

10. El aparato de la reivindicación 8, en el que la intensidad del campo eléctrico está entre 2 V/cm y 10 V/cm, opcionalmente 2 V/cm.

11. El aparato de la reivindicación 8, en el que la superficie de cada uno de los electrodos (1610) está aislada de la fuente de voltaje de CA (1632, 1634) por un recubrimiento dieléctrico.

12. El aparato de la reivindicación 8, que comprende además:

un segundo par de electrodos aislados (1610), teniendo cada uno una superficie que acopla capacitivamente un campo eléctrico en la región objetivo (1620); y
un mecanismo de conmutación (1636) que aplica alternativamente la salida de la fuente de voltaje de CA (1632, 1634) a (a) la primera pareja de electrodos (1610) o (b) la segunda pareja de electrodos (1610), opcionalmente la primera pareja de electrodos (1610) está orientada con respecto a la segunda pareja de electrodos (1610) de tal manera que el campo eléctrico que se acopla en la región objetivo (1620) cuando se aplica voltaje de CA a la primera pareja de electrodos (1610) es aproximadamente perpendicular al campo eléctrico que se acopla a la región objetivo (1620) cuando se aplica el voltaje de CA a la segunda pareja de electrodos (1610), opcionalmente el campo eléctrico tiene una primera orientación durante un primer intervalo de tiempo y una segunda orientación durante un segundo intervalo de tiempo, en donde por lo menos una parte del primer intervalo de tiempo y del segundo intervalo de tiempo son mutuamente excluyentes, y opcionalmente el primer intervalo de tiempo es de 300 ms y el segundo intervalo de tiempo es de 300 ms.

13. El aparato de la reivindicación 8, que comprende además:

medios de medición de temperatura para medir la temperatura en la región objetivo (1620); y
un controlador de retroalimentación informático para mantener la temperatura en la región objetivo (1620) a un valor deseado mediante el control de retroalimentación informático basado en la temperatura medida en la región objetivo (1620).

14. El aparato de la reivindicación 8, en combinación con una dosis de un agente terapéutico para su administración a la región objetivo (1620).

15. El aparato de la reivindicación 8, en el que la región objetivo (1620) está dentro del cuerpo de un paciente.

16. El aparato de la reivindicación 8, para el tratamiento de parásitos sanguíneos durante la diálisis.

17. El aparato de la reivindicación 8, para el tratamiento de parásitos transmitidos por el agua, en donde los electrodos (1610) se colocan dentro de un depósito o recipiente de agua.

FIG. 1A

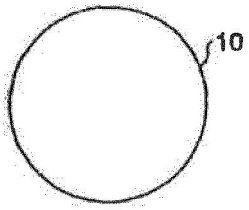


FIG. 1B

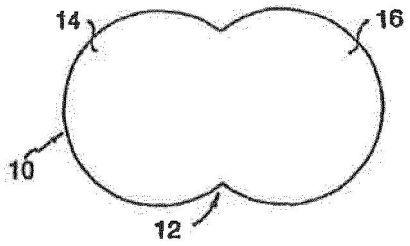


FIG. 1C

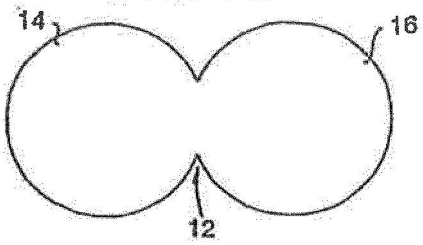


FIG. 1D

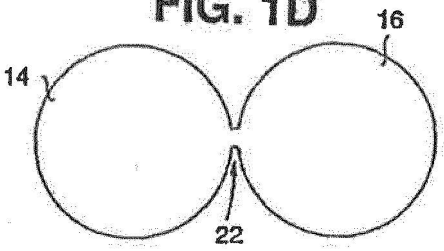


FIG. 1E

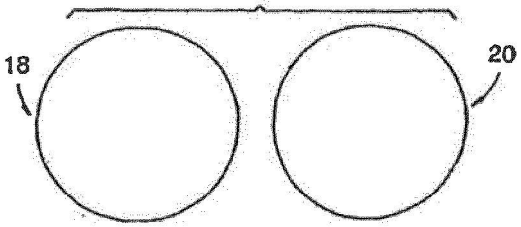
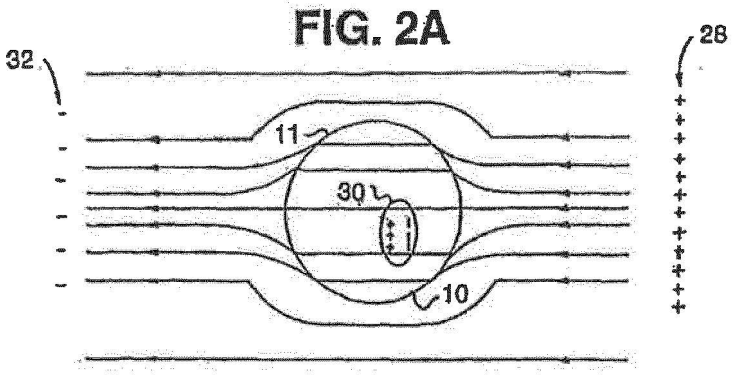


FIG. 2A



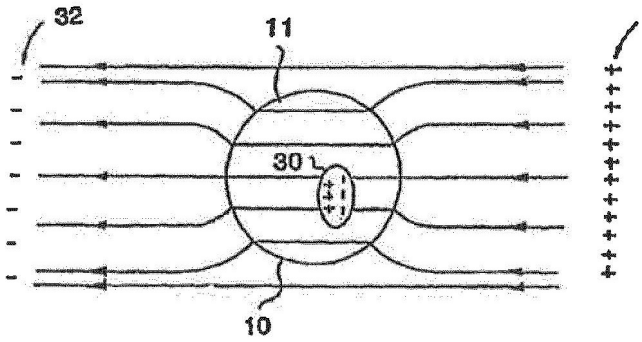


FIG. 2B

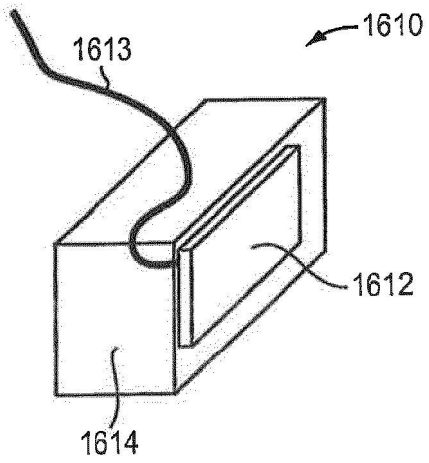


FIG. 3A

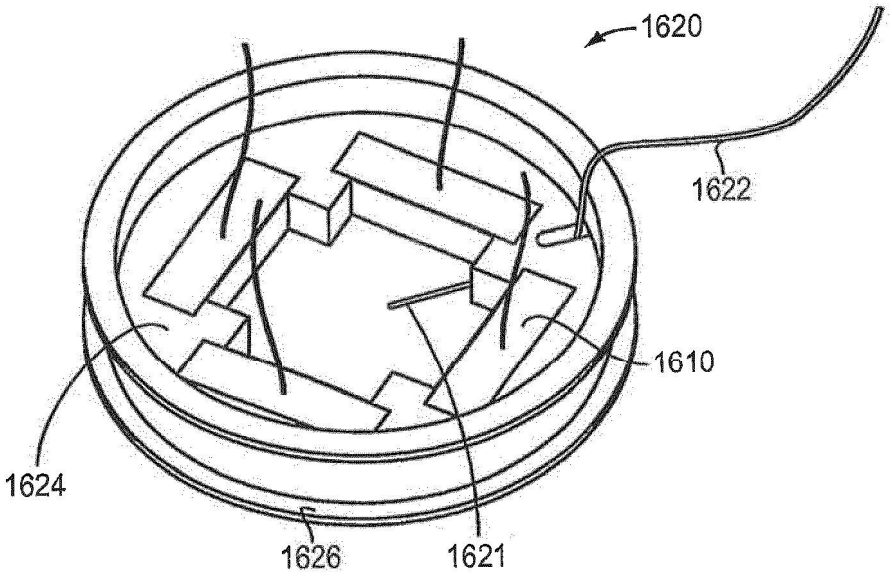


FIG. 3B

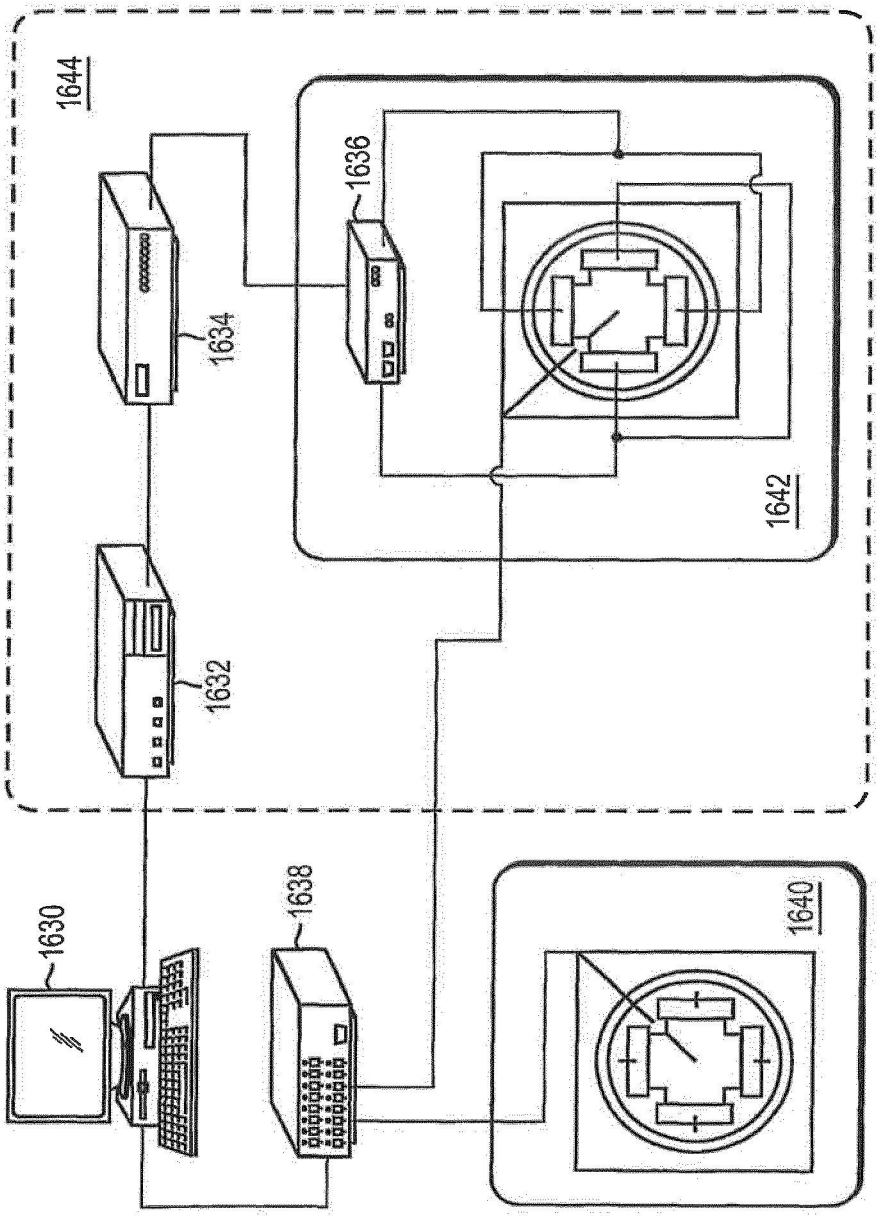


FIG. 3C

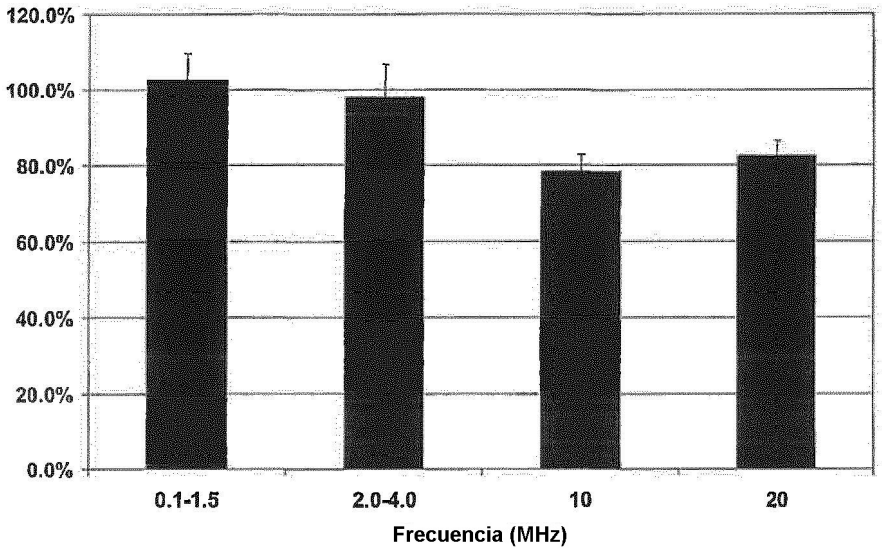

120.0%
100.0%
80.0%
60.0%
40.0%
20.0%
0.0%
0.1-1.5
2.0-4.0
10
20
Frecuencia (MHz)

FIG. 4

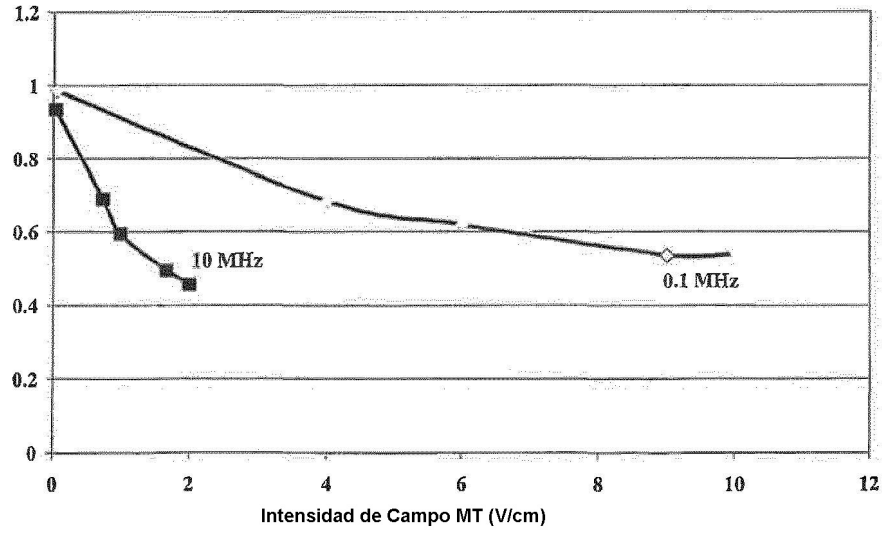

1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0
2
4
6
8
10
12
10 MHz
0.1 MHz
Intensidad de Campo MT (V/cm)

FIG. 5

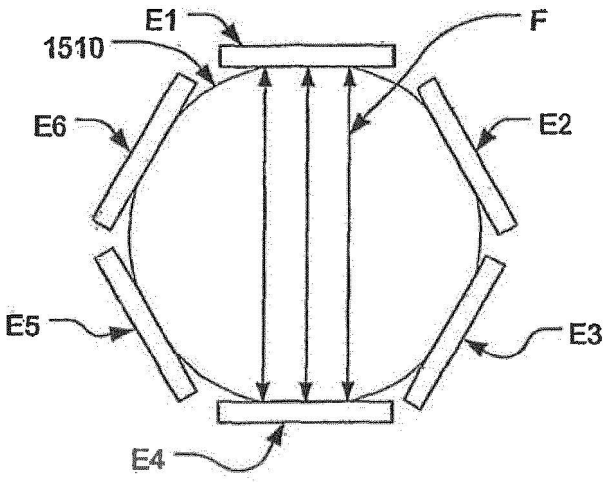


FIG. 6A

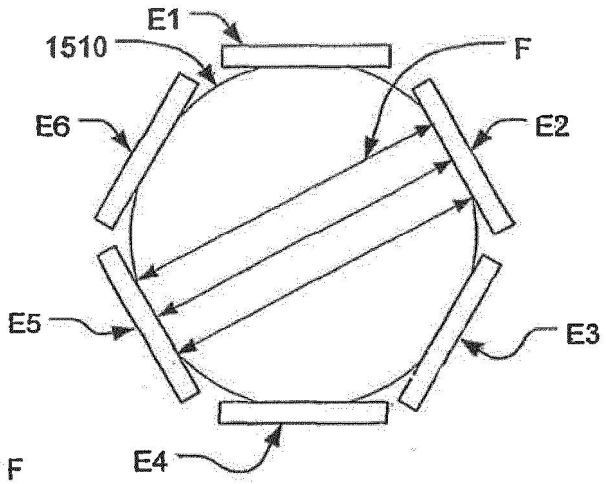


FIG. 6B

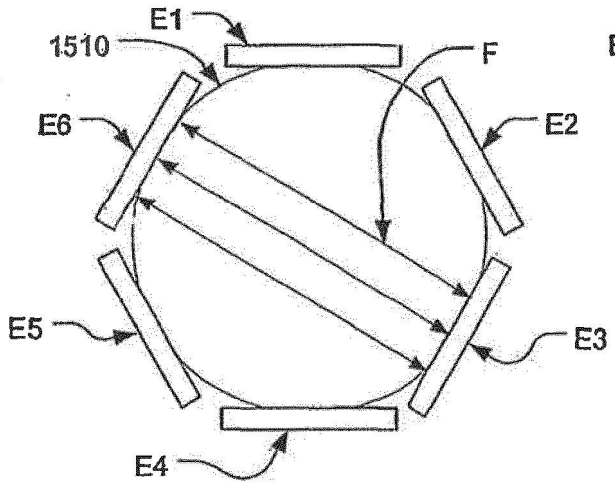


FIG. 6C

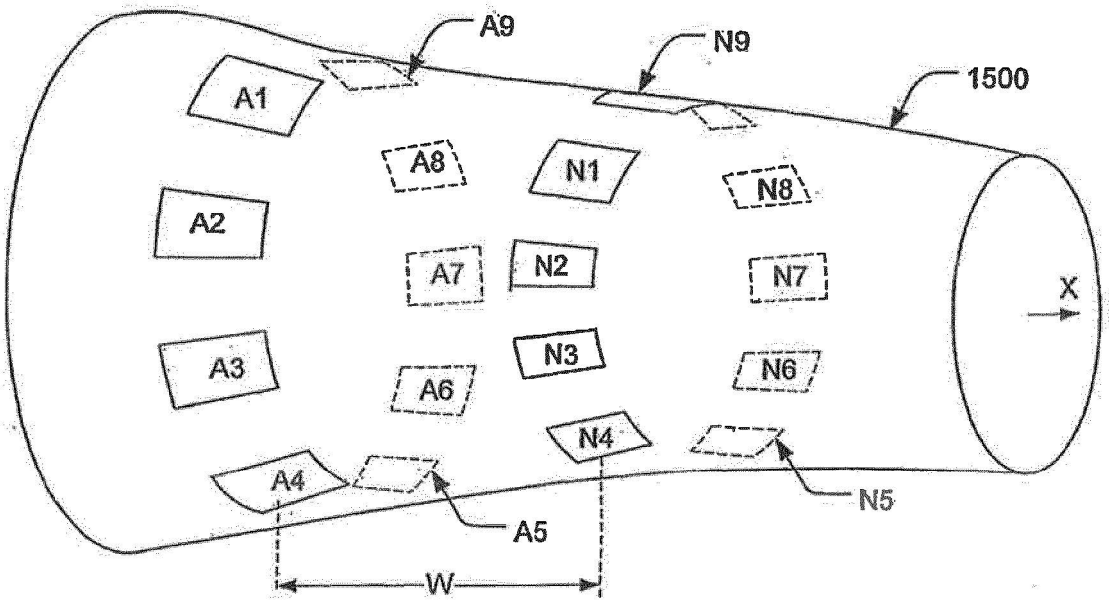


FIG. 7