

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 779 990**

51 Int. Cl.:

A61N 1/32 (2006.01)

A61N 1/40 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.04.2017 PCT/IB2017/051898**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.10.2017 WO17175116**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.04.2017 E 17716642 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.12.2019 EP 3439733**

54 Título: **Reducción de la motilidad de células cancerosas utilizando campos de tratamiento de tumores (TTFIELDS)**

30 Prioridad:

04.04.2016 US 201662317985 P

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

21.08.2020

73 Titular/es:

NOVOCURE GMBH (100.0%)

Park 6

6039 Root D4, CH

72 Inventor/es:

SHNAIDERMAN, ROSA y

GILADI, MOSHE

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 779 990 T3

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).

DESCRIPCIÓN

Reducción de la motilidad de células cancerosas utilizando campos de tratamiento de tumores (TTFIELDS)

Antecedentes

5 TTFields es un enfoque eficaz y aprobado por la FDA para el tratamiento de tumores. El tratamiento utilizando TTFields implica la aplicación continua y no invasiva de campos eléctricos alternativos, de baja intensidad, de frecuencia intermedia, a una región objetivo que incluye el tumor. Investigaciones previas han mostrado que TTFields interrumpe los microtúbulos y los filamentos de septina, los cuales rigen los roles clave en la mitosis.

10 El sistema Optune® de Novocure es el estado actual de la técnica para tratar el glioblastoma utilizando TTFields. Optune® utiliza un conjunto de electrodos (también denominados como agrupaciones de transductores) que se colocan en el cuerpo de un paciente cerca del tumor. La unidad generadora de campo Optune® aplica señales de CA a esos electrodos con el objetivo de inducir un campo eléctrico de CA en una región objetivo que incluye el tumor.

15 El sistema Optune® funciona mejor cuando la intensidad del campo eléctrico de CA en el tumor es > 1 V/cm RMS, y aumentar la intensidad del campo a entre 2 y 3 V/cm RMS generalmente proporciona mejores resultados. Pero las consideraciones térmicas a menudo limitan la intensidad del campo eléctrico de CA que puede entregarse a la región objetivo. Más específicamente, ya que la piel del paciente debe protegerse contra el sobrecalentamiento, el sistema Optune® detecta la temperatura debajo de las agrupaciones de transductores y, a veces, reduce la intensidad del campo eléctrico para evitar que esa temperatura exceda los 41°C. Desafortunadamente, los beneficios de seguridad y comodidad proporcionados por esta táctica de control de temperatura van acompañados de un inconveniente: el campo de intensidad reducida es menos efectivo para interrumpir la mitosis que un campo de intensidad completa.

20

Compendio de la invención

25 La presente invención se define por la reivindicación 1 y está dirigida a un aparato para inhibir la propagación de las células cancerosas en la región objetivo. Este aparato comprende un generador de señal de CA que tiene (i) una primera salida controlable configurada para aplicar una tensión de CA a través de un primer conjunto de electrodos acoplados de manera capacitiva que se colocan cerca de la región objetivo, con el objetivo de imponer un campo eléctrico en la región objetivo en una primera dirección y (ii) una segunda salida controlable configurada para aplicar una tensión de CA a través de un segundo conjunto de electrodos acoplados de manera capacitiva que se colocan cerca de la región objetivo, con el objetivo de imponer un campo eléctrico en la región objetivo en una segunda dirección. Este aparato también comprende un controlador configurado para (a) controlar la primera salida controlable de manera que se genera una primera señal de CA para un primer intervalo de tiempo, teniendo la primera señal de CA una primera frecuencia y una primera amplitud. La primera frecuencia y la primera amplitud se seleccionan imponer un campo eléctrico que interrumpa la mitosis de las células cancerosas. El controlador también está configurado para (b) controlar la primera salida controlable de manera que se genera una segunda señal de CA para un segundo intervalo de tiempo, teniendo la segunda señal de CA una segunda frecuencia y una segunda amplitud. La segunda frecuencia y la segunda amplitud se seleccionan para imponer un campo eléctrico que reduzca la motilidad de las células cancerosas, y la segunda amplitud es menor que la primera amplitud. El controlador también está configurado para (c) controlar la segunda salida controlable de manera que se genere una tercera señal de CA para un tercer intervalo de tiempo, teniendo la tercera señal de CA una tercera frecuencia y una tercera amplitud. La tercera frecuencia y la tercera amplitud se seleccionan para imponer un campo eléctrico que interrumpa la mitosis de las células cancerosas. El controlador también está configurado para (d) controlar la segunda salida controlable de manera que se genere una cuarta señal de CA para un cuarto intervalo de tiempo. La cuarta señal de CA tiene una cuarta frecuencia y una cuarta amplitud. La cuarta frecuencia y la cuarta amplitud se seleccionan para imponer un campo eléctrico que reduzca la motilidad de las células cancerosas y la cuarta amplitud es menor que la tercera amplitud. El controlador también está configurado para repetir continuamente los pasos (a) a (d) en una secuencia alternativa durante un curso de tratamiento.

30

35

40

45

En algunas realizaciones del aparato, la segunda amplitud es menor que el 75% de la primera amplitud y la cuarta amplitud es menor que el 75% de la tercera amplitud. En algunas realizaciones del aparato, la segunda frecuencia y la primera frecuencia son diferentes, y la cuarta frecuencia y la tercera frecuencia son diferentes.

50 En algunas realizaciones del aparato, la segunda amplitud es menor que el 75% de la primera amplitud, la cuarta amplitud es menor que el 75% de la tercera amplitud, la segunda frecuencia y la primera frecuencia son diferentes, la cuarta frecuencia y la tercera frecuencia son diferentes, la tercera frecuencia es la misma que la primera frecuencia, la cuarta frecuencia es la misma que la segunda frecuencia, el primer intervalo de tiempo es inferior a 5 segundos, el segundo intervalo de tiempo es inferior a 5 segundos, el tercer intervalo de tiempo es inferior a 5 segundos, y el cuarto intervalo de tiempo es inferior a 5 segundos.

55

En algunas realizaciones del aparato, la primera frecuencia es de $200 \text{ kHz} \pm 10\%$, la segunda frecuencia es de $300 \text{ kHz} \pm 10\%$, la tercera frecuencia es de $200 \text{ kHz} \pm 10\%$, y la cuarta frecuencia es de $300 \text{ kHz} \pm 10\%$.

Las realizaciones adicionales descritas en la presente memoria, en particular las realizaciones relacionadas con un método para tratar cáncer, son solamente para propósitos ejemplares, y no forman parte de la invención reivindicada.

Breve descripción de los dibujos

- 5 La fig. 1 representa una disposición de electrodos en una placa de Petri utilizada para realizar algunos de los experimentos descritos en la presente memoria.
- Las figs. 2A y 2B representan los resultados de experimentos de tasa de migración celular que han estudiado los efectos de TTFields en dos líneas celulares diferentes.
- 10 La fig. 3 representa los resultados de los experimentos de invasión celular que han estudiado los efectos de TTFields en cuatro líneas celulares diferentes.
- La fig. 4 representa los resultados de experimentos de invasión celular que han estudiado la dependencia de frecuencia de la inhibición de TTFields del glioma U-87.
- La fig. 5 representa los resultados de experimentos de tasa de migración celular que han estudiado la dependencia direccional de la inhibición de TTFields de las células cancerosas de glioma.
- 15 La fig. 6 representa los resultados de los experimentos de invasión celular que compara la eficacia de TTFields con la eficacia de Bumetanida en la inhibición de las células cancerosas de glioma.
- La fig. 7 representa una realización de la invención que incluye un generador de señales y electrodos.
- La fig. 8 representa una primera secuencia de eventos para las salidas del generador de señales de la realización de la fig. 7.
- 20 Las figs. 9 A y 9B representan secuencias adicionales de eventos para las salidas del generador de señales de la realización de la fig. 7.

Descripción de las realizaciones preferidas

- 25 La capacidad de las células de glioblastoma para invadir el tejido cerebral adyacente puede dificultar el control del glioblastoma. El desarrollo de modalidades de tratamiento que dificultan la motilidad de las células cancerosas del glioma podría por lo tanto facilitar el control de la enfermedad.
- Los inventores han determinado que, además de tener efectos antimitóticos, TTFields tiene un impacto sobre otros procesos celulares que requieren dinámicas de microtúbulos adecuadas. Uno de tales procesos, que tiene un gran impacto en la progresión del glioblastoma, es la motilidad celular. Esta aplicación documenta los efectos de TTFields en la motilidad celular, incluyendo las propiedades tanto de migración como de invasión de las células de glioma.
- 30 Esta aplicación también describe métodos y sistemas para reducir la motilidad celular mediante la aplicación de TTFields a células cancerosas en una región objetivo.
- Se ha realizado un conjunto de experimentos para evaluar el efecto de TTFields sobre la motilidad de las células de glioma en humanos, incluyendo las propiedades de migración e invasión de esas células.
- 35 El primer experimento ha utilizado ensayos de heridas por rasguños in vitro para determinar los efectos de TTFields en la migración de células de glioma U-87 MG y A-172. En este experimento, se han realizado ensayos de heridas in vitro utilizando insertos de cultivo IBIDI. TTFields (200 kHz, 1,75 RMS) se ha aplicado utilizando dos pares de electrodos 141-142 y 143-144 que se han aislado mediante una cerámica de alta constante dieléctrica ($\epsilon > 5000$) (Exelis, Salt Lake City, Utah). Los pares de electrodos 141-142 y 143-144 se han colocado en la placa 150 de Petri perpendiculares entre sí con la geometría representada en la fig. 1. Los electrodos 141-143 se han conectado a un sistema Novocure Optune® modificado, que ha aplicado las señales de CA apropiadas a los electrodos 141-143 con el fin de generar TTFields en la región objetivo. TTFields ha cambiado de dirección 90° cada 1 segundo. Esto se ha conseguido mediante (a) la aplicación de la señal de CA entre los electrodos 141 y 142 durante 1 s, a continuación (b) la aplicación de la señal de CA entre los electrodos 143 y 144 durante 1 s, y después repitiendo una secuencia (a) + (b) durante el curso del experimento. La temperatura se ha medido mediante termistores (no mostrados)
- 40 incorporados en las placas 150.
- 45 Las células U-87 MG y A-172 han sido rayadas y se han formado imágenes. La migración se ha observado en series de lapso de tiempo durante 24h (observador Zeiss axio; por 10 objetivos). Las imágenes de contraste de fase se han registrado cada 12 min. Se han examinado las imágenes de referencia del rasguño a las 0 horas y las células que han migrado al área de rascado 14 horas después, en los mismos puntos de referencia. Las imágenes obtenidas se han evaluado adicionalmente para cuantificar las tasas de migración celular durante la cicatrización de heridas utilizando el software Image Pro Premier (Media Cybernetics, EE. UU.). Se ha realizado un análisis cuantitativo de la tasa de migración, calculado como la distancia total que las células se han movido desde el borde del rasguño hacia el centro del rasguño en función del tiempo.
- 50

Las figs. 2A y 2B resumen los resultados del análisis cuantitativo para este primer experimento. La tasa de migración celular se ha reducido significativamente en líneas celulares U-87 MG (31%) y A-172 (27%) tratadas con TTFields, en comparación con las células de control no tratadas, como se ve en la fig. 2A y en la fig. 2B, respectivamente (medio+SEM;***p<0,001 del grupo control, prueba t de estudiante). El experimento se ha repetido 3 veces. Estos resultados indican que TTFields dificultan la migración celular en diferentes líneas celulares de glioma.

En un segundo experimento, se ha realizado un ensayo de invasión utilizando una cámara Boyden modificada para determinar los efectos de TTFields en la invasión por células U-87 MG, A-172, LN-229 y LN-18. Se han utilizado filtros (6,4 mm de diámetro, tamaño de poro de 8 µm) recubiertos con Matrigel (Corning). TTFields se ha aplicado utilizando el sistema Novocure Inovitro por medio de pares perpendiculares de electrodos aislados por una cerámica de alta constante dieléctrica (200 kHz, 0,6 V/cm RMS). La geometría de los electrodos para este experimento ha sido similar a la geometría representada en la fig. 1, y la dirección del campo se ha cambiado cada 1 s (como se ha descrito anteriormente para el primer experimento). Se han utilizado placas Inovitro con paredes verticales extendidas para facilitar la entrega efectiva de TTFields a través del transwell. Las células U-87 MG, A-172, LN-229 y LN-18 (2×10^5) se han suspendido en DMEM libre de suero y se han sembrado en el compartimento superior de la cámara. El compartimento inferior ha contenido 10% de FBS DMEM. Después de la incubación durante 24 horas a 37°C en una incubadora de CO2 al 5%, las células que han invadido el filtro inferior, se han fijado con PFA al 4%, se han teñido con violeta cristal al 0,5% (Sigma) y se han tomado imágenes bajo un microscopio invertido (Nikon eclipse TS100; control de panel superior, células tratadas con TTFields de panel inferior; Objetivo x 10). La cuantificación de las células invasoras se ha realizado utilizando el software ImageJ (NIH).

La fig. 3 resume los resultados de la cuantificación para este segundo experimento. El número de células invasoras se ha reducido significativamente en todas las líneas celulares tratadas con TTFields: U-87 MG (54%), A-172 (68%), LN-229 (38%) y en LN-18 (55%) en comparación con células de control no tratadas (medio+SEM; *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 del grupo de control, prueba t de estudiante). Estos resultados indican que TTFields dificultan la invasión celular en diferentes líneas celulares de glioma. Cabe destacar que la duración de estos experimentos de invasión (24 horas) ha sido menor que la duración (72 horas) que normalmente se requiere para el efecto antimetastático de TTFields. También cabe destacar que la intensidad del campo eléctrico (es decir, 0,6 V/cm RMS) que ha causado esta reducción en la invasión ha sido menor que la intensidad del campo eléctrico (es decir, > 1 V/cm RMS) que normalmente se requiere para el efecto antimetastático de TTFields.

Se ha realizado un tercer experimento para estudiar la dependencia de la frecuencia de la inhibición de TTFields del potencial invasivo de las células cancerosas del glioma U-87. Se ha realizado un ensayo de invasión U-87 utilizando la cámara Boyden modificada como se ha descrito anteriormente en relación con el segundo experimento. TTFields se ha aplicado en varias frecuencias (100, 200, 300 y 400 kHz) utilizando la misma intensidad nominal de 0,6 V/cm RMS y el mismo cambio de dirección descrito anteriormente en relación con el primer experimento. Después de la incubación durante 24 horas a 37°C en una incubadora de CO2 al 5%, las células que han invadido el filtro inferior se han fijado, han tomado imágenes y se han cuantificado como se ha descrito anteriormente en relación con el segundo experimento.

La fig. 4 resume los resultados de la cuantificación para este tercer experimento. El número de células invasoras se ha reducido (con respecto al control) para las cuatro frecuencias de TTFields probadas de manera dependiente de la frecuencia; y la reducción máxima en el número de células invasoras se ha observado a una frecuencia de 300 kHz. Quizás lo más notable es que la frecuencia que ha proporcionado la mayor reducción en el potencial de invasión ha sido diferente de la frecuencia de 200 kHz que proporciona (basándose en experimentos previos) el mayor efecto antimetastático en las células U-87.

Se ha realizado un cuarto experimento para estudiar la dependencia direccional de la inhibición de TTFields de la migración de células cancerosas de glioma. TTFields (200 kHz, 1,75 RMS) se ha aplicado utilizando dos pares de electrodos, aislados por una cerámica de alta constante dieléctrica ($\epsilon > 5000$) (Exelis, Salt Lake City, Utah) colocada en la placa de Petri. La geometría de los pares de electrodos ha sido similar a la geometría mostrada en la fig. 1. Los ensayos de heridas in vitro se han realizado utilizando insertos de cultivo IBIDI con 2 insertos colocados en cada placa, uno en paralelo con el campo eléctrico y otro perpendicular a la dirección del campo eléctrico. Los electrodos se han conectado a un sistema Optune® modificado que ha aplicado señales de CA a los electrodos con el fin de generar el campo eléctrico en las diversas direcciones requeridas para este experimento. La temperatura se ha medido mediante termistores incorporados en las placas.

Las células A-172 han sido rayadas en 2 direcciones perpendiculares y se han tomado imágenes. La migración se ha observado en series de lapso de tiempo durante 24 h como se ha descrito. Las imágenes obtenidas se han evaluado adicionalmente para cuantificar las tasas de migración celular durante la cicatrización de heridas utilizando el software Image Pro Premier (Media Cybernetics, EE. UU.). El análisis cuantitativo de la tasa de migración calculado como la distancia total que las células se han movido desde el borde del rasguño hacia el centro del rasguño en función del tiempo.

La fig. 5 resume los resultados del análisis cuantitativo para este cuarto experimento. La tasa de migración celular se ha reducido significativamente en comparación con el control cuando las células han migrado en paralelo (24%) con el campo eléctrico, que ha sido similar a la reducción obtenida cuando TTFields se ha aplicado desde dos

direcciones diferentes y han cambiado cada segundo (27%). Curiosamente, TTFIELDS ha aplicado desde una sola dirección, perpendicular al curso de migración, han dado como resultado la mayor reducción en la tasa de migración (39%), que ha sido significativamente mayor que la reducción obtenida cuando TTFIELDS se ha aplicado en dos direcciones o en una sola dirección en paralelo con el curso de la migración (**p<0,001 de ambos grupos, prueba t de estudiante. El experimento se ha repetido 3 veces). Estos resultados indican que la dirección de los campos eléctricos aplicados tiene un efecto diferente en las tasas de migración dependiendo del curso de la migración.

Se ha realizado un quinto experimento para comparar la eficacia de TTFIELDS con la eficacia de Bumetanida en la inhibición del potencial invasivo de las células de glioma. La bumetanida es un diurético del asa de la categoría de sulfamilo para tratar la insuficiencia cardíaca, y se sabe que afecta la motilidad celular. En el cerebro, la bumetanida bloquea el co-transportador de cloruro de catión NKCC1 y así, disminuye la concentración interna de cloruro en las neuronas. El NKCC1 proporciona la ruta principal para la acumulación de Cl⁻ en las células de glioma. El NKCC1 se localiza a la vanguardia de los procesos invasores, y la inhibición farmacológica utilizando la bumetanida de diurético de bucle inhibe la migración de Transwell in vitro en un 25% a 50%.

Se ha realizado un ensayo de invasión como se ha descrito anteriormente en relación con el segundo experimento con algunas modificaciones menores. Más específicamente, se han suspendido células U-87 (2x10⁵) en DMEM libre de suero y han sembrado en el compartimento superior de la cámara. El compartimento inferior contenía 10% de FBS DMEM. Ambos compartimentos contenían Bumetanida en la concentración de 200 µM. TTFIELDS se ha aplicado como se ha descrito anteriormente (200 kHz, 0.6 V/cm RMS). Después de incubar durante 24 horas a 37°C en una incubadora de CO₂ al 5%, las células que han invadido el filtro inferior, se han fijado, se han tenido con cristal violeta y se han tomado imágenes con microscopios invertidos. La cuantificación de las células invasoras se ha realizado utilizando el software ImageJ (NIH).

La fig. 6 resume los resultados de la cuantificación para este quinto experimento. El número de células invasoras se ha reducido significativamente en las células tratadas con TTFIELDS (31%) o Bumetanida (34%) aplicadas solas (**p<0,001 del grupo control, prueba t de estudiante). Y notablemente, el tratamiento combinado utilizando tanto TTFIELDS como Bumetanida ha llevado a una reducción sinérgica del 61% en el número de células invasoras, que ha sido significativamente mayor que la reducción obtenida por TTFIELDS o la Bumetanida aplicado solo (**p<0,001, prueba t de estudiante). Estos resultados indican que la exposición a TTFIELDS de baja intensidad en combinación con medicamentos que inhiben la motilidad celular podría conducir a un efecto inhibitor sinérgico mejorado sobre la invasividad de las células de glioma en comparación con cualquier tratamiento solo. Y más específicamente, la combinación de TTFIELDS con Bumetanida ha resultado en una eficacia sinérgica mejorada en comparación con cualquier tratamiento solo.

La versión actual del sistema Optune® de Novocure genera campos eléctricos de CA en una región objetivo en una sola frecuencia, y esa frecuencia se selecciona de antemano para aumentar la efectividad del campo en la interrupción de la mitosis de las células cancerosas dentro de la región objetivo. Como se ha indicado anteriormente, el sistema Optune® a veces reduce la intensidad del campo eléctrico para impedir el sobrecalentamiento de la piel del paciente, lo que hace que el campo sea menos efectivo para interrumpir la mitosis. Las realizaciones descritas a continuación aprovechan dos resultados del segundo y tercer experimento descritos anteriormente. Más específicamente, las realizaciones descritas a continuación aprovechan los hechos de que (1) la intensidad del campo eléctrico que se necesita para causar una reducción en la motilidad es menor que la intensidad del campo eléctrico que normalmente se requiere para el efecto antimitótico de TTFIELDS; y (2) para al menos ciertas líneas celulares, la frecuencia que ha proporcionado la mayor reducción en la motilidad es diferente de la frecuencia que proporciona el mayor efecto antimitótico.

La fig. 7 representa una realización de la invención que incluye un generador 20 de señal y cuatro electrodos 41-44 (también denominados como agrupaciones de transductores). Los electrodos 41-44 se colocan de manera que puedan inducir un campo eléctrico en la región 50 objetivo. Por ejemplo, si la región objetivo es una placa de Petri, los electrodos 41-44 pueden colocarse en contacto con las paredes de la placa de Petri que contiene células 55 cancerosas. Alternativamente, si la región objetivo es una porción del cuerpo de un paciente, los electrodos 41-44 pueden colocarse en contacto con la piel del paciente cerca de un tumor que incluye células 55 cancerosas. El generador 20 de señal tiene dos salidas Q1 y Q2. La primera salida Q1 está conectada a través de los electrodos 41 y 42; y la segunda salida Q2 está conectada a través de los electrodos 43 y 44. Cuando el generador 20 de señal emite una tensión de CA en la salida Q1, esa tensión aparecerá a través de los electrodos 41, 42 e inducirá un campo eléctrico en la región 50 objetivo en una primera dirección D1. Cuando el generador 20 de señal emite una tensión de CA en la salida Q2, esa tensión aparecerá a través de los electrodos 43, 44 e inducirá un campo eléctrico en la región 50 objetivo en una segunda dirección D2. Los sensores 48 de temperatura detectan la temperatura en los electrodos 41-44 e informan esas temperaturas a una interfaz 22 de sensor de temperatura contenida dentro del generador 20 de señal. Si la temperatura detectada es demasiado alta, el controlador 25 ordenará a la etapa de potencia 28 del generador 20 de señal que reduzca su tensión de salida, lo que finalmente reducirá la temperatura.

Obsérvese que la descripción de la fig. 7 en el párrafo anterior es muy similar al funcionamiento de la versión actual del sistema Novocure Optune®. Pero la realización de la fig. 7 es distinguible de Optune® porque la unidad generadora de campo Optune® siempre emite la misma frecuencia. Más específicamente, la unidad generadora de campo Optune® siempre emite una frecuencia que ha sido preseleccionada basándose en su efecto antimitótico

sobre el cáncer relevante (es decir, 200 kHz en el contexto del glioblastoma). En contraste, la realización de la fig. 7 cambia la frecuencia de sus salidas Q1, Q2 entre una primera frecuencia que se selecciona para interrumpir la mitosis de las células cancerosas y una segunda frecuencia que se selecciona para reducir la motilidad de las células cancerosas. Esto se logra en la realización de la fig. 7 por el controlador 25, que emite señales de control apropiadas a la etapa de potencia 28 con el fin de controlar la frecuencia y amplitud de las salidas Q1 y Q2 como se describe a continuación en relación con las figs. 8-9. El controlador 25 puede implementarse utilizando cualquiera de una variedad de técnicas que serán evidentes para las personas expertas en las técnicas relevantes. Los ejemplos incluyen, pero no están limitados a, un microprocesador o controladores basados en microcontroladores que están programados para implementar las secuencias descritas en la presente memoria; y temporizadores de hardware que generan señales de control apropiadas para orquestar las secuencias descritas en la presente memoria. La implementación de hardware de la etapa de potencia 28 está configurada para responder a las señales de control que son generadas por el controlador 25.

La fig. 8 representa una primera secuencia de eventos para las salidas Q1 y Q2 generadas por la etapa de potencia 28 bajo el control del controlador 25. En esta secuencia, la dirección del campo nunca cambia, lo que significa que solamente una de las salidas de la etapa de potencia (es decir, Q1 o Q2) es necesaria, y solamente un par de electrodos (es decir, 41/42 o 43/44) es necesario. La secuencia para la mitad inferior de la fig. 8 es como sigue: En primer lugar, entre t_0 y t_1 , se impone un primer campo eléctrico de CA a una primera frecuencia que se selecciona para interrumpir la mitosis de las células cancerosas en la región objetivo. A continuación, entre t_1 y t_2 , se impone un segundo campo eléctrico de CA a una segunda frecuencia que se selecciona para reducir la motilidad de las células cancerosas en la región objetivo. Esta secuencia se repite hasta que finaliza el curso del tratamiento.

En algunas realizaciones, además de cambiar la frecuencia (como se muestra en la mitad inferior de la fig. 8), la amplitud de la salida del generador de señal también se cambia en sincronía (como se muestra en la mitad superior de la fig. 8). En estas realizaciones, la secuencia de eventos para las salidas generadas por la etapa de potencia 28 bajo el control del controlador 25 es la siguiente.

En una etapa (a), se impone un primer campo eléctrico de CA en la región objetivo durante un primer intervalo de tiempo (por ejemplo, el intervalo entre t_0 y t_1). El primer campo eléctrico de CA tiene una primera frecuencia y una primera amplitud, y la primera frecuencia y la primera amplitud se seleccionan de manera que el primer campo eléctrico de CA interrumpa la mitosis de las células cancerosas. En la etapa (b), se impone un segundo campo eléctrico de CA en la región objetivo durante un segundo intervalo de tiempo (por ejemplo, el intervalo entre t_1 y t_2). El segundo campo eléctrico de CA tiene una segunda frecuencia y una segunda amplitud, y la segunda frecuencia y la segunda amplitud se seleccionan de manera que el segundo campo eléctrico de CA reduzca la motilidad de las células cancerosas. La segunda amplitud es más baja que la primera amplitud. Estas etapas (a) y (b) se repiten continuamente en una secuencia alternativa durante un curso de tratamiento. Opcionalmente, se pueden añadir etapas de intervención adicionales entre la etapa (a) y la etapa (b) o entre la etapa (b) y la etapa (a). Por ejemplo, el controlador 25 puede ordenar a la etapa de potencia 28 que emita una tercera frecuencia entre una o más instancias de la etapa (a) y de la etapa (b).

Como se ha observado anteriormente, la segunda amplitud (durante la fase antimotilidad) es menor que la primera amplitud (durante la fase antimitosis). Pero esto no es problemático porque la intensidad del campo eléctrico que se necesita para causar una reducción en la motilidad es menor que la intensidad del campo eléctrico que normalmente se requiere para el efecto antimitótico de TFields. Y ventajosamente, el sistema puede confiar en la amplitud reducida durante la fase antimotilidad para reducir la temperatura en los electrodos sin reducir la intensidad de campo durante la fase antimitosis (que requiere una amplitud más alta).

Además, esta ventaja se ve agravada por el hecho de que el aumento de la temperatura es proporcional al cuadrado de la amplitud. Como resultado, reducir la amplitud durante la fase antimotilidad en un X% disminuirá el calentamiento durante esa fase a $(1-X)^2\%$. Por ejemplo, si se reduce la amplitud de 2 V/cm a 1 V/cm durante la fase antimotilidad, se reducirá el calentamiento durante esa fase a $(1-0.5)^2\%$ (es decir, a una cuarta parte de su valor original). Si suponemos que la fase antimotilidad y las fases antimitosis tienen la misma duración, esta modificación reduciría la carga de calentamiento global a 5/8 de su valor original.

En algunas realizaciones preferidas, la segunda amplitud es menor al 75% de la primera amplitud. Preferiblemente, tanto el primer intervalo de tiempo como el segundo intervalo de tiempo son menos de cinco segundos. Esto puede ser importante para mantener el efecto antimitosis sin interrupción. Preferiblemente, el curso del tratamiento tiene una duración de al menos 12 horas. En algunas realizaciones preferidas, la primera frecuencia y la segunda frecuencia son diferentes. En otras realizaciones, la primera frecuencia y la segunda frecuencia podrían ser iguales (es decir, para líneas celulares en las que la frecuencia antimitosis coincide con la frecuencia antimotilidad). En algunas realizaciones preferidas, la primera frecuencia (es decir, la frecuencia antimitosis) es de 200 kHz \pm 10% y la segunda frecuencia (es decir, la frecuencia antimotilidad) es de 300 kHz \pm 10%. En algunas realizaciones preferidas, la segunda amplitud es de al menos 0,6 V/cm RMS, con el fin de mantener el efecto anti-motilidad. Opcionalmente, se puede administrar un compuesto que inhibe la motilidad celular (por ejemplo, bumetanida) durante el curso del tratamiento.

En algunas realizaciones, además de cambiar la frecuencia del campo entre una primera frecuencia optimizada para interrumpir la mitosis y una segunda frecuencia optimizada para reducir la motilidad, la dirección del campo eléctrico en la región objetivo también se puede cambiar entre dos o más direcciones. Las figs. 9A y 9B representan dos ejemplos en los que la dirección del campo se cambia entre las dos direcciones D1 y D2 mostradas en la fig. 7. El campo se genera en la dirección D1 cuando el generador 20 de señal genera su salida Q1, que se aplica entre los electrodos 41 y 42. El campo se genera en la dirección D2 cuando el generador 20 de señal genera su salida Q2, que se aplica entre los electrodos 43 y 44.

La fig. 9A representa la secuencia de eventos para las salidas Q1 y Q2 generadas por la etapa de potencia 28 del generador 20 de señal bajo el control del controlador 25 en una de tales realizaciones. En esta secuencia, la dirección se cambia entre las dos direcciones D1 y D2 a una velocidad que es más rápida que la velocidad a la que se cambia la frecuencia. La secuencia aquí es similar a la secuencia descrita anteriormente en relación con la fig. 8 en la que tanto la frecuencia como la amplitud se cambian en sincronía entre sí. Pero además de cambiar la frecuencia y la amplitud como se ha descrito anteriormente en relación con la fig. 8, la dirección del campo también se cambia. Más específicamente, el primer campo eléctrico de CA se impone en la región objetivo en una primera dirección durante una primera porción del primer intervalo de tiempo (es decir, la primera porción del tiempo entre t0 y t1), y el primer campo eléctrico de CA se impone en la región objetivo en una segunda dirección durante una segunda porción del primer intervalo de tiempo (es decir, la última porción del tiempo entre t0 y t1). Preferiblemente, el ángulo entre la primera dirección D1 y la segunda dirección D2 está entre 60° y 90°. (Obsérvese que todos los rangos angulares numéricos utilizados en la presente memoria incluyen los puntos finales).

En algunas realizaciones, además de cambiar las direcciones durante el primer intervalo de tiempo (que corresponde a la fase antimitosis), la dirección también se cambia durante el segundo intervalo de tiempo (que corresponde a la fase antimotilidad). En estas realizaciones, el segundo campo eléctrico de CA se impone en la región objetivo en la primera dirección durante una primera porción del segundo intervalo de tiempo (es decir, la primera porción del tiempo entre t1 y t2), y el segundo campo eléctrico de CA se impone en la región objetivo en la segunda dirección durante una segunda porción del segundo intervalo de tiempo (es decir, la última porción del tiempo entre t1 y t2).

La fig. 9B representa la secuencia de eventos para las salidas Q1 y Q2 generadas por la etapa de potencia 28 bajo el control del controlador 25 en otra realización. En esta secuencia, la dirección se cambia entre las dos direcciones D1 y D2 a una velocidad que es más lenta que la velocidad a la que se cambia la frecuencia. La secuencia aquí es similar a la secuencia descrita anteriormente en relación con la fig. 8 en el que tanto la frecuencia como la amplitud se cambian en sincronía entre sí. Pero además del cambio de la frecuencia y de la amplitud descritos anteriormente en relación con la fig. 8, la dirección del primer campo eléctrico de CA se cambia durante al menos algunos de las etapas repetitivas, y la dirección del segundo campo eléctrico de CA también se cambia durante al menos algunas de las etapas repetitivas. En el ejemplo de la fig. 9B, la secuencia original corresponde al intervalo de tiempo entre t0 y t2, y esa secuencia original se repite durante el curso del tratamiento, ocupando la primera repetición el intervalo de tiempo entre t2 y t4. Como se ve en la fig. 9B, la dirección de los campos tanto para la etapa antimitosis como para la etapa antimigración se ha cambiado a D2 durante la primera repetición con respecto a la secuencia original.

Obsérvese que en las secuencias representadas en las figs. 8-9 anteriores, la fase antimitosis y la fase antimotilidad son mutuamente excluyentes con respecto al tiempo. Sin embargo, en realizaciones alternativas, esas fases pueden solaparse entre sí, ya sea parcial o completamente. Un ejemplo de tal realización sería implementar las siguientes dos etapas (a) y (b) simultáneamente: En la etapa (a), se impone un primer campo eléctrico de CA en la región objetivo. El primer campo eléctrico de CA tiene una primera frecuencia y una primera amplitud que se seleccionan de manera que el primer campo eléctrico de CA interrumpa la mitosis de las células cancerosas. En la etapa (b), se impone un segundo campo eléctrico de CA en la región objetivo. El segundo campo eléctrico de CA tiene una segunda frecuencia y una segunda amplitud que se seleccionan de manera que el segundo campo eléctrico de CA reduzca la motilidad de las células cancerosas. La segunda frecuencia y la primera frecuencia son diferentes, y la segunda amplitud es más baja que la primera amplitud. Cuando todas las etapas (a) y (b) se implementan simultáneamente, el primer y el segundo campo eléctrico de CA se sumarán por superposición.

Algunas realizaciones están dirigidas a un método para tratar el cáncer exponiendo el tumor primario o su proximidad, metástasis u órganos con alta probabilidad de captación metastásica a campos eléctricos alternativos a una frecuencia óptimamente seleccionada para inhibir la migración o invasión de las células tumorales. Al menos para ciertas líneas celulares, esta frecuencia es significativamente diferente de la frecuencia requerida para interrumpir la mitosis. El campo puede entregarse utilizando el sistema Optune® de Novocure o los dispositivos descritos en las patentes de EE.UU. 7089054, 6868289 y 7706890, que se incorporan en la presente memoria como referencia. Se puede utilizar para tratar GBM u otros tipos de cáncer. El campo puede entregarse en una dirección preferencial, y la dirección preferencial elegida para impedir la progresión hacia áreas no resecables u órganos vitales.

Para diferentes tipos de cáncer, la frecuencia óptima para inhibir la migración celular de un tipo específico de célula cancerosa se puede determinar cultivando las células (o una línea celular que se parezca mucho a las células de interés) en placas de Petri, exponiendo las células a campos eléctricos alternativos a una intensidad dada, y a diferentes frecuencias, y encontrando la frecuencia que tiene el efecto inhibitorio máximo sobre la migración celular

para esta línea celular específica. El efecto del campo eléctrico puede determinarse mediante ensayos de rasguños y/o mediante un ensayo de invasión.

5 Algunas realizaciones están dirigidas a un método para tratar el cáncer, por lo cual el tumor se expone a campos eléctricos alternativos que contienen componentes a dos frecuencias: una frecuencia es la frecuencia óptima para inhibir la división celular y la otra frecuencia óptima para inhibir la migración. Obsérvese que la combinación de dos frecuencias diferentes sintonizadas para dañar las células en división se describe en la patente de EE. UU. 8244345, que se incorpora en la presente memoria como referencia. Pero aquí, una de las frecuencias está sintonizada para impedir la migración. Las señales en las diferentes frecuencias pueden aplicarse secuencialmente, o pueden combinarse en un solo campo. Los campos pueden entregarse en una dirección o en una pluralidad de direcciones diferentes.

10 Mientras la presente invención se ha descrito con referencia a ciertas realizaciones, numerosas modificaciones, alteraciones y cambios a las realizaciones descritas son posibles sin desviarse del alcance de la presente invención, como se define en las reivindicaciones adjuntas. Por consiguiente, se pretende que la presente invención no se limite a las realizaciones descritas, sino solamente a las siguientes reivindicaciones.

15

REIVINDICACIONES

1.- Un aparato para inhibir la propagación de células cancerosas en una región (50) objetivo, comprendiendo el aparato:

5 un generador (20) de señal de CA que tiene (i) una primera salida (Q1) controlable configurada para aplicar una tensión de CA a través de un primer conjunto de electrodos (41, 42) acoplados de manera capacitiva que se colocan cerca de la región (50) objetivo, con el fin de imponer un campo eléctrico en la región (50) objetivo en una primera dirección (D1) y (ii) una segunda salida (Q2) controlable configurada para aplicar una tensión de CA a través de un segundo conjunto de electrodos (43, 44) acoplados de manera capacitiva que se colocan cerca de la región (50) objetivo, con el fin de imponer un campo eléctrico en la región (50) objetivo en una segunda dirección (D2); y un controlador (25) configurado para (a) controlar la primera salida (Q1) controlable de manera que se genere una primera señal de CA durante un primer intervalo de tiempo, teniendo la primera señal de CA una primera frecuencia y una primera amplitud (A1), en donde la primera frecuencia y la primera amplitud (A1) son seleccionadas para imponer un campo eléctrico que interrumpe la mitosis de las células cancerosas, (b) controlar la primera salida (Q1) controlable de manera que se genere una segunda señal de CA durante un segundo intervalo de tiempo, teniendo la segunda señal de CA una segunda frecuencia y una segunda amplitud (A2), en donde la segunda frecuencia y la segunda amplitud (A2) se seleccionan para imponer un campo eléctrico que reduce la motilidad de las células cancerosas, y en donde la segunda amplitud (A2) es menor que la primera amplitud (A1), (c) controlar la segunda salida (Q2) controlable de manera que se genere una tercera señal de CA durante un tercer intervalo de tiempo, la tercera señal de CA tiene una tercera frecuencia y una tercera amplitud (A1), en donde la tercera frecuencia y la tercera amplitud (A1) se seleccionan para imponer un campo eléctrico que interrumpe la mitosis de las células cancerosas, (d) controlar la segunda salida (Q2) controlable de manera que se genere una cuarta señal de CA durante un cuarto intervalo de tiempo, teniendo la cuarta señal de CA una cuarta frecuencia y una cuarta amplitud (A2), en donde la cuarta la frecuencia y la cuarta amplitud (A2) se seleccionan para imponer un campo eléctrico que reduce la motilidad de las células cancerosas, y en donde la cuarta amplitud (A2) es menor que la tercera amplitud (A1), y (e) repetir continuamente (a) a (d) en una secuencia alternativa durante un curso de tratamiento.

2.- El aparato de la reivindicación 1, en donde la segunda amplitud (A2) es menor al 75% de la primera amplitud (A1) y la cuarta amplitud (A2) es menor al 75% de la tercera amplitud (A1).

3.- El aparato de la reivindicación 1, en donde la segunda frecuencia y la primera frecuencia son diferentes, y la cuarta frecuencia y la tercera frecuencia son diferentes.

30 4.- El aparato de la reivindicación 1, en donde la segunda amplitud (A2) es menor al 75% de la primera amplitud (A1), la cuarta amplitud (A2) es menor al 75% de la tercera amplitud (A1), la segunda frecuencia y la primera frecuencia son diferentes, la cuarta frecuencia y la tercera frecuencia son diferentes, la tercera frecuencia es igual que la primera frecuencia, la cuarta frecuencia es igual que la segunda frecuencia, el primer intervalo de tiempo es inferior a 5 segundos, el segundo intervalo de tiempo es inferior a 5 segundos, el tercer intervalo de tiempo es inferior a 5 segundos, y el cuarto intervalo de tiempo es inferior a 5 segundos.

5.- El aparato de la reivindicación 1, en donde la primera frecuencia es $200 \text{ kHz} \pm 10\%$, la segunda frecuencia es $300 \text{ kHz} \pm 10\%$, la tercera frecuencia es $200 \text{ kHz} \pm 10\%$, y la cuarta frecuencia es $300 \text{ kHz} \pm 10\%$.

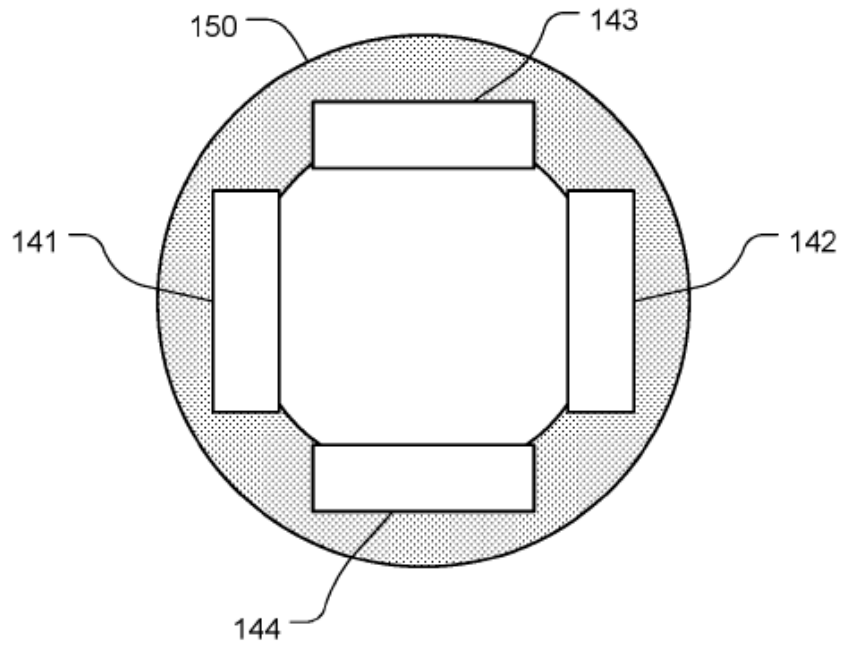


FIG. 1

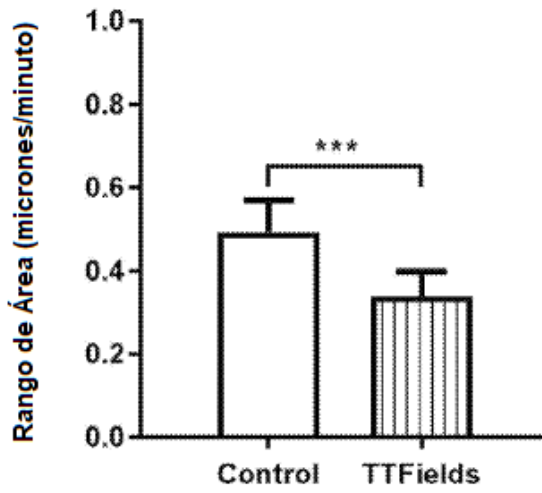


FIG. 2A

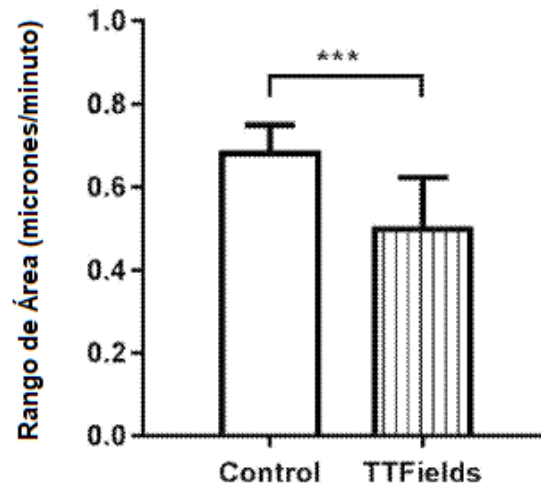


FIG. 2B

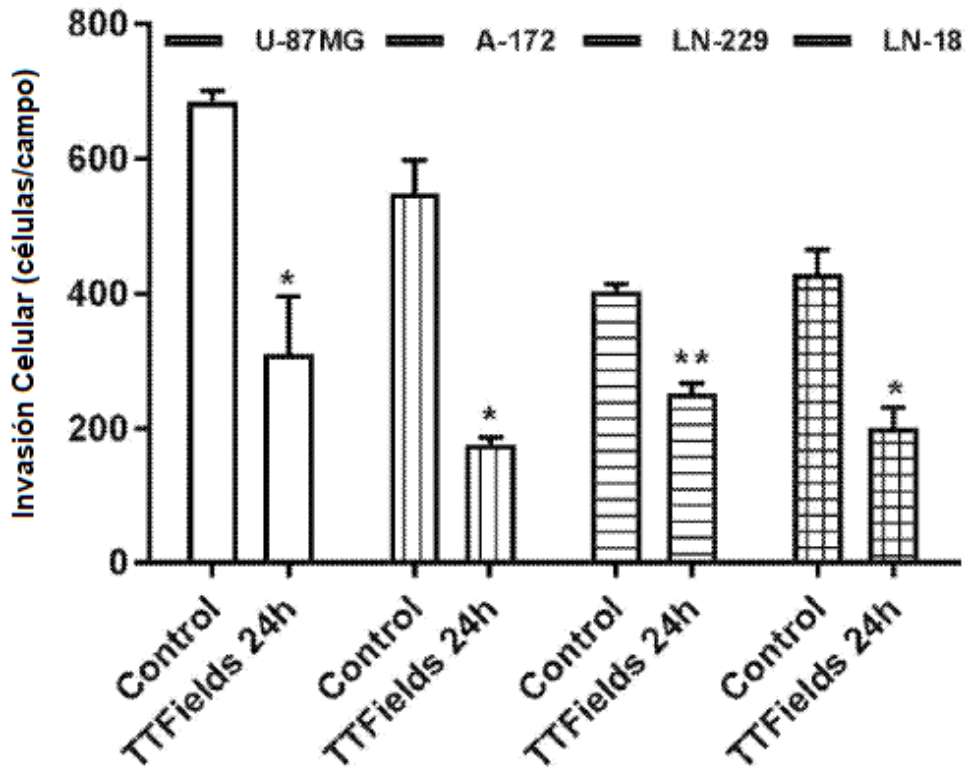


FIG. 3

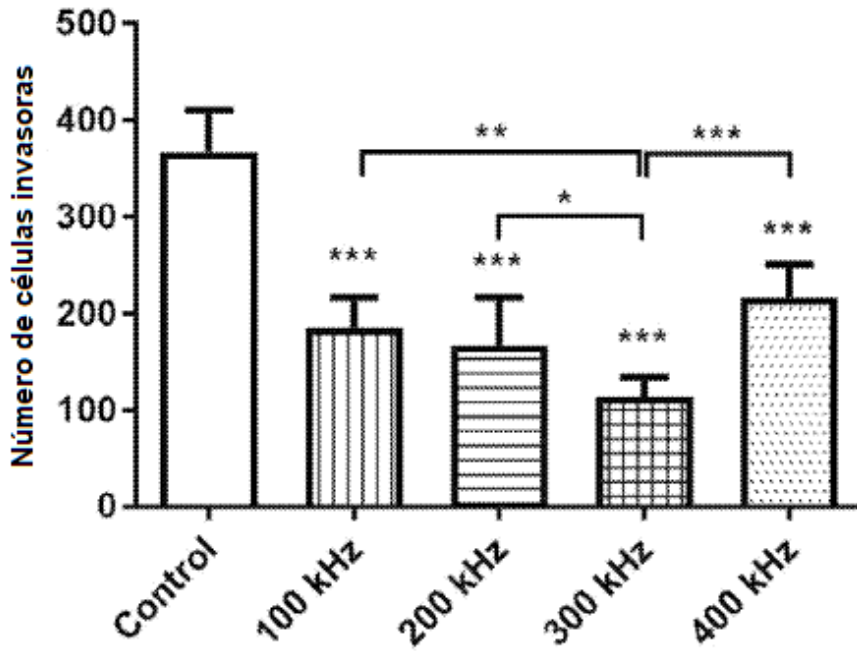


FIG. 4

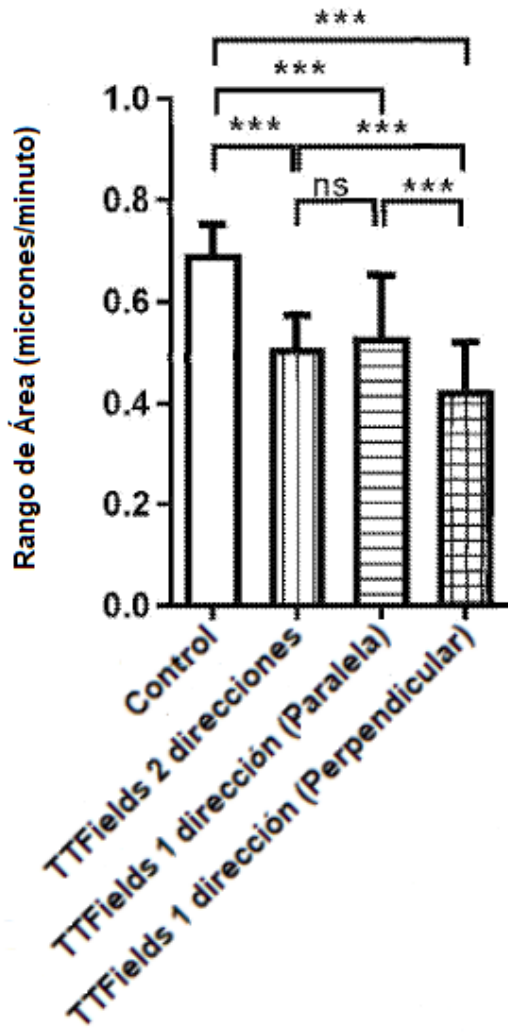


FIG. 5

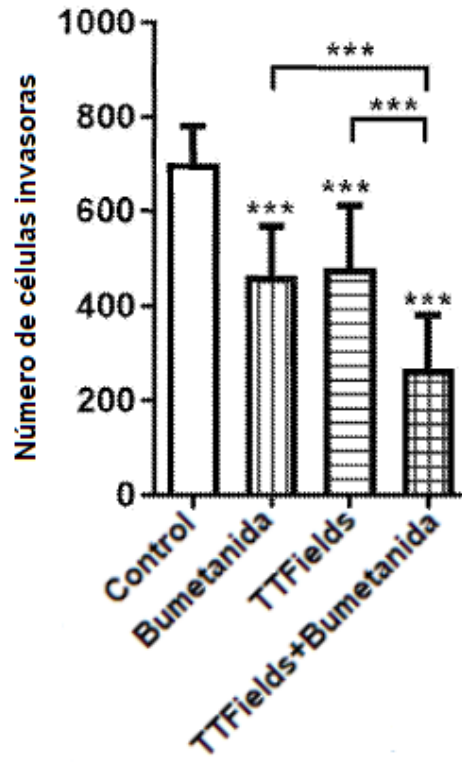


FIG. 6

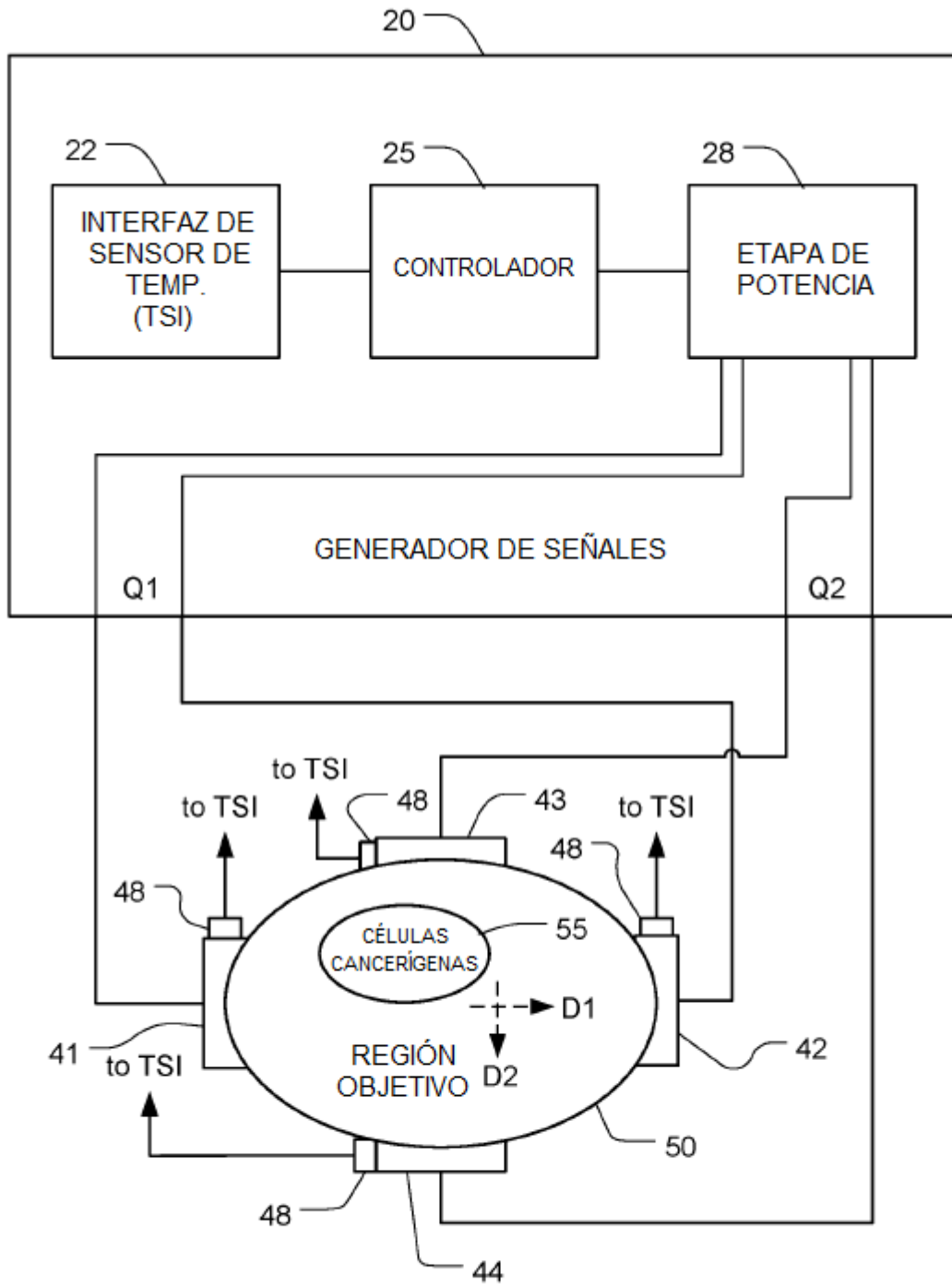


FIG. 7

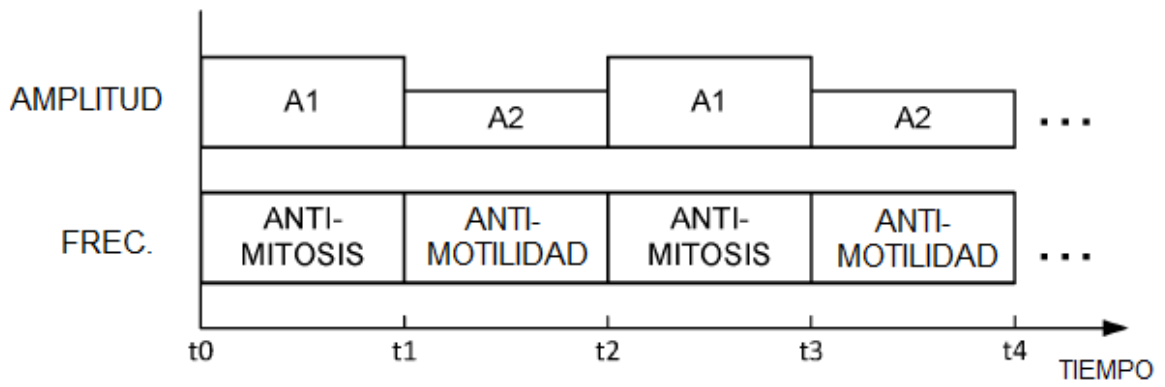


FIG. 8

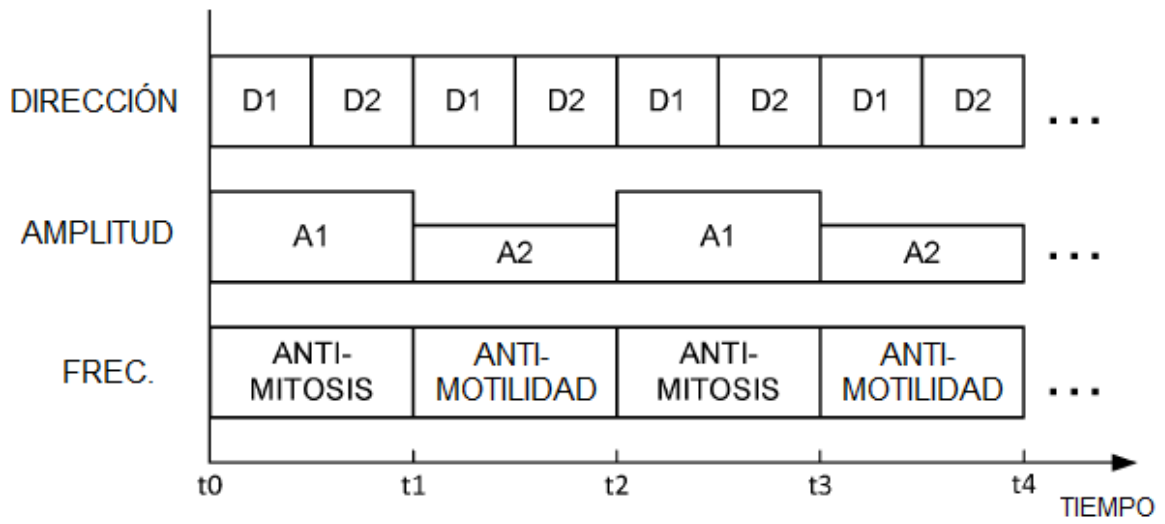


FIG. 9A

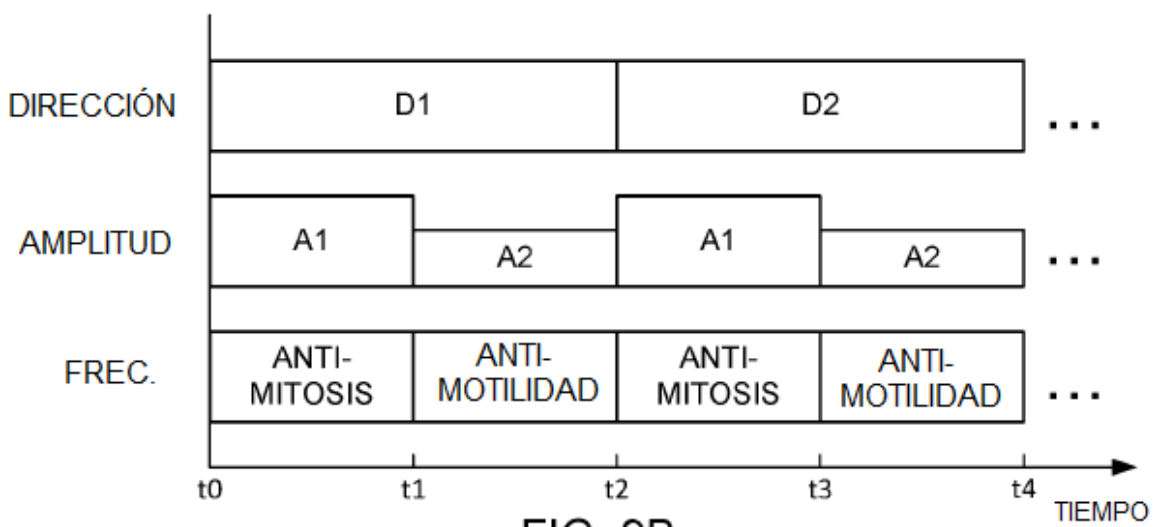


FIG. 9B