



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112020021981-9 A2



(22) Data do Depósito: 02/05/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 26/01/2021

(54) Título: SISTEMAS, MÉTODOS E APARELHOS PARA ELETROPORAÇÃO

(51) Int. Cl.: A61K 38/20; A61N 1/32; C12N 15/08; A61B 5/053.

(30) Prioridade Unionista: 02/05/2018 US 62/665,553; 02/11/2018 US 62/755,001; 08/10/2018 US 62/742,684; 15/10/2018 US 62/745,699; 26/03/2019 US 62/824,011.

(71) Depositante(es): ONCOSEC MEDICAL INCORPORATED.

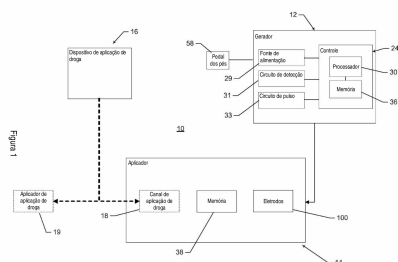
(72) Inventor(es): JOHN F. RODRIGUEZ; BRANDON DANG PHUNG; CHRISTOPHER G. TWITTY; JASON JIN.

(86) Pedido PCT: PCT US2019030437 de 02/05/2019

(87) Publicação PCT: WO 2019/213421 de 07/11/2019

(85) Data da Fase Nacional: 27/10/2020

(57) Resumo: A presente invenção refere-se a sistemas, métodos e aparelhos para eletroporação, que podem incluir um aplicador; um endoscópio, trocarte ou similares; um gerador; e um dispositivo de aplicação de fármaco. O aplicador pode incluir uma porção de controle, um tubo de inserção conectado à porção de controle, um atuador acoplado à porção de controle e uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo tendo uma primeira ponta e um segundo eletrodo tendo uma segunda ponta. A pluralidade de eletrodos pode ser configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta ao acionamento pelo atuador. Uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo pode ser maior na posição implantada do que na posição retraída. Também se refere a diversos métodos de tratamento.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para
“SISTEMAS, MÉTODOS E APARELHOS PARA ELETROPORAÇÃO”.

REFERÊNCIA CRUZADA A APLICAÇÕES RELACIONADAS

[001] Este pedido reivindica o benefício do seguinte Pedido de Patente Provisório nº U.S. 62/665.553, depositado em 2 de maio de 2018; 62/742.684 depositado em 8 de outubro de 2018; 62/745.699 depositado em 15 de outubro de 2018; 62/755.001 depositado em 2 de novembro de 2018; e 62/824.011 depositado em 26 de março de 2019, cada um dos quais é incorporado por referência neste documento em sua totalidade como se integralmente estabelecido neste documento.

ANTECEDENTES

[002] Campos elétricos podem ser usados para criar poros em células através de um processo conhecido como eletroporação para aumentar a permeabilidade de células alvo e administrar vários tratamentos localizados a um paciente. Existe uma necessidade de terapia de eletroporação em áreas de difícil alcance do corpo, como tratar tumores dentro dos pulmões e há uma necessidade de fornecer uma grande área de tratamento, enquanto ainda é capaz de encaixar os dispositivos de eletroporação nessas áreas de difícil alcance. Há também uma necessidade de administrar uma variedade de agentes de tratamento e terapias com um alto grau de precisão e invasividade mínima.

[003] Através de esforço aplicado, engenhosidade e inovação, muitos desses problemas identificados foram resolvidos através do desenvolvimento de soluções que são incluídas nas modalidades da presente invenção, muitos dos quais são descritos em detalhes neste documento.

BREVE SUMÁRIO

[004] São divulgados neste documento sistemas de eletroporação,

aplicadores, métodos de tratamento e uso associados e aparelho (conjunto de dispositivos e montagens associadas) associado. Em algumas modalidades, um aplicador para eletroporação pode ser fornecido. O aplicador pode incluir uma porção de controle, um tubo de inserção conectado à porção de controle, um atuador acoplado à porção de controle e uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo tendo uma primeira ponta e um segundo eletrodo tendo uma segunda ponta. Em algumas modalidades, pelo menos uma porção do atuador pode ser móvel em relação à porção de controle e ao tubo de inserção. A pluralidade de eletrodos pode ser configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta ao acionamento pelo atuador. Em algumas modalidades, uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo pode ser maior na posição implantada do que na posição retraída.

[005] Em algumas modalidades, a pluralidade de eletrodos pode ser reentrância inteiramente dentro do tubo de inserção na posição retraída. Pelo menos uma porção do primeiro eletrodo e do segundo eletrodo pode ser configurada para se estender do tubo de inserção para o tecido adjacente na posição implantada.

[006] Na posição implantada, a distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo pode ser maior que um diâmetro externo de uma extremidade distal do tubo de inserção.

[007] Em algumas modalidades, o tubo de inserção pode incluir um primeiro canal em ângulo e um segundo canal em ângulo definido em uma extremidade distal do tubo de inserção. O primeiro canal angular e o segundo canal angular podem ser, cada um, orientados em ângulos agudos em relação a um eixo longitudinal do tubo de inserção. O primeiro eletrodo pode ser configurado para se estender, pelo menos

parcialmente, através do primeiro canal angular na posição implantada. Em algumas modalidades, o segundo eletrodo pode ser configurado para se estender, pelo menos parcialmente, através do segundo canal angular na posição implantada. Na posição retraída, o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo podem ser dispostos paralelos um ao outro dentro do tubo de inserção. Na posição implantada, pelo menos uma porção do primeiro eletrodo e pelo menos uma porção do segundo eletrodo podem ser dispostas nos respectivos ângulos agudos do primeiro canal angular e do segundo canal angular.

[008] Em algumas modalidades, o aplicador pode incluir uma bexiga engatada com o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo. A bexiga pode ser disposta inteiramente dentro do tubo de inserção na posição retraída, e a bexiga pode ser disposta pelo menos parcialmente fora do tubo de inserção na posição implantada.

[009] Em algumas modalidades, pelo menos uma porção do primeiro eletrodo e do segundo eletrodo pode compreender nitinol. O nitinol pode ser configurado para alterar a forma em um caso em que a pluralidade de eletrodos está na posição implantada, e o nitinol pode ser configurado para alterar a forma acima da temperatura corporal humana.

[0010] Em algumas modalidades, o aplicador pode incluir uma luva de nitinol fixada a cada um dentre o primeiro eletrodo e um segundo eletrodo, em que o nitinol é configurado para mudar de forma no caso em que a pluralidade de eletrodos estiver na posição implantada, e em que o nitinol é configurado para mudar de forma acima da temperatura corporal humana.

[0011] Em algumas modalidades, o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo podem ser não lineares.

[0012] O aplicador pode incluir um transportador disposto de forma móvel pelo menos parcialmente dentro do tubo de inserção. O primeiro

eletrodo e o segundo eletrodo podem, cada um, ser dispostos pelo menos parcialmente dentro do transportador. O transportador pode definir uma primeira porção associada ao primeiro eletrodo e uma segunda porção associada ao segundo eletrodo, e a primeira porção e a segunda porção podem ser configuradas para se expandir radialmente longe uma da outra ao se mover da posição retraída para a posição expandida. O aplicador pode incluir ainda um membro interno configurado para receber uma força do atuador para expandir a primeira porção e a segunda porção do transportador radialmente para fora. O aplicador pode incluir uma mola disposta entre a primeira porção e a segunda porção. A mola pode ser configurada para expandir a primeira porção e a segunda porção do transportador radialmente para fora. Em algumas modalidades, o aplicador pode incluir um canal de aplicação de fármaco configurado para conectar, de forma fluida, um dispositivo de aplicação de fármaco a um local alvo através do tubo de inserção do aplicador.

[0013] Em algumas modalidades, o atuador pode ser configurado para deslocar o canal de aplicação de fármaco em direção ao local alvo. O canal de aplicação de fármaco pode ser configurado para se mover entre uma posição retraída do canal de aplicação de fármaco e a posição implantada do canal de aplicação de fármaco simultaneamente com a pluralidade de eletrodos em resposta ao acionamento pelo atuador. Em algumas modalidades, o tubo de inserção define uma ponta perfurante em uma extremidade distal.

[0014] Em outra modalidade, é fornecido um sistema para eletroporação. O sistema pode incluir um aplicador que pode incluir uma porção de controle, um tubo de inserção conectado à porção de controle, um atuador acoplado à porção de controle e uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo tendo uma primeira ponta e um segundo eletrodo tendo uma segunda ponta. O sistema

pode ainda incluir um endoscópio, trocarte ou similares definindo um canal de trabalho, um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos e um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir um ou mais agentes de tratamento através do canal de trabalho do endoscópio (*por exemplo*, um endoscópio flexível, um endoscópio rígido, trocarte ou similares).

[0015] Conforme usado neste documento, o termo "porção de controle" pode se referir a uma porção operável pelo usuário do aplicador tendo uma ou mais conexões elétricas e/ou hidráulicas para receber pulsos elétricos e/ou um ou mais agentes de tratamento, respectivamente. Conforme usado neste documento, o termo "tubo de inserção" pode se referir a qualquer porção alongada e oca do aplicador tendo qualquer forma transversal, pelo menos uma porção da qual é configurada para ser inserida em um paciente e através da qual pulsos elétricos e/ou um ou mais agentes de tratamento são configurados para serem direcionados ao local de tratamento alvo.

[0016] Em algumas modalidades, pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e ao tubo de inserção. A pluralidade de eletrodos pode ser configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta ao acionamento pelo atuador. Uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo pode ser maior na posição implantada do que na posição retraída. Pelo menos uma porção do tubo de inserção do aplicador pode ser configurada para passar através do canal de trabalho. O gerador pode ser configurado para entregar sinais elétricos à pluralidade de eletrodos.

[0017] Em algumas modalidades na posição implantada, a distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo pode ser maior que um diâmetro interno do canal de trabalho.

[0018] Em algumas modalidades, na posição retraída, o tubo de inserção e a pluralidade de eletrodos podem ser configurados para passar através do canal de trabalho do endoscópio ou similares.

[0019] O sistema pode incluir um processador configurado para fazer com que o gerador transmita sinais elétricos para o primeiro eletrodo e para o segundo eletrodo e receba sinais elétricos indicativos de uma impedância de um tecido disposto entre o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo.

[0020] Em algumas modalidades, o endoscópio pode ser um broncoscópio.

[0021] Em ainda outra modalidade, um método de tratamento endoscópico ou laparoscópico de um tumor pode ser fornecido. O método pode incluir a inserção de um endoscópio ou similar em um paciente até que uma extremidade distal do endoscópio seja disposta adjacente a um local alvo, inserir uma porção de um dispositivo de aplicação de fármaco em um canal de trabalho do endoscópio, de modo que a porção do dispositivo de aplicação de fármaco seja posicionada adjacente ao local alvo, administrar um agente de tratamento ao local alvo a partir do dispositivo de aplicação de fármaco, remover a parte do dispositivo de aplicação de fármaco do endoscópio, inserir um tubo de inserção de um aplicador no canal de trabalho do endoscópio, de modo que uma extremidade distal do tubo de inserção, incluindo uma pluralidade de eletrodos, esteja posicionada adjacente ao local alvo, fornecer um ou mais pulsos elétricos de um gerador aos eletrodos para eletroporar o tecido no local alvo e remover o aplicador e o endoscópio do paciente.

[0022] Em outra modalidade, um sistema para eletroporação pode ser fornecido. O sistema pode incluir um aplicador que pode incluir uma porção de controle, um tubo de inserção conectado à porção de controle, um atuador acoplado à porção de controle e uma pluralidade

de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo tendo uma primeira ponta e um segundo eletrodo tendo uma segunda ponta. O sistema pode ainda incluir um trocarte definindo um canal de trabalho, um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos e um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para administrar um ou mais agentes de tratamento através do canal de trabalho do trocarte. Em algumas modalidades, o trocarte pode ser configurado para perfurar ou, de outra forma, acessar uma cavidade corporal de um indivíduo sob imagens guiadas para administrar uma ou mais terapias.

[0023] Em algumas modalidades, pelo menos uma porção do atuador pode ser móvel em relação à porção de controle e ao tubo de inserção. A pluralidade de eletrodos pode ser configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta ao acionamento pelo atuador. Em algumas modalidades, uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída. Pelo menos uma porção do tubo de inserção do aplicador pode ser configurada para passar através do canal de trabalho para acessar uma lesão visceral. O gerador pode ser configurado para entregar sinais elétricos à pluralidade de eletrodos.

[0024] Em algumas modalidades, são fornecidos métodos de tratamento de uma lesão visceral. O método pode incluir a inserção de um trocarte em um paciente até que uma extremidade distal do trocarte esteja disposta adjacente a um local alvo, inserir uma porção de um dispositivo de aplicação de fármaco em um canal de trabalho do trocarte, de modo que a porção do dispositivo de aplicação de fármaco seja posicionada adjacente ao local alvo, administrar um agente de tratamento ao local alvo a partir do dispositivo de aplicação de fármaco, remover a parte do dispositivo de aplicação de fármaco do trocarte, inserir um tubo de inserção de um aplicador no canal de trabalho do

trocarte, de modo que uma extremidade distal do tubo de inserção, incluindo uma pluralidade de eletrodos, esteja posicionada adjacente ao local alvo, fornecer um ou mais pulsos elétricos de um gerador aos eletrodos para eletroporar o tecido no local alvo e remover o aplicador e o trocarte do paciente.

[0025] Em algumas modalidades, são fornecidos métodos de tratamento de um indivíduo com um tumor. Os métodos incluem administrar ao indivíduo uma dose eficaz de uma molécula terapêutica e administrar terapia de eletroporação ao tumor. A terapia de eletroporação pode incluir a administração de um pulso elétrico ao tumor usando qualquer um dos sistemas de eletroporação descritos neste documento. O tumor pode ser canceroso ou não canceroso. O tumor pode ser, mas não está limitado a um tumor sólido, uma lesão de superfície, uma lesão não superficial, uma lesão visceral dentro de 15 cm da superfície corporal ou uma lesão visceral. Em algumas modalidades, os métodos descritos podem ser usados para tratar tumores primários, bem como tumores e metástases distantes. Em algumas modalidades, os métodos descritos fornecem reduzir o tamanho, redução de volume ou inibir o crescimento de um tumor, inibir o crescimento de células cancerosas, inibir ou reduzir a metástase, reduzir ou inibir o desenvolvimento de câncer metastático e/ou reduzir a recorrência de câncer em um indivíduo que sofre de câncer. O tumor não está limitado a um tipo específico de tumor ou câncer.

[0026] Em algumas modalidades, a molécula terapêutica é administrada a um dispositivo de aplicação de fármaco do aplicador. A molécula terapêutica pode incluir um vetor de expressão que codifica um polipeptídeo terapêutico. Em algumas modalidades, o vetor de expressão codifica um ou mais dentre: polipeptídeo coestimulador, polipeptídeo imunomodulador, citocina imunoestimuladora, inibidor de checkpoint, adjuvante, antígeno ou polipeptídeo de fusão de adjuvante

genético-antígeno. A molécula coestimuladora pode ser selecionada do grupo consistindo em: agonistas de GITR, CD137, CD134, CD40L e CD27. Em algumas modalidades, o vetor de expressão codifica um polipeptídeo compreendendo CXCL9, scFv anti-CD3 ou scFv anti-CTLA-4. A citocina imunoestimuladora pode ser selecionada a partir do grupo que consiste em: TNF α , IL-1, IL-10, IL-12, IL-12 p35, IL-12 p40, IL-15, IL-15R α , IL-23, IL-27, IFN α , IFN β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-21, TGF β , e uma combinação de quaisquer dois dentre TNF α , IL-1, IL-10, IL-12, IL-12 p35, IL-12 p40, IL-15, IL-15R α , IL-23, IL-27, IFN α , IFN β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-21, TGF β . Em algumas modalidades, o vetor de expressão codifica um scFv anti-CD3, CXCL9 ou scFv anti-CTLA-4. Em algumas modalidades, o vetor de expressão codifica e scFv anti-CD3 e IL-12. Em algumas modalidades, o vetor de expressão codifica IL-12 e CXCL9.

[0027] Os métodos podem incluir ainda a administração de uma dose eficaz de um inibidor de checkpoint ao indivíduo. Em algumas modalidades, o inibidor de checkpoint é administrado sistemicamente. O inibidor de checkpoint pode ser codificado no vetor de expressão que codifica uma citocina imunoestimuladora ou em um segundo vetor de expressão e distribuído ao tumor canceroso pela terapia de eletroporação. O inibidor de checkpoint pode ser administrado antes, concomitantemente com ou subsequentemente à eletroporação da citocina imunoestimuladora.

[0028] Em algumas modalidades, o vetor de expressão compreende:

- a) P – A – T – C,
- b) P – A – T – B – T – C, ou
- c) P – C – T – A – T – B

[0029] em que P é um promotor, T é um elemento modificador da tradução, A codifica uma molécula imunomoduladora, uma cadeia de

uma molécula imunoestimuladora ou uma molécula coestimuladora, B codifica uma molécula imunomoduladora, uma cadeia de uma molécula imunomoduladora ou uma molécula coestimuladora, e C codifica uma molécula imunomoduladora, cadeia de uma molécula imunomoduladora, uma molécula coestimuladora, adjuvante genético, antígeno, polipeptídeo de fusão de adjuvante genético-antígeno, quimiocina, ou polipeptídeo de ligação a antígeno.

[0030] Os métodos também podem incluir a perfuração de um tecido com uma extremidade distal do aplicador para acessar o tumor. Os métodos podem compreender ainda otimizar os parâmetros de eletroporação usando EIS.

[0031] Em algumas modalidades, são fornecidos métodos para reduzir a recorrência do crescimento de células tumorais em um tecido de mamífero. Os métodos podem incluir a administração de uma molécula terapêutica ao tumor e/ou um tecido de margem tumoral e a administração de terapia de eletroporação ao tumor e/ou ao tecido de margem tumoral usando qualquer um dos sistemas de eletroporação divulgados neste documento.

[0032] Em algumas modalidades, administrar uma molécula terapêutica inclui injetar um vetor de expressão que codifica a molécula terapêutica no tumor e/ou um tecido de margem tumoral. A terapia de eletroporação pode ser administrada antes ou após a ressecção cirúrgica ou ablação do crescimento de células tumorais.

[0033] Em algumas modalidades, são fornecidos métodos de tratamento de um indivíduo com um tumor. Os métodos podem incluir administrar ao indivíduo uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento baseado em DNA e transfectar pelo menos um agente de tratamento baseado em DNA em uma pluralidade de células do tumor usando um aplicador e gerador de eletroporação. Em algumas modalidades, o gerador pode aplicar pulsos de eletroporação de baixa

tensão ao tumor por meio do aplicador de eletroporação. Em algumas modalidades, pelo menos 4%, pelo menos 5%, pelo menos 6%, pelo menos 7%, pelo menos 8%, pelo menos 9%, ou pelo menos 10% das células tumorais em uma área de tratamento são transfectadas.

[0034] Em algumas modalidades, os pulsos de eletroporação de baixa tensão incluem um campo de 700 V/cm ou menos. Em algumas modalidades, os pulsos de eletroporação de baixa tensão incluem um campo de 600 V/cm ou menos. Em algumas modalidades, os pulsos de eletroporação de baixa tensão incluem um campo de 500 V/cm ou menos. Em algumas modalidades, os pulsos de eletroporação de baixa tensão incluem um campo de 400 V/cm ou menos.

[0035] Em algumas modalidades, cada pulso de eletroporação de baixa tensão define uma duração de 1 ms ou mais. Em algumas modalidades, cada pulso de eletroporação de baixa tensão define uma duração de 1 ms a 1s.

[0036] Em algumas modalidades, os pulsos de eletroporação de baixa tensão definem uma tensão de 600 V ou menos. Em algumas modalidades, os pulsos de eletroporação de baixa tensão compreendem uma tensão de 600V a 5V.

[0037] Em algumas modalidades, o aplicador pode incluir uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; um atuador acoplado à porção de controle; e uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo tendo uma primeira ponta e um segundo eletrodo tendo uma segunda ponta. Pelo menos uma porção do atuador pode ser móvel em relação à porção de controle e ao tubo de inserção. Em algumas modalidades, a pluralidade de eletrodos pode ser configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta ao acionamento pelo atuador. Uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo pode ser maior na posição

implantada do que na posição retraída. Em algumas modalidades, o gerador pode ser conectado eletricamente à pluralidade de eletrodos e o gerador pode fornecer sinais elétricos à pluralidade de eletrodos.

[0038] Em algumas modalidades, é fornecido um método de tratamento de um indivíduo com um tumor. O método pode incluir administrar ao indivíduo uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento baseado em DNA, transfectar o pelo menos um agente de tratamento baseado em DNA em uma pluralidade de células do tumor usando um aplicador e gerador de eletroporação, em que o gerador é configurado para aplicar pulsos de eletroporação de alta tensão ao tumor através do aplicador de eletroporação; e em que 8-10% do pelo menos um agente de tratamento baseado em DNA é transfectado por células do tumor.

[0039] Em algumas modalidades, um método de modulação da não responsividade do inibidor de checkpoint em um indivíduo não responsivo pode ser fornecido. O método pode incluir administrar ao indivíduo não responsivo pelo menos um inibidor de checkpoint; injetar um tumor no indivíduo não responsivo com uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo que codifica uma citocina; e administrar terapia de eletroporação ao tumor.

[0040] Em algumas modalidades do método, o tumor pode estar no fígado. Em algumas modalidades, o tumor pode ser carcinoma hepatocelular. Em algumas modalidades, a citocina pode ser selecionada do grupo consistindo em: TNF α , IL-1, IL-10, IL-12, IL-12 p35, IL-12 p40, IL-15, IL-15R α , IL-23, IL-27, IFN α , IFN β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-21, TGF β , e uma combinação de quaisquer dois dentre TNF α , IL-1, IL-10, IL-12, IL-12 p35, IL-12 p40, IL-15, IL-15R α , IL-23, IL-27, IFN α , IFN β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-21, TGF β . Em algumas modalidades, a citocina pode ser IL-12. Em algumas modalidades, um plasmídeo que codifica CXCL9, scFv anti-CD3 ou

scFv anti-CTLA-4 pode ser administrado a um tumor hepático.

[0041] Em algumas modalidades, um sistema baseado em trocarte para eletroporação pode ser fornecido. Em algumas modalidades, o sistema baseado em trocarte pode incluir um aplicador compreendendo uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e ao tubo de inserção; e uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para se mover entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta à atuação pelo atuador. Em algumas modalidades, uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída. O sistema pode ainda incluir um trocarte que define um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do tubo de inserção do aplicador está configurada para passar através do canal de trabalho. Em algumas modalidades, o sistema pode incluir um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, em que o gerador é configurado para entregar sinais elétricos à pluralidade de eletrodos. O sistema pode ainda incluir um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir um ou mais agentes de tratamento através do canal de trabalho do trocarte.

[0042] Em um aspecto, a presente divulgação refere-se a um aplicador para eletroporação de tecido. Em algumas modalidades, um aplicador inclui uma porção de controle, um tubo de inserção conectado à porção de controle, um atuador acoplado à porção de controle e uma pluralidade de eletrodos. A pluralidade de eletrodos inclui um primeiro eletrodo tendo uma primeira ponta e um segundo eletrodo tendo uma segunda ponta. A pluralidade de eletrodos são configuradas para

mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta ao acionamento do atuador.

[0043] Em algumas modalidades, uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída. Em algumas modalidades, o tubo de inserção inclui um canal de aplicação de fármaco disposto no mesmo, o canal de aplicação de fármaco configurado para receber pelo menos um agente de tratamento. Em alguns exemplos, o canal de aplicação de fármaco é configurado para retrair e implantar com a pluralidade de eletrodos. Em algumas modalidades, um sistema inclui o aplicador e um aplicador de aplicação de fármaco separado. Em algumas modalidades, um sistema inclui o aplicador e um gerador de baixa tensão conectado operacionalmente ao aplicador.

[0044] Em um aspecto, a presente divulgação refere-se a um sistema para eletroporação de tecido. Em algumas modalidades, um aplicador de um sistema inclui um corpo com um tubo de inserção, um atuador acoplado ao corpo e pelo menos um eletrodo. O pelo menos um eletrodo inclui um primeiro eletrodo que tem uma primeira ponta. O pelo menos um eletrodo é configurado para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta ao acionamento do atuador. O gerador é de baixa tensão e é eletricamente conectado ao pelo menos um eletrodo.

[0045] Em algumas modalidades, o sistema inclui um endoscópio configurado para o descarte do tubo de inserção no mesmo. Em algumas modalidades, o aplicador inclui um canal de aplicação de fármaco disposto no mesmo, o canal de aplicação de fármaco configurado para aplicar pelo menos um agente de tratamento.

[0046] Em um aspecto, a presente divulgação refere-se a um método de tratamento de um tecido doente, tal como uma lesão visceral.

Em algumas modalidades, um método inclui a inserção de um endoscópio em um paciente até que uma extremidade distal do endoscópio seja disposta adjacente a um local alvo compreendendo o tecido doente; inserir uma porção de um aplicador em um canal de trabalho do endoscópio, de modo que a porção do aplicador seja posicionada adjacente ao local alvo com o endoscópio disposto adjacente ao local alvo; administrar pelo menos um agente de tratamento ao local alvo através do aplicador; acionar o aplicador para implantar uma pluralidade de eletrodos do aplicador; e administrar um ou mais pulsos elétricos de um gerador aos eletrodos para eletroporar o tecido no local alvo.

[0047] Em algumas modalidades, um método de tratamento de tecido doente inclui inserir um endoscópio em um paciente até que uma extremidade distal do endoscópio seja disposta adjacente a um local alvo compreendendo o tecido doente; inserir uma porção de um dispositivo de aplicação de fármaco em um canal de trabalho do endoscópio, de modo que a porção do dispositivo de aplicação de fármaco seja posicionada adjacente ao local alvo com o endoscópio disposto adjacente ao local alvo; administrar pelo menos um agente de tratamento ao local alvo a partir do dispositivo de aplicação de fármaco; remover a porção do dispositivo de aplicação de fármaco do endoscópio; inserir um tubo de inserção de um aplicador no canal de trabalho do endoscópio, de modo que uma extremidade distal do tubo de inserção, incluindo uma pluralidade de eletrodos, esteja posicionada adjacente ao local alvo com o endoscópio disposto adjacente ao local alvo; fornecer um ou mais pulsos elétricos de um gerador aos eletrodos para eletroporar o tecido no local alvo; e remover o aplicador e o endoscópio do paciente.

[0048] Em algumas modalidades, um método de tratamento de tecido doente inclui a inserção de um dispositivo de aplicação de

fármaco em um paciente até que uma porção do dispositivo de aplicação de fármaco seja posicionada adjacente a um local alvo compreendendo o tecido doente; administrar um agente de tratamento ao local alvo a partir do dispositivo de aplicação de fármaco; remoção do dispositivo de aplicação de fármaco do paciente; inserir um endoscópio em um paciente até que uma extremidade distal do endoscópio seja disposta adjacente a um local alvo compreendendo o tecido doente; inserir um tubo de inserção de um aplicador no canal de trabalho do endoscópio, de modo que uma extremidade distal do tubo de inserção, incluindo uma pluralidade de eletrodos, é posicionado adjacente ao local alvo com o endoscópio disposto adjacente ao local alvo; fornecer um ou mais pulsos elétricos de um gerador aos eletrodos para eletroporar o tecido no local alvo; e remoção do aplicador e do endoscópio do paciente.

[0049] Em uma modalidade de exemplo, um método de tratamento de uma lesão em um pulmão de um indivíduo que não responde ou que prevê-se não responder à terapia anti-PD-1 ou anti-PD-L1 pode incluir a administração à lesão de uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo codificante para IL-12; administrar a terapia de eletroporação à lesão; e administrar ao indivíduo uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint; em que a administração da terapia de eletroporação compreende administrar um pulso elétrico à lesão usando um sistema de eletroporação compreendendo: um aplicador compreendendo: uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que os eletrodos da pluralidade são configurados para se mover entre uma posição retraída e uma posição implantada; em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída. O sistema pode incluir ainda um

gerador conectado eletricamente à pluralidade de eletrodos, em que a administração do pulso elétrico à lesão compreende dispor o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo na ou adjacente à lesão e entregar o pulso elétrico do gerador para o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo.

[0050] Em algumas modalidades, o aplicador ainda compreende uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

[0051] Em algumas modalidades, o sistema de eletroporação ainda compreende um dispositivo de inserção compreendendo um dentre um trocarte rígido ou endoscópio flexível definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão.

[0052] Em algumas modalidades, o sistema de eletroporação ainda compreende um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir pelo menos um dentre o pelo menos um plasmídeo ou o pelo menos um inibidor de checkpoint através do pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

[0053] Em algumas modalidades, o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir pelo menos um dentre o pelo menos um plasmídeo ou o pelo menos um inibidor de checkpoint para a lesão.

[0054] Em algumas modalidades, o sistema de eletroporação ainda compreende pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um plasmídeo, o pelo menos um inibidor de checkpoint, ou a terapia de eletroporação.

[0055] Em algumas modalidades, o sistema de eletroporação ainda compreende pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um plasmídeo, o pelo menos um inibidor de checkpoint, ou a terapia de eletroporação. Em algumas modalidades, o pelo menos um dispositivo de visualização compreende um scanner de tomografia computadorizada.

[0056] Em algumas modalidades, o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão. Os pulsos elétricos podem ter uma intensidade de campo de 700 V/cm ou menos.

[0057] Em algumas modalidades, o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

[0058] Em algumas modalidades, o pelo menos um plasmídeo compreende telseplasmídeos tavokinogene.

[0059] Em algumas modalidades, o inibidor de checkpoint é administrado sistemicamente.

[0060] Em algumas modalidades, o inibidor de checkpoint é um anticorpo anti-PD-1 ou um anticorpo anti-PD-L1.

[0061] Em algumas modalidades, o inibidor de checkpoint compreende: nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab ou MPDL3280A.

[0062] Em outra modalidade de exemplo, um sistema para tratar uma lesão em um pulmão de um indivíduo que é não responsivo ou previsto como não responsivo à terapia anti-PD-1 ou anti-PDL1 pode incluir um aplicador compreendendo uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que os eletrodos da pluralidade são configurados para se mover entre uma posição retraída e uma posição implantada; em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída; um gerador

eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, em que o gerador é configurado para fornecer um pulso elétrico ao primeiro eletrodo e segundo eletrodo para administrar o pulso elétrico à lesão; e pelo menos um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir ao indivíduo uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo codificante para IL-12 e uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint.

[0063] Em algumas modalidades, o aplicador ainda compreende uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

[0064] Em algumas modalidades, o sistema pode incluir um dispositivo de inserção compreendendo um dentre um trocarte rígido ou endoscópio flexível definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão.

[0065] Em algumas modalidades, o sistema pode incluir um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um plasmídeo através do pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

[0066] Em algumas modalidades, o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um plasmídeo à lesão.

[0067] Em algumas modalidades, o sistema pode incluir pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um plasmídeo ou a terapia de eletroporação.

[0068] Em algumas modalidades, o sistema pode incluir pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão

antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um plasmídeo ou a terapia de eletroporação. O pelo menos um dispositivo de visualização pode incluir um scanner de tomografia computadorizada.

[0069] Em algumas modalidades, o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão. Em algumas modalidades, os pulsos elétricos têm uma intensidade de campo de 700 V/cm ou menos.

[0070] Em algumas modalidades, o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

[0071] Em algumas modalidades, o pelo menos um plasmídeo compreende telseplasmídeos tavokinogene.

[0072] Em ainda outra modalidade de exemplo, um método de tratamento de uma lesão em um pulmão de um indivíduo pode incluir administrar à lesão uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento; administração de eletroporação à lesão, a terapia de eletroporação compreendendo administrar um pulso elétrico à lesão usando um sistema de eletroporação compreendendo: um aplicador compreendendo: uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que os eletrodos da pluralidade são configurados para se mover entre uma posição retraída e uma posição implantada; em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída. O sistema pode incluir ainda um gerador conectado eletricamente à pluralidade de eletrodos, em que a administração do pulso elétrico à lesão compreende dispor o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo na ou adjacente à lesão e entregar o pulso elétrico do gerador para o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo.

[0073] Em algumas modalidades, o aplicador ainda compreende uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de

controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

[0074] Em algumas modalidades, o sistema de eletroporação pode incluir ainda um dispositivo de inserção que define pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através de pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão.

[0075] Em algumas modalidades, o sistema de eletroporação pode incluir ainda um dispositivo de aplicação de fármacos configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento através de pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção. Em algumas modalidades, o dispositivo de inserção pode incluir um broncoscópio, e em que o aplicador é pelo menos parcialmente flexível.

[0076] Em algumas modalidades, o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento à lesão.

[0077] Em algumas modalidades, o sistema de eletroporação ainda compreende pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

[0078] Em algumas modalidades, o sistema de eletroporação ainda compreende pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação. O pelo menos um dispositivo de visualização pode incluir um scanner de tomografia computadorizada.

[0079] Em algumas modalidades, o gerador é configurado para

emitir pulsos elétricos de baixa tensão. Os pulsos elétricos podem ter uma intensidade de campo de 700 V/cm ou menos.

[0080] Em algumas modalidades, o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

[0081] Em algumas modalidades, a administração, ao indivíduo, da dose eficaz do pelo menos um agente de tratamento compreende administrar uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo que codifica uma citocina. O pelo menos um plasmídeo pode incluir telseplasmídeos tavokinogene. Em algumas modalidades, a administração ao indivíduo da dose eficaz do pelo menos um agente de tratamento pode incluir ainda a administração ao indivíduo de uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint.

[0082] Em algumas modalidades, o método pode incluir a inserção de uma porção do aplicador no pulmão do indivíduo através de um esôfago do indivíduo.

[0083] Em outra modalidade de exemplo, um sistema para tratar uma lesão em um pulmão de um indivíduo pode incluir um aplicador compreendendo uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que os eletrodos da pluralidade são configurados para se mover entre uma posição retraída e uma posição implantada; em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída; um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, em que o gerador é configurado para fornecer um pulso elétrico ao primeiro eletrodo e segundo eletrodo para administrar o pulso elétrico à lesão; e pelo menos um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir ao indivíduo uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento.

[0084] Em algumas modalidades, o aplicador ainda compreende

uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

[0085] Em algumas modalidades, o sistema pode incluir um dispositivo de inserção definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão.

[0086] Em algumas modalidades, o sistema pode incluir um dispositivo de aplicação de fármacos configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento através de pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção. O dispositivo de inserção pode incluir um broncoscópio, e em que o aplicador é pelo menos parcialmente flexível.

[0087] Em algumas modalidades, o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento à lesão.

[0088] Em algumas modalidades, o sistema pode incluir pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a distribuição de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

[0089] Em algumas modalidades, o sistema pode incluir pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão antes ou durante a distribuição de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação. O pelo menos um dispositivo de visualização pode incluir um scanner de tomografia computadorizada.

[0090] Em algumas modalidades, o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão. Os pulsos elétricos podem ter

uma intensidade de campo de 700 V/cm ou menos.

[0091] Em algumas modalidades, o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

[0092] Em uma modalidade de exemplo, um método de tratamento de uma lesão visceral em um pâncreas de um indivíduo pode incluir a administração ao indivíduo de uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento; administrar a terapia de eletroporação à lesão visceral, a terapia de eletroporação compreendendo administrar um pulso elétrico à lesão visceral usando um sistema de eletroporação compreendendo: um aplicador compreendendo: uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que os eletrodos da pluralidade são configurados para se mover entre uma posição retraída e uma posição implantada; em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída. O sistema pode incluir ainda um gerador conectado eletricamente à pluralidade de eletrodos, em que a administração do pulso elétrico à lesão visceral compreende dispor o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo na ou adjacente à lesão visceral e entregar o pulso elétrico do gerador para o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo.

[0093] Em algumas modalidades, o aplicador ainda compreende uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

[0094] Em algumas modalidades, o sistema pode incluir um dispositivo de inserção definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar

através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão visceral. Em algumas modalidades, o sistema de eletroporação ainda compreende um dispositivo de aplicação de fármacos configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento através de pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção. Em algumas modalidades, o dispositivo de inserção compreende um endoscópio e em que o aplicador é pelo menos parcialmente flexível.

[0095] Em algumas modalidades, o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento à lesão visceral.

[0096] Em algumas modalidades, o sistema de eletroporação ainda compreende pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

[0097] Em algumas modalidades, o sistema de eletroporação ainda compreende pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão visceral antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação. O pelo menos um dispositivo de visualização pode incluir um scanner de tomografia computadorizada.

[0098] Em algumas modalidades, o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão. Os pulsos elétricos podem ter uma intensidade de campo de 700 V/cm ou menos.

[0099] Em algumas modalidades, o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

[00100] Em algumas modalidades, a administração, ao indivíduo, da dose eficaz do pelo menos um agente de tratamento compreende administrar uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo que codifica uma citocina. O pelo menos um plasmídeo pode incluir telseplasmídeos

tavokinogene.

[00101] Em algumas modalidades, a administração ao indivíduo da dose eficaz do pelo menos um agente de tratamento ainda compreende a administração ao indivíduo de uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint.

[00102] Em algumas modalidades, o aplicador ainda compreende uma ponta perfurante. O método pode incluir ainda inserir uma porção do aplicador em um estômago do indivíduo; perfurar uma parede do estômago com a ponta de perfuração; e mover a pluralidade de eletrodos da posição retraída para a posição implantada.

[00103] Em uma modalidade de exemplo, um sistema para tratar uma lesão visceral em um pâncreas de um indivíduo pode incluir um aplicador compreendendo uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que os eletrodos da pluralidade são configurados para se moverem entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta à atuação pelo atuador; em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída; um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, em que o gerador é configurado para fornecer um pulso elétrico ao primeiro eletrodo e segundo eletrodo para administrar o pulso elétrico à lesão visceral; e pelo menos um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir ao indivíduo uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento.

[00104] Em algumas modalidades, o aplicador ainda compreende uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova

entre a posição retraída e a posição implantada.

[00105] Em algumas modalidades, o sistema pode incluir um dispositivo de inserção definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão visceral. Em algumas modalidades, o sistema pode incluir um dispositivo de aplicação de fármacos configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento através de pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção. Em algumas modalidades, o dispositivo de inserção compreende um broncoscópio e em que o aplicador é pelo menos parcialmente flexível.

[00106] Em algumas modalidades, o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento à lesão visceral.

[00107] Em algumas modalidades, o sistema pode incluir pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a distribuição de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

[00108] Em algumas modalidades, o sistema pode incluir pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão visceral antes ou durante a distribuição de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação. O pelo menos um dispositivo de visualização pode incluir um scanner de tomografia computadorizada.

[00109] Em algumas modalidades, o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão. Os pulsos elétricos podem ter uma intensidade de campo de 700 V/cm ou menos.

[00110] Em algumas modalidades, o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

[00111] Em algumas modalidades, o aplicador ainda compreende

uma ponta perfurante configurada para perfurar a parede do estômago do indivíduo para administrar pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou o pulso elétrico na ou próximo à lesão visceral no pâncreas.

[00112] Em uma modalidade de exemplo, um método de tratamento de uma lesão de um indivíduo pode incluir administrar ao indivíduo uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento; administrar terapia de eletroporação à lesão, a terapia de eletroporação compreendendo administrar um pulso elétrico à lesão usando um sistema de eletroporação compreendendo: um aplicador compreendendo uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta. O sistema de eletroporação pode incluir ainda um gerador conectado eletricamente à pluralidade de eletrodos, em que a administração do pulso elétrico à lesão compreende dispor o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo na ou adjacente à lesão e entregar o pulso elétrico do gerador para o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo.

[00113] Em algumas modalidades, a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada, e em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída.

[00114] Em algumas modalidades, o aplicador ainda compreende uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

[00115] Em algumas modalidades, o sistema de eletroporação ainda compreende um dispositivo de inserção que define pelo menos um

canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através de pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão.

[00116] Em algumas modalidades, o sistema de eletroporação ainda compreende um dispositivo de aplicação de fármacos configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento através de pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

[00117] Em algumas modalidades, o dispositivo de inserção compreende um endoscópio e em que o aplicador é pelo menos parcialmente flexível.

[00118] Em algumas modalidades, o dispositivo de inserção compreende um trocarte, e em que o aplicador é substancialmente rígido.

[00119] Em algumas modalidades, o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento à lesão.

[00120] Em algumas modalidades, o sistema de eletroporação ainda compreende pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

[00121] Em algumas modalidades, o sistema de eletroporação ainda compreende pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação. O pelo menos um dispositivo de visualização pode incluir um scanner de tomografia computadorizada.

[00122] Em algumas modalidades, o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão. Os pulsos elétricos podem ter uma intensidade de campo de 700 V/cm ou menos.

[00123] Em algumas modalidades, o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

[00124] Em algumas modalidades, o tratamento da lesão compreende administrar uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo que codifica uma citocina. Em algumas modalidades, a citocina compreende IL-12. Em algumas modalidades, o pelo menos um plasmídeo compreende telseplasmídeos tavokinogene. Em algumas modalidades, o tratamento da lesão ainda compreende administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint.

[00125] Em algumas modalidades, o agente de tratamento compreende pelo menos um plasmídeo que codifica um polipeptídeo imunomodulador. Em algumas modalidades, o polipeptídeo imunomodulador compreende: uma citocina, uma molécula coestimuladora, um adjuvante genético, um antígeno, um polipeptídeo de fusão de adjuvante genético-antígeno, uma quimiocina ou um polipeptídeo de ligação a antígeno.

[00126] Em uma modalidade de exemplo, um sistema para tratar uma lesão de um indivíduo pode incluir um aplicador compreendendo uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta; um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, em que o gerador é configurado para fornecer um pulso elétrico ao primeiro eletrodo e segundo eletrodo para administrar o pulso elétrico à lesão; e pelo menos um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir ao indivíduo uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento.

[00127] Em algumas modalidades, a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada, e em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição

implantada do que na posição retraída.

[00128] Em algumas modalidades, o aplicador ainda compreende uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

[00129] Em algumas modalidades, o sistema pode incluir um dispositivo de inserção definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão.

[00130] Em algumas modalidades, o sistema pode incluir um dispositivo de aplicação de fármacos configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento através de pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

[00131] Em algumas modalidades, o dispositivo de inserção compreende um endoscópio e em que o aplicador é pelo menos parcialmente flexível.

[00132] Em algumas modalidades, o dispositivo de inserção compreende um trocarte, e em que o aplicador é substancialmente rígido.

[00133] Em algumas modalidades, o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento à lesão.

[00134] Em algumas modalidades, o sistema pode incluir pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a distribuição de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou o pulso elétrico.

[00135] Em algumas modalidades, o sistema pode incluir pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão

antes ou durante a distribuição de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a pulso elétrico. O pelo menos um dispositivo de visualização pode incluir um scanner de tomografia computadorizada.

[00136] Em algumas modalidades, o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão. Os pulsos elétricos podem ter uma intensidade de campo de 700 V/cm ou menos.

[00137] Em algumas modalidades, o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

[00138] Em algumas modalidades, o tratamento da lesão compreende aplicar uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo que codifica uma citocina. Em algumas modalidades, o pelo menos um plasmídeo compreende telseplasmídeos tavokinogene. Em algumas modalidades, a distribuição, à lesão, da dose eficaz do pelo menos um agente de tratamento ainda compreende administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint.

[00139] Em algumas modalidades, o agente de tratamento compreende pelo menos um plasmídeo que codifica um polipeptídeo imunomodulador.

[00140] Em algumas modalidades, o polipeptídeo imunomodulador compreende: uma citocina, uma molécula coestimuladora, um adjuvante genético, um antígeno, um polipeptídeo de fusão de adjuvante genético-antígeno, uma quimiocina ou um polipeptídeo de ligação a antígeno.

[00141] Em algumas modalidades, a molécula imunomoduladora compreende: CXCL9, scFv anti-CD3 ou scFv anti-CTLA-4

BREVE DESCRIÇÃO DAS VÁRIAS VISTAS DOS DESENHOS

[00142] Tendo assim descrito as modalidades da invenção em termos gerais, a referência será agora feita aos desenhos anexos, que não são necessariamente desenhados em escala, e em que:

[00143] A Figura 1 mostra um diagrama de blocos de um sistema de eletroporação de acordo com algumas modalidades;

[00144] A Figura 2 mostra uma vista em seção transversal de uma porção de um aplicador de acordo com algumas modalidades;

[00145] A Figura 3 mostra um gerador e um aplicador simplificado de acordo com algumas modalidades;

[00146] A Figura 4 mostra um endoscópio de acordo com algumas modalidades;

[00147] A Figura 5 mostra uma porção de um tubo de inserção e eletrodos de um aplicador em uma posição retraída de acordo com algumas modalidades;

[00148] A Figura 6 mostra a porção do tubo de inserção e eletrodos da Figura 5 em uma posição implantada;

[00149] A Figura 7 mostra uma porção de um tubo de inserção, eletrodos e bexiga de um aplicador em uma posição retraída de acordo com algumas modalidades;

[00150] A Figura 8 mostra a porção do tubo de inserção, eletrodos e bexiga da Figura 7 em uma posição implantada;

[00151] A Figura 9 mostra uma porção de um tubo de inserção e eletrodos de um aplicador em uma posição retraída de acordo com algumas modalidades;

[00152] A Figura 10 mostra a porção do tubo de inserção e eletrodos da Figura 9 em uma posição implantada;

[00153] A Figura 11 mostra um eletrodo tendo uma luva de nitinol de acordo com algumas modalidades;

[00154] A Figura 12 mostra uma porção de um tubo de inserção e eletrodos de um aplicador em uma posição retraída de acordo com algumas modalidades;

[00155] A Figura 13 mostra a porção do tubo de inserção e eletrodos da Figura 12 em uma posição implantada;

[00156] A Figura 14 mostra uma porção de um tubo de inserção, transportador e eletrodos de um aplicador em uma posição retraída de acordo com algumas modalidades;

[00157] A Figura 15 mostra a porção do tubo de inserção, transportador e eletrodos da Figura 14 em uma posição implantada;

[00158] A Figura 16 mostra uma porção de um tubo de inserção, transportador e eletrodos de um aplicador em uma posição retraída de acordo com algumas modalidades;

[00159] A Figura 17 mostra a porção do tubo de inserção, transportador e eletrodos da Figura 16 em uma posição implantada;

[00160] A Figura 18 mostra um fluxograma de um método de exemplo de tratamento de acordo com algumas modalidades;

[00161] A Figura 19 mostra uma vista lateral de um aplicador de acordo com algumas modalidades;

[00162] A Figura 20 mostra uma vista em perspectiva de um aplicador com eletrodos em uma posição implantada de acordo com algumas modalidades;

[00163] A Figura 21 mostra uma porção de um tubo de inserção e eletrodos de um aplicador em uma posição retraída de acordo com algumas modalidades;

[00164] A Figura 22 mostra uma vista lateral de um aplicador com eletrodos em uma posição implantada de acordo com algumas modalidades;

[00165] A Figura 23 mostra uma vista parcial de uma porção de controle e atuador de um aplicador de acordo com algumas modalidades;

[00166] A Figura 24 mostra uma porção de um tubo de inserção e eletrodos em uma posição implantada de acordo com algumas modalidades;

[00167] A Figura 25 mostra uma vista em perspectiva de um

aplicador com eletrodos em uma posição retraída de acordo com algumas modalidades;

[00168] A Figura 26 mostra uma porção de um tubo de inserção e eletrodos em uma posição implantada de acordo com algumas modalidades;

[00169] A Figura 27 mostra uma vista superior em seção transversal de um aplicador de acordo com algumas modalidades;

[00170] A Figura 28 mostra uma vista lateral de um aplicador com eletrodos em uma posição implantada de acordo com algumas modalidades;

[00171] A Figura 29 mostra uma vista em perspectiva de um tubo de inserção, transportador e eletrodos de acordo com algumas modalidades;

[00172] A Figura 30 mostra uma vista transversal parcial de um tubo de inserção, transportador e eletrodos em uma posição implantada de acordo com algumas modalidades;

[00173] A Figura 31 mostra uma vista em perspectiva de um aplicador com eletrodos em uma posição implantada de acordo com algumas modalidades;

[00174] A Figura 32 mostra uma vista em perspectiva de um aplicador com eletrodos em uma posição retraída de acordo com algumas modalidades;

[00175] A Figura 33 mostra uma vista transversal parcial de um tubo de inserção, um transportador, um elemento de pressão, um fio e um membro interno de acordo com algumas modalidades;

[00176] A Figura 34 mostra uma vista lateral em seção transversal de um aplicador de acordo com algumas modalidades;

[00177] A Figura 35 mostra uma vista lateral de um aplicador com eletrodos em uma posição implantada de acordo com algumas modalidades;

[00178] A Figura 36 mostra uma vista em seção transversal de um fio, um elemento de pressão, um tubo de inserção e um mandril oco de acordo com algumas modalidades;

[00179] A Figura 37 mostra um segundo atuador de acordo com algumas modalidades;

[00180] A Figura 38 mostra uma vista em seção transversal de uma porção de um tubo de inserção, um transportador, um elemento interno, um eletrodo, um elemento de pressão e um fio de acordo com algumas modalidades;

[00181] A Figura 39 mostra uma vista em perspectiva parcial de uma porção de controle e atuador de acordo com algumas modalidades;

[00182] A Figura 40 mostra uma vista em perspectiva de um aplicador com eletrodos em uma posição retraída de acordo com algumas modalidades;

[00183] A Figura 41 mostra uma porção de um tubo de inserção e eletrodos em uma posição implantada de acordo com algumas modalidades;

[00184] A Figura 42 mostra uma porção de um tubo de inserção e eletrodos em uma posição implantada de acordo com algumas modalidades;

[00185] A Figura 43 mostra uma vista em perspectiva de um aplicador com eletrodos em uma posição retraída de acordo com algumas modalidades;

[00186] A Figura 44 mostra um cabo e conector de acordo com algumas modalidades;

[00187] A Figura 45 mostra o cabo e o conector da figura 44;

[00188] A Figura 46 mostra uma vista em seção transversal do conector da Figura 44 tomada ao longo da linha A-A;

[00189] A Figura 47 mostra uma vista em perspectiva de um aplicador que tem eletrodos em uma posição retraída de acordo com

algumas modalidades;

[00190] A Figura 48 mostra uma vista em perspectiva ampliada do aplicador da Figura 47;

[00191] A Figura 49 mostra outra vista em perspectiva ampliada do aplicador da Figura 47;

[00192] A Figura 50 mostra uma vista em perspectiva da extremidade distal do aplicador da Figura 47;

[00193] A Figura 51 mostra uma vista em seção transversal do aplicador da Figura 47;

[00194] A Figura 52 mostra outra vista em seção transversal do aplicador da Figura 47;

[00195] A Figura 53 mostra uma vista em seção transversal de uma porção do tubo de inserção, eletrodos e elemento de pressão do aplicador da Figura 47;

[00196] A Figura 54 mostra a vista em perspectiva do aplicador da Figura 47 que tem eletrodos em uma posição implantada de acordo com algumas modalidades;

[00197] A Figura 55 mostra uma vista lateral ampliada do aplicador da Figura 54;

[00198] A Figura 56 mostra uma vista em perspectiva da extremidade distal do aplicador da Figura 54;

[00199] A Figura 57 mostra uma vista em seção transversal do aplicador da Figura 54;

[00200] A Figura 58 mostra uma vista em seção transversal da extremidade distal do aplicador da Figura 54;

[00201] A Figura 59 mostra um elemento de pressão capaz de transportar pulsos elétricos de acordo com algumas modalidades;

[00202] A Figura 60 mostra uma porção de um tubo de inserção, eletrodos e tubo de aplicação de fármaco de um aplicador em uma posição implantada de acordo com algumas modalidades;

[00203] A Figura 61 mostra uma vista em seção transversal do tubo de inserção, eletrodos e tubo de aplicação de fármaco do aplicador da Figura 60 em uma posição implantada de acordo com algumas modalidades;

[00204] A Figura 62 mostra uma porção de um tubo de inserção, eletrodos e tubo de aplicação de fármaco de um aplicador em uma posição implantada de acordo com algumas modalidades;

[00205] A Figura 63 mostra uma vista em seção transversal do tubo de inserção, eletrodos e tubo de aplicação de fármaco do aplicador da Figura 62 em uma posição implantada de acordo com algumas modalidades;

[00206] A Figura 64 mostra uma porção de um tubo de inserção, eletrodos e tubo de aplicação de fármaco de um aplicador em uma posição implantada de acordo com algumas modalidades;

[00207] A Figura 65 mostra uma vista em seção transversal do tubo de inserção, eletrodos e tubo de aplicação de fármaco do aplicador da Figura 64 em uma posição implantada de acordo com algumas modalidades;

[00208] A Figura 66 mostra uma porção de um tubo de inserção, transportador, membro interior, eletrodos e tubo de aplicação de fármaco de um aplicador em uma posição implantada de acordo com algumas modalidades;

[00209] A Figura 67 mostra um fluxograma de um método de exemplo de tratamento de acordo com algumas modalidades;

[00210] A Figura 68 mostra um outro fluxograma de um método de exemplo de tratamento de acordo com algumas modalidades;

[00211] A Figura 69 mostra um aplicador de exemplo e um endoscópio estendendo-se para dentro de um estômago para acessar o pâncreas de acordo com algumas modalidades;

[00212] A Figura 70 mostra uma vista em corte do aplicador,

endoscópio, estômago e pâncreas da Figura 69;

[00213] A Figura 71 mostra uma vista em perspectiva ampliada das extremidades distais do endoscópio e do aplicador da Figura 69;

[00214] A Figura 72 mostra uma vista em perspectiva ampliada das extremidades distais do endoscópio e do aplicador da Figura 69 perfurando uma parede do estômago;

[00215] A Figura 73 mostra outra vista em perspectiva ampliada das extremidades distais do endoscópio e aplicador da Figura 69 perfurando uma parede do estômago;

[00216] A Figura 74 mostra uma vista em perspectiva ampliada das extremidades distais do endoscópio e aplicador da Figura 69 tendo eletrodos e um canal de aplicação de fármaco na posição implantada perfurando o pâncreas;

[00217] A Figura 75 mostra um aplicador de exemplo e broncoscópio estendendo-se para dentro dos pulmões para acessar uma lesão de acordo com algumas modalidades;

[00218] A Figura 76 mostra uma vista em corte do aplicador, broncoscópio e pulmões da Figura 75;

[00219] A Figura 77 mostra uma vista em perspectiva ampliada das extremidades distais do aplicador e broncoscópio da Figura 75;

[00220] A Figura 78 mostra uma vista em perspectiva ampliada das extremidades distais do broncoscópio e do aplicador da Figura 75 tendo eletrodos e um canal de aplicação de fármaco na posição implantada perfurando a lesão;

[00221] A Figura 79 mostra resultados experimentais do volume de tumor versus tempo para cinco ensaios diferentes;

[00222] A Figura 80 mostra um gráfico de taxas de transfecção para RFP-Luc de alta e baixa tensão;

[00223] A Figura 81 mostra a expressão de mL-12p70 por eletroporação em tumores B16-F10 estabelecidos;

[00224] A Figura 82 mostra a coloração LacZ após a eletroporação de um plasmídeo de expressão de Lax Z em tumores B16-F10;

[00225] A Figura 83 mostra a expressão de CD40L trimérico por eletroporação em tumores B16-F10;

[00226] A Figura 84 mostra a expressão de CD80 trimérico por eletroporação em tumores B16-F10;

[00227] A Figura 85 mostra a expressão IT de sdAbs por eletroporação em tumores B16-F10;

[00228] A Figura 86 mostra uma vista em perspectiva de um aplicador de acordo com algumas modalidades;

[00229] A Figura 87 mostra um aplicador flexível de acordo com algumas modalidades;

[00230] A Figura 88 mostra um aplicador flexível em uso de acordo com algumas modalidades;

[00231] A Figura 89 mostra uma vista parcial de um aplicador que tem os eletrodos retraídos de acordo com algumas modalidades;

[00232] A Figura 90 mostra uma vista parcial de um aplicador com os eletrodos implantados de acordo com algumas modalidades; e

[00233] A Figura 91 mostra um aplicador rígido baseado em trocarte de acordo com algumas modalidades.

[00234] As Figuras 92-102 mostram esquemas de uma placa digital para um gerador de baixa tensão, de acordo com algumas modalidades da divulgação.

[00235] A Figura 103 mostra um diagrama de blocos de uma placa de geração de energia para um gerador de baixa tensão de acordo com algumas modalidades da divulgação.

[00236] As Figuras 104-109 mostram esquemas de uma placa de geração de energia para um gerador de baixa tensão, de acordo com algumas modalidades da divulgação.

DESCRIÇÃO DETALHADA

[00237] Algumas modalidades da presente invenção serão agora descritas mais completamente doravante com referência aos desenhos anexos, em que algumas, mas não todas as modalidades da invenção são mostradas. De fato, várias modalidades da invenção podem ser incorporadas em muitas formas diferentes e não devem ser interpretadas como limitadas às modalidades estabelecidas neste documento; em vez disso, essas modalidades são fornecidas de modo que esta divulgação satisfará os requisitos legais aplicáveis. Números de referência semelhantes referem-se a elementos semelhantes em todo o documento.

Visão Geral do Sistema

[00238] São divulgados neste documento vários sistemas, aparelhos e métodos de eletroporação. Em algumas modalidades, os sistemas, aparelhos e métodos de eletroporação divulgados neste documento podem ser usados em conexão com procedimentos minimamente invasivos envolvendo a inserção de porções de um aplicador em um paciente através de uma abertura estreita e, em algumas modalidades, administrando várias terapias e agentes de tratamento através do mesmo. Os sistemas, aparelhos e métodos usados neste documento podem ser usados para administrar qualquer agente de tratamento (*por exemplo*, terapias baseadas em ácido nucleico) e aplicar qualquer terapia de eletroporação visceralmente. Em algumas modalidades, os sistemas, aparelhos e métodos de eletroporação divulgados neste documento podem ser usados em conexão com um dispositivo de inserção.

[00239] Conforme usado neste documento, o termo "dispositivo de inserção" significa qualquer aparelho ou estrutura capaz de permitir que uma porção de um aplicador seja inserida em um paciente, por exemplo, através de uma cânula ou outro canal de trabalho. Em algumas modalidades, os sistemas de eletroporação, aparelhos e métodos

divulgados neste documento podem ser usados em conexão com dispositivos e procedimentos endoscópicos para alcançar e tratar tecidos remotos (*por exemplo*, lesões viscerais, tais como tumores) dentro de um paciente. Em algumas modalidades, vários tipos de dispositivos endoscópicos podem ser usados juntamente com os sistemas de eletroporação, aparelhos e métodos divulgados neste documento, dependendo da localização específica do tecido remoto, tais como dispositivos broncoscópicos, dispositivos laparoscópicos ou outros dispositivos canulados adequados para fornecer acesso a tais tecidos remotos. Tais dispositivos endoscópicos podem ser de qualquer tipo, incluindo, por exemplo, um instrumento endoscópico flexível ou um instrumento endoscópico rígido (*por exemplo*, um trocarte, tal como para uso em procedimentos laparoscópicos), que pode ser selecionado com base no procedimento previsto e/ou localização do tecido remoto. Em algumas modalidades, os sistemas de eletroporação, aparelhos e métodos divulgados neste documento podem ser usados para acessar lesões em qualquer lugar dentro ou adjacentes ao canal alimentar. Em algumas modalidades, os sistemas, aparelhos e métodos de eletroporação divulgados neste documento podem ser usados para acessar lesões nos pulmões. Em algumas modalidades, os sistemas, aparelhos e métodos de eletroporação divulgados neste documento podem ser usados em conexão com eletroporação minimamente invasiva, um exemplo sendo em conexão com qualquer instrumento endoscópico mencionado acima.

[00240] Em uma variedade de tratamentos médicos, a eletroporação pode ser usada para aumentar a permeabilidade das células usando campos elétricos para criar poros em células biológicas sem causar danos permanentes (*por exemplo*, eletroporação reversível). Em alguns casos, a permeabilidade aumentada da eletroporação reversível pode permitir que um tratamento contemporâneo, tal como aplicação de

fármaco ou terapia gênica, seja mais eficaz porque o tratamento é mais capaz de permear as células. Durante a eletroporação, uma tensão pode ser aplicada através de dois ou mais eletrodos para criar um campo elétrico entre os mesmos. Em alguns exemplos, os eletrodos podem ser dispostos em ambos os lados, embutidos dentro ou, de outra forma, posicionados em relação ao tecido celular que é então submetido ao campo elétrico. O campo elétrico cria os poros dentro do tecido celular que então permitem que a célula seja permeada por um ou mais agentes de tratamento. O desempenho da eletroporação com um gerador de baixa tensão, conforme descrito neste documento, é particularmente vantajoso para satisfazer as condições necessárias para alcançar a eletroporação reversível. Embora o tecido ao redor do local alvo possa ter limites de campo elétrico variáveis, a aplicação de baixa tensão destina-se a, mesmo entre a faixa de limites existente, aplicar uma quantidade de tensão que está abaixo de tal limite a fim de minimizar ou evitar danos ao tecido durante o procedimento de eletroporação.

[00241] Com referência às Figuras 1-3, um exemplo de sistema de eletroporação 10 é mostrado. Na modalidade ilustrada, o sistema 10 inclui um gerador 12 para gerar e distribuir sinais elétricos para pelo menos dois eletrodos 100 e um aplicador 14 incluindo pelo menos dois eletrodos. Os aplicadores 14 descritos neste documento usando o numeral de referência 14 podem ser geralmente representativos de cada uma das modalidades dos aplicadores específicos 14, 60, 70, 110, 1000 descritos neste documento como se cada aplicador fosse discutido individualmente. Os eletrodos 100 aqui descritos usando o numeral de referência 100 podem ser geralmente representativos de cada uma das modalidades dos eletrodos 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800 descritos neste documento como se cada eletrodo fosse discutido individualmente. Na medida em que há diferenças entre as várias

modalidades dos aplicadores e eletrodos nas várias modalidades da presente divulgação, tais diferenças são descritas conforme aplicável. Em algumas modalidades, os eletrodos 100 podem incluir dois ou mais eletrodos, que podem definir, cada um, uma ponta pontiaguda em uma extremidade distal para perfurar o tecido no local alvo. Em algumas modalidades, as pontas dos eletrodos são expostas enquanto as superfícies adjacentes dos eletrodos são isoladas de modo que a corrente passe apenas através das pontas. Em algumas modalidades, uma região no respectivo eletrodo longe da ponta é exposta enquanto as superfícies circundantes são isoladas e a corrente é direcionada apenas através dessas superfícies expostas entre os eletrodos. A localização da exposição pode ser próxima o suficiente da ponta e/ou na ponta, de modo que a porção exposta do eletrodo esteja fora do tubo de inserção 15 do aplicador, descrito abaixo, quando os eletrodos estiverem na posição implantada. Em algumas modalidades, conforme discutido em mais detalhes abaixo, as pontas dos eletrodos 100 podem estar mais próximas umas das outras em uma posição retraída para inserção no paciente (*por exemplo*, através do canal de trabalho) e, uma vez em posição, os eletrodos podem ser implantados em uma posição implantada na qual as pontas dos eletrodos são afastadas para administrar eletroporação a uma área de tratamento maior. Em algumas modalidades, os eletrodos são incluídos como parte de um aplicador com um espaçamento predeterminado de modo que, se os eletrodos estiverem na posição retraída ou implantada, o espaçamento permanece constante. Em um exemplo, o espaçamento dos eletrodos em tais modalidades é de cerca de 4 mm. Os eletrodos ainda podem ser alojados em um tubo ou outra estrutura de entrega nessas modalidades. Em ainda outro exemplo, o aplicador pode incluir apenas um único eletrodo 100, enquanto um segundo eletrodo pode ser constituído por, por exemplo, uma porção mais distal de um tubo de

compartimento ou outra porção de um corpo de aplicador ou estrutura similar. Em tal exemplo, o aplicador teria apenas uma única agulha (que poderia, portanto, ser fixada ou implantável) que precisaria ser espaçada apenas a uma distância suficiente da estrutura constituindo o segundo eletrodo para ser eficaz no fornecimento de uma tensão ao tecido desejado e para evitar o arco.

[00242] Em algumas modalidades, o aplicador 14 do sistema 10 pode ser usado para administrar um ou mais agentes de tratamento (*por exemplo*, um fármaco e/ou plasmídeo). Por exemplo, o aplicador pode incluir um tubo de inserção 15 servindo como um caminho de entrega para o(s) agente(s) de tratamento. Em alguns exemplos, e conforme descrito mais detalhadamente em outro lugar no pedido, um canal de aplicação de fármaco designado 18 pode ser incluído dentro do tubo de inserção 15 para administração de agentes de tratamento (*por exemplo*, como mostrado nas Figuras 47-67). O canal de aplicação de fármaco 18 pode estender-se através do aplicador 14 para a co-localização dos eletrodos e agente(s) de tratamento. O canal de aplicação de fármaco 18 pode terminar nos eletrodos 100 adjacentes ao local de eletroporação para administrar um ou mais agentes de tratamento adjacentes ou o mais próximo possível das células que estão sendo eletroporadas. Em alguns exemplos, o canal de aplicação de fármaco pode terminar ligeiramente proximal às pontas do eletrodo. Em ainda outros exemplos, o canal de distribuição também pode ter um formato adequado para inserção no tecido a ser eletroporado, tal como uma agulha, de modo que o canal de distribuição se estenda no ou distal às pontas do eletrodo.

[00243] Em algumas modalidades, o sistema de eletroporação 10 pode ainda incluir um dispositivo de aplicação de fármaco 16 para administrar um ou mais agentes de tratamento (*por exemplo*, um fármaco e/ou plasmídeo) ao local de eletroporação. A Figura 1 ilustra

alguns exemplos de como o dispositivo de aplicação de fármaco 16 pode ser posicionado no sistema, e em um contexto maior inclui setas tracejadas para indicar caminhos de fluxo de fluido e setas sólidas para indicar conexões elétricas. Com referência à Figura 1, o dispositivo de aplicação de fármaco 16 pode definir uma seringa com um tubo distal ou agulha para administrar o agente de tratamento. Em algumas modalidades, o dispositivo de aplicação de fármaco 16 pode incluir pelo menos um reservatório, configurado para receber um ou mais agentes de tratamento e pelo menos uma bomba configurada para distribuir os agentes de tratamento ao local de eletroporação. Em algumas modalidades, o dispositivo de aplicação de fármaco 16 administra um ou mais agentes de tratamento diretamente ao local alvo enquanto o aplicador 14 é usado para realizar a eletroporação no local alvo. Em algumas modalidades, o dispositivo de aplicação de fármaco 16 administra um ou mais agentes de tratamento ao aplicador 14, que, por sua vez, administra diretamente o agente de tratamento ao local alvo. Dessa maneira, o aplicador 14 é usado para administração do agente de tratamento e para desempenho da eletroporação. Em alguns exemplos, o agente de tratamento é liberado através de um canal de aplicação de fármaco 18 dentro do aplicador 14.

[00244] Em algumas modalidades, e como discutido em outro lugar neste documento, o um ou mais agentes de tratamento podem ser administrados através de um aplicador de aplicação de fármaco separado 19 (*por exemplo*, uma agulha distal longa, um conduíte passando através de um instrumento endoscópico, ou similar) em vez de ser administrado através do próprio aplicador 14, como mostrado na Figura 1. Ainda mais adicionalmente, o aplicador de aplicação de fármaco 19 pode distribuir pelo menos um dos agentes de tratamento sistemicamente em vez de diretamente ao local de eletroporação. O aplicador de aplicação de fármaco separado 19 (ou outro dispositivo de

administração) pode ser usado sequencialmente com o aplicador de eletroporação 14 para administrar um ou mais agentes de tratamento ao local de eletroporação. Em alguns exemplos, o aplicador de aplicação de fármaco 19 sozinho é usado para administrar um ou mais agentes de tratamento. Em outros exemplos, o dispositivo de aplicação de fármaco 16 é usado em conjunto com o aplicador de aplicação de fármaco 19 para administrar um ou mais agentes de tratamento, como mostrado na Figura 1. Nesses exemplos, o aplicador 14 executa eletroporação separadamente.

Arquitetura do Sistema de Exemplo

[00245] Em algumas modalidades, o gerador 12 e o aplicador 14 são controlados por um ou mais controladores 24, que incluem pelo menos um processador 30 e memória 36. Em algumas modalidades, o controlador 24 pode ser disposto no gerador 12 e pode controlar o aplicador 14 com o mesmo. Nas modalidades em que o dispositivo de aplicação de fármaco 16 requer controle eletrônico, um ou mais controladores podem operar o dispositivo de aplicação de fármaco e, nas modalidades em que o dispositivo de aplicação de fármaco 16 não tem controle eletrônico, o dispositivo de aplicação de fármaco pode ser operado manualmente (*por exemplo*, pressionando uma seringa). Em algumas modalidades, o controle eletrônico pode estar na forma de robótica, descrita em outro lugar neste documento. Em algumas modalidades, cada um dentre o gerador 12, aplicador 14 e dispositivo de aplicação de fármaco 16 pode ter seu próprio controlador. Em algumas modalidades, um ou mais dos controladores podem ser controlados por outro controlador (*por exemplo*, em uma relação parente-filho). Em algumas modalidades, cada controlador 24 pode ser incorporado como um único dispositivo ou como um sistema de processamento distribuído, alguns ou todos os quais podem ser remotos do respectivo dispositivo que o mesmo controla. Exemplos de um

sistema de eletroporação e métodos de controle eletrônico correspondentes, sinais e aparelhos; agentes de tratamento; e terapias são descritos nas Patentes nºs U.S. 7.412.284 e 9.020.605 e Pedido Internacional nº WO2016/161201, cada uma das quais é incorporada por referência neste documento em sua totalidade.

[00246] Com referência continuada à Figura 1, em algumas modalidades, o gerador 12 pode ser um gerador de baixa tensão para administrar a terapia de eletroporação e/ou realizar a espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) conforme descrito neste documento. Em algumas modalidades, o gerador 12 pode incluir circuitos de pulso 33 configurados para gerar formas de onda para excitação dos eletrodos durante a eletroporação. Em algumas modalidades, o gerador 12 é configurado unicamente para realizar a terapia de eletroporação. Em algumas modalidades, o gerador 12 pode incluir circuitos de detecção 31 configurados para receber sinais dos eletrodos 100 (*por exemplo*, sinais de EIS descritos neste documento) e facilitar a análise das propriedades do tecido alvo. Conforme descrito neste documento, em algumas modalidades, o gerador 12 pode controlar a saída de pulsos do circuito de pulso 33 em resposta aos parâmetros detectados do tecido alvo e do agente de tratamento determinado pelo circuito de detecção 31. Nas modalidades do sistema com circuito de detecção 31, o circuito pode ser alternado para ativar ou desativar o controle dos parâmetros da terapia de eletroporação com base na análise dos sinais de EIS recebidos pelo sistema. Dessa maneira, se o circuito for desligado, a terapia manterá uma tensão predefinida e duração de pulso (ou um padrão predeterminado de tensão e duração de pulso) independentemente de qualquer variação na impedância relatada ao sistema pelos sensores.

[00247] Voltando-se para a estrutura do gerador do sistema, em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão inclui uma placa digital

e uma placa de geração de energia. Os detalhes do gerador de baixa tensão incluindo as respectivas placas são ilustrados nas Figuras 92-109. A placa digital fornece o sistema de computação central através do qual o processamento de sinal, saídas periféricas e recursos de segurança para o gerador são implementados, enquanto a placa de geração de energia contém todos os componentes elétricos para fornecimento de pulso durante um tratamento de eletroporação.

[00248] A placa digital inclui um microcontrolador (MC), um conversor analógico digital (DAC), dois conversores analógico-digitais (ADCs), circuitos de banco de resistores, circuitos de pré-amplificador e circuitos periféricos. Cada um desses componentes contribui para a saída do dispositivo e processamento de sinal para EIS. O MC também calcula os recursos de segurança baseados em software para evitar a administração de terapia insegura.

[00249] Um esquema que descreve toda a placa digital é mostrado na Figura 92. Todos os circuitos de alto nível são mostrados em tom cinza. Cada um dos circuitos de alto nível está ligado ao MC para processamento de sinal digital e operação de componentes periféricos usados durante a operação do gerador. Os componentes periféricos incluem aqueles mostrados na Figura 102 anos.

[00250] O circuito de energia mostrado na Figura 93 fornece tensão aos componentes da placa digital, incluindo o MC e vários periféricos. O circuito distribui 3,3 V para a maior parte da placa digital, mas também aumenta até 5 V para os requisitos de componentes correspondentes. Vários pontos de teste e luzes de LED permitem a resolução de problemas da placa.

[00251] O MC, mostrado na Figura 101, é o processador central que fornece controle sobre a placa digital e a placa de geração de energia. Voltando-se para outros elementos da placa digital, o DAC controla a geração de sinal EIS. Os ADCs incluem ADCi e ADCv. O ADCi mede a

tensão através do banco de resistores e o ADCv mede a tensão através dos condutores do eletrodo, que estão ao longo do lado direito do MC. Os controles de relé SW mostrados na Figura 101 fornecem controle preciso sobre cada chave de relé para entrega de pulso de saída. O barramento I2C fornece regulação das portas de E/S, leitura/gravação EEPROM, Rheostat e memória não volátil. É também mostrada na Figura 101 a lógica do banco de resistores que isola as frequências e tensões específicas usadas no sinal de EIS ao alternar entre as diferentes resistências. Os circuitos do banco de resistores também são usados na calibração do sinal EIS.

[00252] O MC é usado para implementar recursos de segurança baseados em software através do processamento de sinal EIS. As informações de tensão e corrente medidas nos condutores do eletrodo são usadas para identificar condições de carga/tecido e impedem a administração da terapia após a detecção de parâmetros inseguros.

[00253] O circuito DAC, mostrado na Figura 94, permite a geração de sinal CA EIS com frequências e tensão específicas, que são definidas pela entrada digital MC. Um amplificador de instrumentação diferencial de alta frequência é usado com uma frequência de corte de alta ordem definida em 2,5 MHz para acionar uma saída diferencial e remover qualquer ruído de comutação.

[00254] O circuito ADCi mostrado na Figura 95 é um componente externo que processa os sinais analógicos recebidos através dos condutores de eletrodo para corrente e mede diretamente a tensão através do banco de resistores para processar as informações para calcular as propriedades de carga/tecido. A corrente é computada medindo a queda potencial através dos resistores do sensor de corrente e compensada de acordo com o valor do resistor/ganho. Um amplificador de instrumentação diferencial de alta frequência é usado com uma frequência de corte de alta ordem definida em 2,5 MHz. Uma

filtragem anti-alias adicional de passagem baixa de 2ª ordem é usada entre a saída do filtro de instrumentação e a entrada do ADC de 14 bits. Um filtro anti-aliasing adicional de baixa passagem de 2ª ordem com uma frequência de corte de 15,9 kHz é usado entre a saída do amplificador de instrumentação diferencial e a entrada do ADC de 14 bits.

[00255] O circuito ADCv mostrado na Figura 96 é um componente externo que processa os sinais analógicos recebidos através dos condutores de eletrodo para tensão e mede diretamente a tensão através da carga do eletrodo para processar as informações para calcular as propriedades de carga/tecido. A tensão é calculada medindo-se a queda potencial através da saída positiva do amplificador de instrumentação DAC e da extremidade superior do resistor de detecção de corrente. Um amplificador de instrumentação diferencial de alta frequência é usado com uma frequência de corte de alta ordem definida em 2,5 MHz. Uma filtragem anti-alias adicional de passagem baixa de 2ª ordem é usada entre a saída do filtro de instrumentação e a entrada do ADC de 14 bits. Um filtro anti-aliasing adicional de baixa passagem de 2ª ordem com uma frequência de corte de 15,9 kHz é usado entre a saída do amplificador de instrumentação diferencial e a entrada do ADC de 14 bits.

[00256] Dois circuitos de banco de resistores, mostrados nas Figuras 97 e 98, são usados ao alternar através do processamento de sinal EIS. Há um conjunto de 13 diferentes resistores de detecção de corrente que variam de 10 Ohms a 10M Ohms com uma tolerância de 0,1% que são habilitados pela MCU através de portas de E/S isoladas opticamente PG0-PG12. Os resistores são conectados no caminho de retorno do amplificador de instrumentação associado ao DAC. Os resistores são selecionados como sendo 10,0 Ω , 47,0 Ω , 100 Ω , 470 Ω , 1,00 k Ω , 4,70 k Ω , 10,0 k Ω , 47,0 k Ω , 100 k Ω , 470 k Ω , 1,00 M Ω , 4,7 M Ω , 10,0 M Ω . Esses

resistores são definidos usando SW_GAIN0 até SW_GAIN12, respectivamente. Uma combinação desses resistores em paralelo é usada para gerar a seguinte tabela:

Idx	Nº SW_GAIN													Resistência
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1														10,0 Ω
2														28,8 Ω
3														47,0 Ω
4														74,2 Ω
5														100 Ω
6														288 Ω
7														470 Ω
8														742 Ω
9														1,00 k Ω
10														2,88 k Ω
11														4,70 k Ω
12														7,42 k Ω
13														10,0 k Ω
14														28,8 k Ω
15														47,0 k Ω
16														74,4 k Ω
17														100 k Ω
18														291 k Ω
19														470 k Ω
20														762 k Ω
21														1,00 M Ω
22														3,20 M Ω
23														4,70 M Ω
24														10,0 M Ω

[00257] O resistor de calibração interno mostrado na Figura 99, com um valor de ajuste rígido de 100k Ohms, é usado para calibrar o sinal EIS para fornecer um sinal de referência usado na determinação da magnitude dos valores de saída e entrada.

[00258] O circuito do pré-amplificador mostrado na Figura 100 descreve o caminho da geração de sinal EIS do circuito do amplificador do DAC através da carga e de volta através das linhas de retorno. Os sinais de retorno são processados através de ADCs. Os dados obtidos através de tal processamento (por exemplo, valores de sinal, tais como resposta de tensão e corrente) são usados em cálculos de modelo de circuito para análise de carga/tecido para determinar recursos de segurança que podem impedir a aplicação de curto-circuito. A análise de carga/tecido fornece vantagens significativas, incluindo identificação

de propriedade de tecido e otimização de saída elétrica.

[00259] Voltando-se para a placa de geração de energia, as Figuras 103 e 104 mostram detalhes da placa em um diagrama de blocos e um esquema, respectivamente. O quadro de geração de energia pode ser dividido organizacionalmente entre vários subquadros diferentes, cada um dos quais representa uma função única. Por exemplo, a placa de geração de energia pode incluir um circuito de carregamento principal, parede de isolamento, circuitos de controle de relé, circuitos de saída de terapia e circuitos de crowbar e watchdog. O circuito de carregamento principal pode fornecer a tensão de terapia através de um circuito conversor de flyback e um capacitor de 10 milifarad. A parede de isolamento pode incluir múltiplos isoladores digitais de estado sólido que armazenam quaisquer sinais digitais no lado analógico do PCBA. O circuito de controle de relé pode controlar o fornecimento de pulsação de baixa tensão e inclui vários ciclos de realimentação de monitoramento. Os circuitos de watchdog e crowbar podem incluir várias funções, como temporizador de watchdog e o mecanismo para acionar e desativar a linha de alta tensão.

[00260] Um circuito de carregamento principal da placa de geração de energia é mostrado na Figura 105. O núcleo do circuito está dentro do Controlador de Carregador de Capacitor LT3750 que, em conjunto com o Transformador de Flyback DA2034, o MOSFET de Energia STB42N60M2 e o Diodo Retificador de Energia MURS160T3G, formam o circuito de carregamento do capacitor do conversor de flyback essencial (também referido neste documento como o "circuito de Flyback"). O Controlador de Carregador de Capacitor LT3750 pode ser fornecido junto a Linear Technologies, Inc., por exemplo.

[00261] A operação de um circuito de carregamento de capacitor de conversor de flyback envolve duas fases de operação: armazenamento de energia e flyback. Na fase de armazenamento de energia, o NMOS

está no modo ativo e a corrente primária está em rampa. A energia está sendo armazenada no transformador. A tensão secundária é negativa, portanto, D1 é invertida, o que isola o capacitor. Na modalidade representada, D1 é um diodo retificador. O D1 pode operar no contexto do circuito conversor de flyback e pode impedir que a energia seja transferida para o capacitor quando o MOSFET estiver DESLIGADO. Se for permitido que a corrente flua no ciclo secundário do circuito do conversor de flyback, então, nenhuma energia está sendo armazenada no transformador. Na fase de flyback, o NMOS está no modo de corte e a corrente primária está caindo. Na fase de flyback, a energia armazenada agora carrega o capacitor. Nesse circuito, há ciclos de realimentação adicionais que regulam a tensão da porta (funcionalidade de limitação de corrente) e uma funcionalidade DCM (modo descontínuo) que modula a amplitude da corrente primária para atender às demandas da carga (modulação de amplitude). Para alcançar o DCM, o controlador LT3750 estuda a tensão da fonte de drenagem NMOS para determinar quando a tensão da fonte de drenagem for equivalente à tensão de entrada antes de passar da fase de flyback para a fase de armazenamento de energia (ativando novamente o NMOS), minimizando assim a perda de energia através do NMOS, garantindo que não haja corrente primária.

[00262] Observe também que AD5274BRMZ (U11 e U2) inclui reostatos digitais projetados para definir o Pino de Detecção de Tensão de Saída (RBG) no controlador LT3750. O circuito de carregamento do conversor de flyback inclui reostatos que permitem que uma faixa de tensões (0-300 volts) se desenvolva no capacitor de saída. O sinal de monitoramento VOUT_SENSE alimenta um buffer/comparadores (U7A/U7B). O sinal analógico é filtrado através da placa digital para alimentar o microcontrolador principal STM32.

[00263] Na presente divulgação, a placa de geração de energia tem

três resistores de 470 Ohms, 100W com dissipadores de calor. O efeito é que a corrente descarrega rapidamente, em cerca de 14 segundos (*por exemplo*, $1410 \text{ Ohms} * 10\text{mF} = 14,1 \text{ segundos}$), eliminando o possível fator de risco em velocidades mais altas. A placa de geração de energia inclui um sensor de efeito Hall U27 para sensor secundário de corrente a ser potencialmente usado para o circuito de sobrecorrente de crowbar. Além disso, o monitor de tensão, U23, está incluído para uso em potencial para sobretensão de crowbar. Um circuito de vigilância U22 (e componentes de suporte) está incluído para monitorar os trilhos de microcontrolador, 5 V, +12 V e 9 V.

[00264] O circuito é vantajoso porque a inclusão do transformador DA2034 demonstrou ter melhor capacidade de resposta à solda manual e limpeza ultrassônica. Além disso, a corrente primária no transformador (T1) é de 5,2 Amps com um resistor sensor R14 com um limite de corrente de 78 V/R . O circuito de detecção de corrente traz uma camada adicional de segurança limitando a corrente na linha de alta tensão. O circuito de detecção de corrente monitora a linha do capacitor de alta tensão até a saída do dispositivo. O circuito de detecção de corrente gera uma tensão (VIOUT) que é proporcional à corrente detectada, que é então filtrada e enviada ao microcontrolador principal STM32.

[00265] Outra vantagem resulta do circuito de proteção de crowbar, tiristor Q12 (Q6N3RP), mostrado na Figura 109. O tiristor é conectado através do barramento de alimentação de +5 V e terra. Quando ativado pelos sinais analógicos/digitais apropriados de detecção de corrente/tensão, o tiristor trava em um estado condutor. O barramento de alimentação de +5 V agora está sendo conduzido em R76 e R77, que representam 20 Ohms. Essa corrente aumentada queima o fusível F3 na Figura 105 (XF3) que tem um limite de corrente de 500 mA. O resultado disso isola todo o barramento de alimentação de +5 V de sua alimentação (regulador de tensão L7805CD2T (U5)), que efetivamente

desliga o circuito de alta tensão e, mais importante, redefine o relé REL1B (G2RL-1-E DC5) para seu estado normal de condução da linha de alta tensão diretamente para o terra através de resistores de alta potência R4, R7 e R12. O efeito é que o capacitor de alta tensão é descarregado rapidamente para a terra, eliminando um possível fator de risco.

[00266] A Figura 106 detalha a parede de isolamento que armazena em buffer e aciona os sinais de 3,3 V provenientes da placa digital para 5 V, que é usada para alimentar o circuito lógico (consulte a Figura 107) na placa de alimentação.

[00267] A Figura 107 detalha o circuito de controle de relé que armazena em buffer e aciona os sinais digitais do circuito de isolamento para os sinais de controle de relé. Os portões NOR U18A, U18B, U19A, U19B sincronizam os relés para abrir e fechar em um padrão de disparo predeterminado para permitir pulsação.

[00268] A Figura 108 detalha a aplicação da linha de alta tensão através dos relés para a saída de tratamento do dispositivo da presente divulgação. Começando a partir da esquerda da figura, o sinal PULSE_P passa pelo Sensor de Corrente de Efeito Hall ACS710 (U27), que monitora a corrente do capacitor da linha de alta tensão (além de U1 na Figura 105), e é capaz de enviar um sinal (OVER_CURRENT) para o circuito da barra de acesso. A linha de alta tensão passa pelo relé SSR5 e fusível F1, duas medidas de segurança antes que a linha de alta tensão seja conectada à saída da terapia. Além disso, R74 é um resistor de detecção de corrente que é usado na ciclo de realimentação do MOSFET de Potência Q6. O objetivo da Q6 é limitar a saída de corrente (conforme definido por R74) operando na região linear. Esse circuito ativo limita a corrente de terapia a um valor definido, diminuindo a tensão em Q6. A porta da Q6 é habilitada por Q8, que é conduzida por BUFF_HV_APPLY. Esse sinal permite a aplicação da terapia de alta

tensão pulsando. Q9 é um recurso de segurança adicional que desativa automaticamente o sinal de habilitação de pulso se o sinal de habilitação de pulso estiver ligado por mais tempo do que o tempo de descarga do capacitor C40. Por fim, observando os relés que ditam os padrões de disparo, é importante observar que os sinais EIS e os sinais de alta tensão coincidem nos mesmos dois eletrodos. A sincronização dos relés garante que os sinais de alta tensão e os sinais EIS sejam direcionados adequadamente através do circuito.

[00269] A Figura 109 detalha o circuito watchdog e o circuito crowbar da placa de geração de energia. O circuito da barra de arame permite que vários sinais disparem o tiristor Q12, o que estimula uma cadeia de eventos que efetivamente realizam "crowbar" na linha de alta tensão. O circuito watchdog, através do TPS386000 Voltage Supervisor (U22), monitora os barramentos de alimentação e pode detectar desligamentos de software e enviar sinais de redefinição para o microcontrolador principal. O microcontrolador principal também verifica o estado de U22.

[00270] Combinada, a placa digital integra ambos os componentes de aquisição de dados com a unidade do microcontrolador para aumentar a integridade do sinal, renunciando aos conjuntos de cabos entre as duas placas.

[00271] Em algumas modalidades, o gerador 12 pode incluir uma fonte de alimentação 29 configurada para receber energia da rede elétrica e fornecer energia elétrica ao sistema 10. Em algumas modalidades, o gerador 12 se conecta ao aplicador através de uma conexão com fio, como o cabo 136 mostrado na figura 51 e descrito em outro lugar na presente descrição. Em algumas modalidades, uma conexão entre o gerador 12 e o aplicador é uma conexão sem fio. Em alguns exemplos, a conexão sem fio pode utilizar comunicação de baixa energia com os respectivos elementos sendo configurados para enviar e receber sinais. A tecnologia de comunicação de baixa energia pode

ser Bluetooth®. Em algumas modalidades, o gerador pode ser um gerador de alta tensão.

[00272] O processador 30 pode ser incorporado de várias maneiras diferentes. Por exemplo, o processador 30 pode ser incorporado como vários meios de processamento, tais como um ou mais microprocessadores ou outro elemento de processamento, um coprocessador, um controlador ou vários outros dispositivos de processamento ou computação, incluindo circuitos integrados, tais como, por exemplo, um ASIC (circuito integrado de aplicação específica), um FPGA (matriz de porta programável em campo) ou similares. Embora ilustrado como um processador único, será apreciado que o processador 30 pode compreender uma pluralidade de processadores em cada dispositivo do sistema ou um único processador centralizado ou uma pluralidade de processadores centralizados para vários dispositivos. O processador pode estar em comunicação operacional com e pode ser configurado para executar uma ou mais funcionalidades para os dispositivos do sistema de eletroporação 10, conforme descrito neste documento. O processador pode ser incorporado em um único dispositivo de computação ou distribuído através de uma pluralidade de dispositivos de computação configurados coletivamente para funcionar como um controlador 24. Por exemplo, um dispositivo de usuário tal como um smartphone, tablet, computador pessoal e/ou similares pode ser configurado para se comunicar com um dispositivo de detecção ligado ao processador através de meios tais como por comunicação Bluetooth™ ou através de uma rede de área local. Adicional ou alternativamente, um dispositivo de servidor remoto pode executar algumas das operações descritas neste documento, tais como processar dados coletados por qualquer um dos sensores e fornecer ou comunicar dados resultantes a outros dispositivos de acordo.

[00273] Em alguns exemplos de modalidades, o processador 30 pode ser configurado para executar instruções armazenadas na memória 36 ou acessíveis ao processador. Como tal, se configurado por hardware ou por uma combinação de hardware e software, o processador 30 pode representar entidades (*por exemplo*, fisicamente incorporadas em circuitos – na forma de circuitos de processamento) capazes de executar operações de acordo com as modalidades da presente invenção enquanto configuradas de acordo. Assim, por exemplo, quando o processador 30 for incorporado como um ASIC, FPGA ou similares, o processador 30 pode ser especificamente configurado para hardware para conduzir as operações descritas neste documento. Alternativamente, como outro exemplo, quando o processador 30 for incorporado como um executor de instruções de software, as instruções podem configurar especificamente o processador 30 para executar uma ou mais operações descritas neste documento.

[00274] Em algumas modalidades, o aplicador 14 pode ainda incluir uma memória 38 que armazena informações relacionadas ao aplicador. O controlador 24 pode interrogar a memória 38 do aplicador e identificar o aplicador e quaisquer etapas ou instruções necessárias para executar a eletroporação com base nos dados armazenados na memória 38. Dessa maneira, o controlador 24 pode identificar o aplicador 14 antes de iniciar a eletroporação. Em algumas modalidades, a memória 38 pode ser disposta no conjunto de cabos (*por exemplo*, cabo 76 e conector 78 mostrados na Figura 19).

[00275] Em alguns exemplos de modalidades, a memória 36, 38 do gerador e do aplicador, respectivamente, pode incluir um ou mais dispositivos de memória não transitórios, tais como, por exemplo, memória volátil e/ou não volátil que pode ser fixa ou removível. Nesse sentido, cada memória 36, 38 pode compreender mídia de

armazenamento legível por computador não transitória. Será apreciado que, embora cada memória 36, 38 seja ilustrada como uma única memória em cada dispositivo, cada memória 36, 38 pode compreender uma pluralidade de memórias em um ou mais dispositivos ou uma única memória ou memória centralizada ou pluralidade de memórias para vários dispositivos. A memória centralizada pode ser incorporada em um único dispositivo de computação ou pode ser distribuída através de uma pluralidade de dispositivos de computação. Cada memória 36, 38 (ou memória(s) centralizada(s)) pode ser configurada para armazenar informações, dados, aplicativos, código de programa de computador, instruções e/ou similares para permitir que o sistema de eletroporação 10 execute várias funções de acordo com uma ou mais modalidades de exemplo.

[00276] Cada memória 36, 38 (ou qualquer memória centralizada ou similar) pode ser configurada para armazenar dados de entrada em buffer para processamento pelo processador 30. Adicional ou alternativamente, essa memória pode ser configurada para armazenar instruções para execução pelo processador 30. Em algumas modalidades, essa memória pode incluir um ou mais bancos de dados que podem armazenar uma variedade de arquivos, conteúdos ou conjuntos de dados. Por exemplo, entre o conteúdo de cada memória 36, 38, os aplicativos podem ser armazenados para execução pelo processador 30 para realizar a funcionalidade associada a cada aplicativo respectivo. Como um exemplo adicional, cada memória 36, 38 pode armazenar dados detectados por sensor(es) do dispositivo de detecção e/ou código de aplicativo para processar tais dados de acordo com modalidades de exemplo. Em alguns casos, cada memória 36, 38 pode estar em comunicação com um ou mais dentre o processador 30, os eletrodos 100, o gerador 12, o dispositivo de aplicação de fármaco 16 e/ou outro aparelho e sensores. Em algumas modalidades, cada

memória 36, 38 pode armazenar comandos passo a passo para procedimentos cirúrgicos específicos que podem ser executados pelo processador. Por exemplo, isso pode incluir detalhes para navegar o aplicador até um local alvo para uma broncoscopia. Em um exemplo adicional, tais detalhes podem ser usados como comandos para um robô mover o aplicador para um local alvo e/ou executar um procedimento (nesse caso, uma memória centralizada ou memórias podem ser preferidas, e tal memória pode até mesmo ser incluída no próprio robô). Esse tipo de armazenamento também é contemplado para outros procedimentos, conforme descrito em outras partes da divulgação. Em algumas modalidades, uma ou mais das memórias 36, 38 podem compreender uma memória somente leitura programável apagável eletricamente (EEPROM). Em algumas modalidades, a memória 38 do aplicador 14 pode incluir um chip EEPROM.

[00277] Com referência à Figura 3, um gerador de exemplo 12 e aplicador simplificado 14 são mostrados. O gerador pode gerar sinais elétricos para eletroporar os tecidos alvo. O gerador 12 pode regular as propriedades dos sinais elétricos (*por exemplo*, tensão, amplitude, frequência, duração e similares) para causar eletroporação reversível dos tecidos sem danificar os tecidos alvo. Em algumas modalidades, o gerador 12 pode incluir um pedal 58 para permitir que um usuário acione e opere o gerador e a eletroporação. O pedal 58 pode ser conectado ao gerador através de uma conexão com fio ou através de uma conexão sem fio de baixa energia, tal como Bluetooth®. Quando uma conexão sem fio for usada, cada pedal 58 e o gerador podem incluir sensores para enviar e receber sinais comunicando alterações no estado do pedal 58. A operação do gerador pode ser auxiliada ou totalmente controlada por um sistema robótico. Por exemplo, um braço robótico pode ser configurado para controlar o gerador para alcançar os parâmetros elétricos desejados para eletroporação. Exemplos de um sistema de

eletroporação e métodos de controle eletrônico correspondentes, sinais e aparelhos; são descritos nas Patentes nºs U.S. 7.412.284 e 9.020.605 e Pedido Internacional nº WO2016/161201, cada uma das quais é incorporada por referência neste documento em sua totalidade.

Exemplo de Aplicador de Eletroporação

[00278] Em algumas modalidades, o sistema de eletroporação 10 pode ser operável para uso com instrumentação de acesso, tal como um endoscópio ou similares. A endoscopia envolve inserir um endoscópio em uma cavidade do paciente e administrar pelo menos parte do tratamento localmente usando o endoscópio (*por exemplo*, o endoscópio 52 mostrado na Figura 4). Os endoscópios podem ser rígidos (*por exemplo*, um trocarte) ou flexíveis, e podem incluir imagens, iluminação ou recursos cirúrgicos para auxiliar o cirurgião com a endoscopia. Um exemplo de um endoscópio que pode ser incorporado no sistema de eletroporação 10 é descrito na Patente nº U.S. 6.181.964, incorporado neste documento por referência em sua totalidade. Com referência à Figura 4, em algumas modalidades, os endoscópios 52 também incluem um canal de trabalho 54 que se estende a partir de uma extremidade superior ou proximal do endoscópio (*por exemplo*, uma seção de controle que é acionada pelo usuário) até uma extremidade distal 56 do endoscópio através da qual um ou mais instrumentos, como o aplicador 14, podem ser inseridos para conduzir o procedimento endoscópico. Em alguns casos, um endoscópio flexível pode ter um canal de trabalho mais estreito do que um endoscópio rígido. Como é conhecido na técnica, um endoscópio flexível é tipicamente usado para procedimentos onde a via de acesso é através de um condúite, tal como em uma abordagem esofágica para alcançar os pulmões, enquanto um endoscópio rígido é tipicamente usado para procedimentos onde a via de acesso é uma "linha de visão" no paciente e para o tecido particular, tal como é usado em muitos procedimentos

abdominais.

[00279] A eletroporação endoscópica pode envolver a inserção de pelo menos uma porção de um aplicador (*por exemplo*, o tubo de inserção 15 do aplicador 60 mostrado na Figura 2; o tubo de inserção 15 do aplicador 70 mostrado na Figura 19; ou o tubo de inserção 15 do aplicador 110 mostrado na Figura 47), com os eletrodos (*por exemplo*, eletrodos 100) em uma extremidade distal do aplicador, através do canal de trabalho do endoscópio para aplicar um campo elétrico ao tecido adjacente à extremidade distal do endoscópio. Em alguns exemplos, a conexão deslizável que mantém o aplicador e o endoscópio juntos pode ser controlável de modo que, uma vez que o endoscópio é avançado para um local no corpo que se aproxima do local alvo para a terapia de eletroporação, o aplicador pode ser controlavelmente avançado em relação ao endoscópio de modo que uma extremidade distal do aplicador atinja o local alvo enquanto o endoscópio permanece a uma distância em relação ao local alvo. Conforme discutido em outro lugar neste documento, as modalidades do aplicador podem ser mecanicamente direcionáveis de modo que a ponta possa ser direcionada para o local alvo através de controles ou próximo ao cabo do aplicador. O mecanismo de controle pode ser estabelecido com base na visualização direta (*por exemplo*, uma câmera associada ao endoscópio), navegação cirúrgica, orientação manual com base na fricção esperada entre a superfície do aplicador e a superfície interna do endoscópio, ou outros parâmetros que podem ser aplicáveis para as estruturas particulares incluídas no sistema. Esse avanço controlável do aplicador em relação ao endoscópio é de vantagem particular, onde o acesso ao local alvo envolve a passagem através de um vaso interno que é pequeno em diâmetro. Em tais circunstâncias, o diâmetro menor do aplicador em relação ao endoscópio permite que o aplicador seja avançado de forma independente em menor risco para o paciente. Essa

circunstância pode surgir, por exemplo, onde um tumor a ser tratado está no cérebro e os vasos sanguíneos intracranianos devem ser atravessados para alcançar o tumor.

[00280] O sistema de eletroporação 10 pode ser usado em qualquer abordagem de acesso endoscópico desejada para cumprir seu uso e finalidade. Por exemplo, em algumas modalidades, o sistema de eletroporação 10 pode ser usado com um broncoscópio Olympus® EBUS para realizar broncoscopia. Em algumas modalidades, um instrumento laparoscópico flexível pode ser usado com o tubo de inserção do aplicador disposto no mesmo. Além disso, em algumas modalidades, o aplicador pode ser inserido diretamente em uma abertura de laparoscopia no paciente (*por exemplo*, com o dispositivo laparoscópico mostrado na Figura 86). Nesse arranjo, a abertura de laparoscopia no corpo do paciente opera como o canal de trabalho durante o procedimento de eletroporação. Assim, em alguns exemplos, o sistema pode incluir um aplicador com uma extremidade de inserção que é configurada para ser avançada para o local alvo não fechado por um dispositivo de inserção. Em alguns exemplos, as propriedades e a estrutura do tubo de inserção podem ser modificadas para acomodar o uso do aplicador como um elemento de acesso autônomo no procedimento. Nos exemplos acima mencionados, o sistema é completo sem um endoscópio, embora possa ser usado com qualquer tipo de instrumento endoscópico desejado. Além disso, em alguns exemplos dos sistemas acima mencionados, o aplicador 14, 60, 70, 110, 1000 pode ser o aplicador do sistema.

[00281] Em alguns exemplos, o sistema de eletroporação 10 pode incluir um sistema "tudo em um" integral com qualquer combinação de um ou mais dentre um endoscópio, canal ou aplicador de liberação de fármaco, aplicador de eletroporação, sistema de direção, sistema de visão e/ou sistema de imagem (*por exemplo*, ultrassom). As

modalidades de cada um dos componentes anteriores podem incluir aquelas discutidas em outro lugar neste documento. Em tais modalidades, o aplicador (*por exemplo*, incluindo eletrodos e/ou um canal de aplicação de fármaco) pode ser qualquer um dos aplicadores 14, 60, 70, 110, 1000 divulgados neste documento. Em algumas modalidades, o aplicador pode ser uma porção retrátil do sistema tudo em um.

[00282] Voltando-se agora para a estrutura do próprio aplicador, com referência à Figura 2, um aplicador exemplar 60 é mostrado tendo um tubo de inserção 15, um atuador 42 e uma porção de controle 48. O tubo de inserção 15 pode ter um diâmetro menor que um diâmetro interno do canal de trabalho de um endoscópio (*por exemplo*, canal de trabalho 54 do endoscópio 52 mostrado na Figura 4) de modo que o tubo de inserção possa ser inserido no canal de trabalho e possa se estender a partir da porção de controle 48 fora do endoscópio na extremidade externa (*por exemplo*, a extremidade fora do paciente) até o local endoscópico dentro do paciente na extremidade distal do endoscópio. O tubo de inserção 15 pode ser mais longo do que o canal de trabalho do endoscópio. O tubo de inserção 15 também pode incluir um ou mais canais que se estendem através do mesmo para permitir que os vários componentes descritos neste documento se estendam para dentro do paciente para tratamento. Por exemplo, o atuador 42 pode ser acoplado de forma móvel com pelo menos uma porção da porção de controle 48 e pode estender-se através do tubo de inserção 15 para interagir com os eletrodos para permitir que um usuário aplique uma força do gatilho 44 para implantar os eletrodos na extremidade distal do tubo de inserção 15, conforme descrito neste documento. Na modalidade retratada na Figura 2, o atuador 42 inclui um gatilho 44 anexado de forma articulada à porção de controle 48 e um elemento de pressão 46 conectando o gatilho 44 aos eletrodos de modo que o elemento de pressão 46 se

mova axialmente ao longo do tubo de inserção 15, para mover os eletrodos, quando o gatilho for acionado.

[00283] Em alguns exemplos, os eletrodos são inclinados de modo que quando nenhuma força seja aplicada ao gatilho 44, os eletrodos estarão em uma posição retraída. Em alguns exemplos, o gatilho 44 deve ser mantido para manter a implantação dos eletrodos de modo que sempre que o gatilho for liberado, os eletrodos retornem ao seu estado retraído. Em alguns exemplos, o atuador pode ser modificado para incluir uma trava para manter o gatilho na posição acionada ou para incluir uma liberação lenta de modo que, após a força aplicada ao gatilho ter cessado, a retração dos eletrodos seja atrasada e/ou controlada. É contemplado que esses princípios podem ser aplicados a outros atuadores também, ambos aqueles que exigem movimento físico e outros que operam exclusivamente pelo controle de uma conexão elétrica. Em alguns exemplos, cada uma dentre a porção de controle 48, o tubo de inserção 15 e o atuador 42 são elementos separados. Em outros exemplos, dois ou mais dentre a porção de controle, o tubo de inserção e o atuador são integrais entre si.

[00284] Com referência à Figura 19, outro exemplo de aplicador 70 é mostrado tendo um tubo de inserção 15, um atuador 74 e uma porção de controle 72. O tubo de inserção 15 pode ter um diâmetro menor que um diâmetro interno do canal de trabalho de um endoscópio (*por exemplo*, canal de trabalho 54 do endoscópio 52 mostrado na Figura 4) de modo que o tubo de inserção possa ser inserido no canal de trabalho do endoscópio e possa se estender a partir da porção de controle 72 (*por exemplo*, a extremidade fora do paciente) até o local endoscópico dentro do paciente na extremidade distal do endoscópio. O tubo de inserção 15 pode ser mais longo do que o canal de trabalho do endoscópio. Além disso, pelo menos uma porção do tubo de inserção 15 pode ser flexível para, *por exemplo*, permitir a passagem através de

um endoscópio flexível já posicionado através da via tortuosa do nariz ou boca para os pulmões, ou pode ser rígido de modo que seja mais adequado para a passagem através de uma cânula rígida, ou ainda, para a passagem para dentro do corpo de um paciente sem a necessidade de um instrumento de acesso de qualquer tipo, ou, é claro, para uso com um endoscópio rígido. Essas configurações do tubo de inserção 15 e do instrumento de acesso são exemplos apenas como, é claro, uma configuração com um tubo de inserção flexível 15 poderia ser usada com uma cânula rígida, como um endoscópio rígido. O tubo de inserção 15 também pode incluir um ou mais canais que se estendem através do mesmo para permitir que os vários componentes descritos neste documento se estendam para dentro do paciente para tratamento. Por exemplo, o atuador 74 pode ser engatado de forma móvel com pelo menos uma porção da porção de controle 72 e pode estender-se através do tubo de inserção 15 para permitir que um usuário aplique uma força manual da porção de controle 72 (por exemplo, através de um interruptor 80) para implantar os eletrodos na extremidade distal do tubo de inserção 15, conforme descrito neste documento. A porção de controle 72 pode incluir um corpo 90 e pelo menos uma tampa de extremidade 88, que pode suportar o tubo de inserção 15 e/ou os cabos 76 contidos na mesma. Nas modalidades representadas nas Figuras 19, 27 e 34, o atuador 74 inclui um interruptor de polegar 80 que é fixado deslizantemente à porção de controle 72 e engatado com um mandril 86 através de um conector 84. Com referência à Figura 36, o mandril 86 pode ser fixado a um elemento de pressão 92 (*por exemplo*, por engaste), de modo que quando o atuador 74 for deslizado para frente na porção de controle 72 por um interruptor deslizante de usuário 80, o interruptor 80 empurra o mandril 86 axialmente para frente, o que impulsiona o elemento de pressão 92 axialmente para frente para estender os eletrodos 100 do tubo de inserção 15 (*por exemplo*,

diretamente ou acionando um carregador de eletrodos 206, 602, 802 ou outro componente intermediário, como um balão 302). Esse mecanismo de acionamento manual para implantação de eletrodo pode ser qualquer estrutura desejada além do interruptor de polegar 80 ilustrado, por exemplo, o interruptor 80 pode ser um botão giratório, um botão de pressão, um mecanismo de gatilho ou similares.

[00285] Com referência à Figura 47, ainda outro exemplo de aplicador 110 é mostrado tendo um tubo de inserção 15, um atuador 112 e uma porção de controle 114. Em alguns exemplos, o tubo de inserção 15 pode ter um diâmetro menor que um diâmetro interno do canal de trabalho de um instrumento de acesso canulado, como um endoscópio (*por exemplo*, canal de trabalho 54 do endoscópio 52 mostrado na Figura 4), de modo que o tubo de inserção possa ser inserido no canal de trabalho e possa se estender da porção de controle 114 para uma posição fora do endoscópio na extremidade externa (*por exemplo*, a extremidade fora do paciente) até o local endoscópico dentro do paciente na extremidade distal do endoscópio. O tubo de inserção 15 pode ser mais longo do que o canal de trabalho do endoscópio. O tubo de inserção 15 também pode incluir um ou mais canais que se estendem através do mesmo para permitir que os vários componentes descritos neste documento se estendam para dentro do paciente para tratamento. Por exemplo, o atuador 112 pode ser engatado de forma móvel com pelo menos uma porção da porção de controle 114 e uma porção do atuador pode se estender para dentro do tubo de inserção 15 para permitir que um usuário aplique uma força de um interruptor 116 para implantar os eletrodos na extremidade distal 118 do tubo de inserção 15 conforme descrito neste documento. A porção de controle 114 pode incluir um corpo 120 e pelo menos uma tampa de extremidade 122, que pode suportar o tubo de inserção 15 na mesma. Na modalidade retratada nas Figuras 47, 51, 52 e 57, o atuador 112 inclui

um interruptor de polegar 116 que é fixado deslizantemente à porção de controle 114 e engatado com um mandril oco 124 do atuador através de um conector 126 (*por exemplo*, uma trava de encaixe). O mandril 124 pode ser fixado a um elemento de pressão 128 (*por exemplo*, por engaste conforme mostrado na modalidade da Figura 36), de modo que quando o atuador 112 for deslizado para frente na porção de controle 114 por um interruptor deslizante de usuário 116, o interruptor 116 empurra o mandril oco 124 axialmente para frente, o que impulsiona o elemento de pressão 128 axialmente para frente para estender os eletrodos 100 do tubo de inserção 15 (*por exemplo*, diretamente ou acionando um carregador de eletrodos 206, 602, 802 ou outro componente intermediário, como um balão 302). Dessa maneira, o atuador 112, incluindo o interruptor 116, mandril 124 e elemento de pressão 128, pode estender-se pelo menos parcialmente no tubo de inserção 15 para acionar os eletrodos (*por exemplo*, eletrodos 100).

[00286] O aplicador 14, 110 pode ainda incluir a estrutura do atuador 42, 74, o segundo atuador 94 (Figura 35), descrito mais detalhadamente em outro lugar na presente divulgação, o botão secundário 82 e/ou qualquer um dos outros recursos dos aplicadores 14, 60, 70, 1000 descritos neste documento como se cada recurso individual tivesse sido descrito em relação a cada modalidade, e tais recursos podem operar de acordo com seu propósito pretendido em tais modalidades combinadas. Da mesma forma, em algumas modalidades, os recursos de qualquer aplicador 14, 60, 70, 110, 1000 podem ser incluídas em um dos outros aplicadores.

[00287] Com referência às Figuras 49, 50 e 56, o aplicador 110 pode definir uma ponta de perfuração 130 na extremidade distal 118 do tubo de inserção 15. A ponta perfurante 130 pode definir uma projeção geralmente em forma de agulha com uma extremidade pontiaguda 132 e um núcleo oco através do qual os eletrodos (*por exemplo*, eletrodos

100) e/ou canal de aplicação de fármaco 18 podem passar. A ponta perfurante 130 pode ser configurada para perfurar o tecido corporal para alcançar um local alvo antes de implantar os eletrodos (*por exemplo*, eletrodos 100) e/ou agente de tratamento. Por exemplo, a ponta perfurante 130 pode ser usada para perfurar o revestimento do estômago de um paciente para alcançar órgãos próximos, como o pâncreas ou fígado. Em algumas modalidades, a extremidade distal 118 pode compreender uma ponta plana, sem perfuração, de acordo com outras modalidades discutidas neste documento, tal como é ilustrado nas Figuras 5 e 6.

[00288] Com referência às Figuras 53, 58, 59, em algumas modalidades, o elemento de pressão 128 pode compreender uma porção da fiação para os eletrodos. O gerador (*por exemplo*, o gerador 12 mostrado na Figura 1) pode fornecer impulsos elétricos através de um cabo que entra no corpo 120 da porção de controle 114 através de uma abertura de cabo 134, conforme mostrado nas Figuras 51 e 57. Com referência à Figura 51, o cabo 136 pode passar através da abertura do cabo 134 e se conectar ao mandril ou um ou mais fios contidos no mesmo (*por exemplo*, fios 17 mostrados na Figura 36). Os fios podem transmitir impulsos elétricos para o elemento de pressão 128 a partir do cabo 136, e para os eletrodos 500 a partir do elemento de pressão 128, como mostrado na Figura 53 anos.

[00289] Com referência à modalidade ilustrada na Figura 59, o elemento de pressão 128 pode compreender dois fios enrolados e eletricamente isolados 138, 140 que carregam os impulsos direcionados a dois eletrodos respectivos (*por exemplo*, os eletrodos 100 discutidos neste documento). Os fios enrolados 138, 140 podem ser isolados, por exemplo, com um revestimento isolante (*por exemplo*, feito de polietileno, PVC, polímeros tipo borracha, etc.) e podem ter núcleos condutores passando através do mesmo. Os fios enrolados 138, 140

podem ser isolados de modo que os respectivos sinais opostos dos eletrodos (*por exemplo*, contatos elétricos positivos e negativos) não entrem em curto. O elemento de pressão 128 e o mandril 124 podem definir uma cavidade central 142 através da qual um canal de aplicação de fármaco (*por exemplo*, canal de aplicação de fármaco 18), ou dispositivo adicional relacionado ao tratamento pode passar. As extremidades dos fios enrolados 138, 140 mais próximas da porção de controle 114 do aplicador podem se conectar eletricamente aos fios elétricos correspondentes (*por exemplo*, fios do cabo 136). Esses fios elétricos correspondentes do cabo 136 podem passar a partir dos fios enrolados 138, 140, ao longo do mandril 124 (*por exemplo*, fluando fora do mandril) e para fora do aplicador através da abertura de cabo 134.

[00290] Voltando-se às Figuras 1, 51-53 e 56-58, o aplicador 110 pode incluir um canal de aplicação de fármaco 18 configurado para direcionar fluido de um dispositivo de aplicação de fármaco 16 (mostrado na Figura 1) para um local alvo (*por exemplo*, um tumor ou lesão) no paciente. O dispositivo de aplicação de fármaco 16 (mostrado na Figura 1) pode acoplar-se a uma cobertura 144 do aplicador 110 (*por exemplo*, através de uma conexão rosqueada 146), cuja cobertura 144 pode engatar uma segunda extremidade distal 148 do canal de aplicação de fármaco 18. Em uma configuração alternativa do sistema, o agente de tratamento pode ser fornecido diretamente no canal de aplicação de fármaco 18 através da segunda extremidade distal 148. O canal de aplicação de fármaco 18 pode se estender da segunda extremidade distal 148 na cobertura 144 até uma primeira extremidade distal 164 através da qual um ou mais agentes de tratamento podem ser distribuídos. O canal de aplicação de fármaco 18 pode ser acoplado ao atuador 112 no conector 126, mandril 124 e/ou elemento de pressão 128, e o canal de aplicação de fármaco 18 pode viajar axialmente com

o atuador 112 em relação ao tubo de inserção 15. Em algumas modalidades, o canal de aplicação de fármaco 18 pode ser ligado ao elemento de pressão 128. Em algumas modalidades, por exemplo, como mostrado nas Figuras 51-53 e 56-58, a cobertura 144 pode ser fixada e viajar com o canal de aplicação de fármaco 18. Em algumas modalidades, o canal de aplicação de fármaco 18 pode ser disposto na cavidade central 142 do mandril e elemento de pressão 128. O canal de aplicação de fármaco 18 pode incluir um canal de distribuição 166 que se estende da primeira extremidade distal 164 até a segunda extremidade distal 148 através da qual um ou mais agentes de tratamento podem ser distribuídos da cobertura 144 ao local de tratamento, como mostrado nas Figuras 52 a 53. A primeira extremidade distal 164 do canal de aplicação de fármaco 18 pode ser apontada para perfurar o tecido no local alvo, ou alternativamente pode ter uma extremidade cega para a aplicação atraumática ao tecido no local alvo. O tubo de aplicação de fármaco 18 pode ser flexível de modo que o tubo possa se estender da porção de controle 114 para baixo no tecido alvo em qualquer direção desejada.

[00291] Em algumas modalidades, o canal de aplicação de fármaco pode ter uma forma transversal não circular. Por exemplo, a forma pode ser poligonal, retangular, oblonga, elíptica e assim por diante. Em algumas modalidades, o canal de distribuição 18 pode ser posicionado em uma periferia da trajetória através do tubo de inserção 15. Em alguns exemplos, o canal de entrega 18 pode ser posicionado fora de uma trajetória dos eletrodos. Em alguns exemplos, o canal de distribuição 18 encosta em uma parede interna do tubo de inserção 18. Em alguns exemplos, o canal de distribuição 18 é formado com a parede interna do tubo de inserção 18 e inclui um tubo adicional que passa através do mesmo para avançar para fora do tubo de inserção para aplicação de fármaco durante a realização do método. Em algumas modalidades, o

canal de aplicação de fármaco 18 pode ser um hipotubo.

[00292] Em algumas modalidades, o canal de aplicação de fármaco 18 pode ser feito de um material não condutor. Em algumas modalidades, o canal de aplicação de fármaco 18 pode ser feito de um material cerâmico. Em algumas modalidades, o canal de aplicação de fármaco 18 pode ser feito de aço inoxidável. Em uma modalidade condutora (*por exemplo*, aço inoxidável), a extremidade distal do canal de aplicação de fármaco 18, adjacente aos eletrodos, pode ser revestida em um material não condutor (*por exemplo*, cerâmica não condutora). Em algumas modalidades, o canal de aplicação de fármaco 18 pode ser feito de plástico. Em alguns exemplos, o canal de aplicação de fármaco pode definir um diâmetro de cerca de 0,025 polegadas. O canal de aplicação de fármaco 18 é vantajoso na medida em que fornece uma estrutura protegida dentro do aplicador para administrar um agente de tratamento. Assim, os eletrodos para eletroporação e o agente de tratamento podem ser todos transportados com segurança dentro de uma estrutura, simplificando o procedimento cirúrgico.

[00293] Com referência às Figuras 53, 56 e 58, os eletrodos 500 (*por exemplo*, qualquer um dos eletrodos 100 discutidos neste documento) e o canal de aplicação de fármaco 18 podem ambos ser acionados simultaneamente pelo atuador 112. Em algumas modalidades, os eletrodos 500 (*por exemplo*, qualquer um dos eletrodos 100, 200, 300, 400, 600, 700, 800 discutidos neste documento) e o canal de aplicação de fármaco 18 podem se mover como uma única unidade. Em alguns exemplos, os eletrodos e o canal de aplicação de fármaco se movem como uma unidade única onde os eletrodos são fixados em relação ao canal de aplicação de fármaco 18. Em outros exemplos, o canal de aplicação de fármaco pode ser móvel independente dos eletrodos e o aplicador pode incluir mecanismos de atuação separados acessíveis ou controláveis por um usuário para cada um dentro o canal de aplicação

de fármaco e os eletrodos (e, de forma similar, os eletrodos podem ser acionados coletivamente e simultaneamente ou acionados individualmente por ações de atuação separadas). Dessa maneira, o aplicador pode ser configurado de modo que a implantação do canal de aplicação de fármaco possa ocorrer independentemente da implantação dos eletrodos, de modo que o usuário possa decidir acionar simultaneamente ou sequencialmente. A primeira extremidade distal 164 do canal de aplicação de fármaco 18 pode ser deslocada a partir das pontas 501 dos eletrodos, de modo que, dado um local alvo planar plano, os eletrodos perfuram o local alvo antes do canal de aplicação de fármaco 18. Em outros exemplos, a primeira extremidade distal 164 do canal de aplicação de fármaco 18 pode estar próxima às pontas 501 dos eletrodos 500. Em algumas modalidades, a primeira extremidade distal 164 do canal de aplicação de fármaco 18 é posicionada imediatamente dentro de uma face exterior da tampa de extremidade 510 e permanece estacionária quando os eletrodos 500 forem implantados.

[00294] Em uma modalidade alternativa, o canal de aplicação de fármaco pode ser integral com um ou mais dos eletrodos, de modo que o(s) eletrodo(s) é/são canulado(s) para fornecer uma trajetória de fluxo para o(s) agente(s) de tratamento. Em tal configuração alternativa, os eletrodos seriam posicionados no tecido alvo primeiro e, em seguida, os agentes de tratamento seriam entregues ao tecido através da via canulada através dos eletrodos.

[00295] Com referência à Figura 61, a extremidade distal 118 do tubo de inserção 15 pode incluir um canal de alinhamento 168 e/ou uma tampa de extremidade 510 compreendendo uma abertura de alinhamento 512, em cada caso para alinhar e posicionar o canal de aplicação de fármaco 18 durante a operação. Como mostrado na Figura 53, o canal de alinhamento 168 pode engatar o canal de aplicação de fármaco 18 em toda a sua gama completa de deslocamento para evitar

desalinhamento. Da mesma forma, o canal de alinhamento 168 pode ter um comprimento representando apenas uma fração do tubo de inserção 15 ou pode se estender sobre uma maioria significativa do comprimento. Em algumas modalidades, o canal de alinhamento 168 e/ou a tampa de extremidade 510 podem vedar a extremidade do tubo de inserção 15 para impedir que o agente de tratamento ou fluido corporal entre no aplicador 110.

[00296] Voltando-se para a Figura 86, outro exemplo de aplicador 1000 é mostrado tendo um tubo de inserção direcionável 1015. O aplicador 1000 inclui um mecanismo de direção para fornecer controle adicional do aplicador, particularmente onde o aplicador tem um corpo flexível. Por exemplo, o aplicador 1000 pode incluir um ou mais cabos que se estendem da porção de controle 1014 até a extremidade distal 1018 do tubo de inserção 1015 para permitir que um usuário direcione a extremidade distal 1018, os eletrodos 500 e o canal de distribuição 18 para o local alvo dentro do paciente. O tubo de inserção 1015 pode incluir uma porção flexível 1005 e uma porção rígida 1010 para permitir que apenas as porções desejadas do aplicador se dobrem durante a direção (*por exemplo*, os cabos podem ser deslocados do centro axial do tubo de inserção de modo que a aplicação de uma força a um ou mais cabos se dobre na porção flexível 1005 na direção do(s) cabo(s)). Os cabos podem ser fixados ao aplicador em ou próximo à porção de controle 1014 e entre a porção rígida 1010 e a primeira extremidade distal 1018 para dobrar a porção flexível 1005 mediante a aplicação de uma força aos cabos a partir da porção de controle.

[00297] O aplicador 1000 pode incluir eletrodos 500, um canal de distribuição 18, uma porção de controle 1014 e um atuador 1012, que pode incluir os recursos, estrutura e operação de qualquer um dos eletrodos, porções de controle, atuadores e canais de distribuição descritos neste documento, tais como aqueles dos aplicadores 14, 60,

70, 110 e que podem cooperar com os outros componentes de um sistema de eletroporação divulgado neste documento, incluindo um gerador e dispositivo de aplicação de fármaco. O tubo de inserção 1015 e os componentes direcionáveis podem ser substituídos pelos tubos de inserção 15 de qualquer outra modalidade discutida neste documento como se cada recurso individual tivesse sido descrito em relação a cada modalidade, e tais recursos podem operar de acordo com sua finalidade pretendida em tais modalidades combinadas. O tubo de inserção 1015 pode compreender qualquer uma das dimensões ou configurações dos tubos de inserção 15 descritos neste documento com a adição de componentes direcionáveis.

[00298] Em algumas modalidades, o aplicador 1000 pode ser um aplicador laparoscópico direcionável. Conforme descrito neste documento, um aplicador laparoscópico direcionável pode ser usado como uma alternativa a um aplicador endoscópico. Por exemplo, em algumas modalidades, o aplicador 1000 pode obter acesso à anatomia interior através de um trocarte. A porção rígida 1010 do tubo de inserção 1015 pode permitir fácil manobrabilidade, enquanto a porção flexível 1005 permite a direção através dos cabos. O aplicador 1000 pode ter um botão que pode ser girado que aciona o movimento da ponta do aplicador para cima e para baixo até 120 graus ou menos em relação à porção rígida 1010 em cada direção. Em algumas modalidades, a ponta direcionável pode mover 90 graus ou mais em duas ou mais direções (*por exemplo*, para cima e para baixo).

[00299] Em algumas modalidades, conforme discutido neste documento, o endoscópio pode ser um trocarte, cânula flexível ou outro instrumento de inserção para inserção em um paciente. Em algumas modalidades, o aplicador 14 pode ser um dispositivo direcionável (*por exemplo*, o aplicador laparoscópico 1000 mostrado na Figura 86) que pode ser inserido em um paciente sem um dispositivo de inserção

separado. Em algumas modalidades, o aplicador pode ser radiopaco em sua extremidade distal.

[00300] Os canais de trabalho dos endoscópios usados para várias endoscopias (*por exemplo*, canal de trabalho 54 do endoscópio 52 mostrado na Figura 4) podem ter um diâmetro limitado através do qual uma ou mais porções do sistema de eletroporação 10 podem ser inseridas para alcançar o local de endoscópico (*por exemplo*, extremidade distal adjacente 56 do endoscópio 52 mostrado na Figura 4). Nas modalidades que incluem um endoscópio como parte do sistema, as porções do sistema de eletroporação 10 que se estendem para dentro do endoscópio devem se encaixar dentro do canal de trabalho do endoscópio. Por exemplo, em alguns casos, como na broncoscopia, o canal de trabalho do endoscópio pode ter 2,2 mm ou menos de diâmetro, e as porções do sistema de eletroporação 10 que entram no endoscópio (*por exemplo*, o tubo de inserção 15) podem ter 2,0 mm ou menos de diâmetro. Em algumas modalidades, o canal de trabalho do endoscópio pode ter 4 mm ou menos de diâmetro. Em algumas modalidades, o tubo de inserção 15 é flexível para seguir quaisquer curvas ou dobras no canal de trabalho do endoscópio.

[00301] Em algumas modalidades, o aplicador 14 pode incluir pelo menos dois eletrodos 100 na extremidade distal do tubo de inserção 15 (*por exemplo*, a extremidade oposta à porção de controle 48, 72, 114) com um ou mais fios ou outro material condutor estendendo-se a partir do gerador 12 (mostrado na Figura 1) até os eletrodos 100 através do tubo de inserção 15. Em algumas modalidades (*por exemplo*, conforme descrito abaixo em relação às Figuras 47-67), o aplicador 14 também pode incluir outros componentes, tais como um canal de aplicação de fármaco 18, que se estendem através do tubo de inserção 15 a partir de um dispositivo de aplicação de fármaco 16 (mostrado na Figura 1) até a extremidade distal do tubo de inserção 15. Em tais modalidades, a

fiação para os eletrodos 100 e o canal de aplicação de fármaco 18 podem correr paralelos um ao outro pelo tubo de inserção 15 a partir da porção de controle (*por exemplo*, porção de controle 48 mostrada na Figura 2; porção de controle 72 mostrada na Figura 19; ou porção de controle 114 mostrada na Figura 47) do aplicador 14 até a extremidade distal. Em algumas modalidades, o aplicador 60, 70, 110, 1000 pode incluir os recursos acima mencionados.

[00302] Em algumas modalidades, o aplicador 14 pode incluir pelo menos dois eletrodos 100 que se estendem através do tubo de inserção 15 até a extremidade distal, e um aplicador de aplicação de fármaco separado 19 pode distribuir um plasmídeo, fármaco e/ou outro agente de tratamento ao local de eletroporação. O aplicador de aplicação de fármaco 19 pode administrar um ou mais agentes de tratamento sequencialmente com a eletroporação ou simultaneamente através de diferentes canais ou vetores. Em algumas modalidades, o aplicador 60, 70, 110, 1000 pode incluir os recursos acima mencionados.

[00303] Por exemplo, em um sistema com um endoscópio, uma vez que o endoscópio está em posição dentro do paciente, o aplicador de aplicação de fármaco 19 pode primeiro ser inserido no endoscópio até que uma extremidade distal do aplicador de aplicação de fármaco 19 atinja o local de eletroporação alvo (*por exemplo*, um tumor ou outra lesão visceral) em ou adjacente à extremidade distal do endoscópio, após o qual os agentes de tratamento podem ser administrados. O aplicador de aplicação de fármaco 19 pode, então, ser removido e substituído no endoscópio pelo aplicador 14 para eletroporação e o local de eletroporação alvo pode ser eletroporado para facilitar a permeação dos agentes de tratamento nas células.

[00304] Em algumas modalidades, um ou mais agentes de tratamento podem ser administrados através de outros meios em vez de ou em adição à administração de agente(s) de tratamento através do

endoscópio ou aplicador de aplicação de fármaco 19. Por exemplo, um ou mais agentes de tratamento podem ser administrados por injeções intramusculares (IM), intratecais (IT) ou intravenosas (IV) antes, durante ou após a eletroporação.

[00305] Com referência às figuras 44 a 46, um cabo 76 e o conector correspondente 78 são mostrados para conectar um aplicador 14, 60, 70, 110, 1000 a um gerador 12.

[00306] Em algumas modalidades, um aplicador pode incluir um atuador que permanece fisicamente estacionário quando acionado. Por exemplo, o atuador pode ser um botão em uma tela sensível ao toque que é operável para controlar a implantação dos eletrodos dentro do tubo de inserção. A tela sensível ao toque pode incluir um sensor (*por exemplo*, uma pressão, toque capacitivo e/ou sensores de gesto) para detectar o contato com a tela e, assim, controlar se um circuito ligado a um elemento de controle no aplicador faz com que o elemento de controle se mova axialmente em resposta à abertura e fechamento do circuito. O elemento pode estar fisicamente associado aos eletrodos de modo que o movimento axial do elemento de controle ocorra com o movimento axial dos eletrodos. Em alguns exemplos, o circuito pode ser configurado para fazer com que os eletrodos se movam diretamente em resposta à abertura e fechamento do circuito. Em algumas modalidades, a atuação do aplicador pode ocorrer em um dispositivo remoto ligado ao aplicador através de uma conexão sem fio. Nessa disposição, um sinal do atuador é recebido no aplicador para controlar o movimento dos eletrodos. Em alguns exemplos, um canal de aplicação de fármaco axialmente fixado em relação aos eletrodos pode ser simultaneamente controlado através desses meios de atuação eletrônicos. Em outros exemplos, um segundo controle elétrico (*por exemplo*, tela sensível ao toque) pode ser incluído para controlar a implantação do canal de aplicação de fármaco separadamente dos eletrodos.

Implantação de Eletrodo

[00307] Durante a eletroporação, a distância entre os eletrodos (*por exemplo*, eletrodos 100) pode afetar o tamanho da área de tratamento e a amplitude, frequência e/ou comprimento de onda necessários dos sinais elétricos necessários para a eletroporação. O tamanho do canal de trabalho no endoscópio ou no tubo de inserção do aplicador pode limitar o espaçamento entre os eletrodos porque os eletrodos devem se encaixar dentro do canal de trabalho e, portanto, o tamanho da área de tratamento de eletroporação pode ser restrito durante terapias endoscópicas de maneiras não exigidas em métodos e aparelhos não endoscópicos ou procedimentos não minimamente invasivos.

[00308] Em algumas modalidades da presente divulgação, o aplicador 14 e os eletrodos 100 podem ser estruturados de modo que os eletrodos sejam capazes de ser implantados em um espaçamento mais largo do que o canal de trabalho em um caso em que os eletrodos sejam capazes de limpar a extremidade distal do endoscópio. Em algumas modalidades, os eletrodos 100 podem se expandir mais largos do que uma abertura (*por exemplo*, uma abertura de laparoscópica) em um ponto de acesso no paciente. Em algumas modalidades, os eletrodos 100 podem expandir-se mais do que uma extremidade distal do tubo de inserção 15. Em algumas modalidades, os eletrodos 100 podem se expandir mais largos do que um ou mais canais (*por exemplo*, canais 204, 404, etc.) no tubo de inserção 15. Em algumas modalidades, os eletrodos podem expandir-se para um espaçamento aproximadamente igual à extremidade distal do tubo de inserção 15 ou aproximadamente igual a uma largura de um ou mais canais. Em algumas modalidades, os eletrodos podem se expandir para um espaçamento menor que a extremidade distal do tubo de inserção 15. Em algumas modalidades, um atuador 42, 74, 112 pode se estender através ou sobre o tubo de inserção 15 do aplicador 14 e pode ser

configurado para aplicar uma força axial (*por exemplo*, uma força tendo um componente ao longo do eixo longitudinal do tubo de inserção 15) aos eletrodos 100. Essa força axial pode fazer com que os eletrodos se estendam axialmente e/ou radialmente para fora da extremidade distal do tubo de inserção 15 do aplicador 14 para eletroporar o tecido alvo no local de eletroporação. Em alguns exemplos, a maneira de expansão dos eletrodos pode ser uma função do espaço disponível em vista do tamanho transversal do tubo de inserção e a posição do eletrodo dentro do tubo na posição retraída. Em um exemplo específico, um aplicador com eletrodos muito próximos uns dos outros na posição retraída pode incluir uma implantação em expansão radial de tais eletrodos de modo que as pontas do eletrodo alcancem um espaçamento necessário para a operação segura e eficaz do aplicador após a implantação (*por exemplo*, minimizar a possibilidade de arco elétrico entre os eletrodos).

[00309] Em algumas modalidades, o tubo de inserção 15 pode definir um diâmetro de cerca de 2 mm. Em uma posição retraída, armazenada dentro do tubo de inserção 15, as pontas dos eletrodos 100 podem ser espaçadas a cerca de 1,8 mm de distância. Na posição implantada, as pontas dos eletrodos 100 podem ser separadas a cerca de 3 mm de distância. Em algumas modalidades, na posição implantada, as pontas dos eletrodos 100 podem ser espaçadas maiores do que o diâmetro externo da extremidade distal do tubo de inserção. Em algumas modalidades, na posição implantada, as pontas dos eletrodos 100 podem ser separadas maiores do que o diâmetro externo de uma extremidade distal do dispositivo de inserção (*por exemplo*, endoscópio). Em algumas modalidades, na posição implantada, as pontas dos eletrodos 100 podem ser espaçadas em mais de 2 mm. Em algumas modalidades, na posição implantada, as pontas dos eletrodos 100 podem ser espaçadas em mais de 3 mm. Em algumas modalidades, na posição implantada, as pontas dos eletrodos 100 podem ser

espaçadas de 2 mm a 3 mm. Em algumas modalidades, na posição implantada, as pontas dos eletrodos 100 podem ser espaçadas cerca de 4 mm. Em algumas modalidades, na posição implantada, as pontas dos eletrodos 100 podem ser espaçadas em mais de 4 mm. Em algumas modalidades, na posição implantada, as pontas dos eletrodos 100 podem ser espaçadas menos de 4 mm. Em algumas modalidades, na posição implantada, as pontas dos eletrodos 100 podem ser espaçadas em mais de 5 mm. Em algumas modalidades, na posição implantada, as pontas dos eletrodos 100 podem ser espaçadas de 3 mm a 5 mm. Em algumas modalidades, na posição implantada, as pontas dos eletrodos 100 podem ser espaçadas de 2 mm a 5 mm. Em algumas modalidades, na posição implantada, as pontas dos eletrodos 100 podem ser espaçadas cerca de 5 mm. Em algumas modalidades, na posição implantada, as pontas dos eletrodos 100 podem ser espaçadas menos de 5 mm. Em um exemplo particular, o espaçamento do eletrodo pode, preferencialmente, ser de cerca de 5 mm ou menos para um aplicador descrito em conjunto com a eletroporação do gerador de baixa tensão. Em qualquer uma das configurações acima, a eletroporação de baixa ou alta tensão pode ser realizada.

[00310] Em algumas modalidades, os eletrodos 100 podem ser feitos de aço inoxidável e revestidos com ouro. Em algumas modalidades, os eletrodos 100 podem ser substancialmente flexíveis, tendo uma estrutura semelhante às agulhas de acupuntura. Os eletrodos 100 podem ter 0,25 mm de diâmetro em algumas modalidades. Os eletrodos 100 podem se estender cerca de 6 mm de comprimento em algumas modalidades. Em algumas modalidades, o diâmetro e o comprimento dos eletrodos podem variar das dimensões específicas descritas neste documento. Em algumas modalidades, o atuador 42, 74, 112 e os componentes não metálicos restantes do aplicador 14, 60, 70, 110, 1000, tais como o corpo 90, 120 e as tampas de extremidade 88, 122,

podem ser feitos de um material plástico (*por exemplo*, polietileno de alta densidade, poliuretano trançado (FEP, PEEK, etc.), etc.).

[00311] Com referência às Figuras 2, 19, 47 e 86, conforme detalhado acima, o aplicador 14, 60, 70, 110, 1000 pode incluir o tubo de inserção 15, 1015, a porção de controle 48, 72, 114, 1014 e o atuador 42, 74, 112, 1012. O atuador 42, 74, 112, 1012 pode incluir um gatilho 44, interruptor 80, 116 ou outro elemento de acionamento e um elemento de pressão 46, 92, 128 que pode ser rígido em algumas modalidades e suficientemente flexível para dobrar com um endoscópio flexível em algumas modalidades. Por exemplo, em algumas aplicações laríngeas, o tubo de inserção 15 e o atuador 42, 74, 112 podem ser rígidos. Com referência à Figura 2, o gatilho 44 pode ser fixado de forma articulada à porção de controle 48 e ao elemento de empurrar 46 de modo que puxar o gatilho force o elemento de empurrar 46 ao longo do tubo de inserção 15 do aplicador 60 em direção ao local endoscópico na extremidade distal do tubo de inserção 15, e estender o gatilho 44 (*por exemplo*, mover o gatilho de volta para a posição mostrada na Figura 2) irá retraindo o elemento de pressão 46 de volta para a porção de controle 48. Com referência à Figura 19, o interruptor 80 pode ser fixado deslizando à porção de controle 72 e o elemento de pressão 92 através do mandril 86, de modo que deslizar o interruptor force o elemento de pressão 92 ao longo do tubo de inserção 15 do aplicador 70 em direção ao local endoscópico na extremidade distal do tubo de inserção 15, e retraindo o interruptor 80 (*por exemplo*, mover o interruptor de volta em direção ao usuário) irá retraindo a porção de pressão 92 do elemento de pressão 72. Com referência à Figura 47, o interruptor 116 pode ser fixado de maneira deslizante à porção de controle 126 e ao mandril 124 de modo que deslizar o interruptor force o elemento de pressão 128 ao longo do tubo de inserção 15 do aplicador 110 em direção ao local endoscópico na extremidade distal do tubo de inserção

15 , e retrain o interruptor 116 (*por exemplo*, mover o interruptor de volta em direção ao usuário) retrain o elemento de pressão 128 de volta para a porção de controle 114.

[00312] Voltando-se para as Figuras 5-41 e 60-66, várias modalidades dos conjuntos de extremidade distal do tubo de inserção 15 do aplicador 14 são mostradas. Em cada modalidade, os eletrodos podem ser acionados axial e radialmente para fora para criar um espaçamento maior entre as extremidades dos eletrodos. Em algumas modalidades, quando movidas para uma posição implantada, as extremidades dos eletrodos são espaçadas mais afastadas do que o diâmetro externo do tubo de inserção 15 do atuador 14. Em algumas modalidades, quando movidas para uma posição implantada, as extremidades dos eletrodos são espaçadas mais afastadas do que o diâmetro interno do canal de trabalho (*por exemplo*, canal de trabalho 54 do endoscópio 52 mostrado na Figura 4). Em cada modalidade, os eletrodos podem ser acionados direta ou indiretamente pelo atuador através do elemento de pressão ambos na direção externa (*por exemplo*, implantação) quanto na direção interna (*por exemplo*, retração).

[00313] Com referência às Figuras 5, 6, 20-21, 62, 63, um par de eletrodos 200 é mostrado tendo uma posição retraída (Figuras 5, 21, 63) e uma posição implantada (Figuras 6, 20, 62) de acordo com algumas modalidades descritas neste documento. Os eletrodos 200 podem, cada um, incluir uma ponta 201 em uma extremidade distal da mesma oposta ao tubo de inserção 15. A ponta 201 dos eletrodos 200 pode definir uma extremidade pontiaguda configurada para perfurar o tecido alvo para eletroporação. Na modalidade representada, o aplicador 14, 110 inclui uma tampa de extremidade 202, 210 na extremidade distal do tubo de inserção 15 tendo pelo menos dois canais angulares 204 definidos no mesmo. Os dois canais angulares 204 na

modalidade representada são configurados para inclinar os eletrodos para fora na posição implantada (Figuras 6, 20, 62) de modo que o espaçamento entre as extremidades dos eletrodos aumente. A modalidade das Figuras 62 e 63 representa outra modalidade do tubo de inserção 15 e tampa de extremidade 210 através da qual os eletrodos 200 podem se estender através dos canais angulares 204 e que também representam uma abertura de alinhamento 212 e canal de alinhamento 168 para suportar um canal de aplicação de fármaco 18 no mesmo. A modalidade das Figuras 62-63 representa a modalidade das Figuras 5, 6, 20-21 tendo um tubo de inserção 15 com um canal de aplicação de fármaco 18 que se estende através do mesmo. O canal de aplicação de fármaco 18 e os eletrodos 200 podem ser operados e estruturados de acordo com qualquer uma das modalidades neste documento.

[00314] Com referência às Figuras 5 e 63, os canais angulares 204 são orientados nos respectivos ângulos α , β em relação ao eixo longitudinal 50. Em algumas modalidades, os ângulos α , β podem ser iguais, de modo que os eletrodos 200 sejam orientados em ângulos substancialmente espelhados em relação ao eixo 50 na posição implantada. Em algumas modalidades, os ângulos α , β podem ser ligeiramente diferentes, mas se estendem em direções diferentes em relação ao eixo 50. Em algumas modalidades, os ângulos α , β são, cada um, agudos, de modo que quando o elemento de pressão 46 aplicar uma força axial, direta ou indiretamente, nos eletrodos 200 em direção à tampa de extremidade 202, 210, o ângulo dos canais 204 gira os eletrodos para angular os eletrodos na direção dos canais 204 conforme os eletrodos se estendem para fora da tampa de extremidade 202 na posição implantada mostrada nas Figuras 6 e 62. Da mesma forma, quando o elemento de pressão 46, 128 se retrair de volta em direção à porção de controle 48, 114, conforme descrito acima, os eletrodos 200

podem ser puxados de volta para a tampa de extremidade 202, 210 do aplicador 14, 110 e para dentro da cavidade interna do tubo de inserção 15, permitindo que os eletrodos se reorientem dentro do tubo de inserção 15. Assim, na posição retraída (Figuras 5, 21, 63), os eletrodos 200 são substancialmente paralelos uns aos outros e, na posição implantada, pelo menos uma porção dos eletrodos 200 estão em um ângulo (*por exemplo*, $\alpha + \beta$) um ao outro conforme definido pelos canais angulares 204 como resultado do atuador empurrando os eletrodos para dentro dos canais angulares.

[00315] Em qualquer uma das modalidades discutidas neste documento, os eletrodos (*por exemplo*, uma agulha) podem ser feitos de um material suficientemente flexível para permitir que os eletrodos se dobrem ao se moverem entre as posições retraídas e as posições implantadas. Em algumas modalidades, os eletrodos 100 podem ser feitos de aço inoxidável e revestidos com ouro. Por exemplo, em algumas modalidades, os eletrodos podem ser substancialmente os mesmos que as agulhas de acupuntura. Com referência à Figura 21, um transportador 206 pode fixamente segurar os eletrodos 200 de modo que os eletrodos se projetem a uma distância predeterminada do transportador (*por exemplo*, 5 mm). Em tais modalidades, os eletrodos 200 podem se dobrar ao passar através da tampa de extremidade 202, 210 ao longo dos canais angulares 204 de modo que a extremidade distal dos eletrodos seja orientada na direção dos canais angulares enquanto as bases (opostas à extremidade distal) dos eletrodos permanecem paralelas. Em qualquer uma das modalidades neste documento, incluindo um transportador de eletrodos, o transportador pode incluir passagens para o descarte de eletrodos no mesmo e uma passagem adicional para o descarte de um canal de aplicação de fármaco.

[00316] Na modalidade mostrada nas Figuras 20-21, o transportador

206 é acionado entre as posições retraídas e implantadas pelo elemento de pressão 92 (mostrado nas Figuras 33, 36), cujo elemento de pressão pode encostar em uma superfície posterior próxima do transportador oposta à extremidade distal. Os fios elétricos 17 que fornecem os sinais elétricos aos eletrodos 200 podem passar através de um canal 208 no transportador 206 para conectar o gerador aos eletrodos. Em algumas modalidades, o elemento de pressão 92 pode ser fixado ao transportador 206.

[00317] Com referência às Figuras 7, 8 e 22-25, um par de eletrodos 300 é mostrado tendo uma posição retraída (Figuras 7, 25) e uma posição implantada (Figuras 8, 22, 24) de acordo com algumas modalidades descritas neste documento. Os eletrodos 300 podem, cada um, incluir uma ponta 301 em uma extremidade distal da mesma oposta ao tubo de inserção 15. A ponta 301 dos eletrodos 300 pode definir uma extremidade pontiaguda configurada para perfurar o tecido alvo para eletroporação. Na modalidade representada, o aplicador 14, 60, 70, 110, 1000 inclui uma bexiga expansível 302 na qual as extremidades dos eletrodos 300 são embutidas. Em algumas modalidades, a bexiga pode ser feita de um material flexível e elástico, tal como borracha. Em uso, a bexiga 302 pode ser retraída e comprimida dentro do tubo de inserção 15 na posição retraída (Figura 7, 25). Na posição retraída, os eletrodos 300 são posicionados juntos a uma distância menor que o diâmetro interno do tubo de inserção 15 porque a bexiga 302 é comprimida radialmente para dentro pelo tubo de inserção 15.

[00318] Em operação, o elemento de pressão 46, 92 aplica uma força axial, direta ou indiretamente, na bexiga 302 e faz com que a bexiga saia da extremidade distal do tubo de inserção 15. Após limpar a extremidade distal do tubo de inserção 15, a bexiga 302 pode expandir em uma forma implantada (*por exemplo*, uma forma substancialmente esférica). Em algumas modalidades, a bexiga 302 pode se expandir por

pressão pneumática fornecida a partir de um suprimento de ar a montante da bexiga 302 (*por exemplo*, através de um conduto que passa através do aplicador). Por exemplo, com referência às Figuras 22-23, a porção de controle 72 pode incluir um botão secundário 82 para ativar um fornecimento pneumático para inflar a bexiga 302. Em algumas modalidades, a bexiga 302 pode expandir mecanicamente devido à força restauradora elástica da bexiga retornando à sua forma natural e expandida com ou sem assistência pneumática. Da mesma forma, quando o elemento de pressão 46 se retrair de volta em direção à porção de controle 48, conforme descrito acima, os eletrodos 300 podem ser puxados de volta para o tubo de inserção 15 do aplicador 14, fazendo com que a bexiga 302 se recomprima e deforme e fazendo com que os eletrodos 300 se movam mais próximos.

[00319] Os eletrodos 300 podem ser paralelos nas posições retraída (Figura 7) e expandida (Figura 8). Em algumas modalidades, os eletrodos 300 podem ser angulados em uma ou ambas as posições retraídas e expandidas. Por exemplo, os eletrodos podem ser montados em qualquer posição na bexiga 302 e em qualquer orientação desejada (*por exemplo*, inclinados para fora, semelhante à modalidade das Figuras 5-6).

[00320] Voltando-se às Figuras 9, 10, 64 e 65, outra modalidade dos eletrodos 400 é mostrada na qual os eletrodos 400 são feitos de Níquel Titânio (Nitinol). O nitinol é uma liga com memória de forma capaz de "lembrar" uma forma programada e retornar à forma programada sob certas condições de temperatura. O nitinol pode ser programado para uma forma específica mantendo o nitinol em uma posição predeterminada (*por exemplo*, a forma "S" mostrada na Figura 10) e aquecendo o nitinol a cerca de 500 °C (932 °F) para definir a forma do nitinol. Após a configuração da forma, o nitinol pode ser resfriado à temperatura ambiente e mecanicamente deformado em uma segunda

forma (*por exemplo*, a forma reta mostrada na Figura 9). Durante o uso, quando o nitinol for aquecido acima de uma temperatura de transformação, o nitinol retorna à sua forma programada. Os eletrodos 400 podem, cada um, incluir uma ponta 401 em uma extremidade distal da mesma oposta ao tubo de inserção 15. A ponta 401 dos eletrodos 400 pode definir uma extremidade pontiaguda configurada para perfurar o tecido alvo para eletroporação.

[00321] Ao ajustar as proporções de níquel e titânio no Nitinol, a temperatura de transformação (*por exemplo*, a temperatura na qual 50% do nitinol muda da forma mostrada nas Figuras 9, 65 para a posição mostrada nas Figuras 10, 64) do nitinol pode ser ajustada em relação à temperatura corporal humana, de modo que o Nitinol mude de forma ao entrar em contato com a temperatura do corpo do paciente. Em uso, o nitinol pode ter uma temperatura de "início" e uma temperatura de "acabamento" na qual a transformação começa e termina, respectivamente. Em algumas modalidades, a temperatura de acabamento pode ser menor ou igual à temperatura corporal. Por exemplo, em algumas modalidades, o nitinol pode incluir 54,5% de níquel e 45,5% de titânio, que pode ter uma temperatura de transformação de 60° Celsius. Em algumas modalidades, a temperatura de transição do Nitinol pode ser a temperatura corporal humana. Como alternativa, em vez de depender da temperatura corporal do paciente para aquecer o Nitinol, os eletrodos 400 podem, em vez disso, mudar de forma mediante uma tensão que passa através do mesmo, seja a tensão atual sendo usada para eletroporação, ou alguma quantidade de pré-tensão, como uma tensão menor com um único uso pretendido de auxiliar os eletrodos a mudar de forma. Uma vez que a forma seja alterada, a tensão padrão pode ser passada através dos eletrodos.

[00322] O elemento de pressão 46, 128 pode implantar os eletrodos 400 aplicando uma força axial, direta ou indiretamente, nos eletrodos

400 em direção à extremidade distal e tampa de extremidade 402, 420 quando os eletrodos 400 estiverem em sua forma deformada, substancialmente reta (*por exemplo*, a forma mostrada nas Figuras 9, 65). O elemento de pressão 46, 128 pode fazer com que os eletrodos 400 se transladem axialmente através da tampa de extremidade 402, 420 dos canais 404 até que uma porção dos eletrodos se estenda da extremidade distal do aplicador 14. Em algumas modalidades, os canais 404 podem ser substancialmente paralelos ao eixo 50 do aplicador 14. Após alterar a temperatura acima da temperatura de transformação, os eletrodos 400 podem mudar de forma para sua forma programada, na qual os eletrodos são curvados para fora para ampliar o espaçamento entre as extremidades dos eletrodos, conforme mostrado nas Figuras 10 e 64. A modalidade das Figuras 64 e 65 representa outra modalidade do tubo de inserção 15 e tampa de extremidade 420 através da qual os eletrodos 400 podem se estender através dos canais 404, e que também representam uma abertura de alinhamento 422 e canal de alinhamento 168 para suportar um canal de aplicação de fármaco 18 no mesmo. A modalidade das Figuras 64 e 65 representa a modalidade das Figuras 9-10 tendo um tubo de inserção 15 com um canal de aplicação de fármaco 18 que se estende através do mesmo. O canal de aplicação de fármaco 18 e os eletrodos 400 podem ser operados e estruturados de acordo com qualquer uma das modalidades neste documento.

[00323] Em algumas modalidades, as pontas 401 dos eletrodos 400 podem ser substancialmente paralelas umas às outras nas posições retraídas (Figuras 9, 65) e implantadas (Figuras 10, 64), enquanto as seções intermediárias dos eletrodos curvam-se em uma forma "S" ao fazer a transição da posição retraída para a posição implantada. Da mesma forma, quando o elemento de pressão 46, 128 se retrair de volta em direção à porção de controle 48, 114, conforme descrito acima, os

eletrodos 400 podem ser puxados de volta para a tampa de extremidade 402 do aplicador 14 e para dentro da cavidade do tubo de inserção 15, fazendo com que o nitinol se deforme mecanicamente de volta para uma posição substancialmente reta quando o nitinol for forçado contra os canais 404.

[00324] Com referência à Figura 11, em algumas modalidades, os eletrodos 400 podem engatar uma luva de nitinol externa 410 e um fio 17 (*por exemplo*, fios separados 17 ou fios conectados a um elemento de pressão condutor 128) passando através da luva. Por exemplo, os eletrodos 400 podem ser agulhas rígidas afixadas à luva de nitinol 410 em uma extremidade (*por exemplo*, a extremidade distal ao sair da tampa de extremidade 402) e o fio 17 pode conectar os eletrodos ao gerador (*por exemplo*, gerador 12 descrito neste documento). Em tais modalidades, o nitinol não é necessário para transportar os sinais elétricos para eletroporação e, em vez disso, forma uma luva de mudança de forma em torno dos elementos condutores. Em algumas modalidades, os eletrodos 400 podem ser feitos de nitinol revestido em um material condutor para transportar um sinal elétrico sobre o mesmo. Por exemplo, os eletrodos 400 podem ter uma estrutura de nitinol com um revestimento a base de níquel e um revestimento condutor de ouro sobre o revestimento de níquel.

[00325] As Figuras 26-30 mostram outra modalidade de acordo com a divulgação da Figura 11. Em particular, a modalidade das Figuras 26-30 incluem eletrodos 800 e um transportador de nitinol 802 (também referido como uma luva) tendo duas metades pelo menos parcialmente cilíndricas 804 que mudam de forma substancialmente da mesma maneira conforme descrito em relação às modalidades das Figuras 9-11 para posicionar os eletrodos 800 em uma posição mais ampla quando implantados, retornando a uma forma de "S" pré-programada na temperatura corporal ou acima, após o atuador 74 implantar os

eletrodos. Em algumas modalidades, os eletrodos 800 podem ser fixados a uma porção reta das metades de transportador 804 com o fio 17 sendo disposto nas porções de mudança de forma do transportador 802. Os eletrodos 800 podem incluir pontas 801 configuradas para se estenderem para dentro do tecido alvo.

[00326] O transportador 802 pode incluir uma porção cilíndrica 806 conectando as duas metades 804. Com referência às Figuras 29-30, o elemento de pressão 92 pode engatar a porção cilíndrica 806 do transportador 802 para acionar os eletrodos 800, cujos eletrodos podem ser fixados de forma fixa ao transportador. Em algumas modalidades, a porção cilíndrica 806 pode ser fixada ao elemento de pressão 92. Na modalidade representada, os fios 17 para fornecer os sinais elétricos do gerador podem passar através do transportador de nitinol 802 e podem ser conectados aos eletrodos 800 (como mostrado na Figura 30). Em algumas modalidades, os fios 17 podem não ser fixados ao transportador 802 de modo que os fios possam deslizar em relação ao transportador quando as metades do transportador 804 mudarem de forma. Em algumas modalidades, o transportador de nitinol 802 pode ter 20-25 mm de comprimento quando endireitado. Em algumas modalidades, o elemento de pressão 92 pode ser fixado ao transportador de nitinol 802 em uma extremidade de base do transportador de nitinol.

[00327] Voltando-se às Figuras 12, 13, 31, 32, 60 e 61, uma modalidade dos eletrodos 500 é mostrada tendo substancialmente a mesma forma implantada (mostrada nas Figuras 13, 31, 60) que os eletrodos de Nitinol 400 mostrados na Figura 10. Os eletrodos 500 podem, cada um, incluir uma ponta 501 em uma extremidade distal da mesma oposta ao tubo de inserção 15. A ponta 501 dos eletrodos 500 pode definir uma extremidade pontiaguda configurada para perfurar o tecido alvo para eletroporação. Na modalidade das Figuras 12, 13, 31,

32, 60 e 61, os eletrodos 500 são feitos de materiais condutores tradicionais, que podem ser um pouco flexíveis, mas elasticamente retornam ao seu formato original quando as forças de tensão forem removidas. Por exemplo, conforme discutido acima, os eletrodos 500 podem ser feitos de uma agulha flexível com as propriedades de uma agulha de acupuntura. Na modalidade representada, os eletrodos 500 são comprimidos radialmente para dentro na posição retraída (Figura 12, 32, 61) e são, então, capazes de se expandir para fora na posição implantada (Figura 13, 31, 62).

[00328] O tubo de inserção 15 do aplicador 14, 60, 70, 110, 1000 pode incluir uma tampa de extremidade 502, 510 definindo os canais 504 através dos quais os eletrodos 500 podem se estender. Na modalidade representada, os eletrodos 500 têm um formato curvado em "S" em todos os momentos, e força os eletrodos através da tampa de extremidade 502, 510 pode exigir alguma deformação dos eletrodos. O elemento de pressão 46, 92, 128 pode implantar os eletrodos 500 aplicando uma força axial, direta ou indiretamente, em direção à extremidade distal e tampa de extremidade 502, 510 do tubo de inserção 15. O elemento de pressão 46, 92, 128 pode forçar os eletrodos 500 através da tampa de extremidade 502, 510 e permitir que os eletrodos 500 se expandam para sua largura final na posição implantada. Em algumas modalidades, as extremidades dos eletrodos 500 podem ser substancialmente paralelas pelo menos na posição implantada. O elemento de pressão 46, 92, 128 pode, então, retraindo os eletrodos 500 puxando os eletrodos de volta para o tubo de inserção 15. Em algumas modalidades, um transportador (*por exemplo*, transportador 206 mostrado na Figura 21) pode engatar os eletrodos 500 e o elemento de pressão 46, 92, 128 para transmitir a força axial do atuador 42, 74, 112 para os eletrodos. A modalidade das Figuras 60 e 61 representa outra modalidade do tubo de inserção 15 e tampa de

extremidade 510 através da qual os eletrodos 500 podem se estender através dos canais 504, e que também representam uma abertura de alinhamento 512 e canal de alinhamento 168 para suportar um canal de aplicação de fármaco 18 no mesmo. A modalidade das Figuras 60 e 61 representa a modalidade das Figuras 12, 13, 31 e 32 tendo um tubo de inserção 15 com um canal de aplicação de fármaco 18 que se estende através do mesmo. O canal de aplicação de fármaco 18 e os eletrodos 500 podem ser operados e estruturados de acordo com qualquer uma das modalidades neste documento.

[00329] Em qualquer uma das modalidades dos eletrodos 100 aqui descritos, a porção dos eletrodos 100 mais próxima da ponta pode ser definida paralelamente uma à outra nas posições implantada e retraída. Em algumas modalidades, a porção dos eletrodos 100 mais distantes da ponta também pode ser paralela em ambas as posições implantada e retraída, e pelo menos uma parte dessa porção mais distante pode permanecer dentro do tubo de inserção 15 em ambas as posições implantada e retraída. Entre a porção mais distante da ponta e a porção mais próxima da ponta, os eletrodos podem incluir 100 uma porção reta ou curva do eletrodo. Por exemplo, a curva em forma de "S" pode ser definida entre as respectivas porções de extremidade do eletrodo. Em algumas modalidades, a porção intermediária do eletrodo pode ser reta na posição retraída e curvada na posição implantada.

[00330] Com referência às Figuras 14, 15, 33-41 e 66, uma modalidade dos eletrodos 600 é mostrada disposta em um transportador central expansível 602 a partir do qual os eletrodos se estendem. Os eletrodos 600 podem, cada um, incluir uma ponta 601 em uma extremidade distal da mesma oposta ao tubo de inserção 15. A ponta 601 dos eletrodos 600 pode definir uma extremidade pontiaguda configurada para perfurar o tecido alvo para eletroporação. Em algumas modalidades, na posição retraída (Figura 14), os eletrodos 600 podem

ser retirados para o transportador 602 e o transportador pode ser retirado para a extremidade distal do tubo de inserção 15. Em algumas modalidades (Figuras 33-41), os eletrodos 600 podem ser fixados ao transportador 602 e o transportador pode ser retirado para a extremidade distal do tubo de inserção 15 na posição retraída (Figuras 38, 40). Com referência à Figura 33, em algumas modalidades, os fios 17 podem passar através do transportador 602 para os eletrodos 600 através dos canais 612.

[00331] Em algumas modalidades, o elemento de pressão 46, 92, 128 pode aplicar uma força axial, direta ou indiretamente, a um elemento interno 606, 610, 620, que pode separar as metades 604 do transportador 602 para espalhar os eletrodos 600 para fora. Em algumas modalidades, o membro interno pode ser uma cunha 606 (mostrada na Figura 15) dentro do transportador 602. Em algumas modalidades, o membro interno pode ser um cilindro 610 (mostrado nas Figuras 33, 38). Em algumas modalidades, o membro interno 606, 610 pode transladar axialmente 50 em relação ao transportador 602, enquanto também empurra o transportador pelo menos parcialmente para fora da extremidade distal do tubo de inserção 15. A modalidade das Figuras 66 representa outra modalidade do tubo de inserção 15 e do elemento interno 620 que pode implantar o transportador 602 e os eletrodos 600. A modalidade da Figura 66 representa a modalidade das Figuras 14, 15 e 33-41 tendo um tubo de inserção 15 e membro interno 620 com um canal de aplicação de fármaco 18 que se estende através do mesmo. O canal de aplicação de fármaco 18, o membro interno 620 e os eletrodos 600 podem ser operados e estruturados de acordo com qualquer uma das modalidades neste documento.

[00332] Em algumas modalidades, o elemento interno 606, 610 pode ser acionado separadamente por um segundo atuador 94 (mostrado nas Figuras 35, 37, 39 e 40). Em operação, com referência às Figuras 35,

37, 39 e 40, após o atuador 74 implantar o transportador 802 para a frente a partir da extremidade distal do tubo de inserção 15, o segundo atuador 94 pode ser pressionado para dentro no corpo 90 da porção de controle 72 para alinhar uma extremidade distal 98 do segundo atuador com uma abertura no mandril oco 86 (*por exemplo*, ao longo do eixo 50 mostrado na Figura 14), com o segundo atuador tendo uma porção dobrada 97 para permitir que a extremidade distal alcance mais profundamente o mandril oco. A atuação do mandril oco 86 pelo atuador 74 pode permitir que o segundo atuador 94 se encaixe atrás do mandril oco em linha com sua abertura. O membro interno 606, 610 (Figuras 15, 41) pode ser configurado para transladar em relação ao mandril oco 86 de uma posição dentro do mandril oco, de modo que um usuário possa acionar o segundo atuador 94 deslizando o segundo interruptor 96 axialmente para frente (*por exemplo*, em direção à extremidade distal do tubo de inserção 15) de modo que a extremidade distal 98 do segundo atuador engate uma superfície de base 614 (mostrada nas Figuras 33, 38) do elemento interno 606, 610. O segundo atuador 94 pode, assim, fazer com que as metades 604 do transportador 602 se separem (como mostrado nas Figuras 15 e 41) acionando o membro interno 606, 610 através do mandril oco 86 após o transportador 602 ser acionado pelo atuador 74 (*por exemplo*, após o transportador 602 ser avançado axialmente de dentro do tubo de inserção 15 por acionamento do primeiro atuador).

[00333] O movimento axial relativo entre o elemento interno 606, 610 e o transportador 602 pode aplicar uma força radial em uma superfície inclinada dentro de duas metades 604 do transportador, para fazer com que as metades 604 se expandam radialmente para fora. Por exemplo, com referência à Figura 38, o transportador 602 pode incluir uma superfície afunilada 616 em seu interior que, quando operado pelo elemento interno 606, 610, faz com que as metades 604 do

transportador se expandam para fora. Embora as Figuras 15, 35 e 41 representam uma porção do transportador 602 e eletrodos 600 sendo articulados substancialmente paralelos entre si na posição implantada, em algumas modalidades, o transportador 602 e os eletrodos 600 podem se curvar radialmente para fora (*por exemplo*, semelhante aos ângulos da Figura 5) em resposta ao acionamento da cunha 606 com apenas as metades 604 do transportador 602 sendo uma peça substancialmente contígua de material.

[00334] Em algumas modalidades, o transportador 602 pode definir apenas duas metades 604 perto da extremidade distal, e uma porção restante do transportador pode ser uma única peça sólida, de modo que as duas metades ainda estejam afixadas uma à outra (*por exemplo*, porção cilíndrica 606).

[00335] Em algumas modalidades, com referência à Figura 41, o membro interno 606, 610 pode definir uma agulha conectada fluidamente ao dispositivo de aplicação de fármaco (*por exemplo*, dispositivo de aplicação de fármaco 16 mostrado na Figura 1), de modo que o membro interno administre o agente de tratamento à área alvo após as metades 604 do transportador 602 separarem. Em tais modalidades, o agente de tratamento pode ser distribuído através de um canal de aplicação de fármaco (*por exemplo*, canal de aplicação de fármaco 18 mostrado na Figura 1) estendendo-se através do tubo de inserção 15 conforme descrito neste documento.

[00336] Voltando-se às Figuras 16, 17, 42 e 43, outra modalidade dos eletrodos 700 é mostrada. Na modalidade representada, os eletrodos 700, transportador 702 e aplicador 14, 60, 70 podem operar substancialmente da mesma maneira que a modalidade das Figuras 14, 15 e 33-41, exceto que o membro interno (*por exemplo*, cunha 606 ou cilindro 610) e o segundo atuador 94 são substituídos por uma mola 706 que expande as metades do transportador 704 radialmente para fora,

enquanto o empurrar o elemento 46, 92 direta ou indiretamente conduz os eletrodos 700 e o transportador 702 axialmente para fora do aplicador 14, 60, 70 e para uma posição implantada (Figuras 17, 42). Os eletrodos 700 podem, cada um, incluir uma ponta 701 em uma extremidade distal da mesma oposta ao tubo de inserção 15. A ponta 701 dos eletrodos 700 pode definir uma extremidade pontiaguda configurada para perfurar o tecido alvo para eletroporação. Em alguns exemplos, a mola 706 pode ser inclinada de modo que, após a implantação do tubo de inserção 15, a mola se expande para sua posição inclinada e, assim, se espalha pelos eletrodos e pontas de eletrodo 701.

[00337] Adicional ou alternativamente, o membro empurrador pode ser similarmente inclinado por mola de modo que, mediante acionamento pelo usuário, os eletrodos sejam forçados para uma posição implantada pelo atuador carregado por mola. Então, se presente, a mola 706 pode simultaneamente expandir os eletrodos para longe um do outro (ou outro mecanismo conforme discutido acima pode concluir essa ação).

[00338] Enquanto na maioria das modalidades descritas neste documento, os eletrodos estão na forma de agulhas com pontas pontiagudas, capazes de perfurar o tecido a ser tratado, em outras modalidades, os eletrodos podem assumir a forma de algo diferente de uma agulha que pode ou não incluir uma ponta capaz de perfurar o tecido. Por exemplo, um ou mais eletrodos podem ter uma ponta sem corte, ou mais, podem ter uma forma plana, forma arredondada ou similar, que simplesmente pressiona contra o tecido a ser tratado em vez de perfurar o tecido a ser tratado. Em tais casos, como os eletrodos são atraumáticos, os eletrodos não precisam necessariamente ser acionáveis, mas, em vez disso, podem ser posicionados em um local fixo em relação um ao outro. Naturalmente, nos casos em que o aplicador é dimensionado para a passagem através de um instrumento

de acesso, tal como um endoscópio, o acionamento de pelo menos um dos eletrodos pode ser necessário para permitir o espaçamento adequado entre os eletrodos no tecido a ser tratado. Como tal, pelo menos um dos eletrodos pode ser fixado enquanto pelo menos um dos outros eletrodos pode ser acionável ou, como discutido acima, cada um dos eletrodos pode ser acionável independente ou coletivamente.

[00339] Desta maneira, como discutido anteriormente, em certas modalidades, um ou mais dos eletrodos podem ter o formato de agulha ou algum outro formato projetado adequado para pressionar ou perfurar o tecido a ser tratado, enquanto o outro eletrodo (por exemplo, o eletrodo de retorno ou negativo) pode ser posicionado sobre, ou ser de fato, a ponta distal do aplicador ou endoscópio que está posicionado adjacente ao tecido a ser tratado e, portanto, poderia ser adequado para atuar como um eletrodo. Além disso, nesta modalidade de exemplo, os um ou mais eletrodos positivos não precisam ser acionáveis, mas, em vez disso, podem ser meramente posicionados em um local fixo, de modo a se projetarem distalmente para uma posição suficientemente distante da ponta distal do aplicador (ou para serem posicionados a uma distância adequada da extremidade distal do endoscópio ou outro instrumento de acesso) para permitir o fornecimento de um pulso elétrico, conforme descrito neste documento.

[00340] Em algumas modalidades, o mecanismo de acionamento para controlar a implantação dos eletrodos pode ser passivo (por exemplo, material de memória de forma para eletrodos 400, mola 706 para eletrodos 700). Em algumas modalidades, o mecanismo de acionamento para controlar a implantação dos eletrodos pode estar ativo (por exemplo, avanço do elemento interno 606, 610 através do segundo atuador para fazer com que os eletrodos 600 se separem).

[00341] Em algumas modalidades, um aplicador pode incluir uma pluralidade de eletrodos que estão em um espaçamento operacional

para eletroporação tanto antes quanto após a implantação do aplicador. Dessa maneira, um espaçamento entre os eletrodos permanece o mesmo antes e depois da implantação. O efeito da implantação nesta configuração é simplesmente avançar axialmente os eletrodos em relação ao tubo de inserção do aplicador.

[00342] Em algumas modalidades, os aplicadores, conforme descrito nas várias modalidades da aplicação, podem incluir três eletrodos, quatro eletrodos ou mais. Exemplos ilustrativos desses arranjos são fornecidos em outro lugar na presente divulgação. Para cada aplicador, é contemplado que o número mais alto de eletrodos pode ser incorporado após a configuração estrutural do desenho existente. Assim, por exemplo, o tubo de inserção 15 mostrado na Figura 21 inclui canais 204 na ponta que são angulados para fora a partir de uma linha central do tubo 15. Em uma variação desta modalidade com três eletrodos, três canais 204 podem ser incluídos, cada um igualmente espaçado e se estendendo para longe da linha central do tubo em direção a um perímetro externo do tubo.

[00343] Em alguns exemplos, um aplicador pode incluir quatro eletrodos. O aplicador pode ser retangular em forma com eletrodos espaçados a cerca de 5 mm de distância. Em alguns exemplos, um aplicador pode incluir seis eletrodos posicionados periféricamente sobre uma circunferência com um diâmetro de cerca de 5 mm. As duas disposições anteriores foram usadas em procedimentos de eletroporação sob condições de alta e baixa tensão como parte de um estudo. Detalhes do tratamento realizado e os resultados ilustrativos das vantagens da eletroporação de baixa tensão encontrados em Burkart et al., *Improving therapeutic efficacy of IL-12 intratumoral gene electrotransfer through novel plasmid design and modified parameters*, Gene Therapy, 25, 93-103 (9 de março de 2018), incorporados por referência neste documento em sua totalidade.

[00344] Em qualquer uma das modalidades acima mencionadas, um ou mais eletrodos podem ser implantados simultaneamente e coletivamente com todos os eletrodos ou qualquer porção do número total de eletrodos. Alternativamente, cada eletrodo individual pode ser acionado e implantado independentemente dos outros.

[00345] Em ainda outra modalidade, os eletrodos podem operar como um arpão, em que cada eletrodo é inserido no tecido de modo que cada eletrodo se separe do aplicador 14, amarrado apenas pelo fio ou estrutura similar que fornece uma conexão elétrica ao eletrodo. Como tal, cada eletrodo pode ser posicionado no tecido em qualquer local desejado. Por exemplo, cada eletrodo é implantado um de cada vez a partir do aplicador em vários locais dentro e ao redor do tecido alvo. Cada eletrodo permanece preso ao aplicador e/ou outro eletrodo. Após a conclusão do procedimento, cada eletrodo é puxado de volta para o aplicador, seja por um carretel de enrolamento, um puxamento do fio, uma atração magnética entre o aplicador e o eletrodo, ou similares.

[00346] Conforme discutido acima, os eletrodos são tipicamente conectados a uma fonte de alimentação através de um fio, embora também esteja presente na maioria das modalidades um elemento empurrador e um tubo de inserção. Em algumas modalidades, o elemento empurrador ou o tubo de inserção poderia operar como a conexão elétrica a pelo menos um dos eletrodos, eliminando assim a necessidade de pelo menos um dos fios. Como um exemplo, em um exemplo com dois eletrodos, a conexão positiva a um dos eletrodos poderia ser através do elemento empurrador, enquanto a conexão negativa ou de retorno ao outro eletrodo poderia ser o corpo do tubo de inserção. Naturalmente, o isolamento adequado dessas estruturas seria necessário para evitar o arco dos eletrodos e/ou lesões ao usuário.

[00347] Em ainda outra modalidade, a conexão elétrica entre a fonte elétrica e o pelo menos um eletrodo pode ser sem fio, por exemplo,

através do uso de transferência de energia indutiva através de um campo eletromagnético. Essa conexão de energia poderia ser concluída transdermicamente, de modo que um fio não seja necessário para passar entre o tecido alvo e a fonte de energia. Continuando com tal conexão elétrica, em certas modalidades, o eletrodo tipo arpão mencionado anteriormente poderia ser posicionado no tecido alvo, que não seria conectado através de fios a uma fonte elétrica. Dessa forma, a administração do medicamento poderia ocorrer por qualquer procedimento desejado e a eletroporação poderia ocorrer sem estar em um ambiente cirúrgico. Por exemplo, uma vez que os eletrodos são implantados no tecido alvo, e se os agentes de tratamento foram ou não fornecidos ao paciente e/ou ao tecido alvo, o paciente poderia ser removido da sala de cirurgia e o tratamento poderia ser fornecido uma ou mais vezes fora do ambiente cirúrgico usando um dispositivo de aplicação de fármaco, tal como uma agulha ou similar, e uma administração de energia transdérmica aos eletrodos. Os eletrodos podem então ser removidos em uma data posterior ou podem ser biodegradáveis, ou se forem de uma forma que seja atraumática (por exemplo, um eletrodo em forma de disco suturado ao tecido) ou, de outra forma, estiver presa no paciente sem medo de se soltar, o implante pode permanecer dentro do paciente indefinidamente.

Parâmetros Elétricos de Exemplo

[00348] A natureza do campo elétrico a ser gerado pelo gerador 12 é determinada pela natureza do tecido, o tamanho do tecido selecionado e sua localização. É desejável que o campo seja o mais homogêneo possível e da amplitude correta. A força de campo excessiva resulta na lise de células, enquanto uma força de campo baixa resulta em eficácia reduzida. Os eletrodos podem ser montados e manipulados de muitas maneiras, incluindo, mas não se limitando à, aqueles descritos neste documento. Usando o sistema 10 descrito neste documento, os

parâmetros da eletroporação (*por exemplo*, tensão, duração de pulso, etc.) são todos programáveis e otimizáveis (*por exemplo*, através de um ou mais controladores descritos neste documento). Em algumas modalidades, os parâmetros dos pulsos são predeterminados e empregados de maneira consistente durante todo o procedimento de eletroporação. Em algumas modalidades, os parâmetros dos pulsos podem ser determinados usando um mecanismo de retorno enquanto a eletricidade é fornecida ao aplicador para ajustar continuamente os parâmetros dos pulsos durante a eletroporação (*por exemplo*, EIS).

[00349] Em alguns casos, a eletroporação usa altas tensões e durações de pulso curtas para o tratamento de tumores. As condições do campo elétrico de 1200-1300 V/cm e 100 μ s foram usadas in vitro e in vivo com medicamentos anticâncer como bleomicina, cisplatina, peplomicina, mitomicina c e carboplatina. Esses resultados referem-se ao trabalho in vitro e in vivo. Embora tais condições elétricas possam ser toleradas pelos pacientes em situações clínicas, tais tratamentos normalmente produzirão contrações musculares e desconforto ocasional para os pacientes, e podem produzir resultados piores com certos agentes de tratamento (*por exemplo*, moléculas maiores). Alguns desses problemas poderiam ser consideravelmente reduzidos usando durações de pulsos de alta tensão e baixa tensão para eletroquimioterapia. A eletroporação de baixa tensão, conforme contemplada pela presente divulgação, envolve a utilização de uma aplicação de uma tensão de cerca de 600 V ou menos, um campo elétrico de cerca de 700 V/cm ou menos e um comprimento de pulso de entre cerca de 0,5 ms e cerca de 1 s. Em alguns exemplos, um campo elétrico de 400 V/cm ou menos pode ser utilizado em uma configuração de gerador de baixa tensão. Em algumas modalidades, o gerador 12 pode aplicar uma tensão de 300 V ou menos aos eletrodos 100. Em algumas modalidades, o gerador 12 pode aplicar uma tensão de 60-300

V aos eletrodos 100. Em algumas modalidades, o gerador 12 pode aplicar uma tensão de 150-200 V. Em algumas modalidades, altas tensões maiores que 1000 V podem causar eletroporação irreversível (IRE). Assim, os sistemas de eletroporação que incorporam um gerador de baixa tensão são vantajosos na medida em que um risco de IRE é baixo em comparação com tratamentos que empregam uma tensão mais alta.

[00350] A forma de onda do sinal elétrico fornecido pelo gerador 12 pode ser um pulso exponencialmente em decaimento, um pulso quadrado, uma sequência de pulso oscilante unipolar, uma sequência de pulso oscilante bipolar ou uma combinação de qualquer uma dessas formas. Em algumas modalidades, os parâmetros elétricos para o gerador, abrangendo uma faixa para geradores de baixa e alta tensão, podem abranger uma força de campo elétrico nominal de cerca de 10 V/cm a cerca de 20 kV/cm (a força de campo elétrico nominal é determinada pelo cálculo da tensão entre agulhas de eletrodo dividida pela distância entre as agulhas). Em algumas modalidades abrangendo uma faixa para geradores de baixa e alta tensão, o comprimento de pulso pode ser de cerca de 10 μ s a cerca de 100 ms. Em algumas modalidades abrangendo uma faixa para geradores de baixa tensão, o comprimento de pulso pode ser de cerca de 1 ms a cerca de 1 s. Pode haver qualquer número desejado de pulsos, tipicamente de um a 100 pulsos por segundo. A espera entre conjuntos de pulsos pode ser qualquer tempo desejado, como um segundo. A forma de onda, a força do campo elétrico e a duração do pulso também podem depender do tipo de células e do tipo de moléculas que devem entrar nas células através da eletroporação. Os vários parâmetros incluindo as intensidades de campo elétrico necessárias para a eletroporação de qualquer célula conhecida, estão geralmente disponíveis a partir dos muitos artigos de pesquisa que relatam sobre o assunto. Uma visão

geral da relação entre a força do pulso e a duração é descrita em Weaver et al., *A brief overview of electroporation pulse strength-duration space: A region where additional intracellular effects are expected*, Bioeletroquímica, outubro de 2012; 87: 236–243. doi:10.1016/j.bioelechem.2012.02.007, que é incorporada por referência neste documento em sua totalidade. Em algumas modalidades, qualquer número de pulsos pode ser usado em um tratamento. Em algumas modalidades, 6 pulsos são usados. Em algumas modalidades, 8 pulsos são usados. Em algumas modalidades, 10 pulsos são usados.

[00351] Nas modalidades representadas, o campo elétrico nominal pode ser designado como "alto" ou "baixo". Os parágrafos a seguir descrevem parâmetros elétricos para o sistema incluindo um gerador de alta tensão seguido por um sistema incluindo um gerador de baixa tensão.

[00352] Voltando-se especificamente para sistemas de alta tensão, isto é, aqueles com um campo elétrico alto, em algumas modalidades, é preferível que o campo elétrico nominal seja de cerca de 700 V/cm a 1500 V/cm. Em algumas modalidades, é ainda preferível que o campo elétrico nominal seja de cerca de 1000 V/cm a 1500 V/cm. Em algumas modalidades, o campo elétrico alto pode ser cerca de 1500 V/cm. Em relação à duração de pulso para sistemas de alta tensão, em algumas modalidades, uma duração de pulso inferior a 1 ms pode ser usada. Em algumas modalidades, uma duração de pulso entre 100 µs e 1 ms pode ser usada.

[00353] Voltando-se especificamente para sistemas de baixa tensão, em algumas modalidades, o gerador pode ser um gerador de baixa tensão. A terapia de eletroporação pode ser administrada usando o gerador de baixa tensão produzindo um campo elétrico de 700 V/cm ou menos, 600 V/cm ou menos, 500 V/cm ou menos, 400 V/cm ou menos,

300 V/cm ou menos, 200 V/cm ou menos, ou 100 V/cm ou menos. A terapia de eletroporação pode ser administrada usando o gerador de baixa tensão produzindo um campo elétrico de 700 V/cm a 10 V/cm. A terapia de eletroporação pode ser administrada usando o gerador de baixa tensão produzindo um campo elétrico de 600 V/cm a 10 V/cm. A terapia de eletroporação pode ser administrada usando o gerador de baixa tensão produzindo um campo elétrico de 500 V/cm a 10 V/cm. A terapia de eletroporação pode ser administrada usando o gerador de baixa tensão produzindo um campo elétrico de 400 V/cm a 10 V/cm. A terapia de eletroporação pode ser administrada usando o gerador de baixa tensão produzindo um campo elétrico de 300 V/cm a 10 V/cm. A terapia de eletroporação pode ser administrada usando o gerador de baixa tensão produzindo um campo elétrico de 700 V/cm a 60 V/cm. A terapia de eletroporação pode ser administrada usando o gerador de baixa tensão produzindo um campo elétrico de 600 V/cm a 60 V/cm. A terapia de eletroporação pode ser administrada usando o gerador de baixa tensão produzindo um campo elétrico de 500 V/cm a 60 V/cm. A terapia de eletroporação pode ser administrada usando o gerador de baixa tensão produzindo um campo elétrico de 400 V/cm a 60 V/cm. A terapia de eletroporação pode ser administrada usando o gerador de baixa tensão produzindo um campo elétrico de 300 V/cm a 60 V/cm. A terapia de eletroporação pode ser administrada usando o gerador de baixa tensão produzindo um campo elétrico de 700 V/cm a 100 V/cm. A terapia de eletroporação pode ser administrada usando o gerador de baixa tensão produzindo um campo elétrico de 600 V/cm a 100 V/cm. A terapia de eletroporação pode ser administrada usando o gerador de baixa tensão produzindo um campo elétrico de 500 V/cm a 100 V/cm. A terapia de eletroporação pode ser administrada usando o gerador de baixa tensão produzindo um campo elétrico de 400 V/cm a 100 V/cm. A terapia de eletroporação pode ser administrada usando o gerador de

baixa tensão produzindo um campo elétrico de 300 V/cm a 100 V/cm. A terapia de eletroporação pode ser administrada usando o gerador de baixa tensão produzindo um campo elétrico de 300 V/cm a 200 V/cm. A terapia de eletroporação pode ser administrada usando o gerador de baixa tensão produzindo um campo elétrico de 400 V/cm a 300 V/cm. Em algumas modalidades, a duração de pulso do gerador de baixa tensão pode ser de 1 milissegundo (ms) a 1 segundo.

[00354] Preferencialmente, quando campos baixos são usados, o campo elétrico nominal é de cerca de 10 V/cm a 400 V/cm. Em algumas modalidades, o campo elétrico nominal pode ser de cerca de 25 V/cm a 75 V/cm. Em algumas modalidades, o campo elétrico nominal baixo pode ser de cerca de 400 V/cm. Em uma modalidade particular, é preferencial que quando o campo elétrico é baixo, o comprimento de pulso seja longo em relação a um pulso de campo alto. Por exemplo, quando o campo elétrico nominal está na faixa "baixa" discutida neste documento, é preferencial que o comprimento de pulso seja de cerca de 10 ms.

[00355] Com referência contínua a um sistema com um gerador de baixa tensão, em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 600V a 5V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 500V a 5V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 400V a 5V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 300V a 5V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 200V a 5V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 100V a 5V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 600V a 10V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão

variando de 500V a 10V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 400V a 10V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 300V a 10V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 200V a 10V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 100V a 10V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 600V a 50V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 500V a 50V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 400V a 50V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 300V a 50V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 200V a 50V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 100V a 50V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 600V a 100V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 500V a 100V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 400V a 100V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 300V a 100V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 200V a 100V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 600V a 200V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 500V a 200V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 400V a 200V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 300V a 200V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma

tensão variando de 600V a 300V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 500V a 300V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 400V a 300V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 600V a 400V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 500V a 400V. Em algumas modalidades, o gerador de baixa tensão pode produzir uma tensão variando de 600V a 500V.

[00356] As vantagens do gerador de baixa tensão podem incluir uma expressão melhorada de agentes terapêuticos transfetados sobre o gerador de alta tensão. Em algumas modalidades, a presença de um sistema de detecção de tecido, conforme descrito em outro lugar neste documento, pode melhorar ainda mais o desempenho em relação ao outro gerador. A detecção de tecido realizada através da saída do gerador de baixa tensão pode permitir a caracterização do local de tratamento. Particularmente, o potencial para coletar feedback da terapia para determinar um tratamento inseguro e potencialmente otimizar as condições da terapia pode ser altamente abrangente. Assim, após uma série de pulsos em um tratamento, a expressão de agentes terapêuticos pode ser significativamente maior e mais durável sob as modalidades exemplares descritas neste documento. Além disso, conforme observado em outra parte da divulgação, a produção de uma tensão abaixo de 600V que produz um campo elétrico abaixo de 700 V/cm com um gerador de baixa tensão mitiga o risco de eletroporação irreversível que pode causar danos ao tecido dentro e ao redor do local alvo para tratamento. Além disso, a eletroporação com esses parâmetros permite uma duração geral de tratamento mais longa, aumentando assim a probabilidade de aplicação bem-sucedida do agente de tratamento.

[00357] Preferencialmente, o método terapêutico da invenção utiliza

os sistemas descritos neste documento que podem incluir um aplicador, uma pluralidade de eletrodos configurados para se estender a partir do aplicador e um gerador para aplicar um sinal elétrico aos eletrodos. Em algumas modalidades, o sistema também pode incluir um dispositivo de inserção, conforme descrito em outro lugar no pedido de patente, tal como um endoscópio. Em algumas modalidades, os pulsos elétricos do gerador podem ser proporcionais à distância entre os referidos eletrodos para gerar um campo elétrico de uma força predeterminada, de modo que a força de campo para uma cirurgia específica seja maior para sistemas que incluem um aplicador com pontas de eletrodo a uma distância maior uma da outra. Em algumas modalidades, um sistema que inclui um gerador de baixa tensão pode incluir um aplicador com eletrodos que têm pontas espaçadas em cerca de 4 mm. Em algumas modalidades, os parâmetros elétricos acima, seja para sistemas com geradores de alta tensão ou baixa tensão, podem ser empregados sem usar feedback do circuito de detecção para controlar e atualizar a tensão aplicada durante um procedimento de eletroporação.

[00358] Em algumas modalidades, os pulsos elétricos podem ser controlados através de feedback do circuito de detecção 31, que pode medir os parâmetros dos eletrodos 100 e do tecido alvo continuamente durante a eletroporação. Em algumas modalidades, um pulso de detecção pode ser transmitido entre pulsos de eletroporação, de modo que o gerador alterne rapidamente entre a aplicação de eletroporação terapêutica e a detecção dos parâmetros dos eletrodos e tecidos. Em algumas modalidades, um método de controle adaptativo pode ser usado para definir os parâmetros de eletroporação em tempo real. Uma maneira pela qual o gerador (*por exemplo*, através do circuito de detecção 31, circuito de pulso 33 e controlador 24) pode medir os parâmetros de eletroporação e controlar os pulsos do gerador é através da Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (Electrochemical

Impedance Spectroscopy, EIS). Em algumas modalidades, a EIS pode ser usada com um gerador de baixa tensão.

[00359] Um método de controle adaptativo para controlar os parâmetros de pulso de eletroporação durante a eletroporação de células ou tecidos usando o sistema de eletroporação 10 inclui o fornecimento de um sistema (*por exemplo*, de gerador 12 e seus circuitos correspondentes) para controle adaptativo para otimizar os parâmetros de pulso de eletroporação incluindo parâmetros de pulso de eletroporação, aplicar sinais de excitação de tensão e corrente às células (*por exemplo*, através do circuito de pulso 33), obter dados das medições de corrente e tensão (*por exemplo*, através do circuito de detecção 31) e processar os dados para separar os dados desejáveis dos dados indesejáveis (*por exemplo*, através do controlador 24 e do processador 30), extrair características relevantes dos dados desejáveis (*por exemplo*, através do controlador 24 e do processador 30), aplicar pelo menos uma parte dos recursos relevantes a um modelo de diagnóstico treinado, também referido neste documento como "modelo treinado" (*por exemplo*, de através do controlador 24 e do processador 30), estimar parâmetros de pulso de eletroporação com base em um resultado das características relevantes aplicadas (*por exemplo*, através do controlador 24 e do processador 30), onde os parâmetros de pulso de eletroporação inicializados são baseados no modelo treinado e nas características relevantes, para otimizar os parâmetros de pulso de eletroporação e aplicar, pelo gerador, um primeiro pulso de eletroporação com base nos primeiros parâmetros de pulsação.

[00360] Para maximizar a eficácia da eletroporação, uma métrica quantificável da integridade da membrana que é mensurável em tempo real é desejável. Conforme descrito neste documento, a EIS é um método para a caracterização de sistemas fisiológicos e químicos e pode ser realizada com qualquer uma dentre a eletroporação padrão,

também referida ao longo da divulgação como "EP", os eletrodos sendo descritos neste documento. Essa técnica mede a resposta elétrica de um sistema em uma faixa de frequências para revelar as propriedades de armazenamento e dissipação de energia. Em sistemas biológicos, a matriz extracelular e intracelular resiste ao fluxo de corrente e, portanto, pode ser eletricamente representada como resistores. Os lipídios das membranas celulares intactas e organelas armazenam energia e são representados como capacitores. A impedância elétrica é a soma desses elementos resistivos e capacitivos em uma faixa de frequências. Para quantificar cada um desses parâmetros, os dados de impedância do tecido podem ser ajustados a um modelo de circuito equivalente. O monitoramento em tempo real das propriedades elétricas dos tecidos permitirá o controle de feedback sobre os parâmetros de eletroporação e levará à transfecção ideal em tumores heterogêneos. O uso do feedback da EIS permitirá (1) que parâmetros de aplicação sejam ajustados em tempo real (2) aplicação apenas dos pulsos necessários para gerar uma resposta terapêutica e (3) redução do dano tecidual mediado por EP como resultado.

[00361] Além disso, em algumas modalidades, essas medições de EIS podem ser usadas para determinar as condições ideais de eletroporação descritas neste documento. Em algumas modalidades, o método da presente invenção pode incluir colocar o tecido no local alvo em contato com um par de eletrodos 100. Uma fonte de alimentação de baixa tensão eletricamente conectada aos eletrodos 100 pode ser usada para aplicar um sinal de excitação de baixa tensão aos eletrodos. Métodos para detectar a impedância e/ou capacitância podem incluir, mas não estão limitados a formas de onda, como phase locked loops (conhecidos pela sigla PLL), pulsos de onda quadrada, pulsos de alta frequência e pulsos chirp. Um sensor de tensão e um sensor de corrente são usados para detectar uma queda de tensão e a corrente fluindo

através do circuito e estes parâmetros podem então ser processados pelo controlador 24, conforme ilustrado na Figura 1, para determinar uma impedância média para todas as células na área medida. Essa impedância detectada pode então (*por exemplo*, através do modelo treinado discutido acima) determinar quaisquer alterações necessárias nos parâmetros de eletroporação.

[00362] Em algumas modalidades, o gerador 12 (*por exemplo*, através do circuito de detecção 31) é configurado para medir as propriedades dielétricas e condutoras de células e tecidos e inclui um sensor de tensão para medir tensões através do tecido, resultantes de cada um dentre um sinal de excitação para fins de detecção e/ou um pulso de eletroporação aplicado ao tecido e um sensor de corrente para medir a corrente através do tecido, resultante de cada sinal de excitação para fins de detecção e/ou pelo menos um pulso de eletroporação aplicado.

[00363] O circuito de pulsação 33 pode incluir um módulo de inicialização configurado para inicializar parâmetros de pulsação de eletroporação para realizar eletroporação nas células ou tecido, onde os parâmetros de pulsação de eletroporação inicializados são baseados, pelo menos em parte, em pelo menos um modelo treinado, tal como o modelo treinado descrito em outro lugar na presente divulgação. Em algumas modalidades, o controlador 24 pode direcionar a saída do circuito de pulsação 33. O gerador 12 é configurado para aplicar pelo menos um dos sinais de excitação e/ou o pulso de eletroporação ao tecido. O sensor de tensão e o sensor de corrente do circuito de detecção 31 podem medir a tensão e a corrente através das células do tecido em resposta à aplicação dos sinais de excitação. O controlador 24 pode ser configurado para receber um sinal relacionado aos dados do sensor medidos a partir do circuito de detecção 31, correspondendo a pelo menos um dentre o sinal de excitação e o pulso de eletroporação,

para ajustar os dados a pelo menos um modelo treinado e processar os dados em diagnósticos e parâmetros de controle atualizados.

[00364] Na operação de baixa tensão, o gerador pode emitir qualquer um dos parâmetros descritos neste documento, incluindo, por exemplo, um mínimo de 10V e máximo de 300V com durações de pulso variando de 100 a 10 ms. A EIS pode ser capturada antes e entre pulsos e obtida pelo gerador 12 em uma faixa de 100 Hz a 10 kHz com 10 pontos de dados adquiridos por década. A aquisição de dados de EIS sobre esses espectros é realizada em 250 ms, o que é rápido o suficiente para: (1) executar rotinas para determinar uma constante de tempo para o próximo pulso, (2) armazenar dados de EIS para análise posterior e (3) não interromper condições de eletroporação clinicamente usadas. O gerador pode ser capaz de uma impedância de carga de saída mínima de 20 ohms e uma impedância de carga máxima de um circuito aberto. Para permitir a operação do gerador sem o uso das mãos, um pedal (*por exemplo*, pedal de pé 58) pode ser adicionado para acionar, pausar ou abortar o processo de eletroporação.

[00365] O controlador 24 pode incluir um módulo de pré-processamento para receber o sinal relacionado aos dados das medições de corrente e tensão e processar os dados para separar os dados desejáveis dos dados indesejáveis, um módulo de extração de recursos para extrair recursos relevantes dos dados desejáveis, um módulo de diagnóstico para aplicar pelo menos uma porção das características relevantes dos dados desejáveis a pelo menos um modelo de diagnóstico treinado e um módulo de estimativa de parâmetro de pulso para estimar pelo menos um dos parâmetros de pulsação inicializados e parâmetros de pulsação subsequentes com base em um resultado de pelo menos um dentre os dados medidos, o módulo de diagnóstico e o módulo de extração de recursos. A memória 36 armazena os dados desejáveis e indesejáveis, os dados do sensor e

os modelos treinados para extração de recursos pelo controlador.

Métodos de Operação

[00366] Vários métodos associados ao sistema de eletroporação 10 serão agora descritos. Em qualquer uma das modalidades descritas neste documento, tais métodos podem ser usados para o tratamento de um ou mais cânceres e, mais especificamente, podem ser usados para tratar um tumor ou outra lesão visceral, particularmente aqueles encontrados em um paciente e que não são superficiais ou estão nas camadas dérmicas. Esses tumores ou outras lesões podem ser malignidades primárias ou metastáticas.

[00367] Com referência à Figura 18, um exemplo de método de uso do sistema de eletroporação 10 descrito neste documento é mostrado. Em algumas modalidades, o método da Figura 18 é usado para o tratamento de um ou mais cânceres. Em algumas modalidades, o método da Figura 18 é usado para tratar um tumor ou outra lesão visceral. Na etapa representada 150, o método pode incluir a inserção de um dispositivo de inserção em um paciente até que uma extremidade distal do dispositivo de inserção seja posicionada adjacente a um local alvo. O dispositivo de inserção pode ser avançado através de uma passagem interna em uma variedade de maneiras conforme descrito, por exemplo, nos exemplos específicos abaixo. Em algumas modalidades, o dispositivo de inserção pode ser um endoscópio, incluindo endoscópios flexíveis ou endoscópios rígidos, como um trocarte. Em algumas modalidades, o aplicador pode ser inserido sozinho sem dispositivo de inserção. Na etapa representada 152, o método pode incluir a inserção de uma porção do dispositivo de aplicação de fármaco em um canal de trabalho do dispositivo de inserção, de modo que a porção do dispositivo de aplicação de fármaco fique posicionada adjacente ao local alvo. Na etapa representada 154, o método pode incluir a administração de um agente de tratamento ao

local alvo a partir do dispositivo de aplicação de fármaco. Na etapa representada 156, o método pode incluir a remoção da porção do dispositivo de aplicação de fármaco do dispositivo de inserção. Na etapa representada 158, o método pode incluir a inserção de um tubo de inserção de um aplicador no canal de trabalho do dispositivo de inserção, de modo que uma extremidade distal do tubo de inserção, incluindo uma pluralidade de eletrodos, seja posicionada adjacente ao local alvo. Na etapa representada 160, o método pode incluir a aplicação de um ou mais pulsos elétricos aos eletrodos para eletroporação do tecido no local alvo. Na etapa 162, o método pode incluir a remoção do aplicador e do dispositivo de inserção do paciente. Em algumas modalidades, o aplicador pode incluir uma ponta de perfuração 130 de modo que o método pode incluir ainda a perfuração de um ou mais tecidos do paciente antes de aplicar o impulso elétrico e/ou os agentes de tratamento. Em algumas modalidades, conforme descrito acima, o fármaco e/ou plasmídeo podem ser administrados através de qualquer um dentre um número de meios, incluindo administração IM, IT e IV. Nas modalidades em que o dispositivo de aplicação de fármaco opera através do aplicador, as etapas 152-156 podem ser combinadas com as etapas 158-162. No método descrito acima, um gerador de baixa tensão ou alta tensão pode ser usado, incluindo as configurações particulares descritas neste documento. O método pode ser realizado com ou sem EIS. Em um exemplo do método realizado com um gerador de baixa tensão e sem EIS, a tensão aplicada pode ser a mesma para cada pulso do tratamento, independentemente das características do tecido encontrado (por exemplo, a impedância variável do tecido que pode ser encontrada através do desempenho do método) e um resultado que não seja afetado pelas características do tecido deve ser obtido. Além disso, conforme observado em outra parte da divulgação, o tratamento usando esta abordagem demonstrou ser bem-sucedido e possuir vantagens em

relação ao tratamento que emprega um gerador de alta tensão.

[00368] As vantagens de executar o método usando um gerador de baixa tensão e o aplicador, conforme descrito neste documento, incluem menos estresse térmico sendo aplicado às células no local alvo durante a eletroporação, aumentando assim a probabilidade de que as células sobrevivam durante e após o tratamento. Além disso, com uma tensão mais baixa, os pulsos elétricos podem ser fornecidos ao longo de um período de tempo mais longo em comparação com um procedimento de eletroporação de alta tensão. Com um tratamento de duração mais longa, as células são mantidas abertas por um período mais longo e uma quantidade maior do agente de tratamento pode ser absorvida pelas células, aumentando a probabilidade de um tratamento bem sucedido.

[00369] Com referência à Figura 67, outro exemplo de método de uso do sistema de eletroporação 10 descrito neste documento é mostrado. Em algumas modalidades, o método da Figura 67 é usado para o tratamento de um ou mais cânceres. Em algumas modalidades, o método da Figura 67 é usado para tratar um tumor ou outra lesão visceral. Na etapa representada 6700, o método pode incluir a inserção do dispositivo de inserção em um paciente até que uma extremidade distal do dispositivo de inserção seja posicionada adjacente a um local alvo. Em algumas modalidades, o dispositivo de inserção pode ser um endoscópio, incluindo endoscópios flexíveis ou endoscópios rígidos, como um trocarte. Alternativamente, o aplicador pode ser inserido sozinho sem dispositivo de inserção. Na etapa representada 6705, o método pode incluir a inserção de um tubo de inserção de um aplicador no canal de trabalho do dispositivo de inserção, de modo que uma extremidade distal do tubo de inserção, incluindo uma pluralidade de eletrodos e um canal de aplicação de fármaco sejam posicionados adjacentes ao local alvo. Na etapa representada 6710, o método pode

incluir a administração de um agente de tratamento ao local alvo a partir de um dispositivo de aplicação de fármaco conectado ao canal de aplicação de fármaco. Na etapa representada 6715, o método pode incluir a aplicação de um ou mais pulsos elétricos aos eletrodos para eletroporação do tecido no local alvo. Na etapa 6720, o método pode incluir a remoção do aplicador e do dispositivo de inserção do paciente. Em algumas modalidades, o aplicador pode incluir uma ponta de perfuração 130 de modo que o método pode incluir ainda a perfuração de um ou mais tecidos do paciente antes de aplicar o impulso elétrico e/ou os agentes de tratamento. Em algumas modalidades, conforme descrito acima, o fármaco e/ou plasmídeo podem ser administrados através de qualquer um dentre um número de meios, incluindo administração IM, IT e IV. No método descrito acima, um gerador de baixa tensão ou alta tensão pode ser usado, incluindo as configurações particulares descritas neste documento. O método pode ser realizado com ou sem EIS.

[00370] Com referência à Figura 68, outro exemplo de método de uso do sistema de eletroporação 10 descrito neste documento é mostrado. Em algumas modalidades, o método da Figura 68 é usado para o tratamento de um ou mais cânceres. Em algumas modalidades, o método da Figura 68 é usado para tratar um tumor ou outra lesão visceral. Na etapa representada 6800, o método inclui a inserção de um tubo de inserção de um aplicador no paciente, de modo que uma extremidade distal do tubo de inserção, incluindo uma pluralidade de eletrodos e um canal de aplicação de fármaco sejam posicionados adjacentes a um local alvo. Na etapa representada 6805, o método inclui a administração de um agente de tratamento ao local alvo a partir de um dispositivo de aplicação de fármaco conectado ao canal de aplicação de fármaco. Na etapa representada 6810, o método inclui a aplicação de um ou mais pulsos elétricos aos eletrodos para eletroporação do tecido

no local alvo. Na etapa 6815, o método inclui a remoção do aplicador do paciente. As etapas 6805 e 6810 podem ocorrer simultaneamente ou a etapa 6805 pode ocorrer antes da etapa 6810. Em algumas modalidades, o aplicador pode incluir uma ponta de perfuração 130 de modo que o método pode incluir ainda a perfuração de um ou mais tecidos do paciente antes de aplicar o impulso elétrico e/ou os agentes de tratamento. Em algumas modalidades, conforme descrito acima, o fármaco e/ou plasmídeo podem ser administrados através de qualquer um dentre um número de meios, incluindo administração IM, IT e IV.

[00371] Os métodos, sistemas e aparelhos descritos neste documento podem ser usados com uma série de procedimentos endoscópicos, incluindo, mas não se limitando a, procedimentos no trato respiratório (*por exemplo*, rinoscopia ou broncoscopia), cavidade abdominal, tecido mole geral e/ou osso, trato gastrointestinal (*por exemplo*, enteroscopia, retoscopia, colonoscopia, anoscopia, sigmoidoscopia ou esofagogastroduodenoscopia do sistema urinário) e cerebectomia. Exemplos da aplicação do método nesses procedimentos são fornecidos em maiores detalhes abaixo. Deve ser apreciado que nestes e em outros procedimentos descritos ao longo da divulgação, as referências ao tecido doente incluem, mas não se limitam a, tumores, células cancerosas e outras lesões em geral. Os cânceres tratados podem incluir sarcomas de tecidos moles. Os tumores contemplados para tratamento através dos métodos da presente divulgação incluem, por exemplo, tumores primários, tumores metastáticos ou ambos.

[00372] Em algumas modalidades, a presente divulgação refere-se a um método de tratamento de tecido doente (*por exemplo*, tumores primários e/ou metastáticos) no trato respiratório. Em algumas modalidades do método, o pulmão pode ser acessado usando broncoscopia. Em algumas modalidades, antes da realização da

cirurgia, o planejamento pré-operatório pode ser realizado para confirmar a localização específica do tecido doente e para realizar o trajeto de avanço do aplicador ou o planejamento do trajeto endoscópico. O planejamento cirúrgico pré-operatório pode envolver a captura de imagens usando tomografia computadorizada de feixe cônico (*cone beam computed tomography*, CBCT) e o uso de tais imagens para gerar um modelo 3D dos pulmões do paciente. Outras técnicas também podem ser usadas para capturar imagens, incluindo tomografia computadorizada, ressonância magnética, tomografia por emissão de pósitrons, fluoroscopia e radiografias. Os dados de imagem obtidos de qualquer número das modalidades acima podem ser extrapolados para criar o modelo 3D da anatomia do paciente. Uma análise do modelo 3D é então realizada para identificar a localização do tecido doente. Uma vez identificado, um plano cirúrgico pode ser desenvolvido para acesso ao tecido doente. Com base em um local alvo identificado, detalhes de uma abordagem para o local podem ser estabelecidos. Em algumas modalidades, o planejamento pré-operatório pode envolver outras abordagens conhecidas para identificar o tecido doente. Por exemplo, onde o tecido doente está mais próximo de um orifício, um plano cirúrgico pode ser estabelecido sem a criação de um modelo 3D. Em outros exemplos, pode ser suficiente usar uma ou mais modalidades para capturar imagens do paciente sem análise e extrapolação para identificar uma localização de tecido doente e estabelecer um trajeto de acesso.

[00373] Voltando-se para o desempenho da broncoscopia, em algumas modalidades, o paciente é ajustado para uma posição sentada ou supina. Em seguida, o aplicador é inserido em um endoscópio ou broncoscópio em preparação para o avanço no paciente. Particularmente, o tubo de inserção do aplicador é inserido no endoscópio. O endoscópio pode ser flexível ou rígido. Utilizando o plano

cirúrgico pré-operatório estabelecido, o endoscópio é inserido pelo nariz ou boca até a via aérea superior, traqueia e no sistema brônquico e, em seguida, em alguns exemplos, nos pulmões. Ferramentas de visualização incluídas com o endoscópio são usadas para ajudar a alcançar o tecido doente no local alvo. O endoscópio é avançado até que sua ponta distal esteja proximal ou entre em contato com o local alvo. Em algumas modalidades, o avanço do endoscópio pode ser monitorado com um sistema de navegação conectado. Onde o planejamento pré-operatório inclui a geração de um modelo 3D, imagens adicionais podem ser tiradas durante as etapas de avanço, a critério do cirurgião, para fazer quaisquer ajustes com base nas condições reais, se as evidências sugerirem que as condições mudaram desde que as imagens originais foram tiradas para criar o modelo 3D. Em algumas modalidades, as ferramentas de visualização descritas neste documento podem ser usadas com modalidades de um aplicador de aplicação de fármaco separado (*por exemplo*, o aplicador de aplicação de fármaco separado 19 discutido neste documento) para facilitar a identificação do local de injeção e o alinhamento dos aplicadores (*por exemplo*, aplicador 14 e aplicador separado 19) para a aplicação do fármaco e eletroporação.

[00374] Com a extremidade distal do aplicador localizada no local alvo, a eletroporação e/ou a aplicação de fármaco podem começar de uma maneira conforme descrito em qualquer uma das modalidades estabelecidas neste documento. Em algumas modalidades, a eletroporação e a aplicação dos agentes de tratamento podem ser simultâneas ou ocorrer de outra forma aproximadamente ao mesmo tempo. Em algumas modalidades, a eletroporação pode começar antes da aplicação dos agentes de tratamento. Em algumas modalidades, a aplicação dos agentes de tratamento é seguida por eletroporação.

[00375] Em alguns exemplos, o procedimento de broncoscopia

descrito pode ser similarmente empregado em um procedimento de rinoscopia ou outro procedimento no trato respiratório.

[00376] Em alguns exemplos, o método de tratamento de tecido doente no trato respiratório pode ser realizado com o auxílio de robótica. Por exemplo, o aplicador pode ser usado com um sistema robótico para realizar a broncoscopia. Particularmente, o aplicador pode ser avançado através do corpo do paciente e/ou os eletrodos do aplicador podem ser implantados através do controle do dispositivo robótico do sistema robótico. Para executar essas funções, por exemplo, um braço do dispositivo robótico pode ser manipulado para girar e posicionar o aplicador durante o procedimento. Da mesma forma, o braço do dispositivo robótico pode ser manipulado para controlar o fluxo de eletricidade no aplicador. Em alguns exemplos, outras etapas do método também podem ser auxiliadas pelo uso do sistema robótico.

[00377] Em algumas modalidades, a presente divulgação refere-se a um método de tratamento de tecido doente na cavidade abdominal. Em algumas modalidades, o método pode começar com o planejamento cirúrgico pré-operatório, conforme descrito em detalhes acima. Com uma localização do tecido doente e um trajeto para acessar o tecido doente identificado, o acesso ao local alvo e o tratamento podem começar. Em preparação para a entrada, o aplicador pode ser inserido em um endoscópio, embora o endoscópio possa ser posicionado pelo menos parcialmente no paciente antes da inserção do aplicador através do mesmo.

[00378] Em algumas modalidades, o aplicador usado inclui uma ponta afiada, tal como a ponta 130 no aplicador 110, por exemplo. Inicialmente, o endoscópio é posicionado através da boca do paciente, através do esôfago e até o estômago. De dentro do estômago, o aplicador é avançado para uma parede do estômago para criar uma abertura gástrica usando a ponta 130, avançando assim o endoscópio

com o aplicador na cavidade peritoneal. Como alternativa, um trocarte padrão ou outro instrumento pode ser usado para perfurar a parede do estômago. Os auxílios de visualização que acompanham o endoscópio, em conjunto com o sistema de navegação opcional e as informações de imagem podem então ser usados para direcionar o endoscópio e o aplicador para o local alvo em uma parede da cavidade peritoneal sob imagens guiadas.

[00379] Com a extremidade distal do endoscópio localizada no local alvo, a eletroporação e/ou distribuição de fármaco pode começar de uma maneira conforme descrito em qualquer uma das modalidades estabelecidas neste documento. Em algumas modalidades, a eletroporação e a aplicação dos agentes de tratamento podem ser simultâneas ou ocorrer de outra forma aproximadamente ao mesmo tempo. Em algumas modalidades, a eletroporação pode começar antes da aplicação dos agentes de tratamento. Em algumas modalidades, a aplicação dos agentes de tratamento é seguida por eletroporação.

[00380] Em outra modalidade, um método para tratar tecido doente no abdômen pode ser realizado usando um laparoscópio, pelo qual um ou mais cortes de laparoscopia podem ser formados no paciente através do qual um laparoscópio e o aplicador são passados e navegados até o tecido alvo. Conforme discutido acima, a aplicação de fármaco pode ser realizada usando o aplicador, ou alternativamente, um instrumento separado pode ser usado para distribuir os agentes de tratamento ao tecido alvo. Pelo menos uma cânula adicional pode ser usada para fornecer uma passagem para o aplicador e/ou dispositivo de aplicação de fármaco para o tecido alvo. Tipicamente, cânulas rígidas são usadas e, portanto, um aplicador com um tubo de inserção rígido também pode ser usado.

[00381] Em alguns exemplos, o método de tratamento de tecido doente no abdômen pode ser realizado com o auxílio de robótica. Por

exemplo, o aplicador pode ser usado com um sistema robótico para executar o procedimento. Particularmente, o aplicador pode ser avançado através do corpo do paciente e/ou os eletrodos do aplicador podem ser implantados através do controle do dispositivo robótico do sistema robótico. Para executar essas funções, por exemplo, um braço do dispositivo robótico pode ser manipulado para girar e posicionar o aplicador durante o procedimento. Da mesma forma, o braço do dispositivo robótico pode ser manipulado para controlar o fluxo de eletricidade no aplicador. Em alguns exemplos, outras etapas do método também podem ser auxiliadas pelo uso do sistema robótico.

[00382] Em algumas modalidades, a presente divulgação refere-se a um método de tratamento de tecido doente no trato gastrointestinal, tal como no pâncreas. Em algumas modalidades deste método, um endoscópio de ultrassom é usado com o aplicador inserido no mesmo. O endoscópio de ultrassom usa ondas sonoras de alta frequência para produzir imagens detalhadas da anatomia, incluindo revestimento e paredes do estômago e pâncreas. Conforme descrito acima, em algumas modalidades, o planejamento cirúrgico pré-operatório pode ser realizado para identificar uma localização específica do tecido doente e avaliar o trajeto de inserção pretendido para o aplicador e/ou endoscópio. Uma vez pronto para a cirurgia, o aplicador é inserido no endoscópio de ultrassom, embora o endoscópio possa ser posicionado pelo menos parcialmente no paciente antes de inserir o aplicador através dele. Deve ser observado que um endoscópio de ultrassom também pode ser utilizado nos outros métodos descritos neste documento, em que um endoscópio ou outros instrumentos do tipo endoscópico, tais como broncoscópios e laparoscópios, são usados.

[00383] Para acessar o local alvo do tecido doente, o endoscópio de ultrassom é inserido através da boca até o estômago. Usando as imagens geradas através do ultrassom, bem como as informações

obtidas através do planejamento pré-cirúrgico, se usado, o endoscópio é manipulado dentro do estômago de modo que sua ponta distal fique voltada para uma parede do estômago que está em contato com a porção do pâncreas com o tecido doente. Em seguida, o aplicador é avançado a partir do endoscópio, de modo que uma ponta pontiaguda no aplicador possa penetrar na parede do estômago e, assim, alcançar um local que está em contato com local alvo no pâncreas. Como alternativa, um trocarte padrão ou outro instrumento pode ser usado para perfurar a parede do estômago. Nas circunstâncias em que o local alvo no pâncreas não tem contato com o estômago, o endoscópio pode ser guiado ainda mais uma vez na cavidade peritoneal para direcionar o aplicador para o local alvo. Além disso, os auxiliares de visualização podem acompanhar o endoscópio, juntamente com um sistema de navegação opcional e informações de imagem do planejamento pré-operatório, para auxiliar na direção do aplicador até o local alvo.

[00384] Em alguns exemplos e conforme descrito em outra parte da divulgação, um endoscópio pode ser posicionado através da boca para o estômago/intestino delgado, onde o aplicador, com um corpo flexível, pode ser guiado em lesões pancreáticas, para injeção sequencial de plasmídeo e eletroporação. O corpo flexível (*por exemplo*, tubo de inserção 15) pode ter um comprimento de aproximadamente 100 cm para permitir a navegação em direção às lesões alvo através de um endoscópio ou laparoscópio, dependendo da aplicação específica e/ou da indicação de tumor.

[00385] Com a extremidade distal do endoscópio localizada no local alvo, a eletroporação e/ou distribuição de fármaco pode começar de uma maneira conforme descrito em qualquer uma das modalidades estabelecidas neste documento. Em algumas modalidades, a eletroporação e a aplicação dos agentes de tratamento podem ser simultâneas ou ocorrer de outra forma aproximadamente ao mesmo

tempo. Em algumas modalidades, a eletroporação pode começar antes da aplicação do agente de tratamento. Em algumas modalidades, a distribuição do agente de tratamento é seguida por eletroporação. Após a conclusão da eletroporação, o aplicador e um dispositivo guia aplicável, tal como um endoscópio, são removidos e, quando aplicável, a incisão gástrica é fechada conforme apropriado.

[00386] É ainda contemplado que o procedimento descrito acima para o pâncreas também pode ser similarmente realizado para uma colonoscopia.

[00387] Em alguns exemplos, o método de tratamento de tecido doente no trato gastrointestinal pode ser realizado com o auxílio de robótica. Por exemplo, o aplicador pode ser usado com um sistema robótico para realizar um procedimento para alcançar o pâncreas com um endoscópio de ultrassom ou similar. Particularmente, o aplicador pode ser avançado através do corpo do paciente e/ou os eletrodos do aplicador podem ser implantados através do controle do dispositivo robótico do sistema robótico. Para executar essas funções, por exemplo, um braço do dispositivo robótico pode ser manipulado para girar e posicionar o aplicador durante o procedimento. Da mesma forma, o braço do dispositivo robótico pode ser manipulado para controlar o fluxo de eletricidade no aplicador. Em alguns exemplos, outras etapas do método também podem ser auxiliadas pelo uso do sistema robótico.

[00388] Em algumas modalidades, a presente divulgação refere-se a um método de tratamento de tecido doente no sistema urinário, tal como na uretra ou bexiga. Em algumas modalidades, um endoscópio é usado com um aplicador inserido no mesmo. Em algumas modalidades, o endoscópio é rígido, enquanto em outras, é flexível. Em algumas modalidades, um cateter uretral é usado com um aplicador. Em algumas modalidades, um aplicador é usado sozinho, sem qualquer dispositivo de orientação. Conforme descrito acima, em algumas modalidades, o

planejamento cirúrgico pré-operatório pode ser realizado para identificar uma localização específica do tecido doente e avaliar o trajeto de inserção pretendido para o aplicador e/ou endoscópio. Uma vez pronto para a cirurgia, o aplicador é inserido no endoscópio ou cateter uretral ou se o aplicador estiver sendo usado sozinho, ele está pronto para ser usado sozinho. Como com outros exemplos de métodos discutidos acima, o aplicador não precisa ser posicionado no endoscópio ou cateter uretral antes da inserção de qualquer instrumento de acesso no paciente (presumindo que um instrumento de acesso de algum tipo esteja sendo usado).

[00389] Em algumas modalidades, o endoscópio (ou cateter uretral) é avançado diretamente na uretra, partindo de fora do paciente, e a ponta do endoscópio é direcionada para o tecido doente. Em algumas modalidades, o endoscópio é avançado na uretra partindo de fora do paciente e partindo da uretra para dentro da bexiga. De dentro da bexiga, a ponta do endoscópio é direcionada para um tecido doente na bexiga. Seja na uretra ou na bexiga, o aplicador é avançado de dentro do endoscópio, de modo que o aplicador esteja em posição para o procedimento de eletroporação. Além disso, os auxiliares de visualização podem acompanhar o endoscópio, juntamente com um sistema de navegação opcional e informações de imagem do planejamento pré-operatório, para auxiliar no avanço do aplicador para o tecido doente.

[00390] Com a extremidade distal do endoscópio localizada no local alvo, a eletroporação e/ou distribuição de fármaco pode começar de uma maneira conforme descrito em qualquer uma das modalidades estabelecidas neste documento. Em algumas modalidades, a eletroporação e a aplicação dos agentes de tratamento podem ser simultâneas ou ocorrer de outra forma aproximadamente ao mesmo tempo. Em algumas modalidades, a eletroporação pode começar antes

da aplicação dos agentes de tratamento. Em algumas modalidades, a aplicação dos agentes de tratamento é seguida por eletroporação.

[00391] Em alguns exemplos, o método de tratamento de tecido doente no sistema urinário pode ser realizado com o auxílio de robótica. Por exemplo, o aplicador pode ser usado com um sistema robótico para executar o procedimento. Particularmente, o aplicador pode ser avançado através do corpo do paciente e/ou os eletrodos do aplicador podem ser implantados através do controle do dispositivo robótico do sistema robótico. Para executar essas funções, por exemplo, um braço do dispositivo robótico pode ser manipulado para girar e posicionar o aplicador durante o procedimento. Da mesma forma, o braço do dispositivo robótico pode ser manipulado para controlar o fluxo de eletricidade no aplicador. Em alguns exemplos, outras etapas do método também podem ser auxiliadas pelo uso do sistema robótico.

[00392] Em algumas modalidades, a presente divulgação refere-se a um método de tratamento de tecido doente no cérebro através de um procedimento neurocirúrgico. Em alguns exemplos, o procedimento pode ser usado para tratar vários tipos de tumores no cérebro ou no sistema neurológico de maneira mais ampla. Em algumas modalidades, um endoscópio é usado com um aplicador inserido através do mesmo. Em algumas modalidades, um cateter é usado com um aplicador. Em algumas modalidades, um aplicador é usado sozinho, sem qualquer dispositivo de acesso. Conforme descrito acima, em algumas modalidades, o planejamento cirúrgico pré-operatório pode ser realizado para identificar uma localização específica do tecido doente e avaliar o trajeto de inserção pretendido para o aplicador e/ou endoscópio.

[00393] Em algumas modalidades, uma abordagem endovascular ao tecido doente no cérebro é usada. Essa abordagem pode ser usada para tratar um glioblastoma, glioblastoma multiforme ou similares, por

exemplo. Em um exemplo, o aplicador, disposto em um cateter ou um endoscópio, é introduzido percutaneamente no corpo do paciente através da artéria femoral e, em seguida, direcionado superiormente através da aorta, veia cava, carótida ou artéria vertebral. Outros pontos de acesso também são adequados para uma abordagem no cérebro. Como alternativa, o cateter ou endoscópio é posicionado primeiro na vasculatura do paciente, antes do posicionamento do aplicador na mesma. Para determinar onde direcionar o aplicador da artéria carótida ou vertebral, a localização do tecido doente é comparada com a localização do aplicador. O aplicador é então avançado através dos vasos sanguíneos apropriados do cérebro. Em algumas circunstâncias únicas, pode ser possível um direcionamento adicional do aplicador através dos vasos sanguíneos intracranianos, se necessário. No entanto, antes disso, o cirurgião avaliará se tal acesso é viável comparando um diâmetro externo do endoscópio ou cateter em comparação com os vasos sanguíneos intracranianos a serem atravessados. Em alguns exemplos, o aplicador pode ser configurado para ser avançado em relação ao endoscópio ou cateter, reduzindo assim o diâmetro mínimo necessário para o acesso do dispositivo para eletroporação. Além disso, os auxiliares de visualização podem acompanhar o endoscópio, juntamente com um sistema de navegação opcional e informações de imagem do planejamento pré-operatório, para auxiliar no avanço do aplicador para o tecido doente. Uma vez concluído o avanço do aplicador para o tecido doente no local alvo, a eletroporação pode ser realizada.

[00394] Em algumas modalidades, as áreas ao redor do cérebro podem ser acessadas através do nariz através de um procedimento transesfenoidal. Isso pode ser desejável quando o tecido doente está sobre ou perto da hipófise ou quando o tecido doente é um tumor que cresce a partir da dura (membrana ao redor do cérebro). Assim, o

procedimento pode ser usado para tratar, por exemplo, adenoma hipofisário, craniofaringioma, cisto de rathke, meningioma e cordoma. Em alguns exemplos, o aplicador é disposto em um endoscópio ou um cateter e, em seguida, avança através do nariz e do seio esfenoidal para alcançar o tecido doente para o desempenho da eletroporação. Em algumas modalidades, uma pequena incisão pode ser feita em um ou mais dentre o septo nasal, seio esfenoidal e a sela túrcica para alcançar o tecido doente. Uma abordagem semelhante envolvendo a criação de pequenos orifícios na área nasal também pode ser usada para acessar o tecido doente através da boca. Em alguns exemplos das modalidades acima, um microscópio também pode ser usado para complementar o aplicador em um procedimento.

[00395] Em cada um dos métodos descritos de acesso ao tecido dentro e ao redor do telencéfalo, uma vez que a extremidade distal do aplicador é posicionada no local alvo, a eletroporação e/ou distribuição de fármaco pode começar de uma maneira conforme descrito em qualquer uma das modalidades estabelecidas neste documento. Em algumas modalidades, a eletroporação e a aplicação dos agentes de tratamento podem ser simultâneas ou ocorrer de outra forma aproximadamente ao mesmo tempo. Em algumas modalidades, a eletroporação pode começar antes da aplicação dos agentes de tratamento. Em algumas modalidades, a aplicação dos agentes de tratamento é seguida por eletroporação.

[00396] Em alguns exemplos, o método de tratamento de tecido doente no cérebro pode ser realizado com o auxílio de robótica. Por exemplo, o aplicador pode ser usado com um sistema robótico para executar o procedimento. Particularmente, o aplicador pode ser avançado através do corpo do paciente e/ou os eletrodos do aplicador podem ser implantados através do controle do dispositivo robótico do sistema robótico. Para executar essas funções, por exemplo, um braço

do dispositivo robótico pode ser manipulado para girar e posicionar o aplicador durante o procedimento. Da mesma forma, o braço do dispositivo robótico pode ser manipulado para controlar o fluxo de eletricidade no aplicador. Em alguns exemplos, outras etapas do método também podem ser auxiliadas pelo uso do sistema robótico.

[00397] Os métodos descritos acima demonstram que a tecnologia e os sistemas de eletroporação descritos neste documento podem ser empregados em uma ampla variedade de aplicações cirúrgicas. Os exemplos específicos delineados destinam-se a demonstrar como o sistema pode ser empregado em aplicações específicas e de nenhuma forma pretendem ser limitantes. Para questões de clareza, além do uso do sistema para acessar o tecido doente apenas com o aplicador, com um endoscópio ou com um cateter, é contemplado ainda que um trocarte pode ser usado para acessar um local alvo para realizar a eletroporação. Um trocarte pode ser vantajoso para fornecer acesso direto a malignidades ósseas, por exemplo, tais como sarcomas primários ou secundários.

[00398] Em algumas modalidades, os métodos descritos neste documento podem ser usados em combinação com procedimentos de imagem de tecido além daqueles descritos em outras partes do pedido. Por exemplo, podem ser usados procedimentos incluindo imagem de fluorescência, imagem de luz branca ou uma combinação destas. Em alguns exemplos, a geração de imagens de fluorescência pode empregar o uso de um agente ou corante. Exemplos bem conhecidos de tais agentes incluem verde de indocianina. Tais agente de imagem de fluorescência e recursos de visualização podem ser usados para direcionar o aplicador de eletroporação para o tecido alvo. Em alguns casos, o fluxo sanguíneo através de um tumor pode causar uma incidência de corante no tumor, iluminando o tumor sob visualização. Tal processo pode aumentar a eficácia da eletroporação como o

operador pode ver e, assim, tratar áreas do tumor que podem não ter sido vistas sob visualização normal de luz branca.

[00399] Em algumas modalidades, os métodos, sistemas e aparelhos descritos neste documento podem ser usados com outros procedimentos cirúrgicos, incluindo laparoscopias. Os métodos, sistemas e aparelhos descritos neste documento também podem ser usados com uma série de tratamentos, incluindo, mas não limitados a terapias gênicas (*por exemplo*, terapias plasmídicas) ou tratamentos farmacológicos para qualquer um dentre um número de cânceres e outras doenças.

[00400] Com referência à Figura 1, em algumas modalidades, os eletrodos 100 podem ser usados para detectar uma impedância do tecido corporal entre os eletrodos no local de eletroporação. Particularmente, as respostas elétricas de um tecido podem ser medidas em uma faixa de frequências de interrogação transmitidas através dos eletrodos através de espectroscopia de impedância eletroquímica. Os dados coletados podem então ser ajustados a modelos de circuito equivalentes para determinar as propriedades elétricas do tecido. Em algumas modalidades, os pulsos elétricos, de qualquer um dos métodos e aparelhos divulgados neste documento, podem ser fornecidos por um gerador de baixa tensão.

[00401] O controlador 24 que controla o processo de eletroporação pode fazer interface com o gerador 12 para fornecer um ciclo de realimentação que ajusta a saída do gerador a um nível desejado com base na impedância detectada nos eletrodos. Este processo pode ser implementado para qualquer um dentre os sistemas de eletrodo e eletroporação, métodos e aparelhos discutidos neste documento.

[00402] Da mesma forma, os blocos dos fluxogramas suportam combinações de meios para executar as funções especificadas e combinações de operações para executar as funções especificadas.

Deve ser compreendido também que um ou mais blocos dos fluxogramas e combinações de blocos nos fluxogramas podem ser implementados por sistemas de computador baseados em hardware com propósito especial, que executam as funções especificadas ou combinações de hardware com propósito especial e instruções de computador.

Métodos de tratamento

[00403] Os dispositivos de eletroporação descritos neste documento podem ser usados em tratamentos terapêuticos e na aplicação de agentes de tratamento. Em algumas modalidades, os tratamentos terapêuticos incluem eletroterapia, também referida neste documento como terapia de eletroporação (EPT), usando os aparelhos descritos para a aplicação de um ou mais agentes de tratamento (*por exemplo*, moléculas) a uma célula, grupo de células ou tecido e para a realização de eletroporação na célula, grupo de células ou tecido. Em algumas modalidades, a molécula ou agente de tratamento é um fármaco (isto é, ingrediente farmacêutico ativo). A combinação de qualquer um dos agentes de tratamento discutidos neste documento ou geralmente conhecidos na técnica com EPT, conforme discutido neste documento, pode fornecer um tratamento eficaz mesmo em pacientes que não responderam aos agentes de tratamento por conta própria. Em algumas modalidades, o fármaco é uma molécula pequena. Em algumas modalidades, o fármaco é uma macromolécula. Um medicamento pode ser, mas não está limitado a um agente quimioterápico. Uma macromolécula pode ser, mas não está limitada a um agente quimioterápico, ácido nucleico (tal como, mas não se limitando a, polinucleotídeo, oligonucleotídeo, DNA, cDNA, RNA, ácido nucleico peptídico, oligonucleotídeos antisense, siRNA, miRNA, ribozima, plasmídeo e vetor de expressão) e polipeptídeo (tal como, mas não limitado a peptídeo, proteína e anticorpo). Em algumas modalidades, os

tratamentos terapêuticos incluem a aplicação de um pulso elétrico terapêutico a uma célula, grupo de células ou tecido usando qualquer um dos dispositivos de eletroporação descritos. A célula, grupo de células ou tecido podem ser, mas não estão limitados a uma célula tumoral ou tecido tumoral.

[00404] Os medicamentos ou agentes de tratamento contemplados para uso com os métodos incluem agentes quimioterápicos com um efeito antitumoral ou citotóxico. Um medicamento pode ser um agente exógeno ou um agente endógeno. Em algumas modalidades, o fármaco é um agente exógeno de molécula pequena. Agentes exógenos de moléculas pequenas incluem, mas não estão limitados a bleomicina, neocarzinostatina, suramina, doxorubicina, carboplatina, taxol, mitomicina C e cisplatina. Outros agentes quimioterápicos serão conhecidos pelos versados na técnica (ver, por exemplo, The Merck Index). Em algumas modalidades, o fármaco é um agente de ação da membrana. Agentes de "ação de membrana" atuam principalmente pela lesão da membrana celular. Exemplos não limitantes de agentes de ação de membrana incluem N-alquilmelamida e benzoato de para-cloro mercúrio. Em algumas modalidades, o fármaco é uma citocina, quimiocina, linfocina ou hormônio. Em algumas modalidades, o fármaco é um ácido nucleico. Em algumas modalidades, o ácido nucleico codifica uma ou mais citocinas, quimiocinas, linfocinas, polipeptídeo terapêutico, adjuvante ou uma combinação destes.

[00405] A molécula ou agente de tratamento pode ser administrado a um indivíduo antes, durante ou após a administração do pulso elétrico. A molécula pode ser administrada na célula ou próximo a ela, em grupo de células ou em um tecido de um paciente. Em algumas modalidades, a molécula pode ser co-localizada com o pulso elétrico usando um aplicador com eletrodos e um canal de aplicação de fármaco que se estende através do mesmo (*por exemplo*, aplicador 110; eletrodos 100,

200, 400, 500, 600; e canal de aplicação de fármaco 18 mostrado nas Figuras 47-66). A composição química do agente de tratamento ditará o tempo mais apropriado para administrar o agente em relação à administração do pulso elétrico. Por exemplo, embora não queira estar vinculado a uma teoria específica, acredita-se que um medicamento com um ponto isoelétrico baixo (por exemplo, neocarzinostatina, IEP=3,78), seria provavelmente mais eficaz se administrado pós eletroporação para evitar a interação eletrostática do medicamento altamente carregado dentro do campo. Além disso, tais medicamentos como bleomicina, que têm um log P muito negativo (P sendo o coeficiente de partição entre octanol e água) são muito grandes em tamanho (MW=1.400) e são hidrofílicos, se associando estreitamente com a membrana lipídica, se difundindo muito lentamente em uma célula tumoral, sendo tipicamente administrados antes ou substancialmente simultâneos com o pulso elétrico. Além disso, certos agentes de tratamento podem exigir modificação para permitir uma entrada mais eficiente na célula. Por exemplo, um agente como o taxol pode ser modificado para aumentar a solubilidade em água, o que permitiria uma entrada mais eficiente na célula. Em algumas modalidades, a eletroporação facilita a entrada da molécula em uma célula criando poros na membrana celular.

[00406] Em algumas modalidades, a molécula ou agente de tratamento é distribuído para modular a expressão de um gene. O termo "modular" prevê a diminuição (supressão) ou aumento (estimulação) da expressão de um gene. Onde um distúrbio proliferativo celular está associado à expressão de um gene, sequências de ácido nucleico que interferem com a expressão do gene no nível translacional podem ser usadas. Em algumas modalidades, um ou mais ácidos nucleicos antisense, ribozimas, siRNAs, miRNA, agentes triplex ou similares são distribuídos através de eletroporação para bloquear a transcrição ou

tradução de um mRNA específico. Em algumas modalidades, um ácido nucleico é distribuído para expressar um RNA ou polipeptídeo. O ácido nucleico pode ser recombinante, de fita única ou de fita dupla, DNA ou RNA ou uma combinação de DNA e RNA, circular ou linear e/ou superenrolado ou relaxado. O ácido nucleico também pode estar associado a uma ou mais proteínas, lipídios, vírus, vetor viral, vírus quimérico ou partícula viral. O ácido nucleico também pode ser nu. Um vírus pode ser, mas não está limitado a adenovírus, vírus herpes, vaccinia, vírus DNA, vírus RNA, retrovírus, retrovírus murino, retrovírus aviário, vírus da leucemia murina Moloney (Moloney murine leukemia virus, MoMuLV), vírus do sarcoma murino Harvey (HaMuSV), vírus do tumor mamário murino (MuMTV), vírus Rous Sarcoma (RSV), vírus da leucemia do macaco gibão (GaLV). Da mesma forma, um vetor viral, vírus quimérico e/ou partícula viral podem ser derivados de qualquer um dos vírus descritos acima.

Polipeptídeos terapêuticos

[00407] Polipeptídeos terapêuticos (um tipo de agente de tratamento listado acima) incluem, mas não estão limitados a agentes imunomoduladores, modificadores de resposta biológica, molécula coestimuladora, enzimas metabólicas e proteínas, anticorpos, inibidores de checkpoint e adjuvantes.

[00408] O termo "agentes imunomoduladores" destina-se a abranger substâncias que estão envolvidas na modificação de uma resposta imune. Exemplos de modificadores de resposta imune incluem, mas não estão limitados a citocinas, quimiocinas, linfocinas e polipeptídeos de ligação a antígeno. As linfocinas podem ser, mas não se limitam a, fator de necrose tumoral, interleucinas (IL, tais como, mas não se limitando a IL-1, IL-2, IL-3, IL-12, IL-15), linfoxina, fator de ativação de macrófagos, fator de inibição de migração, fator estimulante de colônias e alfa-interferon, beta-interferon, gama-interferon e seus subtipos. Em

algumas modalidades, o modificador de resposta imune compreende um ácido nucleico que codifica uma ou mais citocinas, quimiocinas, linfocinas ou subunidades de citocinas, quimiocinas e linfocinas. Em algumas modalidades, o agente imunomodulador é um estimulador imune. Exemplos não limitantes de estimuladores imunes incluem IL-33, flagelina, receptor de IL-10, receptor de genes de interferon (STING - stimulator of interferon genes), IRF3. O termo "citocina" é usado como um nome genérico para um grupo diversificado de proteínas e peptídeos solúveis que atuam como reguladores humorais em concentrações nano a picomolares e que, sob condições normais ou patológicas, modulam as atividades funcionais de células e tecidos individuais. Como usado neste documento, uma "citocina imunoestimuladora" inclui citocinas que mediam ou aumentam a resposta imune a um antígeno estranho, incluindo antígenos virais, bacterianos ou tumorais. As citocinas imunoestimuladoras incluem, mas não estão limitadas a $\text{TNF}\alpha$, IL-1, IL-10, IL-12, IL-12 p35, IL-12 p40, IL-15, IL-15R α , IL-23, IL-27, IFN α , IFN β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-21 e TGF β . Em algumas modalidades, a citocina imunoestimuladora é um ácido nucleico que codifica um ou mais dentre $\text{TNF}\alpha$, IL-1, IL-10, IL-12, IL-12 p35, IL-12 p40, IL-15, IL-15R α , IL-23, IL-27, IFN α , IFN β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-21 e TGF β .

[00409] Outro agente de tratamento, um "coestimulador", refere-se a qualquer um de um grupo de receptor/ligantes de superfície de célula imune que se encaixam entre células T e células apresentadoras de antígenos e que geram um sinal estimulador em células T que se combinam com o sinal estimulador (isto é, "coestimulação") em células T, que resultam do reconhecimento do receptor de células T ("TCR") de antígeno em células apresentadoras de antígenos. A ativação coestimulatória pode ser medida para células T pela produção de citocinas. Conforme usado neste documento, o termo "moléculas

coestimuladoras" inclui um coestimulador solúvel ou agonistas de coestimuladores. As moléculas coestimuladoras incluem, mas não estão limitadas a agonistas de GITR, CD137, CD134, CD40L, CD27 e similares. Os agonistas coestimuladores incluem, mas não estão limitados a anticorpos agonistas, ligantes coestimuladores, incluindo ligantes coestimuladores multiméricos solúveis e transmembrana, peptídeos ligantes coestimuladores, miméticos de ligantes coestimuladores e outras moléculas que envolvem e induzem a atividade biológica de um coestimulador. Em algumas modalidades, moléculas coestimuladoras solúveis derivadas de uma célula apresentadora de antígeno podem ser, mas não estão limitadas a GITR-L, CD137-L, CD134-L (também conhecida como OX40-L), CD40, CD28. Os agonistas de moléculas coestimuladoras podem ser moléculas solúveis, tais como GITR-L solúvel, que compreende pelo menos o domínio extracelular (ECD) de GITR-L. A forma solúvel de uma molécula coestimuladora derivada de uma célula apresentadora de antígeno retém a capacidade da molécula coestimuladora nativa de se ligar ao seu receptor/ligante cognato em células T e estimular a ativação de células T. Outras moléculas coestimuladoras também carecerão de domínios transmembrana e intracelulares, mas são capazes de se ligar a seus parceiros de ligação e provocar um efeito biológico. Em algumas modalidades, para distribuição intratumoral por eletroporação, a molécula coestimuladora é codificada em um vetor de expressão que é expresso em uma célula tumoral. Em algumas modalidades, a molécula coestimuladora é um ácido nucleico que codifica uma ou mais dentre GITR, GITR-L, CD137, CD137-L, CD134, CD134-L, CD40, CD40L, CD27 e D28 e similares ou um fragmento funcional destas. Uma molécula coestimuladora inclui uma molécula com função biológica como molécula coestimuladora e compartilha pelo menos 80% de identidade de sequência de aminoácidos, pelo menos 90% de

identidade de sequência, pelo menos 95% de identidade de sequência ou pelo menos 98% de identidade de sequência de GITR, GITR-L, CD137, CD137-L, CD134, CD134-L, CD40, CD40L, 27 ou D28 ou um fragmento funcional das mesmas. Em algumas modalidades, um agonista coestimulador pode estar na forma de anticorpos ou fragmentos de anticorpos, ambos podendo ser codificados em um plasmídeo e aplicados no tumor por eletroporação.

[00410] Outros agentes de tratamento, tais como enzimas metabólicas e proteínas, incluem, mas não estão limitados a compostos antiangiogênicos. Compostos antiangiogênicos incluem, mas não estão limitados a Fator VIII e Fator IX. Em algumas modalidades, a enzima ou proteína metabólica compreende um ácido nucleico que codifica uma ou mais enzimas ou proteínas metabólicas ou fragmentos funcionais das mesmas.

[00411] O termo "anticorpo", conforme usado neste documento, é outro agente de tratamento incluindo imunoglobulinas, que são o produto de células B e variantes das mesmas, bem como o receptor de células T (TcR), que é o produto de células T e variantes das mesmas. Uma imunoglobulina é uma proteína que compreende um ou mais polipeptídeos substancialmente codificados pelos genes de região constante de imunoglobulina kappa e lambda, alfa, gama, delta, épsilon e mu, bem como uma miríade de genes de região variável de imunoglobulina. As cadeias leves são classificadas como kappa ou lambda. As cadeias pesadas são classificadas como gama, mu, alfa, delta ou épsilon, que por sua vez definem as classes de imunoglobulina, IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente. São conhecidas também as subclasses da cadeia pesada. Por exemplo, as cadeias pesadas de IgG em humanos podem ser qualquer uma das subclasses IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Os anticorpos existem como anticorpos intactos de comprimento total ou como um número de fragmentos bem caracterizados dos

mesmos. Fragmentos de anticorpos podem ser produzidos pela modificação de anticorpos inteiros ou anticorpos de novo sintetizados ou anticorpos e fragmentos obtidos usando metodologias de DNA recombinante. Fragmentos de anticorpos incluem, mas não estão limitados a fragmentos F(ab')₂ e Fab', scFv e ByTE. Em algumas modalidades, o anticorpo compreende um ácido nucleico que codifica um ou mais anticorpos ou fragmentos de anticorpo.

[00412] Um "adjuvante", ainda outro agente de tratamento, é uma substância que aumenta uma resposta imune a um antígeno. Em algumas modalidades, adjuvantes incluem, mas não estão limitados a adjuvante de Freund (completo e incompleto), sais minerais, tais como hidróxido de alumínio ou fosfato de alumínio, várias citocinas, substâncias ativas de superfície, tais como lisolecitina, polióis plurônicos, poliânions, peptídeos, emulsões de óleo e adjuvantes humanos potencialmente úteis, tais como BCG (bacilo Calmette-Guerin) e *Corynebacterium parvum*. Em algumas modalidades, um adjuvante é ou compreende hemocianina de lapa californiana, toxoide tetânico, toxoide diftérico, ovalbumina, toxina de cólera ou fragmentos funcionais dos mesmos. Em algumas modalidades, um adjuvante é ou compreende o fator estimulador das colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), ligante FLT3, LAMP1, calreticulina, proteína humana de choque térmico 96, receptor CSF-1 ou um fragmento funcional destes. Em algumas modalidades, um adjuvante compreende um ácido nucleico que codifica um ou mais adjuvantes ou fragmentos adjuvantes (isto é, adjuvantes genéticos). Em algumas modalidades, um adjuvante genético é fundido a um antígeno. Um antígeno pode ser, mas não está limitado a um antígeno tumoral, antígeno tumoral compartilhado ou antígeno viral. Exemplos não limitantes de antígenos incluem NY-ESO-1 ou um fragmento do mesmo, MAGE-A1, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A10, SSX-2, MART-1, tirosinase, Gp100, survivina,

hTERT, PRS pan-DR, B7-H6, HPV-7, HPV16 E6/E7, HPV11 E6, HPV6b/11 E7, HCV-NS3, Influenza HA, Influenza NA e poliomavírus. Em algumas modalidades, um adjuvante genético é fundido a uma citocina ou molécula coestimuladora.

[00413] Outro agente de tratamento, uma molécula de checkpoint imune, refere-se a qualquer um de um grupo de receptor/ligantes de superfície celular imune que induzem disfunção ou apoptose de células T. Esses inibidores imunológicos têm como alvo atenuar reações imunes excessivas e garantir a autotolerância. Conforme usado neste documento, "inibidor de checkpoint" compreende moléculas que previnem a supressão imune bloqueando os efeitos de uma molécula de checkpoint imune. Os inibidores de checkpoint incluem, mas não estão limitados a anticorpos e fragmentos de anticorpos, nanocorpos, diacorpos, parceiros de ligação solúveis de moléculas de checkpoint, terapias de moléculas pequenas, antagonistas de peptídeos, etc. Em algumas modalidades, um inibidor de checkpoint pode ser, mas não está limitado a antagonista de CTLA-4, antagonista de PD-1, antagonista de PD-L1, antagonista de LAG-3, antagonista de TIM3, antagonista de KIR, antagonista de BTLA, antagonista de A2aR, antagonista de HVEM. Em algumas modalidades, o inibidor de checkpoint é selecionado do grupo compreendendo: nivolumab (ONO-4538/BMS-936558, MDX1 106, OPDIVO), pembrolizumab (MK-3475, KEYTRUDA), pidilizumab (CT-011) e MPDL3280A (ROCHE). Em algumas modalidades, um polipeptídeo inibidor de checkpoint pode ser codificado por um ácido nucleico que é distribuído a um tumor.

Vetores de expressão

[00414] Qualquer um dos polipeptídeos descritos pode ser codificado no ácido nucleico, para formar ainda outro agente de tratamento. O ácido nucleico pode ser, mas não está limitado a um vetor de expressão ou plasmídeo. O termo "plasmídeo" ou "vetor" inclui qualquer vetor de

aplicação conhecido incluindo um vetor de distribuição bacteriano, um vetor de distribuição de vetor viral, um plasmídeo episomal, um plasmídeo integrativo ou um vetor de fago. O termo "vetor" refere-se a um construto que é capaz de expressar um ou mais polipeptídeos em uma célula.

[00415] Um polipeptídeo codificado pode ser ligado, em um vetor de expressão, a uma sequência que codifica um segundo polipeptídeo. Em algumas modalidades, um vetor de expressão codifica uma proteína de fusão. O termo "proteína de fusão" refere-se a uma proteína compreendendo dois ou mais polipeptídeos ligados entre si por ligações peptídicas ou outras ligações químicas. Em algumas modalidades, uma proteína de fusão é expressa de forma recombinante como um polipeptídeo de cadeia única contendo os dois polipeptídeos. Os dois ou mais polipeptídeos podem ser ligados diretamente ou através de um ligante peptídico compreendendo um ou mais aminoácidos.

[00416] Em algumas modalidades, o ácido nucleico (isto é, o vetor de expressão) codifica dois polipeptídeos expressos a partir de um único promotor, com um motivo de exon skipping interveniente que permite que ambos os polipeptídeos sejam expressos a partir de uma única mensagem policistrônica. Em algumas modalidades, o vetor de expressão compreende:

[00417] P-A-T-C, P-C-T-A ou P-A-T-B

[00418] em que P é um promotor, A, B e C são sequências de ácido nucleico que codificam polipeptídeos terapêuticos e T é um elemento de modificação de tradução. Um elemento de modificação de translação pode ser, mas não está limitado a um sítio interno de entrada de ribossomo (IRES) e moduladores de skipping ribossômicos, tais como, mas não limitados a P2A, T2A, E2A ou F2A. Em algumas modalidades, A e B compreendem sequências de ácido nucleico que codificam moléculas imunomoduladoras. Em algumas modalidades, A e B

codificam citocinas ou subunidades de citocinas, tais como, mas não limitadas a p35 da IL-12 e p40 da IL-12.

[00419] Em algumas modalidades, o ácido nucleico (isto é, vetor de expressão) codifica três polipeptídeos expressos a partir de um único promotor, com motivos de skipping de ribossomo interveniente para permitir que todas as três proteínas sejam expressas a partir de uma única mensagem policistrônica. Em algumas modalidades, o vetor de expressão compreende:

[00420] P-A-T-B-T-C ou P-C-T-A-T-B

[00421] em que P é um promotor, A, B e C são sequências de ácido nucleico que codificam polipeptídeos terapêuticos e T é um elemento de modificação de tradução. Um elemento de modificação de tradução inclui, mas não está limitado a um sítio interno de entrada de ribossomo (IRES) e moduladores de skipping ribossômicos, tais como, mas não limitados a P2A, T2A, E2A ou F2A. Em algumas modalidades, A e B compreendem sequências de ácido nucleico que codificam moléculas imunomoduladoras e/ou moléculas coestimuladoras ou subunidades das mesmas. Em algumas modalidades, A e B codificam cadeias de uma citocina heterodimérica. Em algumas modalidades, C compreende uma sequência de ácido nucleico que codifica uma molécula coestimuladora, adjuvante genético, antígeno, um polipeptídeo de fusão de adjuvante genético-antígeno, quimiocina ou polipeptídeo de ligação a antígeno. As quimiocinas incluem, mas não estão limitadas a CXCL9. Um polipeptídeo de ligação a antígeno pode ser, mas não está limitado a um scFv. Um scFv pode ser, mas não está limitado a um scFv anti-CD3 e um scFv anti-CTLA-4.

[00422] O promotor pode ser, mas não está limitado a promotor de CMV humano, promotor de CMV símio, promotor de SV-40, promotor de mPGK e promotor de β -Actina.

[00423] Em algumas modalidades, A codifica um p35 da IL-12, p19

de IL-23, EBI3 ou IL-15 e B codifica um p40 da IL-12, p28 de IL-27 ou IL-15R α .

[00424] Em algumas modalidades, o adjuvante genético compreende o ligante de FLT3, LAMP-1, calreticulina, proteína humana de choque térmico 96, GM-CSF e receptor de CSF-1.

[00425] Em algumas modalidades, o antígeno compreende: NYESO-1, OVA, RNEU, MAGE-A1, MAGE-A2, Mage-A10, SSX-2, Melan-A, MART-1, Tyr, Gp100, LAGE-1, Survivin, PRS pan-DR, peptídeo CEA CAP-1, OVA, HCV-NS3 e um peptídeo de vacina contra HPV.

[00426] O polipeptídeo p 35 da IL-12 e p40 da IL-12 pode ser p35 da IL-12 e p40 da IL-12 de camundongo e humano.

[00427] Em algumas modalidades, P é um promotor de CMV, A codifica um polipeptídeo p35 da IL-12, T é um IRES e B codifica um polipeptídeo p40 da IL-12.

[00428] Em algumas modalidades, P é um promotor de CMV, A codifica um polipeptídeo p35 da IL-12, T é elemento P2A e B codifica um polipeptídeo p40 da IL-12.

[00429] Em algumas modalidades, P é um promotor de CMV, A codifica um polipeptídeo p35 da IL-12 humana (hIL-12 p35), T é um IRES e B codifica um polipeptídeo p40 da IL-12 humana (hIL-12 p40).

[00430] Em algumas modalidades, P é um promotor de CMV, A codifica um polipeptídeo p35 da IL-12 humana, T é elemento P2A e B codifica um polipeptídeo p40 da IL-12 humana.

[00431] Em algumas modalidades, A codifica um p35 da IL-12, B codifica um polipeptídeo p40 da IL-12 e C codifica um polipeptídeo coestimulador.

[00432] Em algumas modalidades, A codifica um p35 da IL-12, B codifica um polipeptídeo p40 da IL-12 e C codifica um polipeptídeo de fusão NY-ESO1-FLT3L ou FLT3L-NY-ESO1.

[00433] Em algumas modalidades, A codifica um polipeptídeo p35 da

hIL-12, T é um elemento P2A, B codifica um polipeptídeo p40 da hIL-12 e C codifica um polipeptídeo de fusão FLT3L-NYESO1.

[00434] Em algumas modalidades, A codifica um polipeptídeo p35 da hIL-12, T é um elemento de IRES, B codifica um polipeptídeo p40 da hIL-12 e C codifica um polipeptídeo de fusão FLT3L-NYESO1.

[00435] Em algumas modalidades, P é um promotor de CMV, A codifica um polipeptídeo p35 da hIL-12, T é um elemento P2A, B codifica um polipeptídeo p40 da hIL-12 e C codifica um polipeptídeo de fusão FLT3L-NYESO1.

[00436] Em algumas modalidades, P é um promotor de CMV, A codifica um polipeptídeo p35 da hIL-12, T é um elemento de IRES, B codifica um polipeptídeo p40 da hIL-12 e C codifica um polipeptídeo de fusão FLT3L-NYESO1.

[00437] Em algumas modalidades, A codifica um p35 da IL-12, B codifica um polipeptídeo p40 da IL-12 e C codifica um polipeptídeo compreendendo um scFv anti-CD3. Em algumas modalidades, A codifica um polipeptídeo p35 da hIL-12, T é um elemento P2A, B codifica um polipeptídeo p40 da hIL-12 e C codifica um polipeptídeo compreendendo um scFv anti-CD3. Em algumas modalidades, A codifica um polipeptídeo p35 da hIL-12, T é um elemento de IRES, B codifica um polipeptídeo p40 da hIL-12 e C codifica um polipeptídeo compreendendo um scFv anti-CD3. Em algumas modalidades, P é um promotor de CMV, A codifica um polipeptídeo p35 de hIL-12, T é um elemento P2A, B codifica um polipeptídeo p40 da hIL-12 e C codifica um polipeptídeo compreendendo um scFv anti-CD3. Em algumas modalidades, P é um promotor de CMV, A codifica um polipeptídeo p35 da hIL-12, T é um elemento de IRES, B codifica um polipeptídeo p40 de hIL-12 e C codifica um polipeptídeo compreendendo um scFv anti-CD3.

[00438] Em algumas modalidades, A codifica um p35 da IL-12, B codifica um polipeptídeo p40 da IL-12 e C codifica um CXCL9. Em

algumas modalidades, A codifica um polipeptídeo p35 de hIL-12, T é um elemento P2A, B codifica um polipeptídeo p40 de hIL-12 e C codifica um CXCL9.Em algumas modalidades, A codifica um polipeptídeo p35 de hIL-12, T é um elemento de IRES, B codifica um polipeptídeo p40 de hIL-12 e C codifica um CXCL9.Em algumas modalidades, P é um promotor de CMV, A codifica um polipeptídeo p35 de hIL-12, T é um elemento P2A, B codifica um polipeptídeo p40 de hIL-12 e C codifica um CXCL9.Em algumas modalidades, P é um promotor de CMV, A codifica um polipeptídeo p35 da hIL-12, T é um elemento de IRES, B codifica um polipeptídeo p40 da hIL-12 e C codifica um CXCL9.

[00439] Em algumas modalidades, A codifica um p35 da IL-12, B codifica um polipeptídeo p40 da IL-12 e C codifica um scFv CTLA-4.Em algumas modalidades, A codifica um polipeptídeo p35 da hIL-12, T é um elemento P2A, B codifica um polipeptídeo p40 da hIL-12 e C codifica um scFv CTLA-4.Em algumas modalidades, A codifica um polipeptídeo p35 da hIL-12, T é um elemento IRES, B codifica um polipeptídeo p40 da hIL-12 e C codifica um scFv CTLA-4.Em algumas modalidades, P é um promotor de CMV, A codifica um polipeptídeo p35 da hIL-12, T é um elemento P2A, B codifica um polipeptídeo p40 da hIL-12 e C codifica um scFv CTLA-4.Em algumas modalidades, P é um promotor de CMV, A codifica um polipeptídeo p35 da hIL-12, T é um elemento de IRES, B codifica um polipeptídeo p40 da hIL-12 e C codifica um scFv CTLA-4.

[00440] São descritos métodos para o tratamento de malignidades, em que a administração de um plasmídeo ou vetor de expressão que codifica um ou mais polipeptídeos terapêuticos, em combinação com eletroporação, tem um efeito terapêutico nas lesões (*por exemplo*, tumores primários ou secundários). São descritos também métodos para o tratamento de malignidades, em que a administração de um plasmídeo ou vetor de expressão que codifica um ou mais polipeptídeos terapêuticos, em combinação com eletroporação, tem um efeito

terapêutico em tumores primários, bem como tumores e metástases distantes. Em algumas modalidades, o plasmídeo ou vetor de expressão codifica um ou mais agentes imunomoduladores, modificadores de resposta biológica, molécula coestimuladora, enzimas metabólicas e proteínas, anticorpos, inibidores de checkpoint e/ou adjuvantes.

[00441] Em algumas modalidades, o plasmídeo ou vetor de expressão codifica pelo menos uma citocina imunoestimuladora, escolhida dentre IL-12, IL-15 e uma combinação da IL-12 e IL-15.

[00442] Em algumas modalidades, o plasmídeo ou vetor de expressão codifica uma molécula coestimuladora. A molécula coestimuladora pode ser, mas não está limitada a GITR, CD137, CD134, CD40L e agonistas de CD27. Os agonistas coestimuladores podem estar na forma de anticorpos ou fragmentos de anticorpos, ambos podendo ser codificados em um plasmídeo ou vetor de expressão e distribuídos ao tumor por eletroporação.

[00443] Em algumas modalidades, o plasmídeo ou vetor de expressão codifica CXCL9, scFv anti-CD3 ou scFv anti-CTLA-4.

[00444] São descritos métodos de tratamento de um câncer compreendendo a administração a um indivíduo, por eletroporação, usando os sistemas de eletroporação e aplicadores descritos, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um ou mais dos vetores de expressão descritos. Os um ou mais vetores de expressão são injetados em um tumor, microambiente tumoral, tecido de margem tumoral, região peritumoral, linfonodo, região intradérmica e/ou músculo e a terapia de eletroporação é aplicada ao tumor, microambiente tumoral, tecido de margem tumoral, região peritumoral, linfonodo, região intradérmica e/ou músculo. A terapia de eletroporação pode ser aplicada pelos sistemas de eletroporação e/ou aplicadores descritos. Os vetores de expressão descritos, quando aplicados usando os sistemas e aplicadores de eletroporação descritos, resultam na expressão local das proteínas

codificadas, levando ao recrutamento de células T e atividade antitumoral. Em algumas modalidades, os métodos também resultam em efeitos abscopais, isto é, regressão de um ou mais tumores não tratados. Em algumas modalidades, a regressão inclui redução de volume de um tumor sólido.

[00445] Em algumas modalidades, a terapia é alcançada pela aplicação intratumoral de plasmídeos ou vetores de expressão que codificam polipeptídeos terapêuticos usando eletroporação.

Terapia de combinação

[00446] Em algumas modalidades, um método terapêutico inclui uma terapia de combinação. Uma terapia de combinação compreende uma combinação de moléculas terapêuticas ou tratamentos. Tratamentos terapêuticos incluem, mas não estão limitados a pulso elétrico (isto é, eletroporação), radiação, terapia com anticorpos e quimioterapia. Em algumas modalidades, a administração de uma terapia de combinação é alcançada apenas por eletroporação. Em algumas modalidades, a administração de uma terapia de combinação é alcançada por uma combinação de eletroporação e aplicação sistêmica. Em algumas modalidades, um plasmídeo que expressa um ou mais peptídeos imunomoduladores é administrado por eletroporação intratumoral e um inibidor de checkpoint é administrado sistemicamente. Em algumas modalidades, o peptídeo imunomodulador é IL-12, CD3 half-BiTE, CXCL9, ou scFv CTLA-4. Em algumas modalidades, os um ou mais peptídeos imunomoduladores incluíram IL-12 e CD3 half-BiTE, CXCL9, ou CTLA-4 scFv. Em algumas modalidades, a administração de uma terapia de combinação é alcançada por uma combinação de eletroporação e radiação. A eletroporação terapêutica pode ser combinada com, ou administrada com um ou mais tratamentos terapêuticos adicionais. Uma ou mais terapias adicionais podem ser administradas por administração sistêmica, administração intratumoral

e/ou radiação. As uma ou mais terapêuticas adicionais podem ser administradas antes, concomitantemente com ou subsequentemente à terapia de eletroporação. Em algumas modalidades, a terapêutica (*isto é*, um agente de tratamento) pode ser administrada co-localmente com o pulso elétrico ou outro tratamento usando um aplicador com ambos os eletrodos e um canal de aplicação de fármaco que se estende através do mesmo (*por exemplo*, aplicador 110; eletrodos 100, 200, 400, 500, 600 e um canal de aplicação de fármaco 18 mostrado nas Figuras 47-66). Em tais modalidades, o gerador pode distribuir um pulso elétrico aos eletrodos para eletroporar o tecido alvo para permitir que o agente de tratamento administrado através do canal de aplicação de fármaco permeie e trate o tecido alvo.

[00447] Em algumas modalidades, a eletroporação intratumoral de um vetor de expressão que codifica um agonista coestimulador pode ser administrada com outras entidades terapêuticas, todas essas podendo ser agentes de tratamento. Em algumas modalidades, a molécula coestimuladora é combinada com um ou mais dentre: CTLA4, citocinas (ou seja, IL-12 ou IL-2), vacina tumoral, fármaco de molécula pequena, inibidor de molécula pequena, radiação direcionada, antagonista anti-PD-1 e antagonista anti-PD-L1 Ab. Um fármaco de molécula pequena pode ser, mas não está limitado a bleomicina, gemzar, citozan, 5-fluoruracila, adriamicina e outros agentes quimioterápicos. Um inibidor de molécula pequena pode ser, mas não está limitado a: sunitinibe, imatinibe, vemurafenibe, bevacizumab, cetuximabe, rapamicina, bortezomibe, inibidores de PI3K-AKT e inibidores de IAP. Em algumas modalidades, a molécula coestimuladora pode ser combinada com um ou mais dentre: agonistas de TLR (por exemplo, Flagellin, CpG); antagonistas da IL-10 (por exemplo, anticorpos anti-IL-10 ou anti-IL-10R); antagonistas de TGF β (por exemplo, anticorpos anti-TGF β); inibidores de PGE2; inibidores de Cbl-b (ligase E3); agonistas de CD3;

antagonistas de telomerase e similares. Particularmente, várias combinações da IL-12, IL-15/IL-15Ra e/ou GITR-L são contempladas. Foi demonstrado que a IL-12 e a IL-15 têm efeitos antitumorais sinérgicos. Em algumas modalidades, dois ou mais polipeptídeos terapêuticos são distribuídos por terapia de eletroporação intratumoral. Os polipeptídeos terapêuticos podem ser expressos a partir de um único vetor de expressão ou plasmídeo ou múltiplos vetores de expressão ou plasmídeos.

[00448] Em algumas modalidades, a terapia de combinação compreende a administração de agentes de tratamento incluindo um inibidor de checkpoint e uma citocina imunoestimuladora. Em algumas modalidades, o inibidor de checkpoint é codificado em um vetor de expressão e aplicado em um tumor por terapia de eletroporação. Em algumas modalidades, a citocina imunoestimuladora é codificada em um vetor de expressão e distribuída a um tumor por terapia de eletroporação. Em algumas modalidades, o inibidor de checkpoint e a citocina imunoestimuladora são codificados em um vetor de expressão que codifica uma citocina imunoestimuladora ou em um segundo vetor de expressão e aplicados ao tumor canceroso por terapia de eletroporação. Em algumas modalidades, o inibidor de checkpoint é um polipeptídeo sistemicamente administrado e a citocina imunoestimuladora é administrada por eletroporação intratumoral de um vetor de expressão que codifica a citocina imunoestimuladora. Em algumas modalidades, o vetor de expressão que codifica a citocina imunoestimuladora codifica ainda um CD3 half-BiTE, CXCL9 ou scFv CTLA-4.

[00449] A terapia com inibidor de checkpoint pode ocorrer antes, durante ou após a aplicação intratumoral por eletroporação de uma citocina imunoestimuladora. Um inibidor de checkpoint pode estar na forma de anticorpos ou fragmentos de anticorpos, ambos podendo ser

codificados em um plasmídeo e aplicados ao tumor por eletroporação ou aplicados como proteínas/peptídeos sistemicamente. Em algumas modalidades, o inibidor de checkpoint é codificado em um vetor de expressão e aplicado ao tumor por terapia de eletroporação. Em algumas modalidades, o inibidor de checkpoint é administrado após a eletroporação da citocina imunoestimuladora, em que a administração de certos agentes de tratamento é escalonada e administrada em momentos diferentes em relação à etapa de eletroporação.

Tratamento

[00450] O termo "tratamento" inclui, mas não está limitado a inibição ou redução da proliferação de células cancerosas, destruição de células cancerosas, prevenção da proliferação de células cancerosas ou prevenção do início de células malignas ou parada ou reversão da progressão de células pré-malignas transformadas em doença maligna ou melhora da doença.

[00451] Em algumas modalidades, são fornecidos métodos para reduzir o tamanho de um tumor ou inibir o crescimento de células cancerosas em um indivíduo ou reduzir ou inibir o desenvolvimento de câncer metastático em um indivíduo que sofre de câncer.

[00452] Em algumas modalidades, um ou mais dos métodos compreendem o tratamento de um indivíduo com um tumor canceroso, compreendendo: injetar o tumor canceroso com uma dose eficaz de uma molécula terapêutica ou agente de tratamento e administrar terapia de eletroporação ao tumor. Em algumas modalidades, um ou mais dos métodos compreendem o tratamento de um indivíduo com um tumor canceroso, compreendendo: injetar o tumor canceroso com uma dose eficaz de um plasmídeo de expressão que codifica um polipeptídeo terapêutico e administrar terapia de eletroporação ao tumor.

[00453] Em algumas modalidades, os dispositivos descritos podem ser usados para a aplicação terapêutica de um pulso elétrico a uma

célula, grupos de células ou tecido de um indivíduo para danificar ou matar células no mesmo. Em algumas modalidades, a célula é uma célula cancerosa. Em algumas modalidades, a célula cancerosa é maligna.

[00454] Em algumas modalidades, os dispositivos descritos podem ser usados para a aplicação terapêutica de um pulso elétrico a uma célula, grupos de células ou tecido de um indivíduo, facilitando assim a entrada de uma molécula terapêutica na célula, grupos de células ou tecido. Em algumas modalidades, os dispositivos descritos podem administrar a molécula terapêutica à célula, grupos de células ou tecido. Em algumas modalidades, os dispositivos descritos podem ser usados tanto para a aplicação terapêutica de um pulso elétrico quanto para a administração das moléculas terapêuticas, de modo que o pulso elétrico e as moléculas terapêuticas sejam co-localizados na mesma célula, grupos de células ou tecido sem ter que reposicionar o aplicador ou alterar o aparelho de tratamento. Em algumas modalidades, a célula é uma célula cancerosa. Em algumas modalidades, a célula cancerosa é maligna.

[00455] Em algumas modalidades, a molécula terapêutica ou vetor de expressão é administrado substancialmente ao mesmo tempo que o tratamento de eletroporação. O termo "substancialmente ao mesmo tempo" significa que a molécula e o tratamento de eletroporação são administrados razoavelmente próximos em relação ao tempo, isto é, antes que o efeito dos pulsos elétricos nas células diminua. A administração da molécula ou agente terapêutico depende de fatores como, por exemplo, a natureza do tumor, a condição do paciente, o tamanho e as características químicas da molécula e a meia-vida da molécula.

[00456] Em algumas modalidades do agente de tratamento, a molécula é combinada com um ou mais excipientes farmacologicamente

aceitáveis. Os excipientes farmacologicamente aceitáveis (excipientes) são substâncias diferentes de um ingrediente farmacêutico ativo (active pharmaceutical ingredient, API, um produto terapêutico) que são intencionalmente incluídas com o API (molécula). Os excipientes não exercem ou não se destinam a exercer um efeito terapêutico na dosagem pretendida. Os excipientes podem agir para a) auxiliar no processamento do API durante a fabricação, b) proteger, apoiar ou melhorar a estabilidade, biodisponibilidade ou aceitabilidade do API pelo paciente, c) auxiliar na identificação do produto e/ou d) melhorar qualquer outro atributo da segurança geral e eficácia da aplicação do API durante o armazenamento ou uso. Um excipiente farmacologicamente aceitável pode ou não ser uma substância inerte. Os excipientes incluem, mas não estão limitados a: intensificadores de absorção, antiaderentes, agentes antiespumantes, antioxidantes, aglutinantes, agentes de tamponamento, carreadores, agentes de revestimento, cores, potencializadores de aplicação, polímeros de distribuição, dextrano, dextrose, diluentes, desintegrantes, emulsificantes, extensores, preenchedores, aromatizantes, deslizantes, umectantes, lubrificantes, óleos, polímeros, produtos conservantes, solução salina, sais, solventes, açúcares, suspensão de agentes, matrizes de liberação sustentada, adoçantes, agentes espessantes, agentes de tonicidade, veículos, agentes repelentes de água e agentes umectantes.

[00457] Os dispositivos e métodos de eletroporação descritos podem ser usados para tratar uma célula, grupo de células ou tecido. Em algumas modalidades, os dispositivos e métodos de eletroporação descritos podem ser usados para tratar uma ou mais lesões. Em algumas modalidades, os dispositivos e métodos de eletroporação descritos podem ser usados para tratar células tumorais. As células tumorais podem ser, mas não estão limitadas a células cancerosas. O

termo "câncer" inclui uma miríade de doenças geralmente caracterizadas por proliferação celular inadequada, proliferação celular anormal ou excessiva. O câncer pode ser, mas não está limitado a câncer sólido, sarcoma, carcinoma e linfoma. O câncer também pode ser, mas não está limitado a pâncreas, pele, cérebro, fígado, vesícula biliar, estômago, linfonodo, mama, pulmão, cabeça e pescoço, laringe, faringe, lábio, garganta, coração, rim, músculo, cólon, próstata, timo, testículos, câncer uterino, ovário, cutâneo e subcutâneo. O câncer de pele pode ser, entre outros, melanoma e carcinoma basocelular. O melanoma pode ser, mas não está limitado a melanoma cutâneo e subcutâneo. O câncer de mama pode ser, mas não está limitado a câncer de mama ER positivo, câncer de mama ER negativo e câncer de mama triplo negativo. Em algumas modalidades, as células tumorais podem incluir glioblastoma. O câncer pode ser, mas não está limitado a uma lesão cutânea ou subcutânea. Em algumas modalidades, os dispositivos e métodos descritos podem ser usados para tratar distúrbios proliferativos celulares. O termo "distúrbio proliferativo celular" denota populações de células malignas e não malignas que, muitas vezes, parecem diferir do tecido circundante tanto morfológica quanto genotipicamente. Em algumas modalidades, os dispositivos e métodos descritos podem ser usados para tratar um ser humano. Em algumas modalidades, os dispositivos e métodos descritos podem ser usados para tratar animais não humanos ou mamíferos. Um mamífero não humano pode ser, mas não está limitado a camundongo, rato, coelho, cão, gato, porco, vaca, ovelha e cavalo. A administração da molécula ou agente terapêutico e eletroporação pode ocorrer em qualquer intervalo, dependendo de tais fatores, por exemplo, como a natureza do tumor, a condição do paciente, o tamanho e as características químicas da molécula e a meia-vida da molécula.

[00458] Os dispositivos e métodos de eletroporação descritos são

contemplados para uso em pacientes afetados com câncer ou outros crescimentos não cancerosos (benignos). Esses tumores podem se manifestar como qualquer lesão, pólipos, neoplasia (por exemplo, neoplasia urotelial papilar), papiloma em geral, malignidade, tumor (por exemplo, tumor de Klatzkin, um tumor hilar, tumor urotelial papilar não invasivo, tumor de células germinativas, o tumor de Ewing, um tumor de Askin, tumor neuroectodérmico primitivo, tumor de células de Leydig, tumor de Wilms, tumor de células de Sertoli), sarcoma, localização carcinoma (por exemplo, carcinoma de células escamosas, carcinoma cloacogênico, adenocarcinoma, carcinoma adenoescamoso, colangiocarcinoma, carcinoma hepatocelular, carcinoma urotelial papilar invasivo, carcinoma urotelial plano), um nódulo ou qualquer outro tipo de crescimento canceroso ou não canceroso. Os tumores tratados com os dispositivos e métodos da presente modalidade podem ser qualquer um dentre não invasivo, invasivo, superficial, papilar, plano, metastático, localizado, unicêntrico, multicêntrico, de baixo grau e de alto grau.

[00459] Os dispositivos e métodos de eletroporação descritos são contemplados para uso em vários tipos de tumores malignos (isto é, câncer) e tumores benignos. Por exemplo, os dispositivos e métodos descritos neste documento são contemplados para uso em câncer cortical adrenal, câncer de ânus, câncer de duto biliar (por exemplo, câncer perifilar, câncer do duto biliar distal, câncer de duto biliar intra-hepático) câncer de bexiga, câncer ósseo benigno e canceroso (por exemplo, osteoma, osteoma osteoide, em pacientes com osteoblastoma, osteocromático, em um hemangioma, um fibroma condromixoide, osteossarcoma, condrossarcoma, em fibrossarcoma, um histiocitoma fibroso maligno, tumor de células gigantes do osso, um cordoma, linfoma, mieloma múltiplo), câncer do cérebro e do sistema nervoso central (por exemplo, meningioma, um astocitoma,

oligodendrogliomas, um ependimoma, gliomas, um meduloblastoma, um ganglioglioma, em Schwannoma, germinoma em geral, craniofaringioma), câncer de mama (por exemplo, carcinoma ductal in situ, carcinoma ductal infiltrante, carcinoma lobular infiltrante, um carcinoma lobular in situ, ginecomastia), doença de Castleman (por exemplo, hiperplasia de linfonodos gigantes, hiperplasia de linfonodo angiofolicular), câncer cervical, câncer colorretal, câncer endometrial (por exemplo, adenocarcinoma endometrial, um adenocantoma, um adn carcinoma seroso papilar, células claras) câncer de esôfago, câncer de vesícula biliar (adenocarcinoma mucinoso, carcinoma de células pequenas), tumores carcinoides gastrointestinais (por exemplo, coriocarcinoma, mola hidatiforme invasiva ou corioadenoma destruens), Doença de Hodgkin, linfoma não Hodgkin, Sarcoma de Kaposi, câncer renal (p. ex., câncer de células renais), câncer de laringe e hipofaringe, câncer de fígado (p. ex., hemangioma, um adenoma hepático, hiperplasia nodular focal, carcinoma hepatocelular), câncer de pulmão (p. ex., câncer de pulmão de pequenas células, câncer de pulmão de células não pequenas), um mesotelioma, plasmocitoma, câncer da cavidade nasal e seio paranasal (por exemplo, esteseuroblastoma, granuloma de linha média), câncer nasofaríngeo, neuroblastoma, câncer da cavidade oral e orofaríngeo, câncer de ovário, câncer pancreático, câncer peniano, câncer da hipófise, câncer de próstata, retinoblastoma, rabdomiossarcoma (por exemplo, rabdomiossarcoma embrionário, rabdomiossarcoma alveolar, rabdomiossarcoma pleomórfico), câncer de glândula salivar, câncer de pele, melanoma e câncer de pele não melanoma), câncer de estômago, câncer testicular (por exemplo, seminoma, câncer de células germinativas não seminoma), câncer de timo, câncer de tireoide (por exemplo, carcinoma folicular, um carcinoma anaplásico, um carcinoma pouco diferenciado, um carcinoma medular da tireoide, linfoma da tireoide), câncer vaginal,

câncer vulvar, e câncer uterino (por exemplo, leiomiossarcoma uterino). Conforme descrito neste documento, uma lesão pode ser descrita em relação ao órgão ou região em que reside. Por exemplo, uma lesão pode ser considerada "em um pulmão" se estiver ligada, disposta em ou disposta dentro de qualquer porção dos pulmões e/ou do tecido pulmonar ou que, de outra forma, seria associada ao pulmão por aquele versado na técnica à luz desta divulgação.

[00460] Em algumas modalidades, um pulso elétrico de energia elétrica é aplicado ao tecido próximo ou circundante ao local alvo (por exemplo, tecido de margem tumoral). O pulso elétrico pode ser aplicado ao tecido próximo ou ao redor do local do tumor, antes ou depois da excisão do tumor. O pulso elétrico e, opcionalmente, uma molécula terapêutica, podem ser aplicados ao tecido próximo ou ao redor do local do tumor para matar ou danificar células cancerosas ou para distribuir uma ou mais moléculas terapêuticas. A molécula terapêutica pode ser administrada a um indivíduo ou tecido por via intravenosa ou pela injeção direta no tumor e ao redor dele. O pulso elétrico e, opcionalmente, uma molécula terapêutica, podem ser aplicados a um tecido de margem tumoral para reduzir a recidiva do crescimento de células tumorais, ramos tumorais e/ou metástases microscópicas em um tecido de mamífero em ou adjacente a uma localização para um tumor excisado de um indivíduo. A molécula terapêutica pode ser administrada ao tecido de margem antes ou simultaneamente à administração de um pulso elétrico de eletroporação. O pulso elétrico e, opcionalmente, a molécula terapêutica, podem ser administrados antes ou após a ressecção cirúrgica ou ablação de um tumor. Em algumas modalidades, a ressecção cirúrgica ou ablação do tumor é realizada com 24 horas de administração de pulso elétrico eletroporativo. O tecido da margem tumoral compreende tecido dentro de 0,5-2,0 cm ao redor do tumor. Em algumas modalidades, o tecido de margem tumoral

compreende uma margem de ferida cirúrgica aberta.

[00461] Em algumas modalidades, os métodos de tratamento de um indivíduo com um tumor canceroso compreendem: a) injetar o tumor canceroso com uma dose eficaz de uma molécula terapêutica (por exemplo, agente de tratamento) e b) administrar um pulso elétrico ao tumor usando um dispositivo de eletroporação descrito. Em algumas modalidades, a molécula terapêutica compreende um ácido nucleico. Em algumas modalidades, a molécula terapêutica codifica uma ou mais moléculas coestimuladoras, enzimas metabólicas, anticorpos, inibidores de checkpoint ou adjuvantes.

[00462] Em algumas modalidades, os métodos de tratamento de um indivíduo com um tumor canceroso compreendem: a) injetar o tumor canceroso com uma dose eficaz de pelo menos um vetor de expressão codificando para pelo menos uma citocina imunoestimuladora e pelo menos uma molécula coestimuladora; b) administrar terapia de eletroporação ao tumor usando um dispositivo de eletroporação descrito.

[00463] Em algumas modalidades, os métodos compreendem ainda administrar uma dose eficaz de um ou mais inibidores de checkpoint ao indivíduo. Em algumas modalidades, os métodos de tratamento de um indivíduo com um tumor canceroso compreendem: a) injetar o tumor canceroso com uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo que codifica pelo menos uma citocina imunoestimuladora; b) administrar a terapia de eletroporação ao tumor usando um dispositivo de eletroporação descrito; e c) administrar uma dose eficaz de um ou mais inibidores de checkpoint ao indivíduo.

[00464] Em algumas modalidades, a terapia de eletroporação pode ser qualquer uma das terapias detalhadas neste documento. Em algumas modalidades, a terapia de eletroporação pode compreender uma terapia de baixa tensão sem o desempenho de EIS. Em algumas

modalidades, o controlador do sistema pode fazer com que o gerador execute EIS entre pulsos da terapia de baixa tensão para determinar e otimizar os parâmetros do gerador com base nas condições de operação e agentes de tratamento usados. Por exemplo, os parâmetros (*por exemplo*, tensão, duração de pulso, etc.) do gerador podem ser controlados pelo controlador para causar permeação ideal do agente de tratamento.

[00465] Em algumas modalidades, a terapia de eletroporação compreende a administração de um ou mais pulsos de tensão com uma duração de aproximadamente 0,1 ms cada. O pulso de tensão que pode ser fornecido ao tumor pode ser de cerca de 400 V/cm para geradores de baixa tensão e 1500 V/cm para geradores de alta tensão. Em outra modalidade, o inibidor de checkpoint é administrado sistemicamente. Em algumas modalidades, uma tensão alta ou baixa pode ser usada com as terapias de tratamento e aparelhos divulgados neste documento.

Exemplo A

[00466] Com referência às Figuras 69-74, é mostrado um exemplo em que os tratamentos terapêuticos descritos neste documento são administrados a uma lesão no pâncreas, que é acessada através do canal alimentar. Com referência às Figuras 69-70, um aplicador 110 é mostrado tendo um tubo de inserção 15 disposto em um endoscópio 52. O endoscópio 52 e o tubo de inserção 15 são inseridos no estômago 900 através do esôfago 902 para acessar a parede do estômago adjacente ao pâncreas 904.

[00467] Com referência à Figura 71, uma vista ampliada da extremidade distal 56 do endoscópio 52 é mostrada tendo o tubo de inserção 15 do aplicador projetando-se a partir do canal de trabalho 54 dentro do estômago 900. Conforme representado na Figura 71, os eletrodos e o canal de distribuição de fármaco estão em uma posição

retraída dentro do aplicador. O tubo de inserção representado 15 inclui uma ponta perfurante 130 em sua extremidade distal 118 para perfurar a parede do estômago. Recursos adicionais podem ser incluídos nas partes restantes do endoscópio, como uma lente para geração de imagens, uma ou mais luzes de iluminação e/ou um ou mais canais de trabalho adicionais. Por exemplo, o endoscópio 52 mostrado na Figura 71 inclui uma lente de imagem grande (centro superior) e duas luzes de iluminação (centro esquerdo e centro direito) para facilitar os procedimentos discutidos neste documento.

[00468] Voltando-se para as Figuras 72-73, uma vista ampliada da extremidade distal 56 do endoscópio 52 é mostrada na qual o tubo de inserção 15 do aplicador está criando uma punção 906 na parede do estômago 900 com a ponta perfurante 130 da extremidade distal 118. Os eletrodos e o canal de distribuição de fármaco permanecem retraídos nas Figuras 72-73.

[00469] Na Figura 74, o aplicador das Figuras 69-73 é mostrado estendendo-se através da punção no estômago 900 com seus eletrodos 500 e o canal de distribuição de fármaco 18 movido para a posição implantada. Os eletrodos representados 500 e o canal de liberação de fármaco 18 estão perfurando o pâncreas 904 em um sítio alvo 908 que pode ser uma lesão visceral, tal como um tumor ou outra malignidade. A partir da configuração representada na Figura 74, qualquer uma das terapias divulgadas neste documento pode ser administrada ao sítio alvo 908, incluindo agentes de tratamento, terapias de eletroporação e várias terapias de combinação.

Exemplo B

[00470] Com referência às Figuras 75-78, outro exemplo é mostrado em que os tratamentos terapêuticos descritos neste documento são administrados a uma lesão nos pulmões, que é acessada através da traqueia. Com referência às Figuras 75-76, um aplicador 110 é mostrado

tendo um tubo de inserção 15 disposto em um broncoscópio 52. O broncoscópio 52 e o tubo de inserção 15 são inseridos nos pulmões 910 através da traqueia 912 para acessar uma lesão visceral 914 em um brônquio primário 916.

[00471] Com referência à Figura 77, uma vista ampliada da extremidade distal 56 do endoscópio 52 é mostrada tendo o tubo de inserção 15 do aplicador projetando-se a partir do canal de trabalho 54 dentro do brônquio 916. Conforme representado na Figura 77, os eletrodos e o canal de distribuição de fármaco estão em uma posição retraída dentro do aplicador. O tubo de inserção representado 15 inclui uma extremidade plana e romba sem ponta perfurante porque a lesão 914 está dentro do brônquio.

[00472] Voltando-se para a Figura 78, o tubo de inserção 15 do aplicador é representado tendo os eletrodos 500 e o canal de distribuição de fármaco 18 na posição implantada perfurando a lesão 914. Os eletrodos representados 500 e o canal de liberação de fármaco 18 estão perfurando a lesão 914 na lesão alvo 914 que pode ser uma lesão visceral, tal como um tumor ou outra malignidade. A partir da configuração representada na Figura 78, qualquer uma das terapias divulgadas neste documento pode ser administrada à lesão alvo 914, incluindo agentes de tratamento, terapias de eletroporação e várias terapias de combinação.

Exemplo C

[00473] Foram conduzidos vários estudos sobre a eficácia de certos exemplos de sistemas de eletroporação. Com referência à Figura 79, os resultados de cinco ensaios são mostrados usando vários agentes de tratamento e sistemas de eletroporação, que são representados em quatro gráficos de volume do tumor versus tempo. Com referência às legendas do gráfico, os estudos incluíram um (1) Controle Não Tratado (Utx); (2) um Vetor Vazio com eletroporação de baixa tensão (EV 50ug

GENESIS); (3) administração de um plasmídeo IL12 IRES com uma eletroporação de alta tensão (IL12 IRES 50ug GenPulser); (4) administração de um plasmídeo IL12 IRES com uma eletroporação de baixa tensão (IL12 IRES 50ug GENESIS); e (5) administração de um plasmídeo IL12 P2A com uma eletroporação de baixa tensão (IL12 IRES 50ug GENESIS).

[00474] Cada ensaio foi realizado usando camundongos com células tumorais B16-F10 inoculadas em dois locais (primário e contralateral) no Dia -10 (1×10^6 no lado primário, $0,25 \times 10^6$ no lado contralateral). No momento do tratamento, o tumor primário era de 60-120 mm^3 e o tumor contralateral era de 20-50 mm^3 . O tratamento foi aplicado apenas diretamente ao tumor primário. Cada ensaio foi realizado usando 50 ug de plasmídeo (se administrado) ao tumor primário por tratamento. Os ensaios de alta tensão aplicaram um campo elétrico de 1500 V/cm ao tumor primário em cada um dos seis pulsos de 0,1 ms. Os ensaios de baixa tensão aplicaram um campo elétrico de 400V/cm ao tumor primário em cada um dos oito pulsos de 10ms (*isto é*, os testes de baixa tensão foram mais longos e de menor intensidade do campo elétrico do que os testes de alta tensão). Foram administrados tratamentos em cada estudo no Dia 1, Dia 5 e Dia 8 do estudo.

[00475] Com referência continuada à Figura 79, pode-se ver que cada um dos ensaios de eletroporação (2, 3, 4, 5) produziu alterações melhoradas no volume do tumor ao longo do controle, com os resultados do ensaio sendo solicitados 5, 4, 3, 2, 1 da maior parte da redução do tumor para a menor. Nesse sentido, o gerador de baixa tensão mostrou redução de tumor melhorada em relação ao gerador de alta tensão. Assim, além das muitas vantagens descritas ao longo da divulgação, o sucesso geral do tratamento do tumor é melhorado quando a eletroporação é realizada com um sistema que inclui um gerador de baixa tensão.

Exemplo D

[00476] Antes dos estudos descritos acima, Christoph Burkart et al. testaram a combinação de plasmídeo e gerador dos estudos clínicos (3) e (5) do Exemplo C acima, e mostraram substancialmente os mesmos resultados em relação a esses parâmetros de teste, mostrando que o plasmídeo IL12 P2A e gerador de baixa tensão produziram redução melhorada do tumor em relação ao plasmídeo IL12 IRES e gerador de alta tensão. O estudo de Burkart, no entanto, estava controlando o plasmídeo para confirmar o benefício do gerador de baixa tensão no sistema de eletroporação, cujos dados adicionais foram capturados no estudo clínico (4) do estudo acima.

[00477] Discussão adicional de um estudo preliminar envolvendo os grupos de teste (1), (2), (3) e (5), os métodos de teste, e os resultados estão incluídos em Burkart et al., *Improving therapeutic efficacy of IL-12 intratumoral gene electrotransfer through novel plasmid design and modified parameters*, Gene Therapy, 25, 93-103 (9 de março de 2018), que é incorporado neste documento por referência em sua totalidade. Em algumas modalidades, um gerador de alta tensão pode ser usado e, por exemplo, um gerador de alta tensão pode ser aplicável para tamanhos de tumor maiores.

Exemplo E

[00478] Camundongos fêmeas C57Bl/6J ou Balb/c, 6-8 semanas de idade foram obtidos da Jackson Laboratories e alojados de acordo com as diretrizes da AALAM. Células B16-F10 foram cultivadas com meio 5A de McCoy (2 mM de L-glutamina) suplementado com 10% de FBS e 50 µg/ml de gentamicina. As células foram colhidas com 0,25% de tripsina e ressuspensas em solução salina balanceada de Hank (HBSS). Camundongos anestesiados foram injetados por via subcutânea com 1 milhão de células em um volume total de 0,1 ml no flanco direito de cada camundongo. 0,25 milhão de células em um volume total de 0,1 ml

foram injetadas por via subcutânea no flanco esquerdo de cada camundongo. O crescimento do tumor foi monitorado por medições digitais do paquímetro a partir do dia 8 até que o volume médio do tumor chegasse a $\sim 100 \text{ mm}^3$. Uma vez que os tumores são estadiados para o volume desejado, os camundongos com tumores muito grandes ou pequenos foram removidos. Os camundongos remanescentes foram divididos em grupos de 10 camundongos cada, randomizados por volume tumoral implantado no flanco direito. Tipos de células tumorais adicionais foram testados, incluindo B16OVA em camundongos C57Bl/6J, bem como CT26 e 4T1 em camundongos Balb/c. Metástases pulmonares também foram quantificadas em camundongos Balb/c portadores de tumores 4T1.

[00479] Os camundongos foram anestesiados com isoflurano para tratamento. O DNA do plasmídeo circular foi diluído a $1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ em solução salina estéril a 0,9%. $50 \mu\text{l}$ de DNA do plasmídeo foram injetados centralmente em tumores primários usando uma seringa de 1 ml com uma agulha de 26 Ga. Foi realizada eletroporação imediatamente após a injeção. A eletroporação do DNA foi alcançada com pulsos de 400 V/cm, 10 ms. Os volumes tumorais foram medidos duas vezes por semana. Os camundongos foram sacrificados quando a carga tumoral total do primário e contralateral atingiu 2.000 mm^3 .

[00480] *Dissociação de tumores para análise por citometria de fluxo.* Suspensões de células únicas foram preparadas a partir de tumores B16-F10. Os camundongos foram sacrificados com CO_2 e os tumores foram cuidadosamente excisados, deixando a pele e o tecido não tumoral para trás. Os tumores excisados foram então armazenados em HBSS gelado (Gibco) para processamento adicional. Os tumores foram picados e incubados com agitação suave a 37°C por 20-30 min em 5 ml de HBSS contendo 1,25 mg/ml de Collagenase IV, 0,125 mg/ml de Hialuronidase e 25 U/ml de DNase IV. Após a dissociação enzimática,

a suspensão foi passada através de um filtro de células de náilon de 40 µm (Corning) e os glóbulos vermelhos foram removidos com tampão de lise ACK (Qualidade Biológica). Células únicas foram lavadas com Tampão de Fluxo PBS (PFB: PBS sem Ca^{++} e Mg^{++} contendo 2% FCS e 1 mM EDTA) peletizados por centrifugação e ressuspensas em PFB para análise imediata de citometria de fluxo.

[00481] *Lise tumoral para extração proteica.* Um, 2 ou 7 dias após a eletroporação intratumoral (IT-EP) (400 v/cm, 8 pulsos de 10 ms), o tecido tumoral foi isolado de camundongos sacrificados para determinar a expressão dos transgenes. O tumor foi dissecado de camundongos e transferido para um criotubo em nitrogênio líquido. O tumor congelado foi transferido para um tubo de 4 ml contendo 300 µL de tampão de lise tumoral (50 mM TRIS pH 7,5, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 0,5% Triton X-100, coquetel inibidor de protease) e colocado em gelo e homogeneizado por 30 segundos (homogeneizador LabGen 710). Os lisados foram transferidos para um tubo de centrífuga de 1,5 ml e girados a 10.000 x g por 10 minutos a 4°C. Os sobrenadantes foram transferidos para um novo tubo. O procedimento de rotação e transferência foi repetido três vezes. Os extratos tumorais foram analisados imediatamente de acordo com as instruções do fabricante (Citocina de camundongo/Painel de esferas magnéticas de quimiocina MCYTOMAG-70K, Milipore) ou congelados a -80°C. Proteínas Flt3L-OVA recombinantes foram detectadas por protocolos ELISA padrão (sistemas de P&D) usando anticorpo anti-FLT3L para captura (R&D Systems, Minneapolis MN cat.# DY308) e um anticorpo de Ovalbumina para detecção (ThermoFisher, cat.# PA1-196).

[00482] Tabela 1: Expressão intratumoral de citocina hIL-12 após eletroporação de um plasmídeo policistrônico pOMI codificando hIL-12 em condições de baixa tensão.

Proteína recombinante detectada	Não tratado			Ep/pOMI-hIL12/hIL15/hINF- γ		
	[Proteína] pg/mg			[Proteína] pg/mg		
	Média +/- EPM n=2			Média +/- EPM n=3		
	Dia 1	Dia 2	Dia 7	Dia 1	Dia 2	Dia 7
IL-12 página 70	0	0	0	3000,5 $\pm$ 1872,7	2874,7 $\pm$ 1459,1	19,1 $\pm$ 4,2

[00483] Para testar a expressão e função da proteína de fusão de antígeno de rastreamento de FLT3L, uma fusão de FLT3L (domínio extracelular) e peptídeos do gene de ovalbumina em vetores OMIP2A foi construída e eletroporada intratumoralmente como acima.

[00484] Tabela 2: Expressão intratumoral da proteína de fusão FLT3L-OVA (adjuvante genético com antígeno tumoral compartilhado) 2 dias após a eletroporação em condições de baixa tensão, conforme analisado por ELISA (n=8).

Construto de proteína recombinante	Controle EP/pUMVC3	EP/pOMI-FLT3L-OVA
	Média +/- EPM pg/ml	Média +/- EPM pg/ml
Fusão FLT3L-OVA	30,6 +/- 1,4	441 +/- 102

[00485] Após a eletroporação intratumoral de vetores pOMIP2A contendo homólogos de camundongo das proteínas imunomoduladoras, níveis significativos da IL-12p70 (Tabela 1) e proteínas recombinantes FLT3L-OVA (Tabela 2) foram detectáveis em homogenatos tumorais por ELISA.

[00486] O protocolo descrito acima para a criação de camundongos com dois tumores em flancos opostos foi usado como um modelo padrão para testar simultaneamente o efeito no tumor tratado (primário) e não tratado (contralateral). Metástases pulmonares também foram quantificadas em camundongos Balb/c portadores de tumores 4T1.

[00487] Tabela 3: Regressão tumoral de B16-F10 para tumores primários e distantes após IT-EP a 400 V/cm, 8 pulsos de 10 ms nos dias 8, 12 e 15 após inoculação de células tumorais.

Tratamento intratumoral	Volume tumoral (mm ³) no dia 16 Média+/- EPM, n=10	
	Tumor primário	Tumor distante
Não tratado	1005,2 +/- 107,4	626,6 +/- 71,8
pUMVC3/EP 400V/cm 10 ms	437,3 +/- 130,2	943,7 +/- 143,7
pUMVC3-mIL12 400V/cm 10 ms	131,5 +/- 31,6	194,5 +/- 39,6

[00488] Os dados na Tabela 3 mostram que, quando a eletroporação foi realizada com baixa tensão, foi observada inibição do crescimento tumoral tanto em uma lesão tumoral eletroporada quanto em uma lesão não tratada distante.

[00489] Doses diferentes de plasmídeo pOMI-IL12P2A após apenas uma dose no Dia 10 após a inoculação de células tumorais foram então testadas.

[00490] Tabela 4: Regressão tumoral de B16-F10 para tumores primários e distantes após IT-EP com diferentes doses de OMI-mIL12P2A. Foi realizada eletroporação com os parâmetros de 400 V/cm, 8 pulsos de 10 ms uma vez, 10 dias após a implantação.

Dose de plasmídeo introduzida pela IT-EP	Volume tumoral (mm ³) no dia 19, Média+/- EPM, n=10	
	Tumor primário	Tumor distante
controle de pUMVC3 50 µg	556,4 +/- 59,0	211,3 +/- 46,5
1 µg de pOMI-mIL12P2A	546,1 +/- 92,5	158,4 +/- 47,1
10 µg de pOMI-mIL12P2A	398,6 +/- 78,4	79,7 +/- 18,7
50 µg de pOMI-mIL12P2A	373,6 +/- 46,3	74,3 +/- 12,1

[00491] A extensão da regressão de tumores primários, tratados e distantes não tratados aumentou com a eletroporação da dose crescente do plasmídeo pOMI-mIL12P2A. Com pOMI-IL12P2A, 10 µg de plasmídeo foram suficientes para o efeito máximo e houve controle significativo do crescimento tumoral com uma dose única de tratamento com o novo desenho do plasmídeo e condições de eletroporação de tensão mais baixa.

[00492] Tanto o tumor primário (tratado) quanto o contralateral (não

tratado) em camundongos tratados com pIL12-P2A + Baixa Tensão mostraram supressão aumentada do crescimento tumoral. O efeito terapêutico da eletroporação intratumoral pOMI-IL12P2A com EP em baixa tensão também foi refletido em uma vantagem de sobrevivência estatisticamente significativa (5/6 camundongos sobreviveram até o final do estudo com pOMI-IL12P2A/lowV).

[00493] A capacidade de IT-EP de pOMI-mIL12P2A afetar o crescimento do tumor primário 4T1 e metástases pulmonares em camundongos Balb/c também foi testada. Um milhão de células 4T1 foram injetadas por via subcutânea no flanco direito dos camundongos e 0,25 milhão de células 4T1 foram injetadas no flanco esquerdo. Tumores maiores no flanco direito foram indivíduos a IT-EP com vetor vazio (pUMVC3, Aldevron) ou com pOMI-mIL12P2A. Os volumes tumorais foram medidos a cada dois dias e, no Dia 19, os camundongos foram sacrificados e os pulmões foram excisados e pesados.

[00494] Tabela 5: crescimento tumoral primário e peso post-mortem dos pulmões de camundongos eletroporados com 400 V/cm, 8 pulsos de 10 ms no dia 8 e dia 15 pós-implantação. Os volumes tumorais primários foram medidos no dia 17 e os pesos dos pulmões no dia 18.

Tratamento	Volume tumoral primário (mm ³) Média +/- EPM, n=5	Peso do pulmão (gramas) Média +/- EPM, n=5
Não tratado	897 +/- 131	0,252 +/- 0,019
EP/pUMVC3	593 +/- 27	0,228 +/- 0,006
EP/pOMIP2A-mIL12	356 +/- 80	0,184 +/- 0,004

[00495] Os achados indicaram que o tratamento IT-EP local dos tumores também reduziu a metástase dessas células tumorais para o pulmão neste modelo (Tabela 5).

[00496] Além dos tumores B16F10, a eletroporação de pOMI-mIL12P2A também resultou em regressão dos tumores B16OVA e CT26 primários (tratados) e contralaterais (não tratados). No modelo de

tumor 4T1, o tumor primário regrediu após EP/pOMI-mIL12P2A, e os camundongos demonstraram uma redução significativa no peso do pulmão, indicando uma redução nas metástases pulmonares. Os dados mostram que IT-EP de OMI-mIL12P2A pode reduzir a carga tumoral em 4 modelos tumorais diferentes em duas cepas diferentes de camundongos.

[00497] Tabela 6: Regressão tumoral B16-F10 para tumores tratados e não tratados após eletroporação intratumoral de plasmídeos pOMIP2A contendo genes que codificam mIL-12 e FLT3L-OVA usando 400 V/cm e 8 pulsos de 10 ms no dia 7 e 14 após inoculação de células tumorais; medições de tumores mostradas a partir do dia 16.

Tratamento	Volume tumoral (mm ³), Média+/- SEM n=10	
	Tumor primário	Tumor distante
Controle EP/pUMVC3	600,7 +/- 113,3	383,4 +/- 75,9
EP/pOMI-IL12P2A + pOMI-FLT3L-OVA	94,2 +/- 31,7	115,7 +/- 42,3

[00498] Tabela 7: Regressão tumoral de B16-F10 para tumores tratados e não tratados após IT-EP de pOMI-PIIM (versão contendo IL-12 de camundongo) usando 400 V/cm e 8 pulsos de 10 ms no dia 7 após inoculação de células tumorais; medições de tumores mostradas a partir do dia 15.

Tratamento	Volume tumoral (mm ³), Média+/- SEM	
	Tumor primário	Tumor distante
Vetor vazio EP/pUMVC3 n=9	895,94 +/- 94,29	459,51 +/- 64,45
EP/ pOMI-PIIM n=7	274,70 +/- 36,27	140,71 +/- 32,26

[00499] A eletroporação de um pOMI-PIIM expressando tanto a IL-12 p70 de camundongo quanto a proteína de fusão humana FLT3L-NY-ESO-1 causou crescimento significativamente reduzido tanto dos tumores primários, tratados e distantes, não tratados (Tabela 7) com apenas um único tratamento.

[00500] O volume dos tumores primários e contralaterais é significativamente reduzido em camundongos onde genes imunomoduladores foram introduzidos por eletroporação em

comparação com a eletroporação do controle de vetor vazio, indicando não apenas um efeito local dentro do microambiente tumoral tratado, mas também um aumento na imunidade sistêmica.

Exemplo F

[00501] *Os vetores de ácido nucleico que codificam transgenes são eficientemente distribuídos às células tumorais in vivo usando eletroporação de baixa tensão.* Com referência à Figura 80, é mostrado um exemplo de transfecção usando eletroporação de baixa e alta tensão. Foi permitido estabelecer tumores de melanoma maligno em camundongos. Em particular, os camundongos C57Bl/6 foram injetados por via subcutânea (s.c.) com 1×10^6 células de melanoma B16-F10 e os tumores puderam estabelecer.

[00502] Após atingir 75-150 mm³, os tumores foram injetados com DNA plasmidial codificando para uma variante de proteína vermelho-fluorescente, conhecida como mCherry (RFP), seguido pela aplicação de um pulso elétrico usando dois parâmetros de eletroporação diferentes: Alta tensão e baixa tensão. Em particular, os tumores foram injetados intratumoralmente com plasmídeo de DNA de 50 ug de Luciferase-mCherry seguido por eletroporação usando condições de alta tensão (1500 V/cm) ou baixa tensão (400 V/cm). A eletroporação foi realizada usando um aplicador de duas agulhas (*por exemplo*, dois eletrodos).

[00503] 48 horas depois, os camundongos foram sacrificados e os tumores foram excisados, dissociados usando um coquetel enzimático e transformados em suspensões de célula única para análise por citometria de fluxo (FACS). Foi realizada citometria de fluxo para contar o número de células “vermelhas” vivas e pontuadas como uma porcentagem de células mCherry⁺ vivas. Os dados mostrados foram normalizados para sinais RFP de fundo produzidos por injeção de plasmídeo RFP sem eletroporação. Como essas células normalmente

não expressam proteína fluorescente vermelha, todos os eritrócitos devem ter sido derivados da transfecção celular mediada por eletroporação. Com o uso de condições de eletroporação de baixa tensão, 8-10% das células dentro do tumor foram transfectadas.

Exemplo G

[00504] A eletroporação de baixa tensão é eficaz na distribuição de vários plasmídeos e vetores de expressão para células tumorais in vivo.

[00505] Tumores B16-F10 foram formados em camundongos conforme descrito acima. Tumores estabelecidos foram injetados com o plasmídeo indicado ou vetor de expressão após a aplicação de um pulso de eletroporação intratumoral (IT-EP).

[00506] A Figura 81 mostra um gráfico de expressão de mIL-12p70 após baixa tensão (400 V/cm) IT-EP de plasmídeo em tumores B16-F10 estabelecidos. A expressão da IL-12p70 foi detectável 48 horas pós-eletroporação usando um ELISA DuoSet da IL-12p70 da R&D Systems padrão. A eletroporação foi realizada usando um aplicador de duas agulhas (*por exemplo*, dois eletrodos).

[00507] A Figura 82 mostra a expressão de LacZ em tumores B16-F10 estabelecidos. A coloração LacZ foi realizada após baixa tensão (400V/cm) IT-EP de um plasmídeo de expressão de Lac Z em tumores B16-F10 estabelecidos. A eletroporação foi realizada usando um aplicador de duas agulhas (*por exemplo*, dois eletrodos).

[00508] A Figura 83 mostra a expressão de CD40L trimérico em tumores B16-F10 após baixa tensão (400 V/cm) IT-EP de plasmídeo mCD40L3 ou vetor vazio (50 µg). Os tumores foram extraídos em 48 horas e ELISAs foram executados para determinar a expressão. mCD40L foi prontamente detectável após EP (400V/cm), seja por um ELISA padrão de sistemas de R&D mCD40L (endógeno + exógeno), ou modificando o ELISA com um anticorpo de captura anti-hlgG-Fc (apenas exógeno). A eletroporação foi realizada usando um aplicador

de duas agulhas (*por exemplo*, dois eletrodos).

[00509] A Figura 84 mostra a expressão de CD80 trimérico em tumores B16-F10 após IT-EP de baixa tensão (400 V/cm) em tumores B16-F10. Neste estudo, mCD803 ou vetor vazio (50 µg) foi eletroporado em tumores B16-F10 estabelecidos. Os tumores foram extraídos em 48 horas e ELISAs foram executados para determinar a expressão. O mCD80 foi prontamente detectável após EP (400V/cm), usando um mCD80 de Sistemas de R&D modificado com um anticorpo de captura anti-hIgG-Fc. A eletroporação foi realizada usando um aplicador de duas agulhas (*por exemplo*, dois eletrodos).

[00510] A Figura 85 mostra a expressão de sdAbs no tumor B16-F10 após baixa tensão (400 V/cm) IT-EP. Foram detectados nanocorpos multimerizados em lisados tumorais por western blot 48 horas pós-eletroporação. Foi realizada eletroporação usando uma matriz de quatro agulhas.

[00511] Assim, além de mCherry (RFP) mostrado na Figura 80 e no Exemplo F, os estudos das Figuras 81-85 mostram expressão em tumores após eletroporação de baixa tensão das seguintes moléculas codificadas em DNA: (1) mIL12-p70; (2) LacZ; (3) CD40L; (4) CD80; e (5) um nanocorpo. A expressão de células tumorais foi verificada através de várias técnicas, incluindo ELISAs teciduais, citometria de fluxo e western blot.

Exemplo H

[00512] O Exemplo H fornece uma modalidade de um aplicador da presente divulgação e exemplos do uso e benefícios do aplicador.

[00513] Os cânceres hepáticos e pancreáticos representam áreas de necessidade médica importante não atendida. Em 2018, mais de 42.000 pacientes foram diagnosticados com câncer de fígado, a maioria dos quais apresentava doença avançada não passível de ressecção curativa. Apesar de décadas de avanços e da introdução de múltiplas

terapias localizadas e direcionadas nos últimos anos, mais de 30.000 pacientes sucumbiram ao câncer hepático. A situação do câncer pancreático é ainda mais urgente. Mais de 55.000 pacientes foram diagnosticados com câncer pancreático em 2018 e mais de 44.000 pacientes morreram devido a essa malignidade. Menos de 1 em cada 10 pacientes diagnosticados com câncer pancreático sobrevivem pelo menos 5 anos, e isso cai para 1 em 20 para pacientes com doença irresssecável. Apenas aproximadamente 10% dos casos de câncer pancreático são diagnosticados em um estágio em que a ressecção potencialmente curativa é possível, e o câncer é geralmente muito agressivo e coloca uma carga de sintomas pesada nos pacientes à medida que a doença progride. As modalidades dos sistemas, aplicadores associados, geradores e métodos divulgados neste documento podem alterar o paradigma de tratamento para esses pacientes, distribuindo imunoterapia potente diretamente aos tumores e potencialmente aumentando suas respostas ao padrão de tratamento existente (*por exemplo*, terapia com inibidor de checkpoint).

[00514] A eletroporação é um método de transfecção física que pode usar um pulso elétrico para criar poros temporários em membranas celulares através dos quais substâncias como ácidos nucleicos podem passar para as células. É uma estratégia altamente eficiente para a introdução de ácidos nucleicos estranhos em muitos tipos de células. Durante o período em que as células são expostas a um breve pulso de energia, a membrana celular torna-se altamente permeável a moléculas exógenas, que passam através dos poros na membrana celular (um processo conhecido como transfecção). O pulso elétrico pode estar em uma tensão otimizada e pode durar apenas alguns microssegundos a um milissegundo. Isso pode perturbar a membrana celular, que é uma bicamada fosfolipídica ionizada, e resulta na formação de poros temporários nesta barreira celular. O potencial elétrico através da

membrana celular pode simultaneamente aumentar, permitindo que moléculas carregadas como plasmídeos de DNA sejam conduzidos através da membrana. A energia para EP pode ser aplicada usando um aplicador de eletrodos, que pode ter eletrodos de microagulhas de acordo com qualquer uma das modalidades discutidas neste documento, e um gerador de pulso elétrico de acordo com qualquer uma das modalidades discutidas neste documento. Eletrodos de agulha permitem que o EP seja realizado in vivo, permitindo possível aplicação médica.

[00515] O EP tem vantagens importantes sobre outros métodos de transfecção celular. A principal vantagem do EP é sua aplicabilidade para transfecção rápida de todos os tipos de células. É um método não invasivo, bioeletrônico e não químico que produz alterações limitadas na estrutura biológica e função das células-alvo. É fácil de executar e mais rápida do que as técnicas tradicionais de transfecção de células químicas ou biológicas. O processo não é tóxico e, como é um método físico, pode ser aplicado a uma ampla seleção de tipos de células. Da mesma forma, uma ampla gama de moléculas pode ser transfectada, o que torna a EP altamente versátil.

[00516] De acordo com algumas modalidades, EP pode ser usado como uma técnica de microinjeção para transfectar milhões de células com componentes específicos - componentes imunologicamente relevantes e importantes de escolha - a fim de programar as próprias células do paciente para fazer esses agentes em uma base prolongada.

[00517] Os inventores reconheceram as vantagens distintas da EP e a traduziram em uma ferramenta poderosa para fornecer agentes imunomoduladores potentes para tratar o câncer, conforme descrito neste documento. Conforme descrito acima, o uso clínico de EP pode envolver a deposição de moléculas exógenas na área circundante das células. Durante a desestabilização momentânea da membrana celular

induzida pelo campo elétrico aplicado externamente, as moléculas exógenas podem passar através dos poros da membrana e, uma vez que o campo elétrico cessa, essas moléculas podem ser presas dentro da célula. O DNA à base de plasmídeo, codificado para produzir proteínas imunomoduladoras, pode ser usado e, em seguida, depositado no DNA nas áreas ao redor de uma célula.

[00518] Uma vez dentro da célula, os plasmídeos de DNA co-optam a função da célula para fazer com que ela produza ou “expresse” a proteína imunomoduladora. Esta sequência pode ser realizada em milhões de células de uma só vez, causando a liberação intracelular sustentada da proteína imunomoduladora.

[00519] A EP pode transfectar eficientemente uma diversidade de moléculas exógenas em uma ampla seleção de tipos de células por um método não invasivo e não químico que não altera negativamente a estrutura biológica ou função das células alvo. Imunoterapias contra o câncer podem ser administradas através da EP do DNA do plasmídeo para usar os próprios tumores de um paciente com câncer para produzir uma imunoterapia potente, porém segura. Isso causa a liberação intracelular sustentada de proteínas imunologicamente relevantes, como a citocina pró-inflamatória interleucina (IL)-12. A IL-12 é configurada para transformar tumores imunodeprimidos em lesões imunologicamente ativas por meio de imunidade inata e adaptativa coordenada.

[00520] Vários tipos diferentes de plasmídeos de DNA codificam genes imunologicamente relevantes, como uma IL-12 humana investigacional (tavokinogene telseplasmid ou TAVO™, OncoSec Medical Incorporated). Usando modalidades do sistema terapêutico e métodos divulgados neste documento, TAVO é injetado em uma lesão e expresso através de pulsos de EP. Então, as células transfectadas expressam e secretam a proteína IL-12, que inicia respostas imunes

locais e sistêmicas.

[00521] Estudos indicam que a IL-12 baseada em plasmídeo intratumoral administrada via EP pode gerar respostas imunes locais e sistêmicas que podem converter tumores imunologicamente frios em tumores quentes inflamados por células T. Os requerentes têm 2 estudos clínicos direcionados para registro sobre melanoma avançado e câncer cervical e demonstraram eficácia em outras indicações de tumor cutâneo, incluindo carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, carcinoma de células de Merkel e câncer de mama triplo negativo (TNBC) por meio de lesões da parede torácica.

[00522] Derivado de experiência significativa em estudos clínicos multitumorais, o estudo TAVO investigacional é tumor-agnóstico e independente da histologia do tumor, genética e/ou estado imunológico, tornando-o uma terapia viável em diversas indicações tumorais, incluindo, sobretudo, tumores internos.

[00523] Em algumas modalidades, um sistema foi usado para tratar tumores cutâneos e subcutâneos. Além disso, as modalidades do sistema divulgado neste documento são configuradas para tratar lesões além dos tumores cutâneos e subcutâneos.

[00524] Os sistemas divulgados neste documento incluem aplicadores e geradores que permitem EP de uma ampla gama de genes imunologicamente relevantes em células localizadas em lesões viscerais, que são tumores localizados dentro do corpo, incluindo, mas não se limitando a, tumores gastrointestinais (GI), tumores pancreáticos e carcinomas hepatocelulares (HCC; um "Aplicador de Lesão Visceral" ou "VLA" de acordo com qualquer uma das modalidades divulgadas neste documento).

[00525] Por exemplo, os mecanismos imunes relevantes associados à progressão clínica do HCC incluem aumento de células T reguladoras infiltrantes de tumor (Tregs) e macrófagos associados ao tumor

polarizados M2 (TAMs), que podem estabelecer supressão imune tanto no microambiente tumoral quanto perifericamente. Esta rede imunoinibidora, quando em complexo com mecanismos supressores tumorais intrínsecos adicionais, apresentou um desafio substancial para modalidades de tratamento significativas. No entanto, o surgimento de terapias anti-proteína de morte celular programada 1/ligante 1 (PD-[L]1), particularmente em combinação com terapias locorregionais que podem ser direcionadas para essas barreiras supressoras, pode fornecer benefício clínico significativo.

[00526] A plataforma de EP intratumoral de IL-12 divulgada neste documento não apenas aumenta a atividade anti-PD-[L]1 (atualmente tratando pacientes com melanoma refratário a anti-PD-1 com pembrolizumab [Keytruda®] mais seu TAVO investigacional no estudo KEYNOTE-695) através do recrutamento de células T funcionais e da indução de resistência adaptativa no microambiente tumoral, mas também modula criticamente a razão de linfócitos infiltrantes de tumor CD8+ (TILs) para Tregs, bem como macrófagos M2, tornando essa combinação especialmente atrativa nesse contexto tumoral.

[00527] O aplicador pode trabalhar com modalidades do gerador e aplicadores divulgados neste documento para alavancar EP otimizada para plasmídeo, aumentando a profundidade e a frequência de transfecção e produzindo um benefício terapêutico significativo em modelos pré-clínicos. Esta próxima etapa da EP foi aumentada ainda mais com uma terapia de plasmídeo de última geração, que impulsiona a expressão superior de IL-12 juntamente com genes imunomoduladores complementares facilmente codificados nesta estrutura principal de vetor que pode ser personalizada.

[00528] Os sistemas mostrados e descritos neste documento facilitam, *inter alia*, imunoterapias baseadas em plasmídeos em modelos de animais pequenos.

[00529] Estudos pré-clínicos utilizando um aplicador de 2 agulhas miniaturizado com uma largura de eletrodo de 1,5 mm produziram regressão tumoral dependente de IL-12 em um modelo de metástase nodal experimental difícil de tratar usando tumores colorretais CT26. Esses dados preliminares, juntamente com um grande corpo de estudos pré-clínicos em vários modelos tumorais utilizando um aplicador de 2 agulhas de 0,5 cm, estabelecem firmemente a viabilidade de mover esse aplicador miniaturizado para a clínica.

[00530] Algumas modalidades dos aplicadores divulgados neste documento foram desenvolvidas como um aplicador à base de cateter flexível (*por exemplo*, como mostrado neste documento, incluindo as Figuras 87-88) ou um aplicador à base de trocarte mais rígido (*por exemplo*, como mostrado neste documento, incluindo a Figura 91) de acordo com qualquer uma das modalidades divulgadas neste documento. Em algumas modalidades, o aplicador à base de cateter pode incluir um corpo flexível que, com um diâmetro de 2 mm, é dimensionado para passagem através de endoscópios, broncoscópios ou laparoscópios atualmente disponíveis.

[00531] Por exemplo, um endoscópio pode ser posicionado através da boca no estômago/intestino delgado, onde um aplicador flexível pode ser guiado para lesões pancreáticas, para injeção sequencial de plasmídeo e EP. O corpo flexível (*por exemplo*, tubo de inserção 15) pode ter um comprimento de aproximadamente 100 cm para permitir a navegação em direção às lesões alvo através de um endoscópio ou laparoscópio, dependendo da aplicação e/ou indicação de tumor.

[00532] Em algumas modalidades, o aplicador pode ser um instrumento manual com um cabo ergonômico em sua extremidade proximal, conforme discutido neste documento. A extremidade distal do corpo flexível (*por exemplo*, tubo de inserção) pode incluir uma agulha de injeção central localizada flanqueada por eletrodos duplos. Os

eletrodos e a agulha de injeção podem ser acionados entre uma posição retraída e uma posição implantada. Conforme ilustrado nas Figuras 89-90, os eletrodos podem ser inclinados para longe um do outro na posição implantada com um espaçamento de cerca de 3 mm. Esse espaçamento pode facilitar a obtenção de uma extensão mais ampla de EP, minimizando as chances de arco elétrico entre os eletrodos. Outras vantagens são descritas ao longo da divulgação.

[00533] Quando a ponta distal do aplicador está adequadamente posicionada no local do tumor, o plasmídeo terapêutico pode ser distribuído na lesão através de uma agulha de injeção alojada no aplicador. Os eletrodos co-localizados podem então transferir os pulsos elétricos para o tumor através de qualquer um dos geradores divulgados neste documento (*por exemplo*, um gerador controlado por pedal). Esses pulsos elétricos podem permitir a transfecção do plasmídeo nas células tumorais e a subsequente secreção local da citocina imunoativadora (*por exemplo*, conforme mostrado nas Figuras 71-74).

[00534] Em algumas modalidades, um aplicador rígido (*por exemplo*, como mostrado na Figura 91) também pode acessar tumores viscerais, mas com uma abordagem ligeiramente diferente. Este aplicador de lesão visceral com base em agulha de trocarde pode incluir um corpo rígido (*por exemplo*, tubo de inserção 15) que pode ser capaz de entrar diretamente no tecido mole diretamente por cirurgia aberta ou laparoscópica, com orientação por ultrassom ou tomografia computadorizada (TC) para a lesão alvo. Por exemplo, em algumas modalidades, o tubo de inserção 15 pode ter um diâmetro de 2 mm e um comprimento de 20 cm. Como o aplicador flexível à base de cateter, o aplicador rígido à base de trocarde pode ser operado com um cabo ergonômico em sua extremidade proximal. Similarmente também ao aplicador à base de cateter, a extremidade distal do corpo rígido pode incluir uma agulha de injeção central localizada semelhante ladeada por

eletrodos duplos com uma posição retraída e compacta e uma posição expandida implantada, conforme descrito neste documento.

[00535] Em algumas modalidades, ao contrário de algumas modalidades do aplicador à base de cateter, o aplicador à base de trocarte pode acessar um tumor visceral usando uma abordagem transcutânea minimamente invasiva, que pode ser particularmente útil para tratar lesões hepáticas. Quando a extremidade distal do corpo rígido atinge o local do tumor, os eletrodos e a agulha de injeção podem ser acionados para a posição implantada e o plasmídeo pode ser administrado, seguido pela aplicação dos pulsos elétricos do gerador através de um pedal para a administração da EP terapêutica.

[00536] Um perfil mínimo dos aplicadores pode ajudar a reduzir sua “pegada clínica” e sua usabilidade relativa, seja diretamente ou em combinação com endoscópios e laparoscópios comuns, pode torná-los ideais para atender diferentes necessidades médicas não atendidas em cânceres baseados em GI. Esses novos aplicadores podem introduzir a plataforma imunoterapêutica descrita neste documento para indicações tumorais viscerais, estendendo o impacto clínico desta poderosa terapia baseada em citocinas.

[00537] Em uma modalidade exemplar, um aplicador baseado em trocarte pode ser usado para acessar tumores primários em pacientes que têm tumores de HCC que não podem ser ressectados. Enquanto os pacientes com HCC apresentam tumores que parecem ser ressectáveis, muitas vezes sua doença hepática subjacente (ou seja, cirrose) exclui esses pacientes como candidatos para ressecção cirúrgica ou transplante. Para esses pacientes, que representam aproximadamente 70% dos pacientes recém-diagnosticados com HCC no mundo ocidental, as opções de tratamento são limitadas à quimioembolização transarterial (TACE), radioembolização e terapia sistêmica, com muitos sendo encaminhados diretamente para cuidados

paliativos sem qualquer intervenção. A capacidade de acessar essas lesões intratumoralmente com uma imunoterapia potente poderia mudar o paradigma de tratamento para esses pacientes. As modalidades do aplicador de lesão visceral com base em trocarte discutidas neste documento são suficientemente miniaturizadas para passar através do lúmen central de uma agulha percutânea comumente usada para biópsias do fígado. Essa abordagem permite que o procedimento seja feito em um conjunto de intervenções utilizando imagens guiadas por TC. Embora o aplicador possa ser configurado para uso em um procedimento laparoscópico, a abordagem percutânea tem várias vantagens. Isso minimiza a necessidade de anestesia geral e permite que o procedimento seja repetido semanalmente, se os regimes de dosagem assim exigirem. O dispositivo também pode ser configurado para uso com um endoscópio, permitindo uma abordagem transgástrica. Embora isso possa ser um atrativo para a doença localizada na porção esquerda do fígado próxima ao estômago, a doença distal do estômago exigiria uma abordagem percutânea ou laparoscópica. A versatilidade dos aplicadores discutidos neste documento facilitaria o amplo potencial de uso com aplicações cirúrgicas, radiológicas e endoscópicas usando um único gerador e sistema de distribuição.

[00538] As modalidades das invenções descritas neste documento fornecem vantagens potenciais importantes sobre a terapia convencional direcionada ao fígado. A ablação por micro-ondas e RFA é limitada, pois é útil apenas para tumores relativamente pequenos. Além disso, algumas lesões não podem ser tratadas com segurança com ablação devido à proximidade de estruturas críticas, como estruturas vasculares principais e dutos biliares centrais. O calor associado à ablação é uma limitação inerente à ablação por micro-ondas e radiofrequência. A quimioembolização e a radioembolização

requerem função hepática adequada. Muitos pacientes com HCC inoperável não podem ser tratados com ablação ou outras terapias direcionadas ao fígado devido a questões anatômicas ou de função hepática. As opções de tratamento percutâneo para tumores hepáticos primários, incluindo ablação com correntes de radiofrequência (RFA), micro-ondas ou congelamento (crioablação), são tipicamente limitadas aos estágios iniciais da doença, com a esperança de melhorar a doença antes que haja metástase. Por exemplo, a ablação por micro-ondas usa uma sonda para fornecer pulsos térmicos ao tecido maligno, resultando em uma zona de ablação. A ablação por micro-ondas é vista como uma melhoria em relação à RFA em sua capacidade de atingir lesões maiores. Contudo, um estudo recente descobriu que, embora houvesse uma taxa muito baixa de recorrência das lesões tratadas, novas lesões hepáticas se desenvolveram em 72% dos pacientes com lesões hepáticas menores que 4 cm tratados com ablação por micro-ondas. Portanto, os efeitos da ablação por micro-ondas parecem limitados à lesão tratada. Isso também foi demonstrado para outras abordagens localizadas, como microesferas de radioterapia embolizantes. Por outro lado, em vez da ablação direta de células tumorais, a tecnologia TAVO tem o potencial de transformar transitoriamente essas lesões em fábricas celulares para citocinas imunoestimulantes, que podem atuar em conjunto com outras imunoterapias, como inibidores de checkpoint. Conforme ilustrado em pacientes com melanoma refratário a anti-PD-1 sendo tratados com TAVO e pembrolizumab no KEYNOTE-695, as respostas tumorais podem ocorrer não apenas na lesão tratada, mas também em locais distantes.¹⁴ Portanto, o TAVO é uma terapia localizada que pode mediar os efeitos anti-câncer sistêmicos.

[00539] Em algumas modalidades, são descritos métodos de tratamento de pacientes não responsivos que progrediram ou não respondem à terapia de checkpoint. Os métodos compreendem injetar

um tumor canceroso no paciente não responsivo com uma dose eficaz de um plasmídeo que codifica um ou mais peptídeos imunomoduladores; administrar terapia de eletroporação ao tumor canceroso; e administrar uma dose eficaz de um inibidor de checkpoint ao indivíduo. Os um ou mais peptídeos imunomoduladores podem ser, mas não estão limitados a IL-12, CD3 half-BiTE, CXCL9, scFv CTLA-4, IL12 e CD3 half-BiTE, IL-12 e CXCL9, e IL-12 e scFv CTLA-4. O inibidor de checkpoint pode ser, mas não se limita a, nivolumab (ONO-4538/BMS-936558, MDX1 106, OPDIVO), pembrolizumab (MK-3475, KEYTRUDA), pidilizumab (CT-011) e MPDL3280A (Roche).

[00540] Um “não responsivo” ou “que não responde” refere-se a um paciente que tem um câncer e que: a) está progredindo, progrediu ou não respondeu a uma terapia contra o câncer, b) não apresenta uma resposta clínica benéfica após o tratamento com a terapia contra o câncer, c) não consegue alcançar remissão clínica ou resposta clínica à terapia contra o câncer e/ou d) não apresentou resposta alvo à terapia contra o câncer. Em algumas modalidades, o não responsivo não ficou livre do câncer em resposta a uma terapia contra câncer. Em algumas modalidades, o não responsivo teve uma recidiva, recorrência ou metástase de um câncer após o tratamento com uma terapia contra o câncer. Em algumas modalidades, o não responsivo tem um prognóstico negativo para o câncer após o tratamento com terapia contra o câncer. A terapia contra o câncer pode ser, mas não está limitada a terapia com checkpoint. A terapia com checkpoint pode ser, mas não está limitada a terapia com anticorpo anti-PD-1 ou anti-PD-L1.

[00541] Há uma forte necessidade médica não atendida de novas abordagens de imunoterapia, como TAVO. O nivolumab (Opdivo®) e o pembrolizumab receberam aprovação acelerada da FDA para o tratamento de câncer hepático, com base nos resultados de eficácia e segurança de estudos clínicos de fase inicial que apresentaram taxas

de resposta global de apenas 14% a 17%. A maioria dos pacientes não respondeu a essas novas modalidades. A doença refratária a inibidores de checkpoint representa uma população crescente e um desafio terapêutico emergente. Em um estudo clínico em andamento em pacientes com melanoma metastático (KEYNOTE-695), a combinação de TAVO e um anticorpo anti-PD-1 produziu uma taxa de resposta preliminar observada de 24% em pacientes (não responsivos à terapia com anticorpo anti-PD-1) cuja doença era verdadeiramente refratária à monoterapia com anticorpo anti-PD-1. A combinação do agente anti-PD-1, tal como pembrolizumab, com um agente capaz de gerar uma resposta eficaz de células T, tal como IL-12, pode aumentar a imunogenicidade no fenótipo do não responsivo e aprimorar a resposta à terapia com checkpoint.

[00542] Em algumas modalidades, indivíduos não responsivos ou com prognóstico de serem não responsivos à terapia com checkpoint são tratados com uma combinação de eletroporação intratumoral de IL-12 e administração sistêmica de terapia anti-PD-1. Os não responsivos recebem um plasmídeo (por exemplo, TAVO) citocina imunoestimulante codificada e um inibidor de checkpoint usando um cronograma de dosagem, em que o cronograma de dosagem compreende: a) um primeiro ciclo de tratamento na semana 1, em que: i) a citocina imunoestimulante codificada por plasmídeo é distribuída a um tumor por eletroporação nos dias 1 ($\pm$ 2 dias), 5 ($\pm$ 2 dias) e 8 ($\pm$ 3 dias); e ii) um inibidor de checkpoint fornecido sistemicamente ao paciente no dia 1 ($\pm$ 2 dias); b) um segundo ciclo de tratamento, em que o inibidor de checkpoint é distribuído sistemicamente ao paciente três semanas após o primeiro ciclo; e c) ciclos de tratamento subsequentes continuados em que o primeiro e o segundo ciclos são repetidos alternativamente a cada três semanas. Em algumas modalidades, a citocina imunoestimulante codificada por plasmídeo é administrada a cada ciclo. Em algumas

modalidades, a citocina imunoestimulante codificada por plasmídeo é administrada em ciclos alternados. Em algumas modalidades, a citocina imunoestimulante codificada por plasmídeo e o inibidor de checkpoint são administrados simultaneamente no dia 1 de cada ciclo. Em algumas modalidades, as duas terapias são administradas simultaneamente nos ciclos ímpares e o inibidor de checkpoint é administrado sozinho nos ciclos pares. Em algumas modalidades, a citocina imunoestimuladora codificada por plasmídeo é distribuída por eletroporação em pelo menos um, dois ou três dias de cada ciclo ou em ciclos alternados. O período decorrido entre cada ciclo pode ser de cerca de 1 semana a cerca de 6 semanas, de cerca de 2 semanas a cerca de 5 semanas. Em algumas modalidades, o período decorrido entre os ciclos é de cerca de 3 semanas.

[00543] Em combinação com a potência tumor-agnóstica da IL-12 (*por exemplo*, TAVO), o sistema aplicador de lesão visceral descrito neste documento pode ser aplicável à maioria das indicações tumorais internas que podem ser acessadas com um endoscópio, broncoscópio, cateter, trocarte ou similares. O TAVO já provou demonstrar eficácia robusta em populações de pacientes difíceis de tratar, incluindo melanoma metastático refratário à terapia com inibidor de checkpoint, bem como TNBC. Particularmente, o TAVO demonstrou e continua a demonstrar um poderoso efeito abscopal. Em seu estudo de monoterapia de fase 1 anterior, o TAVO demonstrou uma taxa de resposta de 46% em lesões não tratadas em melanoma metastático. Após a disseminação do câncer, a ressecção curativa normalmente não é possível. Consequentemente, há aproximadamente 23.500 novos casos de câncer de fígado não passível de ressecação e 49.900 novos casos de câncer pancreático não passível de ressecação a cada ano, um diagnóstico tipicamente associado a um prognóstico ruim.

[00544] As opções de tratamento local são amplamente limitadas a

procedimentos ablativos, que não parecem fornecer um benefício significativo em relação ao padrão de tratamento e apresentam pouco ou nenhum efeito abscopal significativo. Terapias locais para câncer de fígado tipicamente são de natureza citorredutora, não curativa e normalmente não têm um grande impacto na evolução da doença em geral. Por exemplo, um estudo comparando a radioembolização com o ítrio 90 (Y90) versus tratamento com uma terapia direcionada, sorafenibe, descobriu que, embora o tratamento com Y90 tenha retardado significativamente a progressão da doença no fígado versus tratamento com sorafenibe, não houve vantagem de sobrevida. De fato, a taxa de progressão fora do fígado foi significativamente maior no tratamento com Y90 vs sorafenibe, e a sobrevida foi mais curta, embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa.

[00545] A capacidade de injetar esses tumores diretamente com uma citocina potente e, simultaneamente, fornecer essa terapia através de EP poderia resultar em opções de tratamento significativas para esses pacientes. O TAVO pode ser capaz de fornecer uma resposta abscopal semelhante no HCC, assim como no melanoma metastático e TNBC.

[00546] Os sistemas e métodos divulgados neste documento podem ser aplicáveis a qualquer terapia ou quimioterapia à base de ácido nucleico destinados à distribuição intratumoral (*por exemplo*, bleomicina).

[00547] O assunto descrito neste documento inclui, mas não está limitado, às seguintes modalidades específicas:

[00548] 1. Método de tratamento de uma lesão no pulmão de um indivíduo não responsivo ou com prognóstico de ser não responsivo à terapia anti-PD-1 ou anti-PD-L1, o método compreendendo:

[00549] administrar, à lesão, uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo codificador de IL-12;

[00550] administrar terapia de eletroporação à lesão; e

[00551] administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint;

[00552] em que a administração da terapia de eletroporação compreende administrar um pulso elétrico à lesão usando um sistema de eletroporação compreendendo:

[00553] um aplicador compreendendo:

[00554] uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada;

[00555] em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída; e

[00556] um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos,

[00557] em que a administração do pulso elétrico à lesão compreende dispor o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo dentro ou adjacente à lesão, e liberar o pulso elétrico do gerador para o primeiro eletrodo e para o segundo eletrodo.

[00558] 2. Método, de acordo com a modalidade 1, em que o aplicador ainda compreende uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

[00559] 3. Método, de acordo com a modalidade 1 ou modalidade 2, em que o sistema de eletroporação ainda compreende um dispositivo de inserção compreendendo um dentre um trocarte rígido ou endoscópio flexível definindo pelo menos um canal de trabalho, em que

pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão.

[00560] 4. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 1-3, em que o sistema de eletroporação ainda compreende um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir pelo menos um dentre o pelo menos um plasmídeo ou o pelo menos um inibidor de checkpoint através do pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

[00561] 5. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 1-4, em que o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir pelo menos um dentre o pelo menos um plasmídeo ou o pelo menos um inibidor de checkpoint para a lesão.

[00562] 6. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 1-5, em que o sistema de eletroporação ainda compreende pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um plasmídeo, o pelo menos um inibidor de checkpoint, ou a terapia de eletroporação.

[00563] 7. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 1-6, em que o sistema de eletroporação ainda compreende pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um plasmídeo, o pelo menos um inibidor de checkpoint, ou a terapia de eletroporação.

[00564] 8. Método, de acordo com a modalidade 7, em que o pelo menos um dispositivo de visualização compreende um scanner de tomografia computadorizada.

[00565] 9. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 1-8, em que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão.

[00566] 10. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 1-9, em que os pulsos elétricos têm uma força de campo de 700V/cm ou menos.

[00567] 11. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 1-8, em que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

[00568] 12. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 1-11, em que o pelo menos um plasmídeo compreende tavokinogene telseplasmid.

[00569] 13. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 1-12, em que o inibidor de checkpoint é administrado sistemicamente.

[00570] 14. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 1-13, em que o inibidor de checkpoint é um anticorpo anti-PD-1 ou um anticorpo anti-PD-L1.

[00571] 15. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 1-14, em que o inibidor de checkpoint compreende: nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab ou MPDL3280A.

[00572] 16. Sistema para tratar uma lesão no pulmão de um indivíduo não responsivo ou com prognóstico de ser não responsivo à terapia anti-PD-1 ou anti-PDL1, sendo o sistema compreendendo:

[00573] um aplicador compreendendo uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada; em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída;

[00574] um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, em que o gerador é configurado para liberar um pulso elétrico ao primeiro eletrodo e ao segundo eletrodo para administrar o pulso

elétrico à lesão; e

[00575] pelo menos um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo codificador de IL-12 e uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint.

[00576] 17. Sistema, de acordo com a modalidade 16, em que o aplicador ainda compreende uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

[00577] 18. Sistema, de acordo com a modalidade 16 ou a modalidade 17, compreendendo ainda um dispositivo de inserção compreendendo um trocarte rígido ou endoscópio flexível definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão.

[00578] 19. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 16-18, compreendendo ainda um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um plasmídeo através do pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

[00579] 20. Sistema, de acordo com qualquer umas das modalidades 16-19, em que o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um plasmídeo à lesão.

[00580] 21. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 16-20, compreendendo ainda pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um

plasmídeo ou a terapia de eletroporação.

[00581] 22. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 16-21, compreendendo ainda pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um plasmídeo ou a terapia de eletroporação.

[00582] 23. Sistema, de acordo com a modalidade 22, em que o pelo menos um dispositivo de visualização compreende um scanner de tomografia computadorizada.

[00583] 24. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 16-23, em que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão.

[00584] 25. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 16-24, em que os pulsos elétricos têm uma força de campo de 700V/cm ou menos.

[00585] 26. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 16-23, em que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

[00586] 27. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 16-26, em que o pelo menos um plasmídeo compreende tavokinogene telseplasmid.

[00587] 28. Método de tratamento de uma lesão no pulmão de um indivíduo, o método compreendendo:

[00588] administrar, à lesão, uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento;

[00589] administrar terapia de eletroporação à lesão, com a terapia de eletroporação compreendendo a administração de um pulso elétrico à lesão usando um sistema de eletroporação compreendendo:

[00590] um aplicador compreendendo:

[00591] uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro

eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada;

[00592] em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída; e

[00593] um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos,

[00594] em que a administração do pulso elétrico à lesão compreende dispor o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo dentro ou adjacente à lesão, e liberar o pulso elétrico do gerador para o primeiro eletrodo e para o segundo eletrodo.

[00595] 29. Método, de acordo com a modalidade 28, em que o aplicador ainda compreende uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

[00596] 30. Método, de acordo com a modalidade 28 ou a modalidade 29, em que o sistema de eletroporação ainda compreende um dispositivo de inserção definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão visceral.

[00597] 31. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 28-30, em que o sistema de eletroporação ainda compreende um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento através do pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

[00598] 32. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 28-31, em que o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento à lesão visceral.

[00599] 33. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 28-32, em que o sistema de eletroporação ainda compreende pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

[00600] 34. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 28-33, em que o sistema de eletroporação ainda compreende pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão visceral antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

[00601] 35. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 28-34, em que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão.

[00602] 36. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 28-35, em que os pulsos elétricos têm uma força de campo de 700V/cm ou menos.

[00603] 37. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 28-34, em que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

[00604] 38. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 28-37, em que a administração, ao indivíduo, da dose eficaz do pelo menos um agente de tratamento compreende administrar uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo que codifica uma citocina.

[00605] 39. Método, de acordo com a modalidade 38, em que o pelo menos um plasmídeo compreende tavokinogene telseplasmid.

[00606] 40. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 28-39, em que a administração, ao indivíduo, da dose eficaz do pelo menos um agente de tratamento ainda compreende administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint.

[00607] 41. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 28-40, compreendendo ainda inserir uma porção do aplicador no pulmão do indivíduo através do esôfago do indivíduo.

[00608] 42. Sistema para tratar uma lesão no pulmão de um indivíduo, sendo o sistema compreendendo:

[00609] um aplicador compreendendo uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada; em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída; e

[00610] um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, em que o gerador é configurado para liberar um pulso elétrico ao primeiro eletrodo e ao segundo eletrodo para administrar o pulso elétrico à lesão; e

[00611] pelo menos um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir ao indivíduo uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento.

[00612] 43. Sistema, de acordo com a modalidade 42, em que o aplicador ainda compreende uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

[00613] 44. Sistema, de acordo com a modalidade 42 ou a modalidade 43, compreendendo ainda um dispositivo de inserção definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão.

[00614] 45. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 42-44, compreendendo ainda um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento através do pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

[00615] 46. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 42-45, em que o dispositivo de inserção compreende um broncoscópio, e em que o aplicador é pelo menos parcialmente flexível.

[00616] 47. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 42-46, em que o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento à lesão.

[00617] 48. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 42-47, compreendendo ainda pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

[00618] 49. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 42-48, compreendendo ainda pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

[00619] 50. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 42-49, em que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão.

[00620] 51. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades

42-50, em que os pulsos elétricos têm uma força de campo de 700V/cm ou menos.

[00621] 52. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 42-49, em que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

[00622] 53. Método de tratamento de uma lesão visceral no pâncreas de um indivíduo, o método compreendendo:

[00623] administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento;

[00624] administrar terapia de eletroporação à lesão visceral, com a terapia de eletroporação compreendendo a administração de um pulso elétrico à lesão visceral usando um sistema de eletroporação compreendendo:

[00625] um aplicador compreendendo:

[00626] uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada;

[00627] em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída; e

[00628] um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos,

[00629] em que a administração do pulso elétrico à lesão visceral compreende dispor o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo dentro ou adjacente à lesão visceral, e liberar o pulso elétrico do gerador para o primeiro eletrodo e para o segundo eletrodo.

[00630] 54. Método, de acordo com a modalidade 53, em que o aplicador ainda compreende uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à

porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

[00631] 55. Método, de acordo com a modalidade 53 ou a modalidade 54, em que o sistema de eletroporação ainda compreende um dispositivo de inserção definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão visceral.

[00632] 56. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 53-55, em que o sistema de eletroporação ainda compreende um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento através do pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

[00633] 57. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 53-56, em que o dispositivo de inserção compreende um endoscópio, e em que o aplicador é pelo menos parcialmente flexível.

[00634] 58. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 53-57, em que o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento à lesão visceral.

[00635] 59. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 53-58, em que o sistema de eletroporação ainda compreende pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

[00636] 60. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 53-59, em que o sistema de eletroporação ainda compreende pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens

da lesão visceral antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

[00637] 61. Método, de acordo com a modalidade 60, em que o pelo menos um dispositivo de visualização compreende um scanner de tomografia computadorizada.

[00638] 62. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 53-61, em que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão.

[00639] 63. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 53-62, em que os pulsos elétricos têm uma força de campo de 700V/cm ou menos.

[00640] 64. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 53-61, em que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

[00641] 65. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 53-64, em que a administração, ao indivíduo, da dose eficaz do pelo menos um agente de tratamento compreende administrar uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo que codifica uma citocina.

[00642] 66. Método, de acordo com a modalidade 65, em que o pelo menos um plasmídeo compreende tavokinogene telseplasmid.

[00643] 67. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 53-66, em que a administração, ao indivíduo, da dose eficaz do pelo menos um agente de tratamento ainda compreende administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint.

[00644] 68. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 53-67, em que o aplicador ainda compreende uma ponta perfurante, com o método compreendendo ainda:

[00645] inserir uma porção do aplicador no estômago do indivíduo;

[00646] perfurar a parede do estômago com a ponta perfurante; e

[00647] mover a pluralidade de eletrodos da posição retraída para a posição implantada.

[00648] 69. Sistema para tratar uma lesão visceral no pâncreas de um indivíduo, sendo o sistema compreendendo:

[00649] um aplicador compreendendo uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta ao acionamento pelo atuador; em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída; e

[00650] um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, em que o gerador é configurado para liberar um pulso elétrico ao primeiro eletrodo e ao segundo eletrodo para administrar o pulso elétrico à lesão visceral; e

[00651] pelo menos um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir ao indivíduo uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento.

[00652] 70. Sistema, de acordo com a modalidade 69, em que o aplicador ainda compreende uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

[00653] 71. Sistema, de acordo com a modalidade 69 ou a modalidade 70, compreendendo ainda um dispositivo de inserção definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos

um canal de trabalho para acessar a lesão visceral.

[00654] 72. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 69-71, compreendendo ainda um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento através do pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

[00655] 73. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 69-72, em que o dispositivo de inserção compreende um broncoscópio, e em que o aplicador é pelo menos parcialmente flexível.

[00656] 74. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 69-73, em que o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento à lesão visceral.

[00657] 75. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 69-74, compreendendo ainda pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

[00658] 76. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 69-75, compreendendo ainda pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão visceral antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

[00659] 77. Sistema, de acordo com a modalidade 76, em que o pelo menos um dispositivo de visualização compreende um scanner de tomografia computadorizada.

[00660] 78. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 69-77, em que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão.

[00661] 79. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 69-78, em que os pulsos elétricos têm uma força de campo de 700V/cm

ou menos.

[00662] 80. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 69-77, em que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

[00663] 81. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 69-80, em que o aplicador ainda compreende uma ponta perfurante configurada para perfurar a parede do estômago do indivíduo para administrar pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou o pulso elétrico na ou próximo à lesão visceral no pâncreas.

[00664] 82. Método de tratamento de uma lesão de um indivíduo, o método compreendendo:

[00665] administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento;

[00666] administrar terapia de eletroporação à lesão, com a terapia de eletroporação compreendendo a administração de um pulso elétrico à lesão usando um sistema de eletroporação compreendendo:

[00667] um aplicador compreendendo uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo tendo uma primeira ponta e um segundo eletrodo tendo uma segunda ponta; e

[00668] um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos,

[00669] em que a administração do pulso elétrico à lesão compreende dispor o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo dentro ou adjacente à lesão, e liberar o pulso elétrico do gerador para o primeiro eletrodo e para o segundo eletrodo.

[00670] 83. Método, de acordo com a modalidade 82, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada, e em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo

eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída.

[00671] 84. Método, de acordo com a modalidade 82 ou a modalidade 83, em que o aplicador ainda compreende uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

[00672] 85. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 82-84, em que o sistema de eletroporação ainda compreende um dispositivo de inserção definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão.

[00673] 86. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 82-85, em que o sistema de eletroporação ainda compreende um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento através do pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

[00674] 87. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 82-86, em que o dispositivo de inserção compreende um endoscópio, e em que o aplicador é pelo menos parcialmente flexível.

[00675] 88. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 82-87, em que o dispositivo de inserção compreende um trocarte, e em que o aplicador é substancialmente rígido.

[00676] 89. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 82-88, em que o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento à lesão.

[00677] 90. Método, de acordo com qualquer uma das

modalidades 82-89, em que o sistema de eletroporação ainda compreende pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

[00678] 91. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 82-90, em que o sistema de eletroporação ainda compreende pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

[00679] 92. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 82-91, em que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão.

[00680] 93. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 82-92, em que os pulsos elétricos têm uma força de campo de 700V/cm ou menos.

[00681] 94. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 82-91, em que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

[00682] 95. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 82-94, em que o tratamento da lesão compreende administrar uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo que codifica uma citocina.

[00683] 96. Método, de acordo com a modalidade 95, em que a citocina compreende IL-12.

[00684] 97. Método, de acordo com a modalidade 95, em que o pelo menos um plasmídeo compreende tavokinogene telseplasmid.

[00685] 98. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 82-97, em que o tratamento da lesão ainda compreende

administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint.

[00686] 99. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 82-98, em que o agente de tratamento compreende pelo menos um plasmídeo que codifica um polipeptídeo imunomodulador.

[00687] 100. Método, de acordo com a modalidade 99, em que o polipeptídeo imunomodulador compreende: uma citocina, uma molécula coestimuladora, um adjuvante genético, um antígeno, um polipeptídeo de fusão de adjuvante genético-antígeno, uma quimiocina ou um polipeptídeo de ligação a antígeno.

[00688] 101. Método, de acordo com a modalidade 100, em que o polipeptídeo imunomodulador compreende: CXCL9, scFy anti-CD3 ou scFy anti-CTLA.

[00689] 102. Sistema para tratar uma lesão de um indivíduo, sendo o sistema compreendendo:

[00690] um aplicador compreendendo uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo tendo uma primeira ponta e um segundo eletrodo tendo uma segunda ponta; e

[00691] um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, em que o gerador é configurado para liberar um pulso elétrico ao primeiro eletrodo e ao segundo eletrodo para administrar o pulso elétrico à lesão; e

[00692] pelo menos um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir ao indivíduo uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento.

[00693] 103. Sistema, de acordo com a modalidade 102, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada, e em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição

retraída.

[00694] 104. Sistema, de acordo com a modalidade 102 ou a modalidade 103, em que o aplicador ainda compreende uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

[00695] 105. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 102-104, compreendendo ainda um dispositivo de inserção definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão.

[00696] 106. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 102-105, compreendendo ainda um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento através do pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

[00697] 107. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 102-106, em que o dispositivo de inserção compreende um endoscópio, e em que o aplicador é pelo menos parcialmente flexível.

[00698] 108. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 102-107, em que o dispositivo de inserção compreende um trocarte, e em que o aplicador é substancialmente rígido.

[00699] 109. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 102-108, em que o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento à lesão.

[00700] 110. Sistema, de acordo com qualquer uma das

modalidades 102-109, compreendendo ainda pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou o pulso elétrico.

[00701] 111. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 102-110, compreendendo ainda pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou o pulso elétrico.

[00702] 112. Sistema, de acordo com a modalidade 111, em que o pelo menos um dispositivo de visualização compreende um scanner de tomografia computadorizada.

[00703] 113. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 102-112, em que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão.

[00704] 114. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 102-113, em que os pulsos elétricos têm uma força de campo de 700V/cm ou menos.

[00705] 115. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 102-112, em que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

[00706] 116. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 102-115, em que o tratamento da lesão compreende a distribuição de uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo que codifica uma citocina.

[00707] 117. Sistema, de acordo com a modalidade 116, em que o pelo menos um plasmídeo compreende tavokinogene telseplasmid.

[00708] 118. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 102-117, em que a distribuição, ao indivíduo, da dose eficaz do pelo menos um agente de tratamento ainda compreende

administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint.

[00709] 119. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 102-118, em que o agente de tratamento compreende pelo menos um plasmídeo que codifica um polipeptídeo imunomodulador.

[00710] 120. Sistema, de acordo com a modalidade 119, em que o polipeptídeo imunomodulador compreende: uma citocina, uma molécula coestimuladora, um adjuvante genético, um antígeno, um polipeptídeo de fusão de adjuvante genético-antígeno, uma quimiocina ou um polipeptídeo de ligação a antígeno.

[00711] 121. Sistema, de acordo com a modalidade 119 ou a modalidade 120, em que o polipeptídeo imunomodulador compreende: CXCL9, scFv anti-CD3 ou scFv anti-CTLA-4

[00712] 122. Aplicador para eletroporação compreendendo:

[00713] uma porção de controle;

[00714] um tubo de inserção conectado à porção de controle;

[00715] um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e ao tubo de inserção; e

[00716] uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta ao acionamento pelo atuador;

[00717] em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída.

[00718] 123. Aplicador, de acordo com a modalidade 122, em que a primeira ponta e a segunda ponta são recuadas inteiramente dentro do tubo de inserção na posição retraída, e em que pelo menos a primeira

ponta e a segunda ponta são configuradas para se estender a partir do tubo de inserção para dentro do tecido adjacente na posição implantada.

[00719] 124. Aplicador, de acordo com a modalidade 122 ou a modalidade 123, em que, na posição implantada, a distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior que um diâmetro externo de uma extremidade distal do tubo de inserção.

[00720] 125. Aplicador, de acordo com qualquer uma das modalidades 122-124, em que o tubo de inserção compreende um primeiro canal angular e um segundo canal angular definido em uma extremidade distal do tubo de inserção,

[00721] em que o primeiro canal angular e o segundo canal angular são, cada um, orientados em ângulos agudos em relação a um eixo longitudinal do tubo de inserção,

[00722] em que o primeiro eletrodo é configurado para se estender, pelo menos parcialmente, através do primeiro canal angular na posição implantada,

[00723] em que o segundo eletrodo é configurado para se estender, pelo menos parcialmente, através do segundo canal angular na posição implantada,

[00724] em que, na posição retraída, o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo são dispostos paralelos um ao outro dentro do tubo de inserção, e

[00725] em que, na posição implantada, pelo menos uma porção do primeiro eletrodo e pelo menos uma porção do segundo eletrodo são dispostas nos respectivos ângulos agudos do primeiro canal angular e do segundo canal angular.

[00726] 126. Aplicador de qualquer uma das modalidades 122-124, compreendendo ainda um balão acoplado ao primeiro eletrodo e o segundo eletrodo, sendo que o balão é disposto inteiramente dentro do

tubo de inserção na posição retraída, e sendo que o balão é disposto, pelo menos parcialmente, fora do tubo de inserção na posição implantada.

[00727] 127. Aplicador, de acordo com qualquer uma das modalidades 122-126, em que pelo menos uma porção do primeiro eletrodo e do segundo eletrodo compreende nitinol, em que o nitinol é configurado para mudar de forma no caso em que a pluralidade de eletrodos estiver na posição implantada, e em que o nitinol é configurado para mudar de forma acima da temperatura corporal humana.

[00728] 128. Aplicador, de acordo com qualquer uma das modalidades 122-127, compreendendo ainda uma luva de nitinol fixada a cada um dentre o primeiro eletrodo e um segundo eletrodo, em que o nitinol é configurado para mudar de forma no caso em que a pluralidade de eletrodos estiver na posição implantada, e em que o nitinol é configurado para mudar de forma acima da temperatura corporal humana.

[00729] 129. Aplicador, de acordo com qualquer uma das modalidades 122-128, em que o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo são não lineares.

[00730] 130. Aplicador de acordo com qualquer uma das modalidades 122-124 ou 127-129, compreendendo ainda um transportador disposto de forma móvel, pelo menos parcialmente, dentro do tubo de inserção, em que o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo são, cada um, dispostos, pelo menos parcialmente, dentro do transportador, em que o transportador define uma primeira porção associada ao primeiro eletrodo e uma segunda porção associada ao segundo eletrodo, e em que a primeira porção e a segunda porção são configuradas para se expandir radialmente longe uma da outra quando se movem da posição retraída para a posição expandida.

[00731] 131. Aplicador, de acordo com a modalidade 130, compreendendo ainda um membro interno configurado para receber uma força do atuador para expandir a primeira porção e a segunda porção do transportador radialmente para fora.

[00732] 132. Aplicador, de acordo com a modalidade 130 ou a modalidade 131, compreendendo ainda uma mola disposta entre a primeira porção e a segunda porção, em que a mola é configurada para expandir a primeira porção e a segunda porção do transportador radialmente para fora.

[00733] 133. Aplicador, de acordo com qualquer uma das modalidades 122-132, compreendendo ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para conectar, de forma fluida, um dispositivo de aplicação de fármaco a um sítio alvo através do tubo de inserção do aplicador.

[00734] 134. Aplicador, de acordo com a modalidade 133, em que o atuador é configurado para deslocar o canal de aplicação de fármaco em direção ao sítio alvo.

[00735] 135. Aplicador, de acordo com a modalidade 134, em que o canal de aplicação de fármaco é configurado para se mover entre uma posição retraída do canal de aplicação de fármaco e a posição implantada do canal de aplicação de fármaco simultaneamente com a pluralidade de eletrodos em resposta ao acionamento pelo atuador.

[00736] 136. Aplicador, de acordo com qualquer uma das modalidades 122-135, em que o tubo de inserção define uma ponta perfurante em uma extremidade distal.

[00737] 137. Aplicador, de acordo com qualquer uma das modalidades 122-136, em que o tubo de inserção compreende uma porção flexível, em que a porção flexível é configurada para guiar uma extremidade distal do tubo de inserção.

[00738] 138. Aplicador, de acordo com qualquer uma das

modalidades 122-137, em que o tubo de inserção compreende uma porção rígida, em que a porção rígida é disposta entre a extremidade distal do tubo de inserção e a porção de controle do aplicador, em que o aplicador compreende pelo menos um cabo disposto dentro do tubo de inserção, e em que o pelo menos um cabo é fixado ao aplicador entre a extremidade distal do tubo de inserção e a porção rígida para guiar a extremidade distal do tubo de inserção.

[00739] 139. Sistema para eletroporação compreendendo:

[00740] um aplicador compreendendo:

[00741] uma porção de controle;

[00742] um tubo de inserção conectado à porção de controle;

[00743] um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e ao tubo de inserção; e

[00744] uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta ao acionamento pelo atuador;

[00745] em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída;

[00746] um dispositivo de inserção definindo um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do tubo de inserção do aplicador é configurada para passar através do canal de trabalho;

[00747] um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, em que o gerador é configurado para distribuir sinais elétricos para a pluralidade de eletrodos; e

[00748] um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para administrar um ou mais agentes de tratamento através do canal de

trabalho do dispositivo de inserção.

[00749] 140. Sistema, de acordo com a modalidade 139, em que, na posição implantada, a distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior que um diâmetro interno do canal de trabalho.

[00750] 141. Sistema, de acordo com a modalidade 139 ou a modalidade 140, em que, na posição retraída, a porção do tubo de inserção e a pluralidade de eletrodos são configuradas para passar através do canal de trabalho do dispositivo de inserção.

[00751] 142. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 139-141, compreendendo ainda um processador configurado para fazer com que o gerador transmita sinais elétricos para o primeiro eletrodo e para o segundo eletrodo e receba sinais elétricos indicativos de uma impedância de um tecido disposto entre o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo.

[00752] 143. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 139-142, em que o dispositivo de inserção compreende um endoscópio.

[00753] 144. Sistema, de acordo com a modalidade 143, em que o endoscópio compreende um broncoscópio.

[00754] 145. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 139-144, em que o aplicador ainda compreende um canal de aplicação de fármaco configurado para conectar, de forma fluida, um dispositivo de aplicação de fármaco a um sítio alvo através do tubo de inserção do aplicador.

[00755] 146. Sistema, de acordo com a modalidade 145, em que o atuador é configurado para deslocar o canal de aplicação de fármaco em direção ao sítio alvo.

[00756] 147. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 139-146, em que o canal de aplicação de fármaco é

configurado para se mover entre uma posição retraída do canal de aplicação de fármaco e a posição implantada do canal de aplicação de fármaco simultaneamente com a pluralidade de eletrodos em resposta ao acionamento pelo atuador.

[00757] 148. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 139-147, em que o tubo de inserção compreende uma porção flexível, em que a porção flexível é configurada para guiar uma extremidade distal do tubo de inserção.

[00758] 149. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 139-148, em que o tubo de inserção compreende uma porção rígida, em que a porção rígida é disposta entre a extremidade distal do tubo de inserção e a porção de controle do aplicador, em que o aplicador compreende pelo menos um cabo disposto dentro do tubo de inserção, e em que o pelo menos um cabo é fixado ao aplicador entre a extremidade distal do tubo de inserção e a porção rígida para guiar a extremidade distal do tubo de inserção.

[00759] 150. Sistema, de acordo com qualquer uma das modalidades 139-149, em que o aplicador compreende um canal de aplicação de fármaco, e em que o dispositivo de aplicação de fármaco é configurado para distribuir o um ou mais agentes de tratamento através do canal de aplicação de fármaco.

[00760] 151. Método de tratamento de um tumor, o método compreendendo:

[00761] inserir um dispositivo de inserção em um paciente até que uma extremidade distal do dispositivo de inserção seja disposta adjacente a um sítio alvo;

[00762] inserir um tubo de inserção de um aplicador no canal de trabalho do dispositivo de inserção, de modo que uma extremidade distal do tubo de inserção, incluindo uma pluralidade de eletrodos, seja posicionada adjacente ao sítio alvo;

[00763] administrar um agente de tratamento a partir de um dispositivo de aplicação de fármaco no sítio alvo através de um canal de trabalho do dispositivo de inserção;

[00764] liberar um ou mais pulsos elétricos de um gerador para os eletrodos para eletroporar o tecido no sítio alvo; e

[00765] remover o aplicador e o dispositivo de inserção do paciente.

[00766] 152. Método, de acordo com a modalidade 151, em que a administração de um agente de tratamento compreende inserir uma porção do dispositivo de aplicação de fármaco no canal de trabalho do dispositivo de inserção, de modo que a porção do dispositivo de aplicação de fármaco fique posicionada adjacente ao sítio alvo; e

[00767] em que o método ainda compreende remover a porção do dispositivo de aplicação de fármaco do dispositivo de inserção.

[00768] 153. Método, de acordo com a modalidade 151 ou a modalidade 152, em que a inserção do tubo de inserção do aplicador no canal de trabalho ainda compreende posicionar um canal de aplicação de fármaco adjacente ao sítio alvo.

[00769] 154. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 151-153, compreendendo ainda acionar o aplicador para mover a pluralidade de eletrodos e o canal de aplicação de fármaco para uma posição implantada após inserir o tubo de inserção e antes de administrar o agente de tratamento ou distribuir o um ou mais pulsos elétricos.

[00770] 155. Método de tratamento de um indivíduo com um tumor, compreendendo:

[00771] a) administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de um agente de tratamento; e

[00772] b) administrar terapia de eletroporação ao tumor, com a terapia de eletroporação compreendendo a administração de um pulso elétrico ao tumor usando o sistema de acordo com qualquer uma das

modalidades 102-121 ou 139-150.

[00773] 156. Método, de acordo com a modalidade 155, em que o agente de tratamento é administrado através de um dispositivo de aplicação de fármaco do aplicador.

[00774] 157. Método, de acordo com a modalidade 155 ou a m 156, em que o agente de tratamento compreende um vetor de expressão que codifica um polipeptídeo terapêutico.

[00775] 158. Método, de acordo com a modalidade 157, em que o vetor de expressão codifica um ou mais dentre: polipeptídeo coestimulador, polipeptídeo imunomodulador, citocina imunoestimuladora, inibidor de checkpoint, adjuvante, antígeno, polipeptídeo de fusão de adjuvante genético-antígeno, quimiocina, ou polipeptídeos de ligação a antígeno.

[00776] 159. Método, de acordo com a modalidade 158, em que a molécula coestimuladora é selecionada do grupo consistindo em: agonistas de GITR, CD137, CD134, CD40L e CD27.

[00777] 160. Método, de acordo com a modalidade 158 ou a modalidade 159, em que o vetor de expressão codifica um polipeptídeo compreendendo CXCL9, scFv anti-CD3 ou scFv anti-CTLA-4.

[00778] 161. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 158-160, em que a citocina imunoestimuladora é selecionada do grupo consistindo em: TNF α , IL-1, IL-10, IL-12, IL-12 p35, IL-12 p40, IL-15, IL-15R α , IL-23, IL-27, IFN α , IFN β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-21, TGF β , e uma combinação de quaisquer dois dentre TNF α , IL-1, IL-10, IL-12, IL-12 p35, IL-12 p40, IL-15, IL-15R α , IL-23, IL-27, IFN α , IFN β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-21, TGF β .

[00779] 162. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 155-161, em que o método ainda compreende administrar uma dose eficaz de um inibidor de checkpoint ao indivíduo.

[00780] 163. Método, de acordo com a modalidade 162, em que o

inibidor de checkpoint é administrado sistemicamente.

[00781] 164. Método, de acordo com a modalidade 162 ou a modalidade 163, em que o inibidor de checkpoint é codificado no vetor de expressão que codifica uma citocina imunoestimuladora ou em um segundo vetor de expressão e distribuído ao tumor canceroso pela terapia de eletroporação.

[00782] 165. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 162-164, em que o inibidor de checkpoint é administrado antes, concomitantemente com e/ou subsequentemente à eletroporação da citocina imunoestimuladora.

[00783] 166. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 157-165, em que o vetor de expressão compreende:

- a) P – A – T – C,
- b) P – A – T – B – T – C, ou
- c) P – C – T – A – T – B

[00784] em que P é um promotor, T é um elemento modificador da tradução, A codifica uma molécula imunomoduladora, uma cadeia de uma molécula imunoestimuladora ou uma molécula coestimuladora, B codifica uma molécula imunomoduladora, uma cadeia de uma molécula imunomoduladora ou uma molécula coestimuladora, e C codifica uma molécula imunomoduladora, cadeia de uma molécula imunomoduladora, uma molécula coestimuladora, adjuvante genético, antígeno, um polipeptídeo de fusão de adjuvante genético-antígeno, quimiocina, ou polipeptídeo de ligação a antígeno.

[00785] 167. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 157-166, em que o vetor de expressão codifica um polipeptídeo compreendendo CXCL9, scFv anti-CD3 ou scFv anti-CTLA-4.

[00786] 168. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 155-167, compreendendo ainda perfurar um tecido com

uma extremidade distal do aplicador para acessar o tumor.

[00787] 169. Método de redução da recorrência do crescimento de células tumorais em um tecido de mamífero, o método compreendendo:

[00788] a) administrar um agente de tratamento ao tumor e/ou a um tecido da margem tumoral;

[00789] b) administrar terapia de eletroporação ao tumor e/ou ao tecido da margem tumoral usando um gerador e o aplicador de acordo com qualquer uma das modalidades 102-150.

[00790] 170. Método, de acordo com a modalidade 169, em que a administração de um agente de tratamento compreende injetar um vetor de expressão que codifica o agente de tratamento no tumor e/ou em um tecido da margem tumoral.

[00791] 171. Método, de acordo com a modalidade 169 ou a modalidade 170, em que a terapia de eletroporação é administrada antes ou após a ressecção cirúrgica ou ablação do tumor.

[00792] 172. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 169-171, em que o gerador compreende um gerador de baixa tensão.

[00793] 173. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 169-172, em que a terapia de eletroporação é administrada usando o gerador de baixa tensão que produz um campo elétrico de 400V/cm ou menos.

[00794] 174. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 169-171, em que o gerador compreende um gerador de alta tensão.

[00795] 175. Método de tratamento de um indivíduo com um tumor, compreendendo:

[00796] administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento à base de DNA;

[00797] transfectar o pelo menos um agente de tratamento à base de

DNA em uma pluralidade de células do tumor usando um aplicador de eletroporação e um gerador;

[00798] em que o gerador é configurado para aplicar pulsos de eletroporação de baixa tensão ao tumor através do aplicador de eletroporação; e

[00799] em que 8-10% do pelo menos um agente de tratamento à base de DNA são transfectados nas células do tumor.

[00800] 176. Método, de acordo com a modalidade 175, em que o aplicador compreende:

[00801] uma porção de controle;

[00802] um tubo de inserção conectado à porção de controle;

[00803] um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e ao tubo de inserção; e

[00804] uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta ao acionamento pelo atuador;

[00805] em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída.

[00806] 177. Método, de acordo com a modalidade 176, em que o gerador é eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, e o gerador é configurado para distribuir sinais elétricos para a pluralidade de eletrodos.

[00807] 178. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 175-177, em que cada pulso de eletroporação de baixa tensão define uma duração de 1ms ou mais.

[00808] 179. Método, de acordo com a modalidade 178, em que

cada pulso de eletroporação de baixa tensão define uma duração de 0,5ms a 1s.

[00809] 180. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 175-179, em que os pulsos de eletroporação de baixa tensão compreendem uma tensão de 600V ou menos.

[00810] 181. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 175-180, em que os pulsos de eletroporação de baixa tensão compreendem uma tensão de 600V a 5V.

[00811] 182. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 175-181, em que os pulsos de eletroporação de baixa tensão compreendem um campo de 700V/cm ou menos.

[00812] 183. Método de tratamento de um indivíduo com um tumor, compreendendo:

[00813] administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento à base de DNA;

[00814] transfectar o pelo menos um agente de tratamento à base de DNA em uma pluralidade de células do tumor usando um aplicador de eletroporação e um gerador;

[00815] em que o gerador é configurado para aplicar pulsos de eletroporação de alta tensão ao tumor através do aplicador de eletroporação; e

[00816] em que 8-10% do pelo menos um agente de tratamento à base de DNA são transfectados nas células do tumor.

[00817] 184. Método de aumento da responsividade à terapia com inibidor de checkpoint em um indivíduo, compreendendo:

[00818] injetar um tumor no indivíduo com uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo codificador de uma citocina; e

[00819] administrar terapia de eletroporação ao tumor.

[00820] 185. Método, de acordo com a modalidade 184, em que o tumor se localiza no fígado.

[00821] 186. Método, de acordo com a modalidade 184 ou a modalidade 185, em que o tumor é carcinoma hepatocelular.

[00822] 187. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 184-186, em que a citocina é selecionada do grupo consistindo em: $TNF\alpha$, IL-1, IL-10, IL-12, IL-12 p35, IL-12 p40, IL-15, IL-15R α , IL-23, IL-27, IFN α , IFN β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-21, TGF β , e uma combinação de quaisquer dois dentre $TNF\alpha$, IL-1, IL-10, IL-12, IL-12 p35, IL-12 p40, IL-15, IL-15R α , IL-23, IL-27, IFN α , IFN β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-21, TGF β .

[00823] 188. Método de qualquer uma das modalidades 184-187, em que a citocina é IL-12.

[00824] 189. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 184-188, em que o indivíduo teve, tem, ou possui prognóstico de baixa responsividade ou nenhuma responsividade à terapia com inibidor de checkpoint.

[00825] 190. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 184-189, em que a modulação da terapia com inibidor de checkpoint compreendia ainda administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint.

[00826] 191. Sistema baseado em trocarte para eletroporação, compreendendo:

[00827] um aplicador compreendendo:

[00828] uma porção de controle;

[00829] um tubo de inserção conectado à porção de controle;

[00830] um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e ao tubo de inserção; e

[00831] uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para

mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta ao acionamento pelo atuador;

[00832] em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída

[00833] um trocarte definindo um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do tubo de inserção do aplicador é configurada para passar através do canal de trabalho;

[00834] um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, em que o gerador é configurado para distribuir sinais elétricos para a pluralidade de eletrodos; e

[00835] um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para administrar um ou mais agentes de tratamento através do canal de trabalho do trocarte.

[00836] Muitas modificações e outras modalidades das invenções estabelecidas neste documento ocorrerão a um versado na técnica ao qual estas invenções se referem com o benefício dos ensinamentos apresentados nas descrições anteriores e nos desenhos relacionados. Portanto, deve ser entendido que as invenções não devem ser limitadas às modalidades específicas divulgadas e que as modificações e outras modalidades destinam-se a ser incluídas no escopo das reivindicações anexas. Além disso, embora as descrições anteriores e os desenhos relacionados descrevam exemplos de modalidades no contexto de certas combinações de exemplos de elementos e/ou funções, deve ser apreciado que diferentes combinações de elementos e/ou funções podem ser fornecidas por modalidades alternativas sem se afastar do escopo das reivindicações anexas. Neste sentido, por exemplo, combinações de elementos e/ou funções diferentes daquelas explicitamente descritas acima também são contempladas, como pode ser estabelecido em algumas das reivindicações anexas. Embora

termos específicos sejam usados neste documento, eles são usados apenas em um sentido genérico e descritivo e não para fins de limitação.

REIVINDICAÇÕES

1. Método de tratamento de uma lesão no pulmão de um indivíduo não responsivo ou com prognóstico de ser não responsivo à terapia anti-PD-1 ou anti-PD-L1, caracterizado pelo fato de que compreende:

administrar, à lesão, uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo codificador de IL-12;

administrar terapia de eletroporação à lesão; e

administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint;

em que a administração da terapia de eletroporação compreende administrar um pulso elétrico à lesão usando um sistema de eletroporação compreendendo:

um aplicador compreendendo:

uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada;

em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída; e

um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos,

em que a administração do pulso elétrico à lesão compreende dispor o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo dentro ou adjacente à lesão, e liberar o pulso elétrico do gerador para o primeiro eletrodo e para o segundo eletrodo.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador compreende ainda uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de

controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o sistema de eletroporação compreende ainda um dispositivo de inserção compreendendo um dentre um trocarte rígido ou endoscópio flexível definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão.

4. Método, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizado** pelo fato de que o sistema de eletroporação compreende ainda um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir pelo menos um dentre o pelo menos um plasmídeo ou o pelo menos um inibidor de checkpoint através do pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

5. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir pelo menos um dentre o pelo menos um plasmídeo ou o pelo menos um inibidor de checkpoint para a lesão.

6. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o sistema de eletroporação compreende ainda pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um plasmídeo, o pelo menos um inibidor de checkpoint, ou a terapia de eletroporação.

7. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o sistema de eletroporação compreende

ainda pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um plasmídeo, o pelo menos um inibidor de checkpoint, ou a terapia de eletroporação.

8. Método, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado** pelo fato de que o pelo menos um dispositivo de visualização compreende um scanner de tomografia computadorizada.

9. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão.

10. Método, de acordo com a reivindicação 9, **caracterizado** pelo fato de que os pulsos elétricos têm uma força de campo de 700V/cm ou menos.

11. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

12. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o pelo menos um plasmídeo compreende tavokinogene telseplasmid.

13. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o inibidor de checkpoint é administrado sistemicamente.

14. Método, de acordo com a reivindicação 13, **caracterizado** pelo fato de que o inibidor de checkpoint é um anticorpo anti-PD-1 ou um anticorpo anti-PD-L1.

15. Método, de acordo com a reivindicação 13, **caracterizado** pelo fato de que o inibidor de checkpoint compreende: nivolumabe, pembrolizumabe, pidilizumabe ou MPDL3280A.

16. Sistema para tratar uma lesão no pulmão de um indivíduo não responsivo ou com prognóstico de ser não responsivo à terapia anti-

PD-1 ou anti-PDL1, caracterizado pelo fato de que compreende:

um aplicador compreendendo uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada; em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída;

um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, em que o gerador é configurado para liberar um pulso elétrico ao primeiro eletrodo e ao segundo eletrodo para administrar o pulso elétrico à lesão; e

pelo menos um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo codificador de IL-12 e uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint.

17. Sistema, de acordo com a reivindicação 16, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador compreende ainda uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

18. Sistema, de acordo com a reivindicação 16, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda um dispositivo de inserção compreendendo um trocarte rígido ou endoscópio flexível definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão.

19. Sistema, de acordo com a reivindicação 18,

caracterizado pelo fato de que compreende ainda um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um plasmídeo através do pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

20. Sistema, de acordo com a reivindicação 16, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um plasmídeo à lesão.

21. Sistema, de acordo com a reivindicação 16, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um plasmídeo ou a terapia de eletroporação.

22. Sistema, de acordo com a reivindicação 16, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um plasmídeo ou a terapia de eletroporação.

23. Sistema, de acordo com a reivindicação 22, **caracterizado** pelo fato de que o pelo menos um dispositivo de visualização compreende um scanner de tomografia computadorizada.

24. Sistema, de acordo com a reivindicação 16, **caracterizado** pelo fato de que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão.

25. Sistema, de acordo com a reivindicação 24, **caracterizado** pelo fato de que os pulsos elétricos têm uma força de campo de 700V/cm ou menos.

26. Sistema, de acordo com a reivindicação 16, **caracterizado** pelo fato de que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

27. Sistema, de acordo com a reivindicação 16, **caracterizado** pelo fato de que o pelo menos um plasmídeo compreende tavokinogene telseplasmid.

28. Método de tratamento de uma lesão no pulmão de um indivíduo, caracterizado pelo fato de que compreende:

administrar, à lesão, uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento;

administrar terapia de eletroporação à lesão, com a terapia de eletroporação compreendendo a administração de um pulso elétrico à lesão usando um sistema de eletroporação compreendendo:

um aplicador compreendendo:

uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada;

em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída; e

um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos,

em que a administração do pulso elétrico à lesão compreende dispor o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo dentro ou adjacente à lesão, e liberar o pulso elétrico do gerador para o primeiro eletrodo e para o segundo eletrodo.

29. Método, de acordo com a reivindicação 28, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador compreende ainda uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova

entre a posição retraída e a posição implantada.

30. Método, de acordo com a reivindicação 28, **caracterizado** pelo fato de que o sistema de eletroporação compreende ainda um dispositivo de inserção definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão.

31. Método, de acordo com a reivindicação 30, **caracterizado** pelo fato de que o sistema de eletroporação compreende ainda um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento através do pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

32. Método, de acordo com a reivindicação 28, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento à lesão.

33. Método, de acordo com a reivindicação 28, **caracterizado** pelo fato de que o sistema de eletroporação compreende ainda pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

34. Método, de acordo com a reivindicação 28, **caracterizado** pelo fato de que o sistema de eletroporação compreende ainda pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

35. Método, de acordo com a reivindicação 28, **caracterizado** pelo fato de que o gerador é configurado para emitir

pulsos elétricos de baixa tensão.

36. Método, de acordo com a reivindicação 35, **caracterizado** pelo fato de que os pulsos elétricos têm uma força de campo de 700V/cm ou menos.

37. Método, de acordo com a reivindicação 28, **caracterizado** pelo fato de que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

38. Método, de acordo com a reivindicação 28, **caracterizado** pelo fato de que a administração, ao indivíduo, da dose eficaz do pelo menos um agente de tratamento compreende administrar uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo que codifica uma citocina.

39. Método, de acordo com a reivindicação 38, **caracterizado** pelo fato de que o pelo menos um plasmídeo compreende tavokinogene telseplasmid.

40. Método, de acordo com a reivindicação 38, **caracterizado** pelo fato de que a administração, ao indivíduo, da dose eficaz do pelo menos um agente de tratamento compreende ainda administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint.

41. Método, de acordo com a reivindicação 28, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda inserir uma porção do aplicador no pulmão do indivíduo através do esôfago do indivíduo.

42. Sistema para tratar uma lesão no pulmão de um indivíduo, caracterizado pelo fato de que compreende:

um aplicador compreendendo uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada; em que uma distância entre a primeira ponta

do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída; e

um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, em que o gerador é configurado para liberar um pulso elétrico ao primeiro eletrodo e ao segundo eletrodo para administrar o pulso elétrico à lesão; e

pelo menos um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir ao indivíduo uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento.

43. Sistema, de acordo com a reivindicação 42, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador compreende ainda uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

44. Sistema, de acordo com a reivindicação 42, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda um dispositivo de inserção definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão.

45. Sistema, de acordo com a reivindicação 44, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento através do pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

46. Sistema, de acordo com a reivindicação 44, **caracterizado** pelo fato de que o dispositivo de inserção compreende um broncoscópio, e em que o aplicador é pelo menos parcialmente flexível.

47. Sistema, de acordo com a reivindicação 42, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento à lesão.

48. Sistema, de acordo com a reivindicação 42, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

49. Sistema, de acordo com a reivindicação 42, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

50. Sistema, de acordo com a reivindicação 42, **caracterizado** pelo fato de que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão.

51. Sistema, de acordo com a reivindicação 50, **caracterizado** pelo fato de que os pulsos elétricos têm uma força de campo de 700V/cm ou menos.

52. Sistema, de acordo com a reivindicação 42, **caracterizado** pelo fato de que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

53. Método de tratamento de uma lesão visceral no pâncreas de um indivíduo, caracterizado pelo fato de que compreende:

administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento;

administrar terapia de eletroporação à lesão visceral, com a terapia de eletroporação compreendendo a administração de um pulso elétrico à lesão visceral usando um sistema de eletroporação

compreendendo:

um aplicador compreendendo:

uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada;

em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída; e

um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos,

em que a administração do pulso elétrico à lesão visceral compreende dispor o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo dentro ou adjacente à lesão visceral, e liberar o pulso elétrico do gerador para o primeiro eletrodo e para o segundo eletrodo.

54. Método, de acordo com a reivindicação 53, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador compreende ainda uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

55. Método, de acordo com a reivindicação 53, **caracterizado** pelo fato de que o sistema de eletroporação compreende ainda um dispositivo de inserção definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão visceral.

56. Método, de acordo com a reivindicação 55, **caracterizado** pelo fato de que o sistema de eletroporação compreende

ainda um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento através do pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

57. Método, de acordo com a reivindicação 55, **caracterizado** pelo fato de que o dispositivo de inserção compreende um endoscópio, e em que o aplicador é pelo menos parcialmente flexível.

58. Método, de acordo com a reivindicação 53, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento à lesão visceral.

59. Método, de acordo com a reivindicação 53, **caracterizado** pelo fato de que o sistema de eletroporação compreende ainda pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

60. Método, de acordo com a reivindicação 53, **caracterizado** pelo fato de que o sistema de eletroporação compreende ainda pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão visceral antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

61. Método, de acordo com a reivindicação 60, **caracterizado** pelo fato de que o pelo menos um dispositivo de visualização compreende um scanner de tomografia computadorizada.

62. Método, de acordo com a reivindicação 53, **caracterizado** pelo fato de que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão.

63. Método, de acordo com a reivindicação 62,

caracterizado pelo fato de que os pulsos elétricos têm uma força de campo de 700V/cm ou menos.

64. Método, de acordo com a reivindicação 53, **caracterizado** pelo fato de que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

65. Método, de acordo com a reivindicação 53, **caracterizado** pelo fato de que a administração, ao indivíduo, da dose eficaz do pelo menos um agente de tratamento compreende administrar uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo que codifica uma citocina.

66. Método, de acordo com a reivindicação 65, **caracterizado** pelo fato de que o pelo menos um plasmídeo compreende tavokinogene telseplasmid.

67. Método, de acordo com a reivindicação 65, **caracterizado** pelo fato de que a administração, ao indivíduo, da dose eficaz do pelo menos um agente de tratamento compreende ainda administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint.

68. Método, de acordo com a reivindicação 53, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador compreende ainda uma ponta perfurante, com o método compreendendo ainda:

inserir uma porção do aplicador no estômago do indivíduo;
perfurar a parede do estômago com a ponta perfurante; e
mover a pluralidade de eletrodos da posição retraída para a posição implantada.

69. Sistema para tratar uma lesão visceral no pâncreas de um indivíduo, caracterizado pelo fato de que compreende:

um aplicador compreendendo uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de

eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta ao acionamento pelo atuador; em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída; e

um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, em que o gerador é configurado para liberar um pulso elétrico ao primeiro eletrodo e ao segundo eletrodo para administrar o pulso elétrico à lesão visceral; e

pelo menos um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir ao indivíduo uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento.

70. Sistema, de acordo com a reivindicação 69, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador compreende ainda uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

71. Sistema, de acordo com a reivindicação 69, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda um dispositivo de inserção definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão visceral.

72. Sistema, de acordo com a reivindicação 71, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento através do pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

73. Sistema, de acordo com a reivindicação 71,

caracterizado pelo fato de que o dispositivo de inserção compreende um broncoscópio, e em que o aplicador é pelo menos parcialmente flexível.

74. Sistema, de acordo com a reivindicação 69, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento à lesão visceral.

75. Sistema, de acordo com a reivindicação 69, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

76. Sistema, de acordo com a reivindicação 69, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão visceral antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

77. Sistema, de acordo com a reivindicação 76, **caracterizado** pelo fato de que o pelo menos um dispositivo de visualização compreende um scanner de tomografia computadorizada.

78. Sistema, de acordo com a reivindicação 69, **caracterizado** pelo fato de que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão.

79. Sistema, de acordo com a reivindicação 78, **caracterizado** pelo fato de que os pulsos elétricos têm uma força de campo de 700V/cm ou menos.

80. Sistema, de acordo com a reivindicação 69, **caracterizado** pelo fato de que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

81. Sistema, de acordo com a reivindicação 69,

caracterizado pelo fato de que o aplicador compreende ainda uma ponta perfurante configurada para perfurar a parede do estômago do indivíduo para administrar pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou o pulso elétrico na ou próximo à lesão visceral no pâncreas.

82. Método de tratamento de uma lesão de um indivíduo, caracterizado pelo fato de que compreende:

administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento;

administrar terapia de eletroporação à lesão, com a terapia de eletroporação compreendendo a administração de um pulso elétrico à lesão usando um sistema de eletroporação compreendendo:

um aplicador compreendendo uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo tendo uma primeira ponta e um segundo eletrodo tendo uma segunda ponta; e

um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos,

em que a administração do pulso elétrico à lesão compreende dispor o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo dentro ou adjacente à lesão, e liberar o pulso elétrico do gerador para o primeiro eletrodo e para o segundo eletrodo.

83. Método, de acordo com a reivindicação 82, **caracterizado** pelo fato de que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada, e em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída.

84. Método, de acordo com a reivindicação 83, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador compreende ainda uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de

controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

85. Método, de acordo com a reivindicação 82, **caracterizado** pelo fato de que o sistema de eletroporação compreende ainda um dispositivo de inserção definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão.

86. Método, de acordo com a reivindicação 85, **caracterizado** pelo fato de que o sistema de eletroporação compreende ainda um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento através do pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

87. Método, de acordo com a reivindicação 85, **caracterizado** pelo fato de que o dispositivo de inserção compreende um endoscópio, e em que o aplicador é pelo menos parcialmente flexível.

88. Método, de acordo com a reivindicação 85, **caracterizado** pelo fato de que o dispositivo de inserção compreende um trocarte, e em que o aplicador é substancialmente rígido.

89. Método, de acordo com a reivindicação 82, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento à lesão.

90. Método, de acordo com a reivindicação 82, **caracterizado** pelo fato de que o sistema de eletroporação compreende ainda pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo

menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

91. Método, de acordo com a reivindicação 82, **caracterizado** pelo fato de que o sistema de eletroporação compreende ainda pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou a terapia de eletroporação.

92. Método, de acordo com a reivindicação 82, **caracterizado** pelo fato de que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão.

93. Método, de acordo com a reivindicação 92, **caracterizado** pelo fato de que os pulsos elétricos têm uma força de campo de 700V/cm ou menos.

94. Método, de acordo com a reivindicação 82, **caracterizado** pelo fato de que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

95. Método, de acordo com a reivindicação 82, **caracterizado** pelo fato de que o tratamento da lesão compreende administrar uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo que codifica uma citocina.

96. Método, de acordo com a reivindicação 95, **caracterizado** pelo fato de que a citocina compreende IL-12.

97. Método, de acordo com a reivindicação 95, **caracterizado** pelo fato de que o pelo menos um plasmídeo compreende tavokinogene telseplasmid.

98. Método, de acordo com a reivindicação 95, **caracterizado** pelo fato de que o tratamento da lesão compreende ainda administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint.

99. Método, de acordo com a reivindicação 82, **caracterizado** pelo fato de que o agente de tratamento compreende pelo menos um plasmídeo que codifica um polipeptídeo imunomodulador.

100. Método, de acordo com a reivindicação 99, **caracterizado** pelo fato de que o polipeptídeo imunomodulador compreende: uma citocina, uma molécula coestimuladora, um adjuvante genético, um antígeno, um polipeptídeo de fusão de adjuvante genético-antígeno, uma quimiocina ou um polipeptídeo de ligação a antígeno.

101. Método, de acordo com a reivindicação 100, **caracterizado** pelo fato de que o polipeptídeo imunomodulador compreende: CXCL9, scFv anti-CD3 ou scFv anti-CTLA.

102. Sistema para tratar uma lesão de um indivíduo, caracterizado pelo fato de que compreende:

um aplicador compreendendo uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo tendo uma primeira ponta e um segundo eletrodo tendo uma segunda ponta; e

um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, em que o gerador é configurado para liberar um pulso elétrico ao primeiro eletrodo e ao segundo eletrodo para administrar o pulso elétrico à lesão; e

pelo menos um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir ao indivíduo uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento.

103. Sistema, de acordo com a reivindicação 102, **caracterizado** pelo fato de que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada, e em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do

que na posição retraída.

104. Sistema, de acordo com a reivindicação 103, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador compreende ainda uma porção de controle; um tubo de inserção conectado à porção de controle; e um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e o tubo de inserção faz com que a pluralidade de eletrodos se mova entre a posição retraída e a posição implantada.

105. Sistema, de acordo com a reivindicação 102, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda um dispositivo de inserção definindo pelo menos um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do aplicador é configurada para passar através do pelo menos um canal de trabalho para acessar a lesão.

106. Sistema, de acordo com a reivindicação 105, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento através do pelo menos um canal de trabalho do dispositivo de inserção.

107. Sistema, de acordo com a reivindicação 105, **caracterizado** pelo fato de que o dispositivo de inserção compreende um endoscópio, e em que o aplicador é pelo menos parcialmente flexível.

108. Sistema, de acordo com a reivindicação 105, **caracterizado** pelo fato de que o dispositivo de inserção compreende um trocarte, e em que o aplicador é substancialmente rígido.

109. Sistema, de acordo com a reivindicação 102, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador define ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para distribuir o pelo menos um agente de tratamento à lesão.

110. Sistema, de acordo com a reivindicação 102,

caracterizado pelo fato de que compreende ainda pelo menos um braço robótico acoplado ao aplicador para controlar uma posição do aplicador durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou o pulso elétrico.

111. Sistema, de acordo com a reivindicação 102, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda pelo menos um dispositivo de visualização configurado para gerar imagens da lesão antes ou durante a administração de pelo menos um dentre o pelo menos um agente de tratamento ou o pulso elétrico.

112. Sistema, de acordo com a reivindicação 111, **caracterizado** pelo fato de que o pelo menos um dispositivo de visualização compreende um scanner de tomografia computadorizada.

113. Sistema, de acordo com a reivindicação 102, **caracterizado** pelo fato de que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de baixa tensão.

114. Sistema, de acordo com a reivindicação 113, **caracterizado** pelo fato de que os pulsos elétricos têm uma força de campo de 700V/cm ou menos.

115. Sistema, de acordo com a reivindicação 102, **caracterizado** pelo fato de que o gerador é configurado para emitir pulsos elétricos de alta tensão.

116. Sistema, de acordo com a reivindicação 102, **caracterizado** pelo fato de que o tratamento da lesão compreende a distribuição de uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo que codifica uma citocina.

117. Sistema, de acordo com a reivindicação 116, **caracterizado** pelo fato de que o pelo menos um plasmídeo compreende tavokinogene telseplasmid.

118. Sistema, de acordo com a reivindicação 116, **caracterizado** pelo fato de que a distribuição, à lesão, da dose eficaz

do pelo menos um agente de tratamento compreende ainda administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint.

119. Sistema, de acordo com a reivindicação 102, **caracterizado** pelo fato de que o agente de tratamento compreende pelo menos um plasmídeo que codifica um polipeptídeo imunomodulador.

120. Sistema, de acordo com a reivindicação 119, **caracterizado** pelo fato de que o polipeptídeo imunomodulador compreende: uma citocina, uma molécula coestimuladora, um adjuvante genético, um antígeno, um polipeptídeo de fusão de adjuvante genético-antígeno, uma quimiocina ou um polipeptídeo de ligação a antígeno.

121. Sistema, de acordo com a reivindicação 120, **caracterizado** pelo fato de que o polipeptídeo imunomodulador compreende: CXCL9, scFv anti-CD3 ou scFv anti-CTLA-4.

122. Aplicador para eletroporação, **caracterizado** pelo fato de que compreende:

- uma porção de controle;

- um tubo de inserção conectado à porção de controle;

- um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e ao tubo de inserção; e

- uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta ao acionamento pelo atuador;

- em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída.

123. Aplicador, de acordo com a reivindicação 122, **caracterizado** pelo fato de que a primeira ponta e a segunda ponta são recuadas inteiramente dentro do tubo de inserção na posição retraída, e em que pelo menos a primeira ponta e a segunda ponta são configuradas para se estender a partir do tubo de inserção para dentro do tecido adjacente na posição implantada.

124. Aplicador, de acordo com a reivindicação 122, **caracterizado** pelo fato de que, na posição implantada, a distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior que um diâmetro externo de uma extremidade distal do tubo de inserção.

125. Aplicador, de acordo com a reivindicação 122, **caracterizado** pelo fato de que o tubo de inserção compreende um primeiro canal angular e um segundo canal angular definido em uma extremidade distal do tubo de inserção,

em que o primeiro canal angular e o segundo canal angular são, cada um, orientados em ângulos agudos em relação a um eixo longitudinal do tubo de inserção,

em que o primeiro eletrodo é configurado para se estender, pelo menos parcialmente, através do primeiro canal angular na posição implantada,

em que o segundo eletrodo é configurado para se estender, pelo menos parcialmente, através do segundo canal angular na posição implantada,

em que, na posição retraída, o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo são dispostos paralelos um ao outro dentro do tubo de inserção, e

em que, na posição implantada, pelo menos uma porção do primeiro eletrodo e pelo menos uma porção do segundo eletrodo são dispostas nos respectivos ângulos agudos do primeiro canal angular e

do segundo canal angular.

126. Aplicador, de acordo com a reivindicação 122, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda:

um balão acoplado ao primeiro eletrodo e o segundo eletrodo, sendo que o balão é disposto inteiramente dentro do tubo de inserção na posição retraída, e sendo que o balão é disposto, pelo menos parcialmente, fora do tubo de inserção na posição implantada.

127. Aplicador, de acordo com a reivindicação 122, **caracterizado** pelo fato de que pelo menos uma porção do primeiro eletrodo e do segundo eletrodo compreende nitinol, em que o nitinol é configurado para mudar de forma no caso em que a pluralidade de eletrodos estiver na posição implantada, e em que o nitinol é configurado para mudar de forma acima da temperatura corporal humana.

128. Aplicador, de acordo com a reivindicação 122, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda uma luva de nitinol fixada a cada um dentre o primeiro eletrodo e um segundo eletrodo, em que o nitinol é configurado para mudar de forma no caso em que a pluralidade de eletrodos estiver na posição implantada, e em que o nitinol é configurado para mudar de forma acima da temperatura corporal humana.

129. Aplicador, de acordo com a reivindicação 122, **caracterizado** pelo fato de que o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo são não lineares.

130. Aplicador, de acordo com a reivindicação 122, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda:

um transportador disposto de forma móvel, pelo menos parcialmente, dentro do tubo de inserção, em que o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo são, cada um, dispostos, pelo menos parcialmente, dentro do transportador, em que o transportador define uma primeira

porção associada ao primeiro eletrodo e uma segunda porção associada ao segundo eletrodo, e em que a primeira porção e a segunda porção são configuradas para se expandir radialmente longe uma da outra quando se movem da posição retraída para a posição expandida.

131. Aplicador, de acordo com a reivindicação 130, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda um membro interno configurado para receber uma força do atuador para expandir a primeira porção e a segunda porção do transportador radialmente para fora.

132. Aplicador, de acordo com a reivindicação 130, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda uma mola disposta entre a primeira porção e a segunda porção, em que a mola é configurada para expandir a primeira porção e a segunda porção do transportador radialmente para fora.

133. Aplicador, de acordo com a reivindicação 122, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda um canal de aplicação de fármaco configurado para conectar, de forma fluida, um dispositivo de aplicação de fármaco a um sítio alvo através do tubo de inserção do aplicador.

134. Aplicador, de acordo com a reivindicação 133, **caracterizado** pelo fato de que o atuador é configurado para deslocar o canal de aplicação de fármaco em direção ao sítio alvo.

135. Aplicador, de acordo com a reivindicação 134, **caracterizado** pelo fato de que o canal de aplicação de fármaco é configurado para se mover entre uma posição retraída do canal de aplicação de fármaco e a posição implantada do canal de aplicação de fármaco simultaneamente com a pluralidade de eletrodos em resposta ao acionamento pelo atuador.

136. Aplicador, de acordo com a reivindicação 122, **caracterizado** pelo fato de que o tubo de inserção define uma ponta

perfurante em uma extremidade distal.

137. Aplicador, de acordo com a reivindicação 122, **caracterizado** pelo fato de que o tubo de inserção compreende uma porção flexível, em que a porção flexível é configurada para guiar uma extremidade distal do tubo de inserção.

138. Aplicador, de acordo com a reivindicação 137, **caracterizado** pelo fato de que o tubo de inserção compreende uma porção rígida, em que a porção rígida é disposta entre a extremidade distal do tubo de inserção e a porção de controle do aplicador, em que o aplicador compreende pelo menos um cabo disposto dentro do tubo de inserção, e em que o pelo menos um cabo é fixado ao aplicador entre a extremidade distal do tubo de inserção e a porção rígida para guiar a extremidade distal do tubo de inserção.

139. Sistema para eletroporação, **caracterizado** pelo fato de que compreende:

- um aplicador compreendendo:

- uma porção de controle;

- um tubo de inserção conectado à porção de controle;

- um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e ao tubo de inserção; e

- uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta ao acionamento pelo atuador;

- em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída

- um dispositivo de inserção definindo um canal de trabalho,

em que pelo menos uma porção do tubo de inserção do aplicador é configurada para passar através do canal de trabalho;

um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, em que o gerador é configurado para distribuir sinais elétricos para a pluralidade de eletrodos; e

um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para administrar um ou mais agentes de tratamento através do canal de trabalho do dispositivo de inserção.

140. Sistema, de acordo com a reivindicação 139, **caracterizado** pelo fato de que, na posição implantada, a distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior que um diâmetro interno do canal de trabalho.

141. Sistema, de acordo com a reivindicação 139, **caracterizado** pelo fato de que, na posição retraída, a porção do tubo de inserção e a pluralidade de eletrodos são configuradas para passar através do canal de trabalho do dispositivo de inserção.

142. Sistema, de acordo com a reivindicação 139, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda um processador configurado para fazer com que o gerador transmita sinais elétricos para o primeiro eletrodo e para o segundo eletrodo e receba sinais elétricos indicativos de uma impedância de um tecido disposto entre o primeiro eletrodo e o segundo eletrodo.

143. Sistema, de acordo com a reivindicação 139, **caracterizado** pelo fato de que o dispositivo de inserção compreende um endoscópio.

144. Sistema, de acordo com a reivindicação 143, **caracterizado** pelo fato de que o endoscópio compreende um broncoscópio.

145. Sistema, de acordo com a reivindicação 139, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador compreende ainda um canal

de aplicação de fármaco configurado para conectar, de forma fluida, um dispositivo de aplicação de fármaco a um sítio alvo através do tubo de inserção do aplicador.

146. Sistema, de acordo com a reivindicação 145, **caracterizado** pelo fato de que o atuador é configurado para deslocar o canal de aplicação de fármaco em direção ao sítio alvo.

147. Sistema, de acordo com a reivindicação 146, **caracterizado** pelo fato de que o canal de aplicação de fármaco é configurado para se mover entre uma posição retraída do canal de aplicação de fármaco e a posição implantada do canal de aplicação de fármaco simultaneamente com a pluralidade de eletrodos em resposta ao acionamento pelo atuador.

148. Sistema, de acordo com a reivindicação 139, **caracterizado** pelo fato de que o tubo de inserção compreende uma porção flexível, em que a porção flexível é configurada para guiar uma extremidade distal do tubo de inserção.

149. Sistema, de acordo com a reivindicação 148, **caracterizado** pelo fato de que o tubo de inserção compreende uma porção rígida, em que a porção rígida é disposta entre a extremidade distal do tubo de inserção e a porção de controle do aplicador, em que o aplicador compreende pelo menos um cabo disposto dentro do tubo de inserção, e em que o pelo menos um cabo é fixado ao aplicador entre a extremidade distal do tubo de inserção e a porção rígida para guiar a extremidade distal do tubo de inserção.

150. Sistema, de acordo com a reivindicação 139, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador compreende um canal de aplicação de fármaco, e em que o dispositivo de aplicação de fármaco é configurado para distribuir o um ou mais agentes de tratamento através do canal de aplicação de fármaco.

151. Método de tratamento de um tumor, caracterizado

pelo fato de que compreende:

inserir um dispositivo de inserção em um paciente até que uma extremidade distal do dispositivo de inserção seja disposta adjacente a um sítio alvo;

inserir um tubo de inserção de um aplicador no canal de trabalho do dispositivo de inserção, de modo que uma extremidade distal do tubo de inserção, incluindo uma pluralidade de eletrodos, seja posicionada adjacente ao sítio alvo;

administrar um agente de tratamento a partir de um dispositivo de aplicação de fármaco no sítio alvo através de um canal de trabalho do dispositivo de inserção;

liberar um ou mais pulsos elétricos de um gerador para os eletrodos para eletroporar o tecido no sítio alvo; e

remover o aplicador e o dispositivo de inserção do paciente.

152. Método, de acordo com a reivindicação 151, **caracterizado** pelo fato de que a administração de um agente de tratamento compreende inserir uma porção do dispositivo de aplicação de fármaco no canal de trabalho do dispositivo de inserção, de modo que a porção do dispositivo de aplicação de fármaco fique posicionada adjacente ao sítio alvo; e

em que o método compreende ainda remover a porção do dispositivo de aplicação de fármaco do dispositivo de inserção.

153. Método, de acordo com a reivindicação 151, **caracterizado** pelo fato de que a inserção do tubo de inserção do aplicador no canal de trabalho compreende ainda posicionar um canal de aplicação de fármaco adjacente ao sítio alvo.

154. Método, de acordo com a reivindicação 153, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda acionar o aplicador para mover a pluralidade de eletrodos e o canal de aplicação de fármaco para uma posição implantada após inserir o tubo de inserção e antes de

administrar o agente de tratamento ou distribuir o um ou mais pulsos elétricos.

155. Método de tratamento de um indivíduo com um tumor, **caracterizado** pelo fato de que compreende:

a) administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de um agente de tratamento; e

b) administrar terapia de eletroporação ao tumor, com a terapia de eletroporação compreendendo a administração de um pulso elétrico ao tumor usando o sistema como definido em qualquer uma das reivindicações 102 a 121 ou 139 a 150.

156. Método, de acordo com a reivindicação 155, **caracterizado** pelo fato de que o agente de tratamento é administrado através de um dispositivo de aplicação de fármaco do aplicador.

157. Método, de acordo com a reivindicação 155, **caracterizado** pelo fato de que o agente de tratamento compreende um vetor de expressão que codifica um polipeptídeo terapêutico.

158. Método, de acordo com a reivindicação 157, **caracterizado** pelo fato de que o vetor de expressão codifica um ou mais dentre: polipeptídeo coestimulador, polipeptídeo imunomodulador, citocina imunoestimuladora, inibidor de checkpoint, adjuvante, antígeno, polipeptídeo de fusão de adjuvante genético-antígeno, quimiocina, ou polipeptídeos de ligação a antígeno.

159. Método, de acordo com a reivindicação 158, **caracterizado** pelo fato de que a molécula coestimuladora é selecionada do grupo consistindo em: agonistas de GITR, CD137, CD134, CD40L e CD27.

160. Método, de acordo com a reivindicação 158, **caracterizado** pelo fato de que o vetor de expressão codifica um polipeptídeo compreendendo CXCL9, scFv anti-CD3 ou scFv anti-CTLA-4.

161. Método, de acordo com a reivindicação 158, **caracterizado** pelo fato de que a citocina imunoestimuladora é selecionada do grupo consistindo em: $\text{TNF}\alpha$, IL-1, IL-10, IL-12, IL-12 p35, IL-12 p40, IL-15, IL-15R α , IL-23, IL-27, IFN α , IFN β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-21, TGF β , e uma combinação de quaisquer dois dentre $\text{TNF}\alpha$, IL-1, IL-10, IL-12, IL-12 p35, IL-12 p40, IL-15, IL-15R α , IL-23, IL-27, IFN α , IFN β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-21, TGF β .

162. Método, de acordo com a reivindicação 155, **caracterizado** pelo fato de que o método compreende ainda administrar uma dose eficaz de um inibidor de checkpoint ao indivíduo.

163. Método, de acordo com a reivindicação 162, **caracterizado** pelo fato de que o inibidor de checkpoint é administrado sistemicamente.

164. Método, de acordo com a reivindicação 162, **caracterizado** pelo fato de que o inibidor de checkpoint é codificado no vetor de expressão que codifica uma citocina imunoestimuladora ou em um segundo vetor de expressão e distribuído ao tumor canceroso pela terapia de eletroporação.

165. Método, de acordo com a reivindicação 162, **caracterizado** pelo fato de que o inibidor de checkpoint é administrado antes, concomitantemente com e/ou subsequentemente à eletroporação da citocina imunoestimuladora.

166. Método, de acordo com a reivindicação 157, **caracterizado** pelo fato de que o vetor de expressão compreende:

- a) P – A – T – C,
- b) P – A – T – B – T – C, ou
- c) P – C – T – A – T – B

em que P é um promotor, T é um elemento modificador da tradução, A codifica uma molécula imunomoduladora, uma cadeia de uma molécula imunoestimuladora ou uma molécula coestimuladora, B

codifica uma molécula imunomoduladora, uma cadeia de uma molécula imunomoduladora ou uma molécula coestimuladora, e C codifica uma molécula imunomoduladora, cadeia de uma molécula imunomoduladora, uma molécula coestimuladora, adjuvante genético, antígeno, um polipeptídeo de fusão de adjuvante genético-antígeno, quimiocina, ou polipeptídeo de ligação a antígeno.

167. Método, de acordo com a reivindicação 166, **caracterizado** pelo fato de que o vetor de expressão codifica um polipeptídeo compreendendo CXCL9, scFv anti-CD3 ou scFv anti-CTLA-4.

168. Método, de acordo com a reivindicação 157, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda perfurar um tecido com uma extremidade distal do aplicador para acessar o tumor.

169. Método de redução da recorrência do crescimento de células tumorais em um tecido de mamífero, caracterizado pelo fato de que compreende:

a) administrar um agente de tratamento ao tumor e/ou a um tecido da margem tumoral;

b) administrar terapia de eletroporação ao tumor e/ou ao tecido da margem tumoral usando um gerador e o aplicador como definido em qualquer uma das reivindicações 102 a 150.

170. Método, de acordo com a reivindicação 169, **caracterizado** pelo fato de que a administração de um agente de tratamento compreende injetar um vetor de expressão que codifica o agente de tratamento no tumor e/ou em um tecido da margem tumoral.

171. Método, de acordo com a reivindicação 169, **caracterizado** pelo fato de que a terapia de eletroporação é administrada antes ou após a ressecção cirúrgica ou ablação do tumor.

172. Método, de acordo com a reivindicação 169, **caracterizado** pelo fato de que o gerador compreende um gerador de

baixa tensão.

173. Método, de acordo com a reivindicação 172, **caracterizado** pelo fato de que a terapia de eletroporação é administrada usando o gerador de baixa tensão que produz um campo elétrico de 400V/cm ou menos.

174. Método, de acordo com a reivindicação 169, **caracterizado** pelo fato de que o gerador compreende um gerador de alta tensão.

175. Método de tratamento de um indivíduo com um tumor, **caracterizado** pelo fato de que compreende:

administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento à base de DNA;

transfectar o pelo menos um agente de tratamento à base de DNA em uma pluralidade de células do tumor usando um aplicador de eletroporação e um gerador;

em que o gerador é configurado para aplicar pulsos de eletroporação de baixa tensão ao tumor através do aplicador de eletroporação; e

em que 8-10% do pelo menos um agente de tratamento à base de DNA são transfectados nas células do tumor.

176. Método, de acordo com a reivindicação 175, **caracterizado** pelo fato de que o aplicador compreende:

uma porção de controle;

um tubo de inserção conectado à porção de controle;

um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e ao tubo de inserção; e

uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para

mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta ao acionamento pelo atuador;

em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída.

177. Método, de acordo com a reivindicação 176, **caracterizado** pelo fato de que o gerador é eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, e o gerador é configurado para distribuir sinais elétricos para a pluralidade de eletrodos.

178. Método, de acordo com a reivindicação 175, **caracterizado** pelo fato de que cada pulso de eletroporação de baixa tensão define uma duração de 1ms ou mais.

179. Método, de acordo com a reivindicação 178, **caracterizado** pelo fato de que cada pulso de eletroporação de baixa tensão define uma duração de 0,5ms a 1s.

180. Método, de acordo com a reivindicação 175, **caracterizado** pelo fato de que os pulsos de eletroporação de baixa tensão compreendem uma tensão de 600V ou menos.

181. Método, de acordo com a reivindicação 180, **caracterizado** pelo fato de que os pulsos de eletroporação de baixa tensão compreendem uma tensão de 600V a 5V.

182. Método, de acordo com a reivindicação 175, **caracterizado** pelo fato de que os pulsos de eletroporação de baixa tensão compreendem um campo de 700V/cm ou menos.

183. Método de tratamento de um indivíduo com um tumor, **caracterizado** pelo fato de que compreende:

administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um agente de tratamento à base de DNA;

transfectar o pelo menos um agente de tratamento à base de DNA em uma pluralidade de células do tumor usando um aplicador de

eletroporação e um gerador;

em que o gerador é configurado para aplicar pulsos de eletroporação de alta tensão ao tumor através do aplicador de eletroporação; e

em que 8-10% do pelo menos um agente de tratamento à base de DNA são transfectados nas células do tumor.

184. Método de aumento da responsividade à terapia com inibidor de checkpoint em um indivíduo, **caracterizado** pelo fato de que compreende:

injetar um tumor no indivíduo com uma dose eficaz de pelo menos um plasmídeo codificador de uma citocina; e

administrar terapia de eletroporação ao tumor.

185. Método, de acordo com a reivindicação 184, **caracterizado** pelo fato de que o tumor se localiza no fígado.

186. Método, de acordo com a reivindicação 185, **caracterizado** pelo fato de que o tumor é carcinoma hepatocelular.

187. Método, de acordo com a reivindicação 185, **caracterizado** pelo fato de que a citocina é selecionada do grupo consistindo em: TNF α , IL-1, IL-10, IL-12, IL-12 p35, IL-12 p40, IL-15, IL-15R α , IL-23, IL-27, IFN α , IFN β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-21, TGF β , e uma combinação de quaisquer dois dentre TNF α , IL-1, IL-10, IL-12, IL-12 p35, IL-12 p40, IL-15, IL-15R α , IL-23, IL-27, IFN α , IFN β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-21, TGF β .

188. Método, de acordo com a reivindicação 184, **caracterizado** pelo fato de que a citocina é IL-12.

189. Método, de acordo com a reivindicação 184, **caracterizado** pelo fato de que o indivíduo teve, tem, ou possui prognóstico de baixa responsividade ou nenhuma responsividade à terapia com inibidor de checkpoint.

190. Método, de acordo com a reivindicação 184,

caracterizado pelo fato de que a modulação da terapia com inibidor de checkpoint compreendia ainda administrar, ao indivíduo, uma dose eficaz de pelo menos um inibidor de checkpoint.

191. Sistema baseado em trocarte para eletroporação, **caracterizado** pelo fato de que compreende:

- um aplicador compreendendo:

- uma porção de controle;

- um tubo de inserção conectado à porção de controle;

- um atuador acoplado à porção de controle, em que pelo menos uma porção do atuador é móvel em relação à porção de controle e ao tubo de inserção; e

- uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo com uma primeira ponta e um segundo eletrodo com uma segunda ponta, em que a pluralidade de eletrodos é configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta ao acionamento pelo atuador;

- em que uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo é maior na posição implantada do que na posição retraída

- um trocarte definindo um canal de trabalho, em que pelo menos uma porção do tubo de inserção do aplicador é configurada para passar através do canal de trabalho;

- um gerador eletricamente conectado à pluralidade de eletrodos, em que o gerador é configurado para distribuir sinais elétricos para a pluralidade de eletrodos; e

- um dispositivo de aplicação de fármaco configurado para administrar um ou mais agentes de tratamento através do canal de trabalho do trocarte.

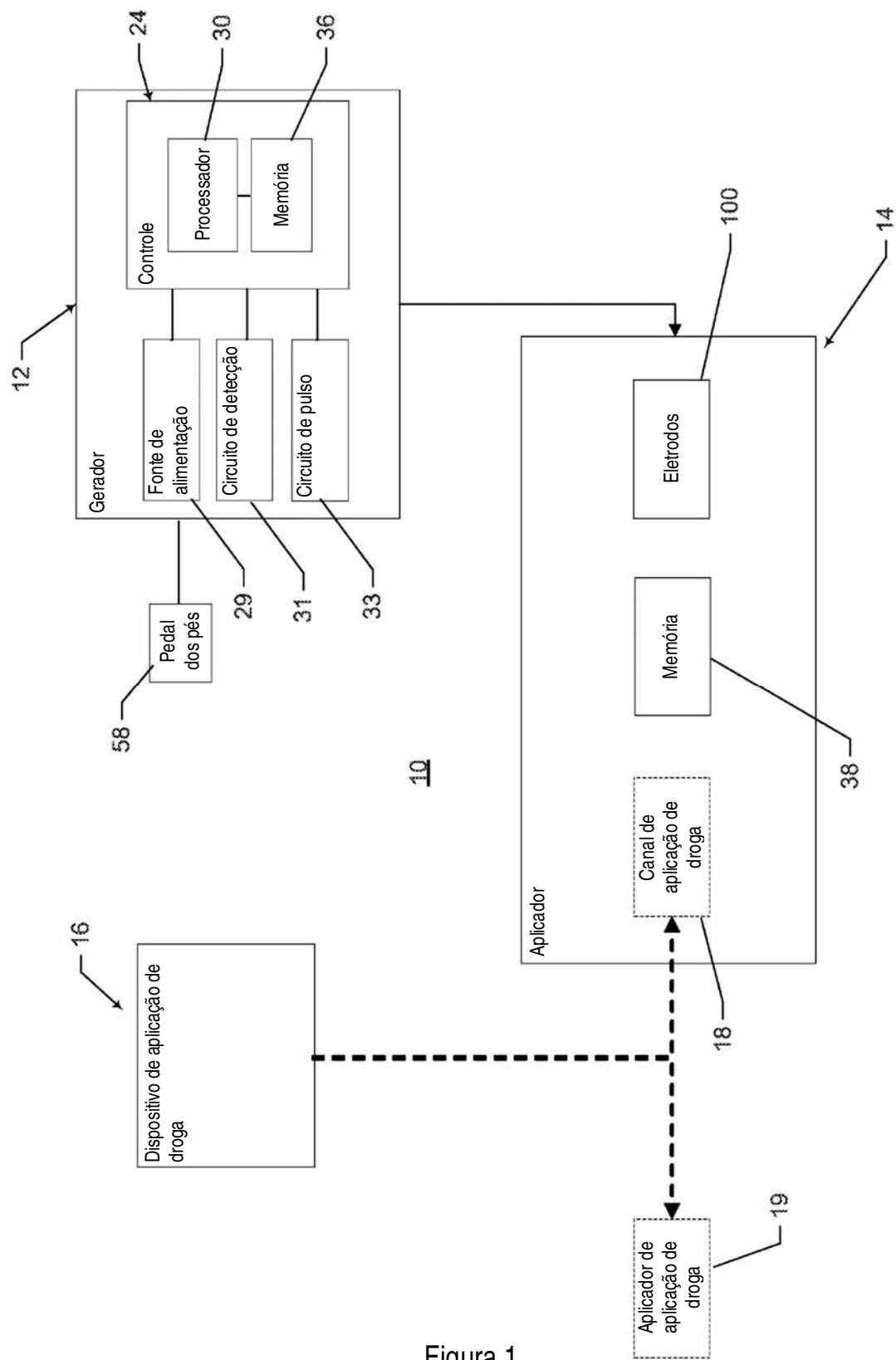


Figura 1

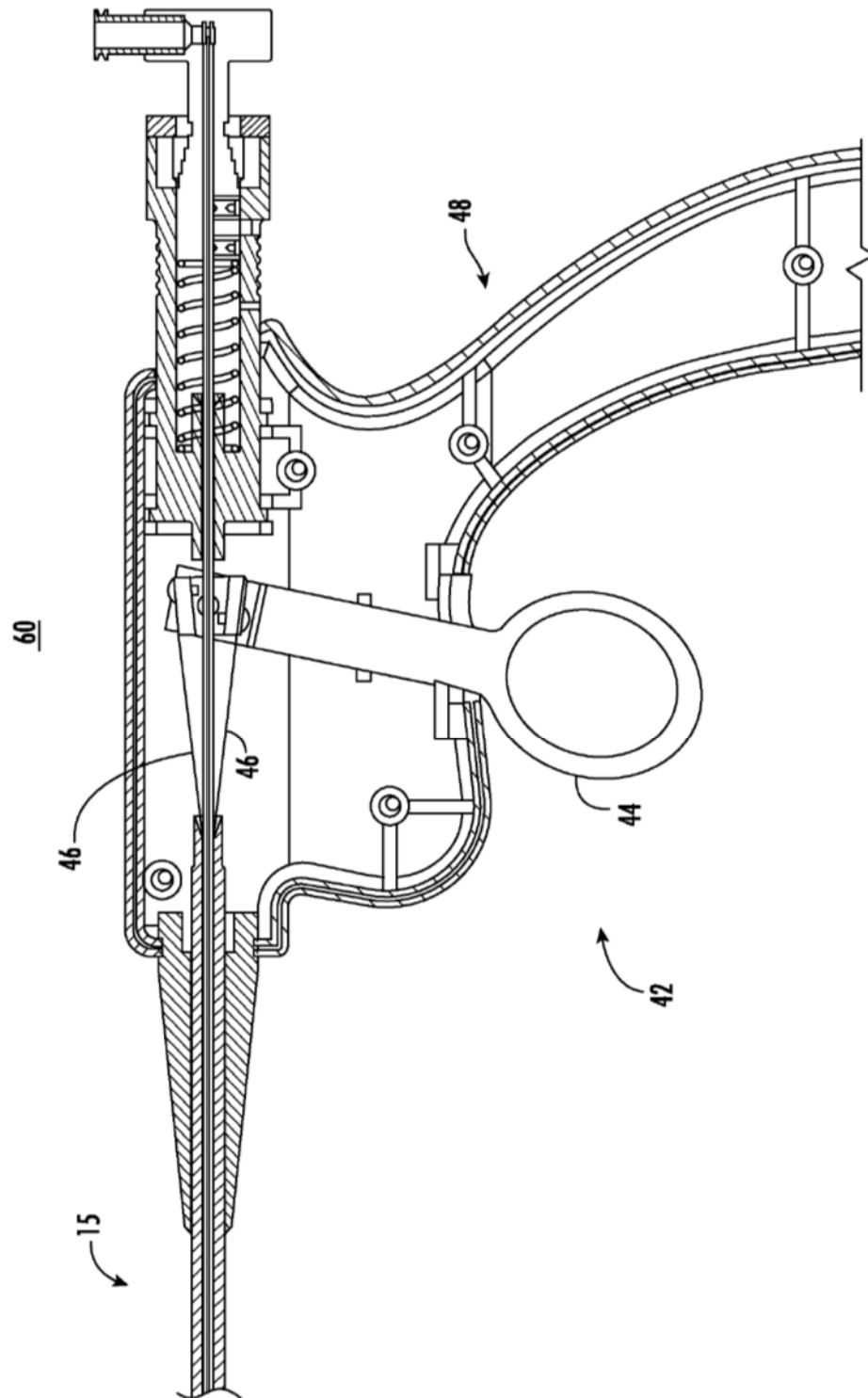


Figura 2

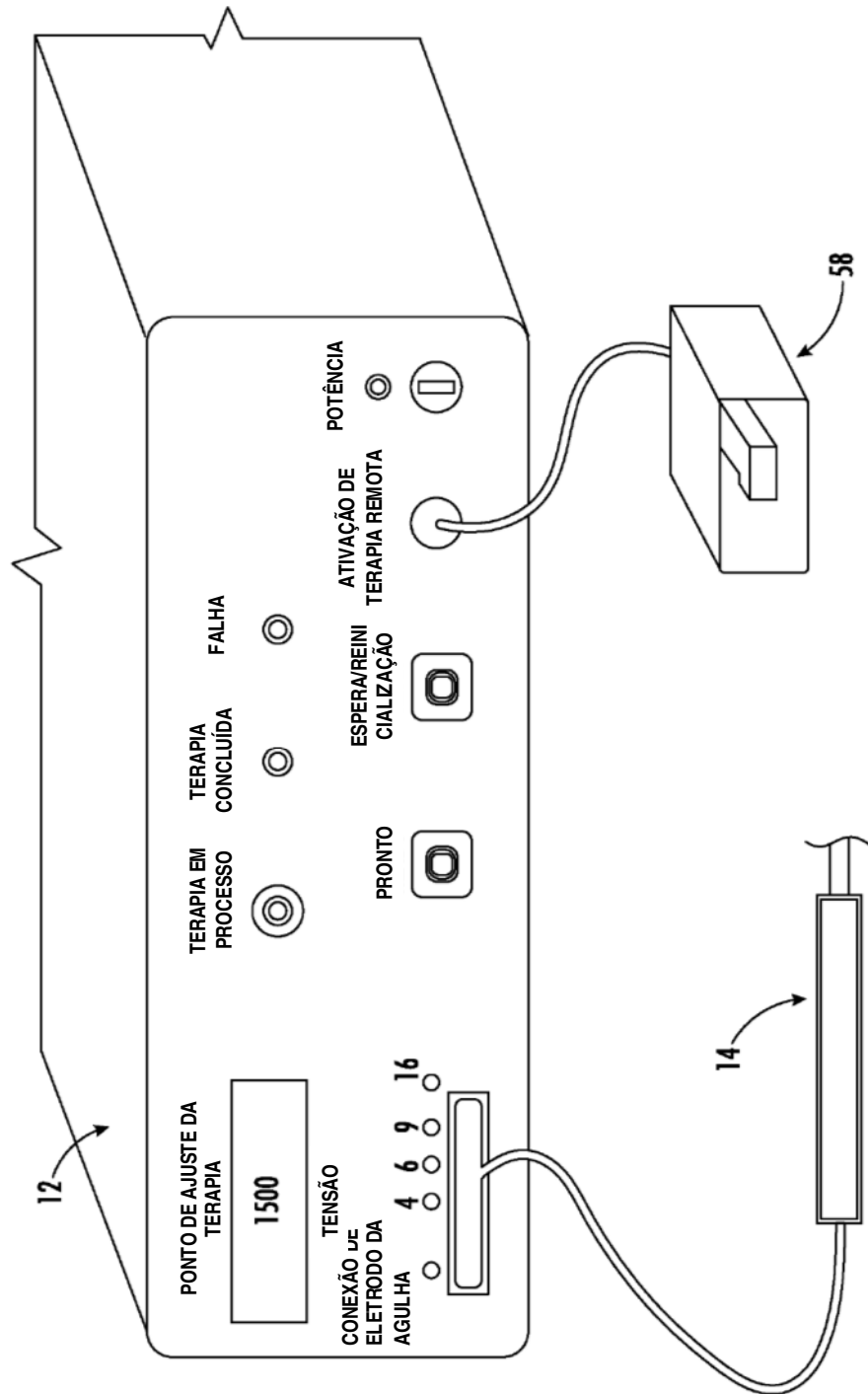


Figura 3

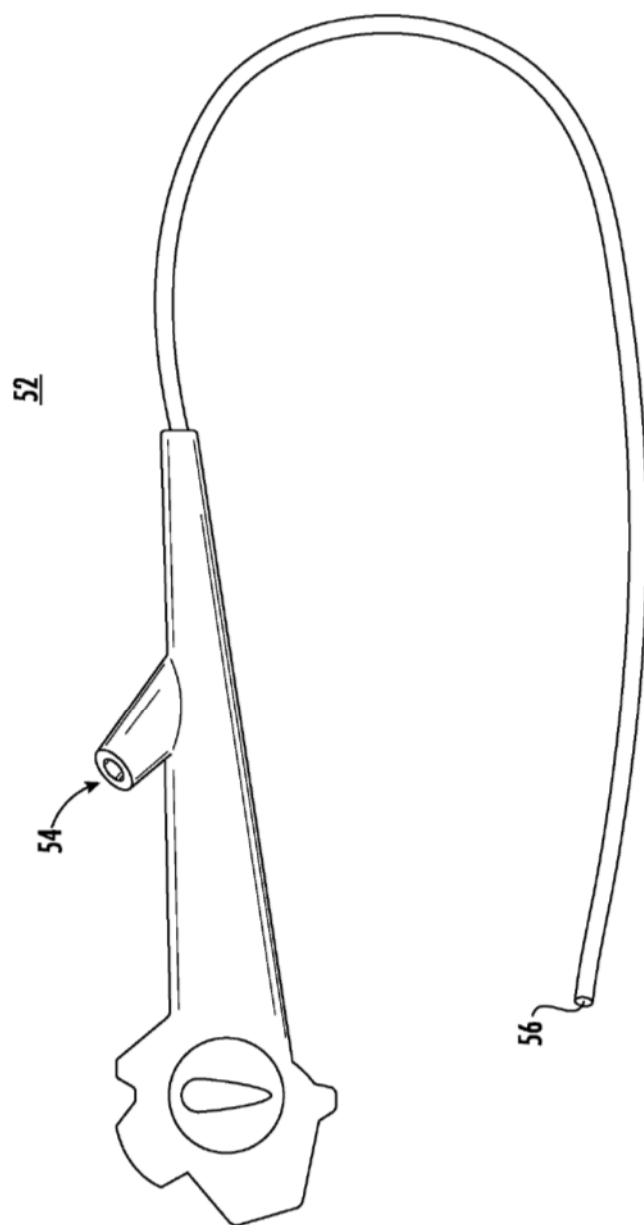


Figura 4

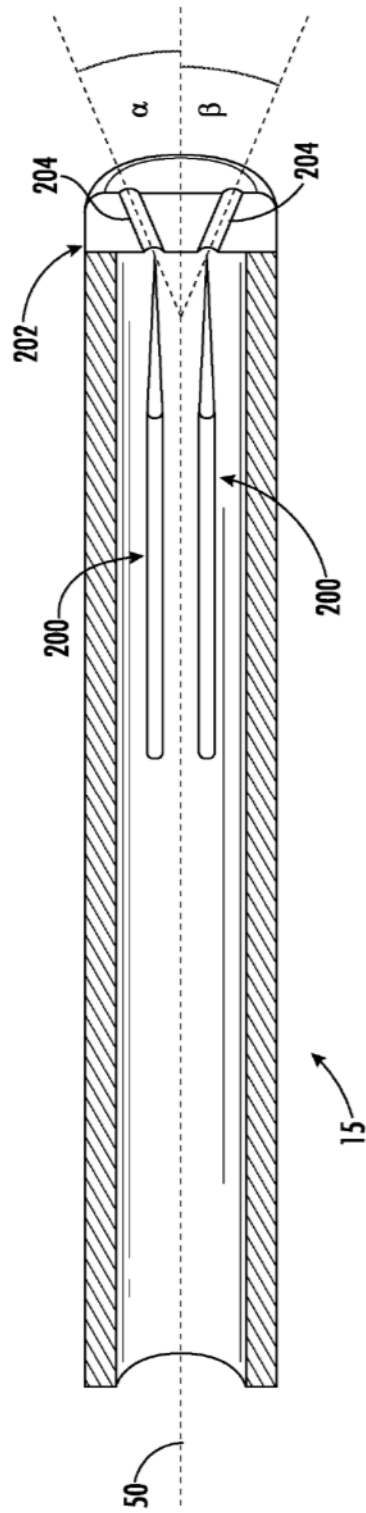


Figura 5

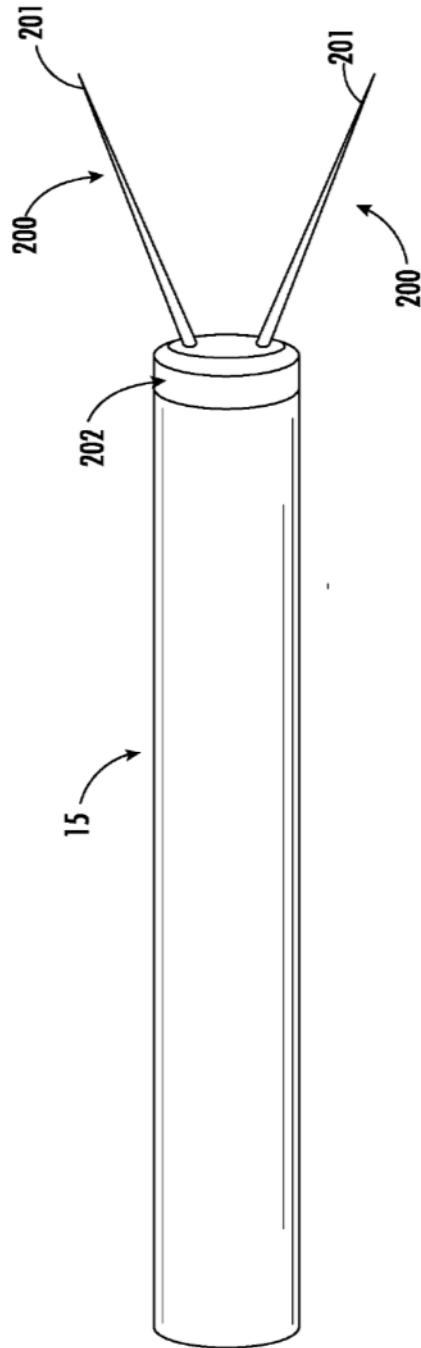


Figura 6

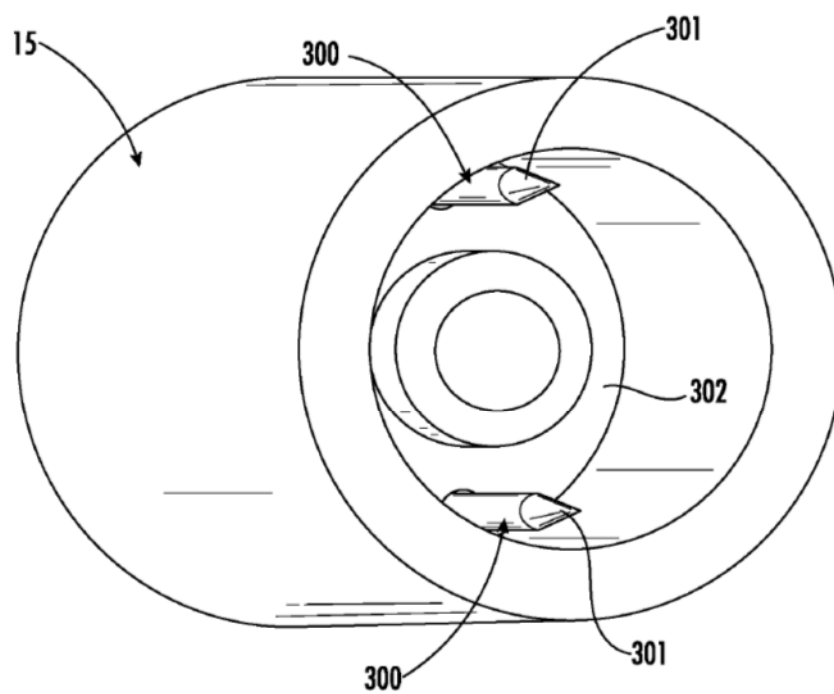


Figura 7

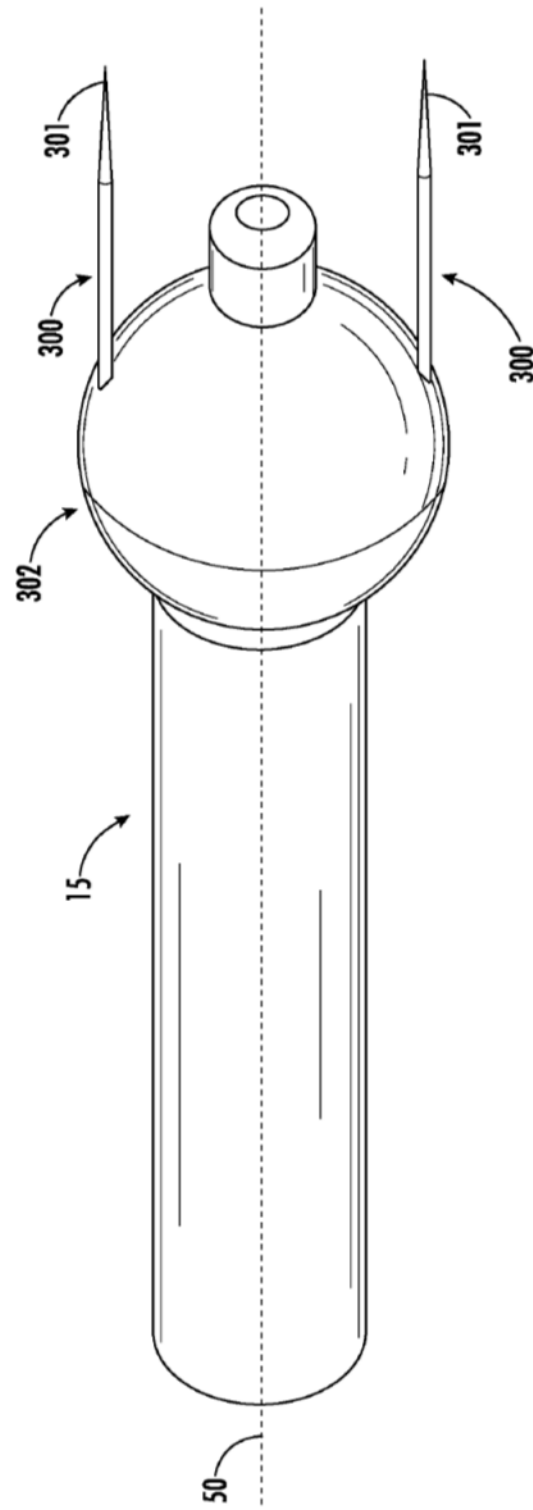


Figura 8

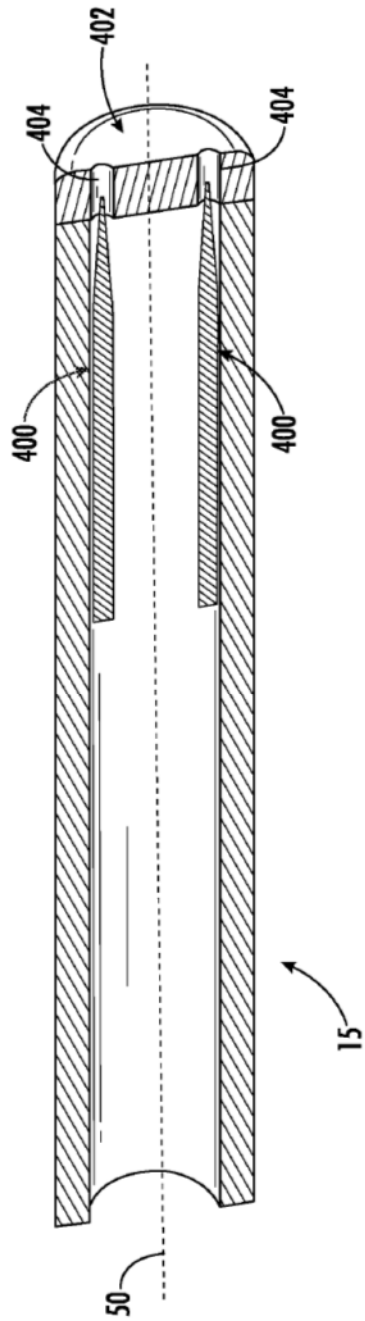


Figura 9

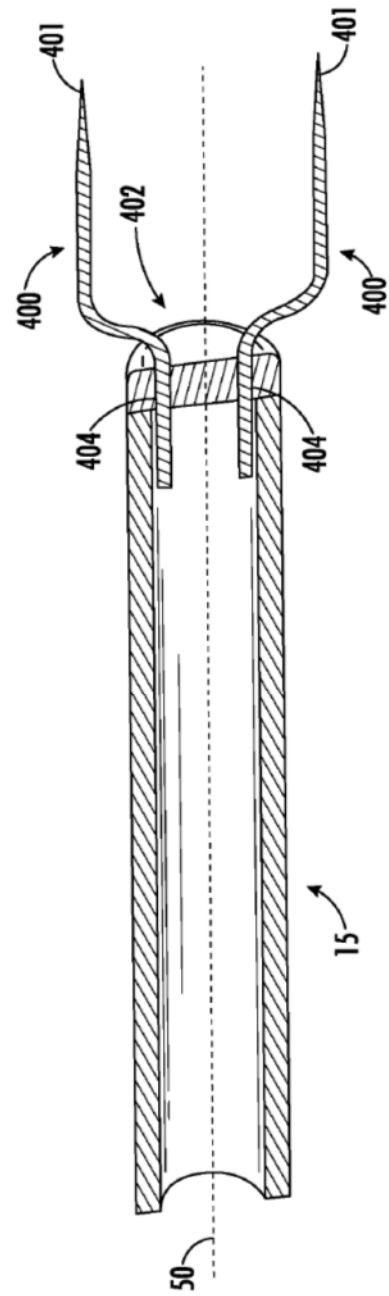


Figura 10

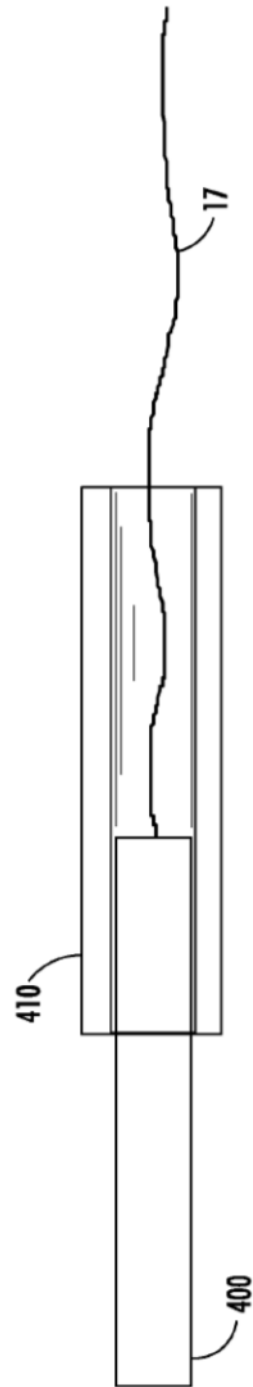


Figura 11

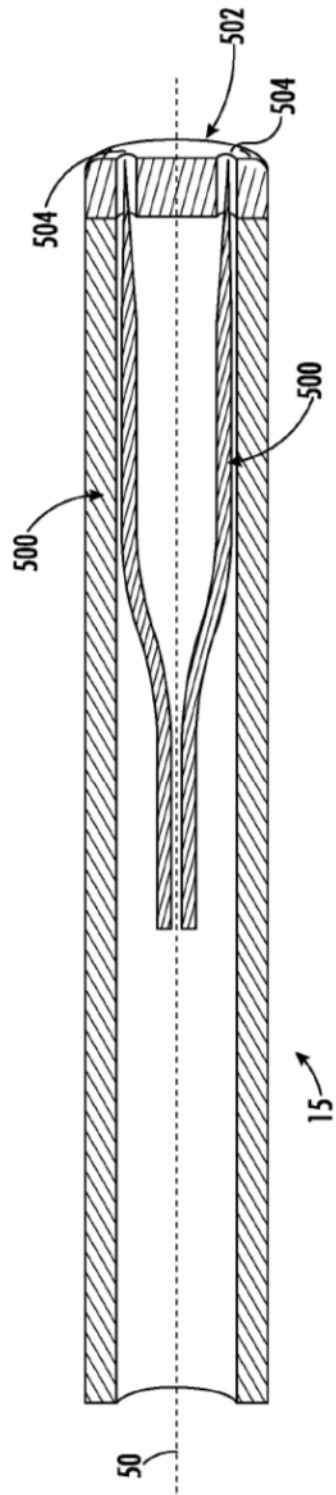


Figura 12

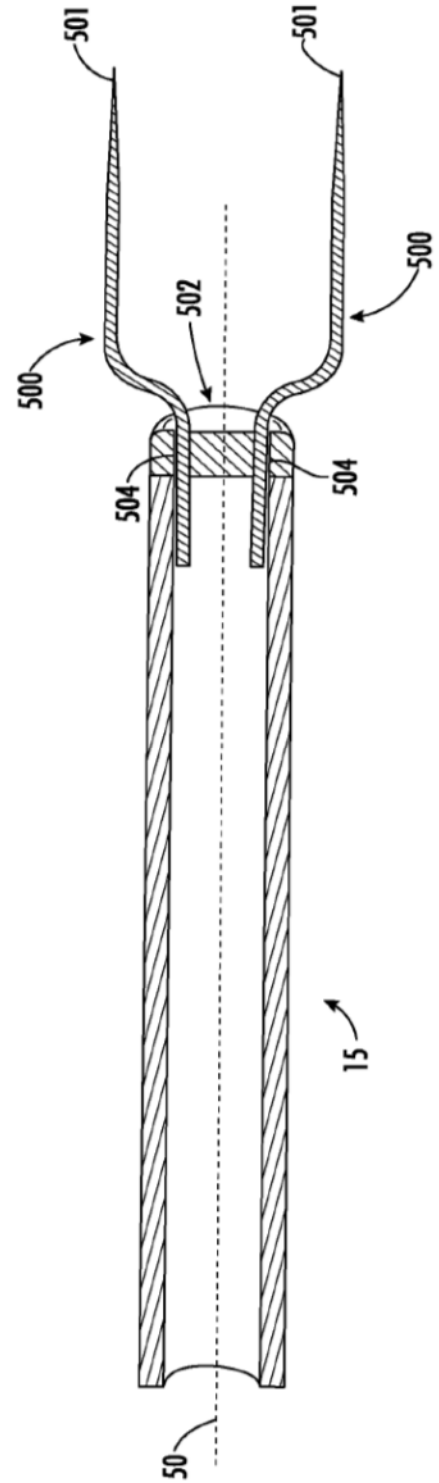


Figura 13

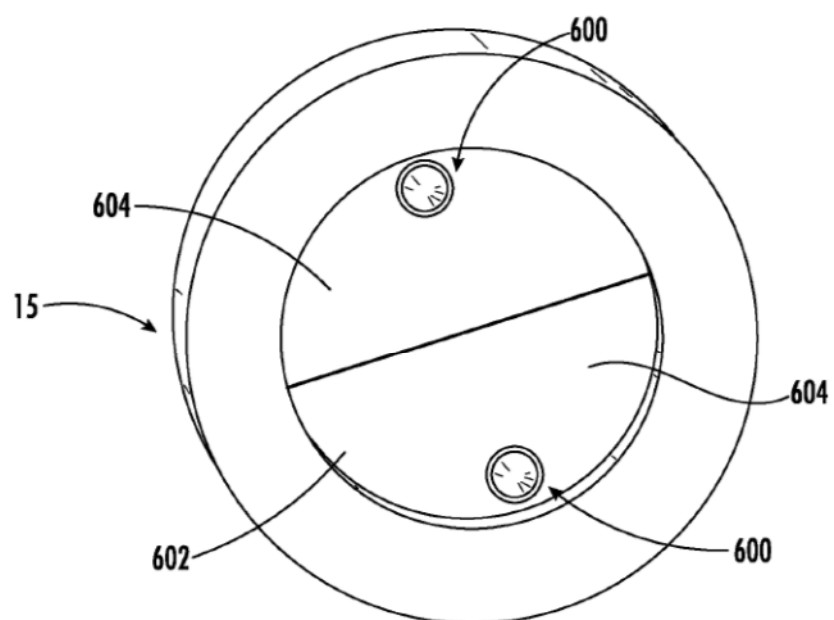


Figura 14

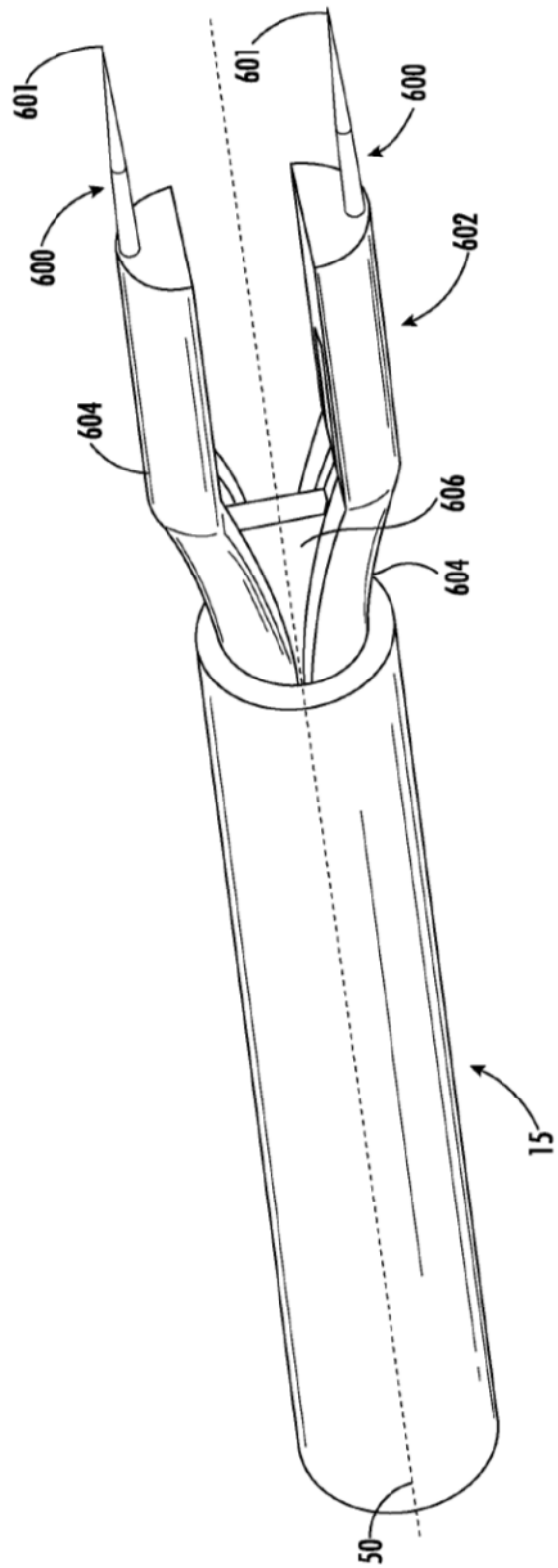


Figura 15

Figura 15

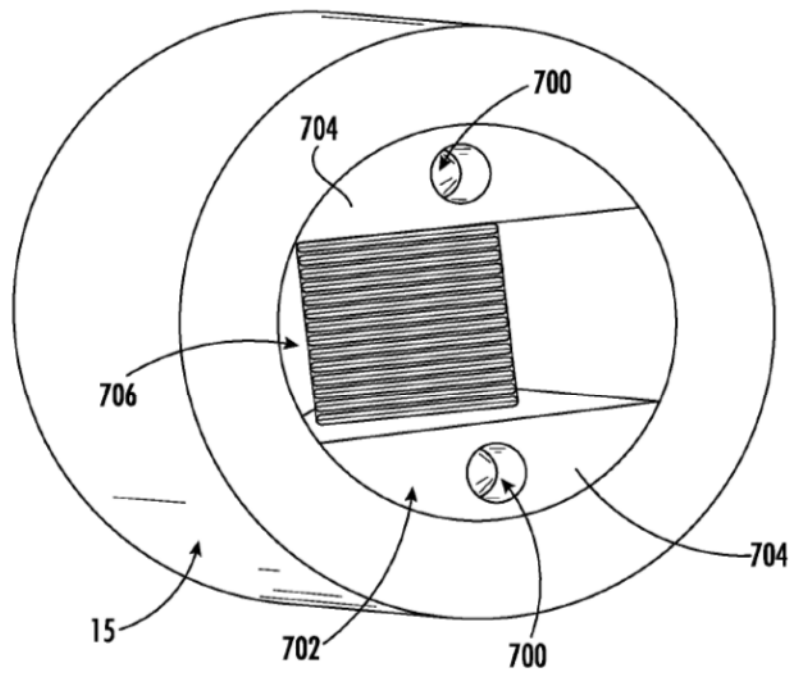


Figura 16

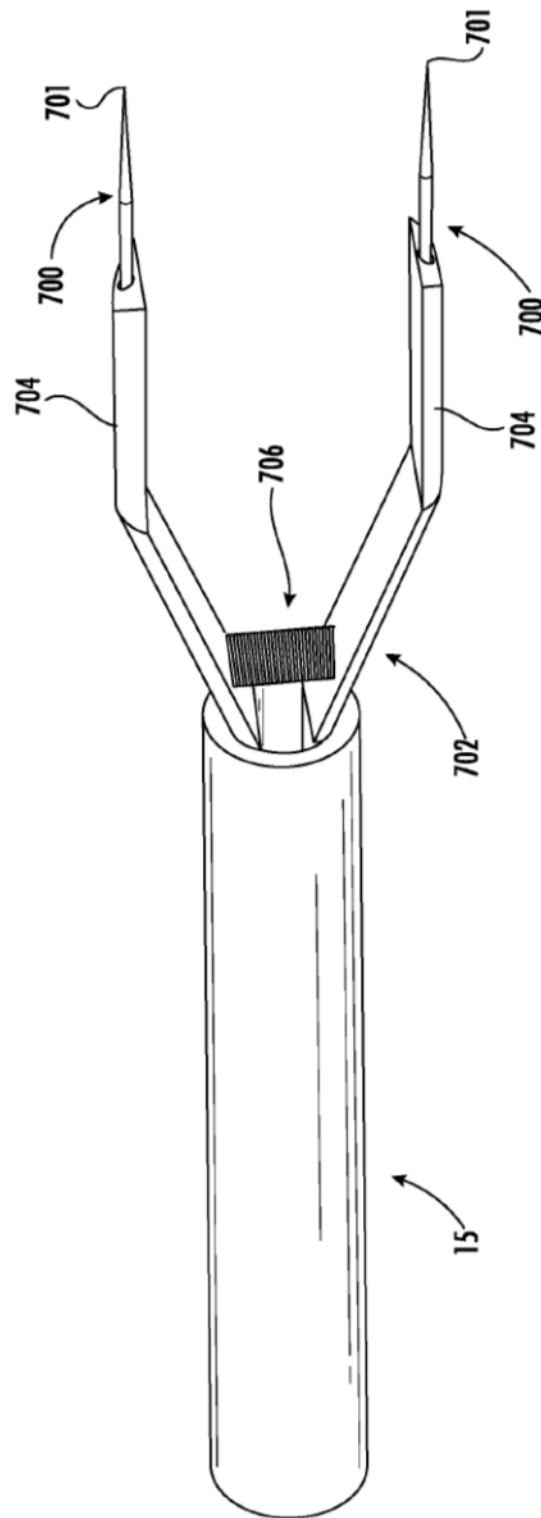


Figura 17

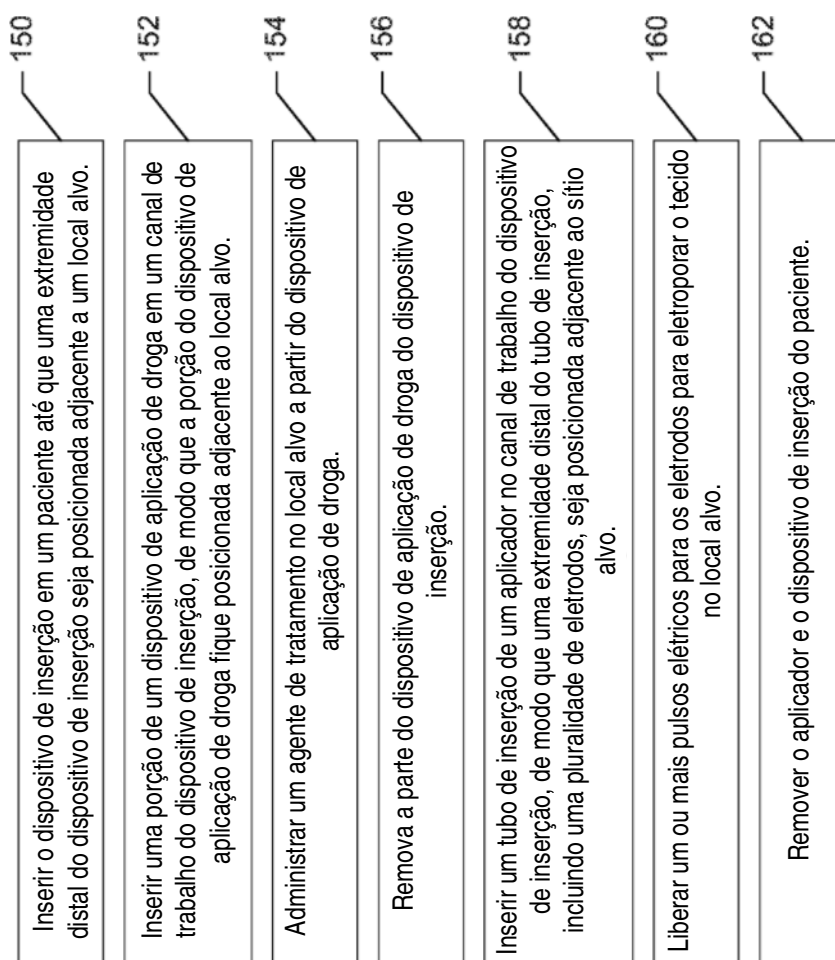


Figura 18

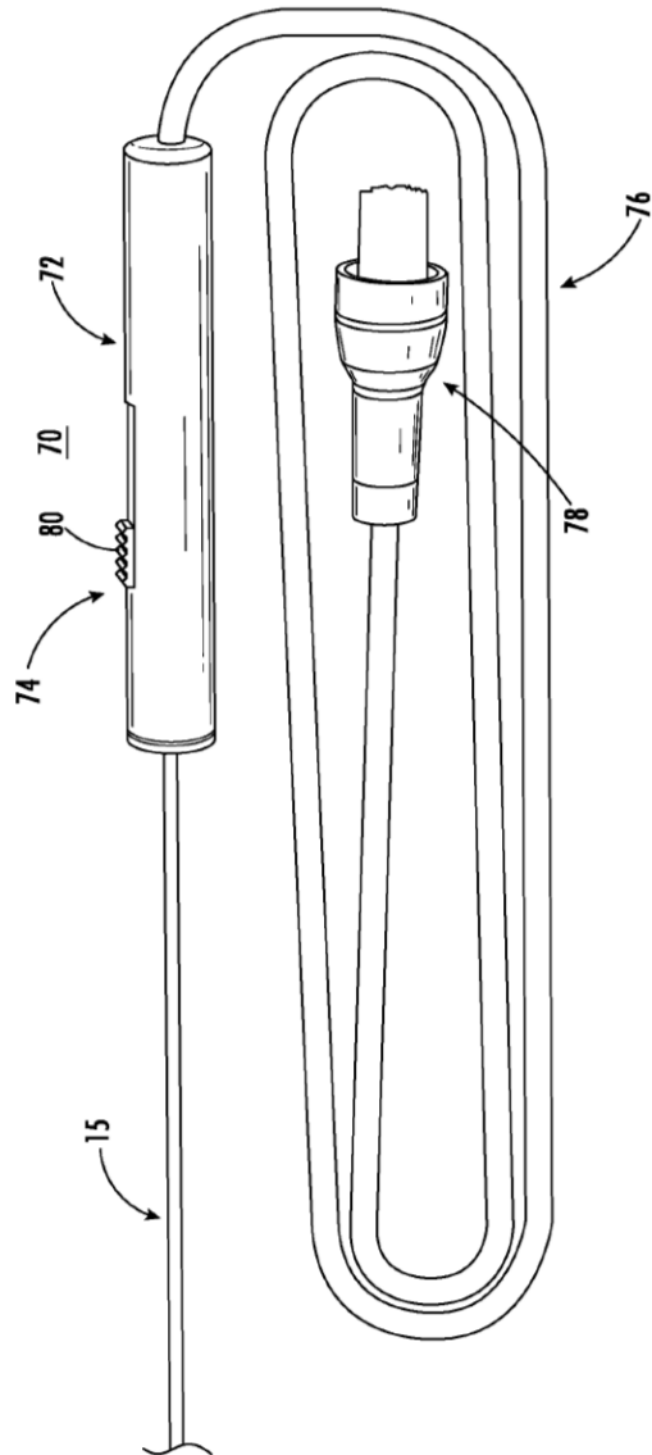


Figura 19

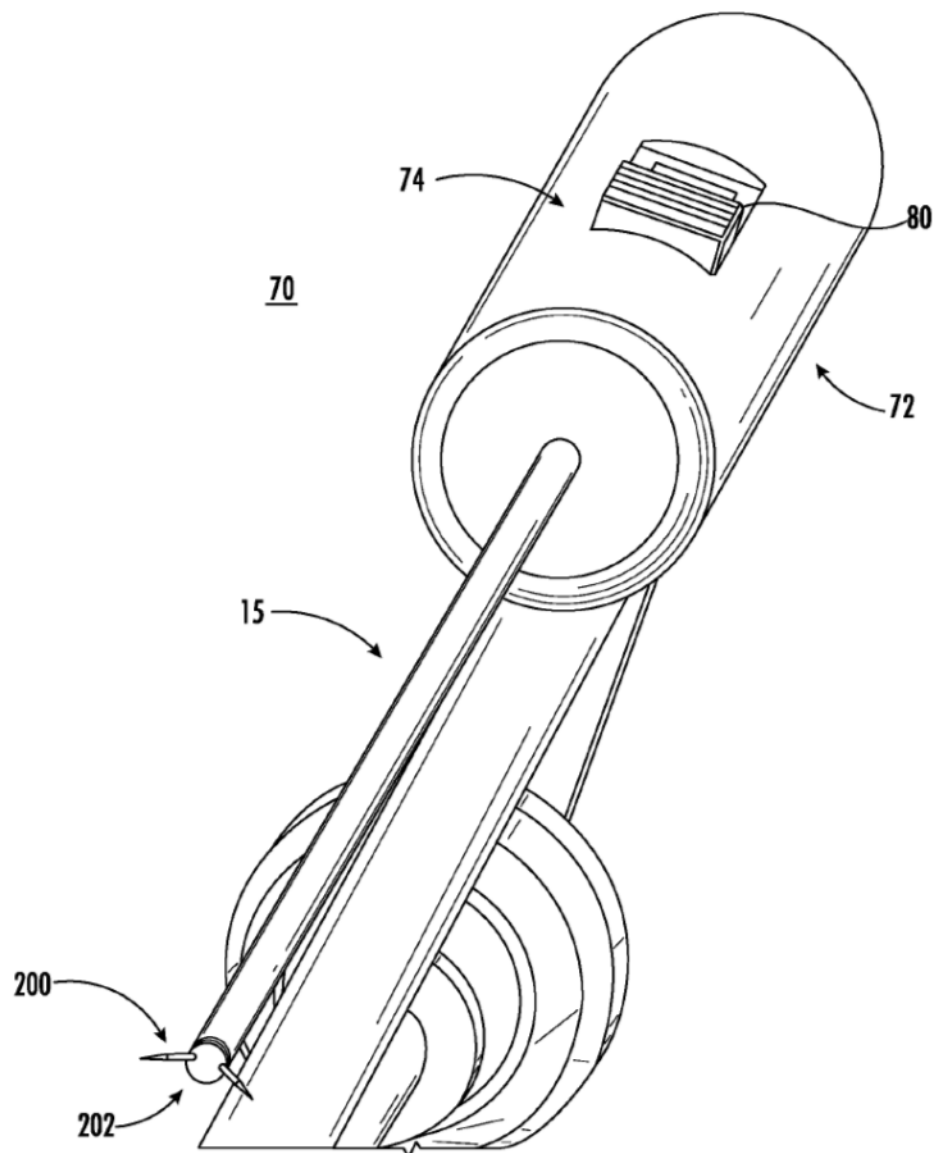


Figura 20

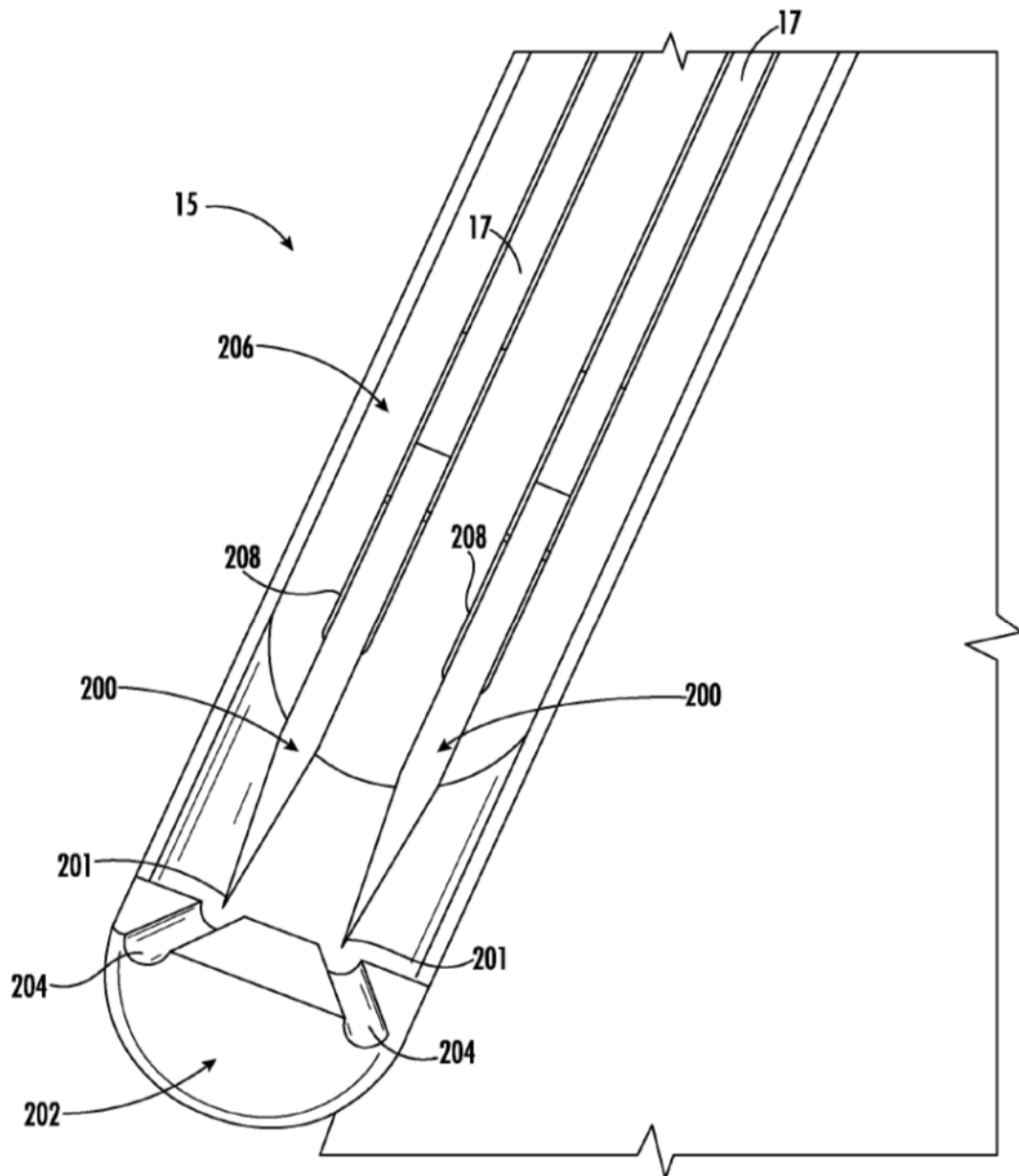


Figura 21

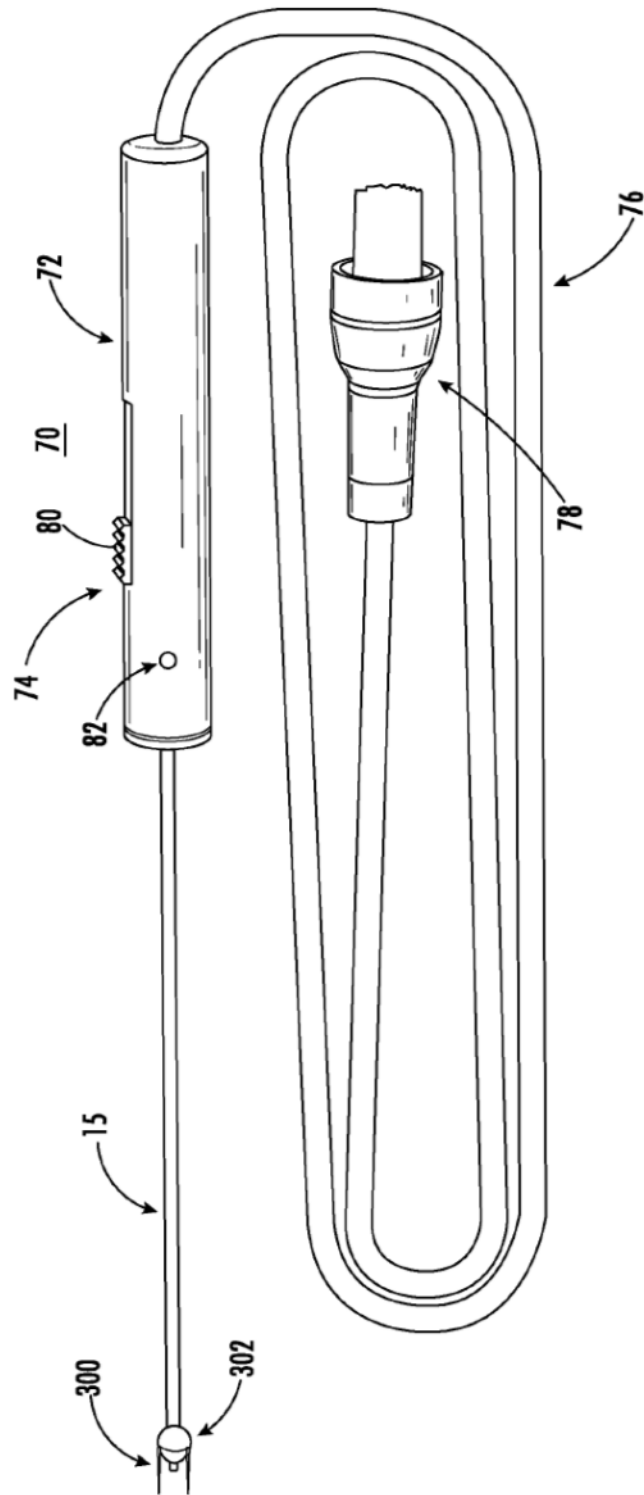


Figura 22

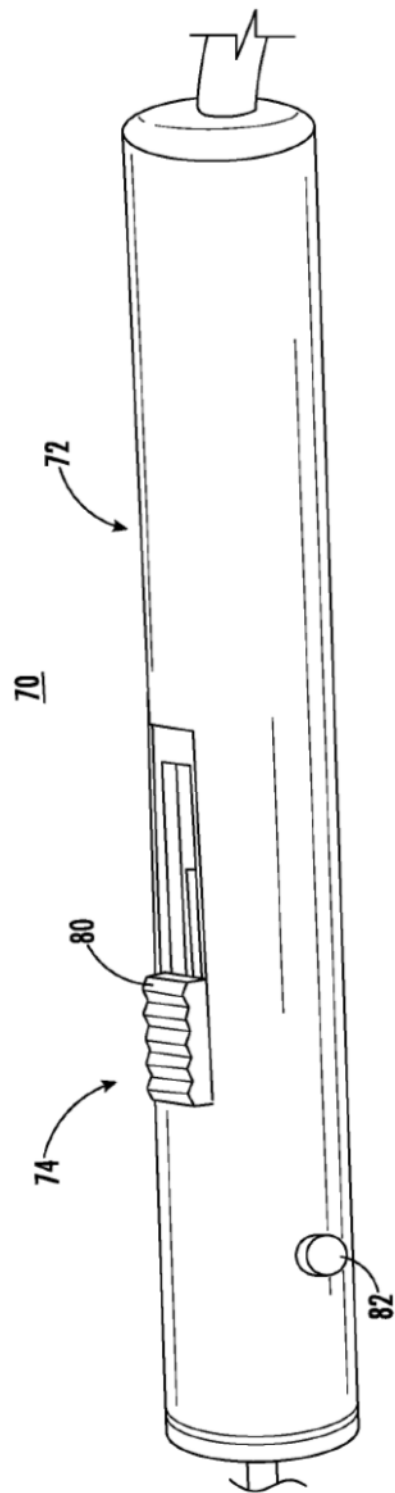


Figura 23

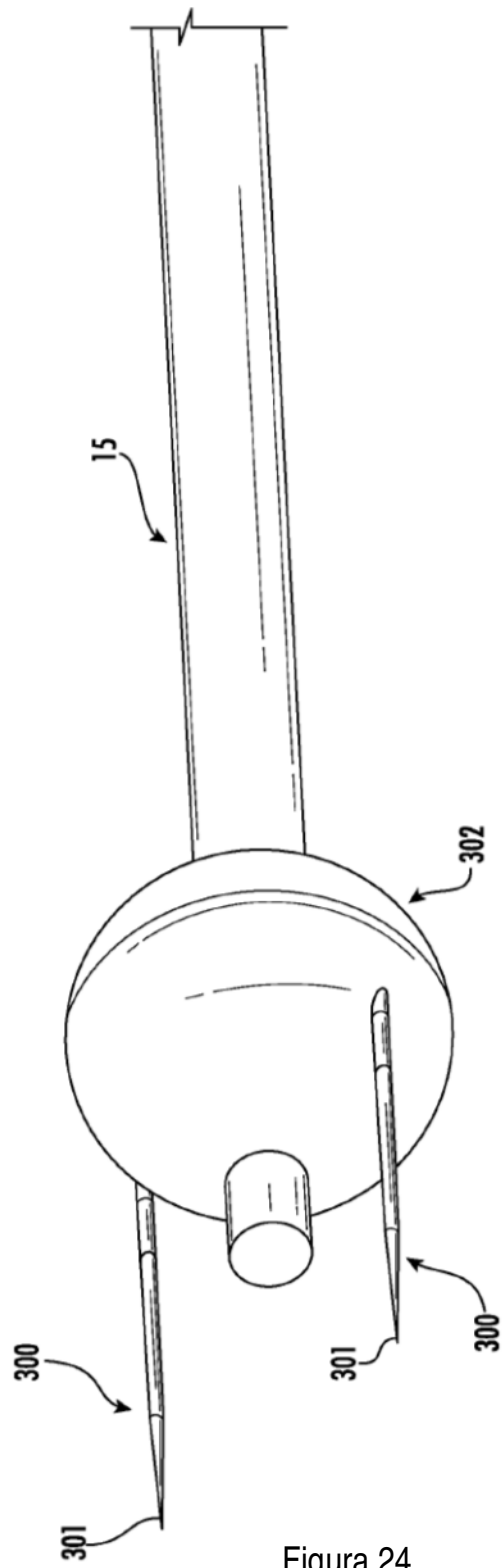
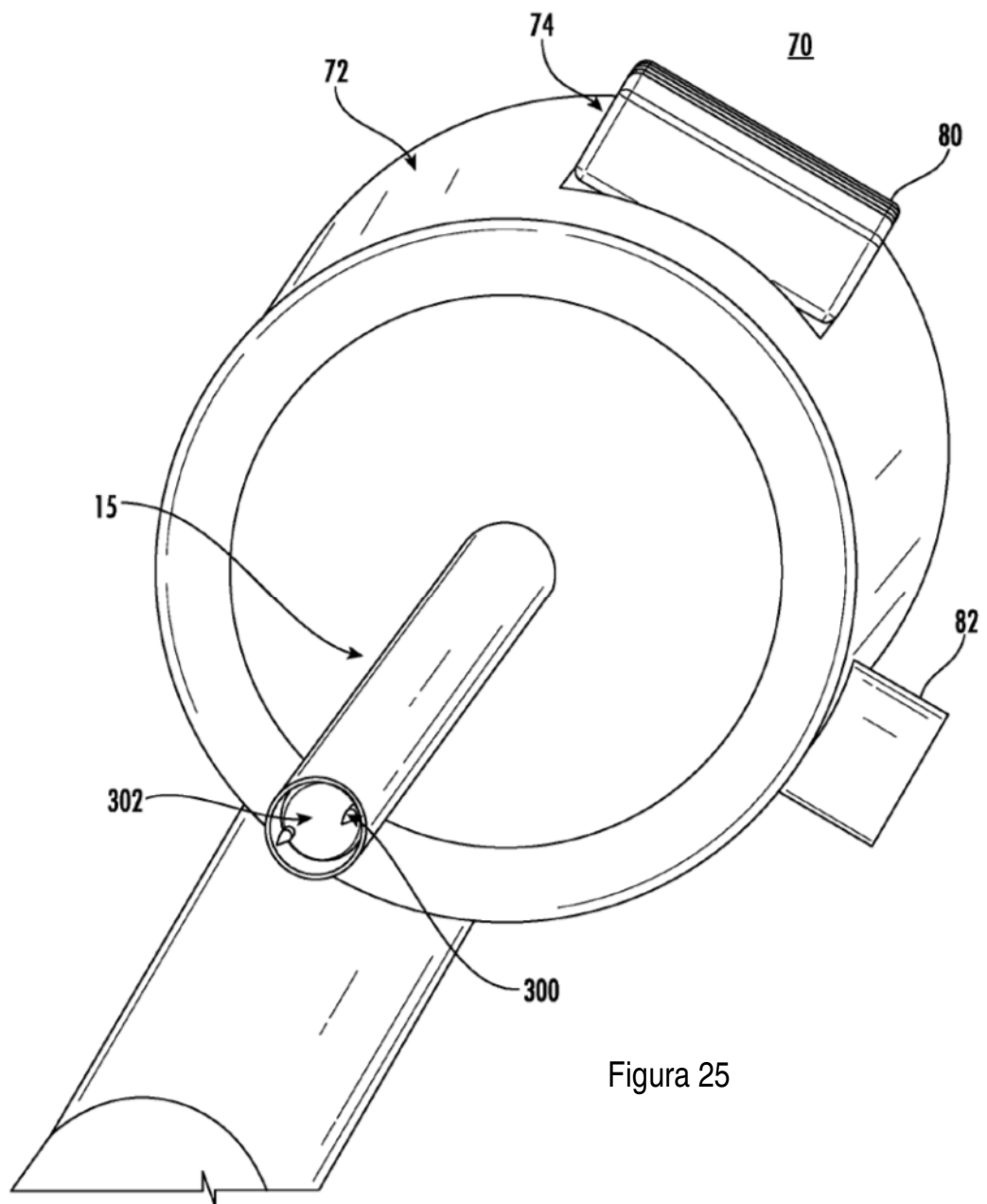


Figura 24



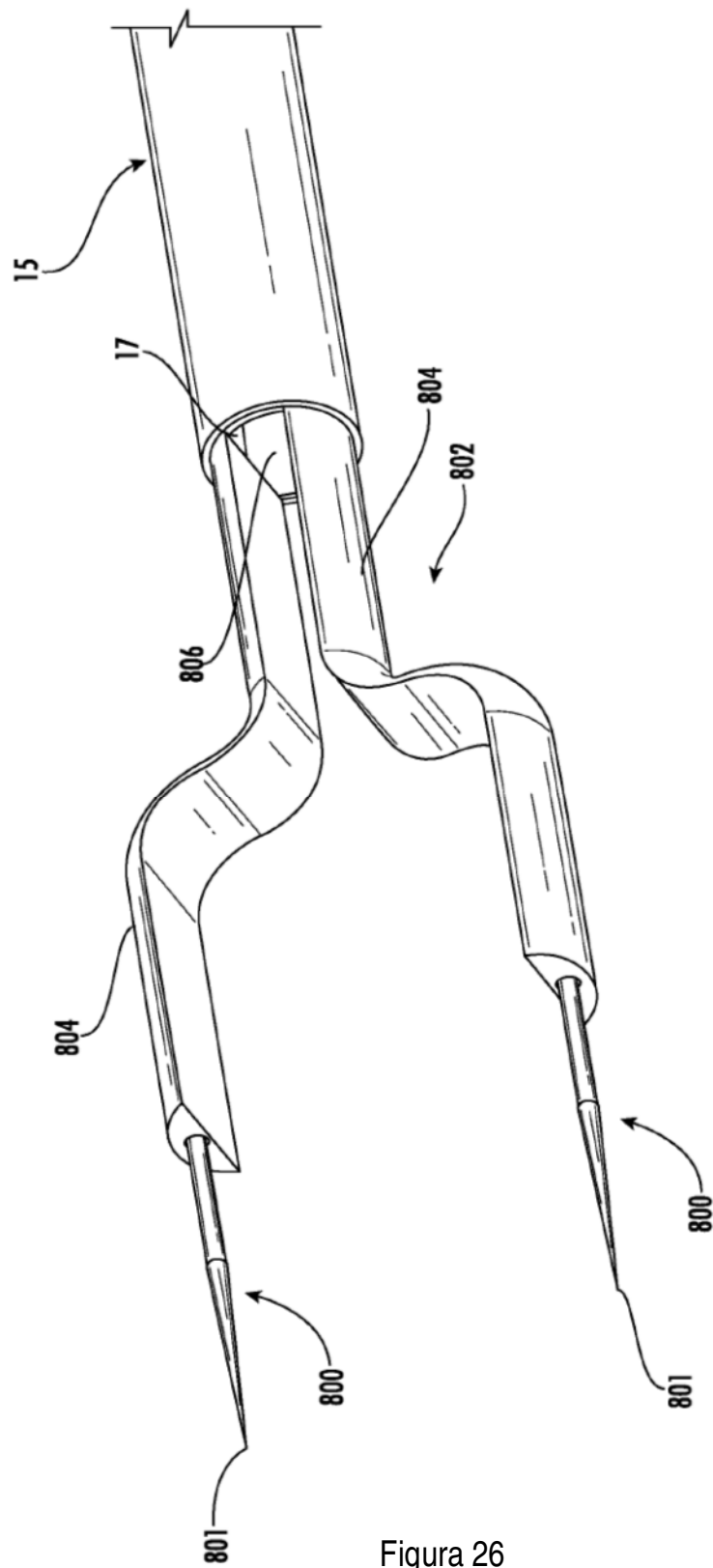


Figura 26

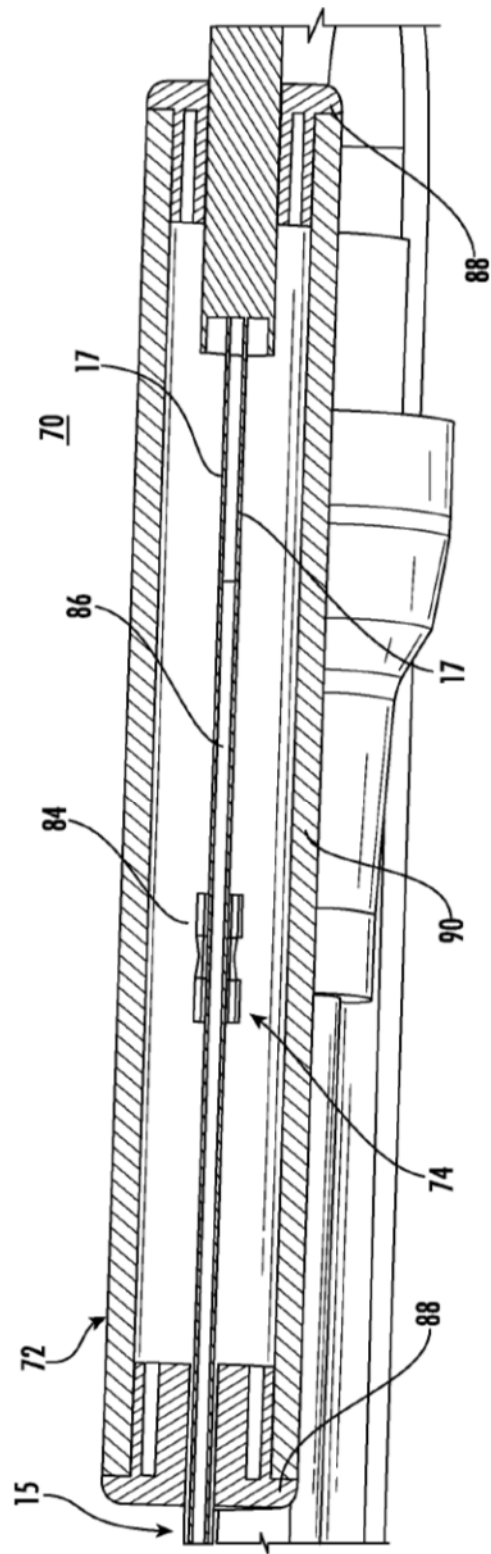


Figura 27

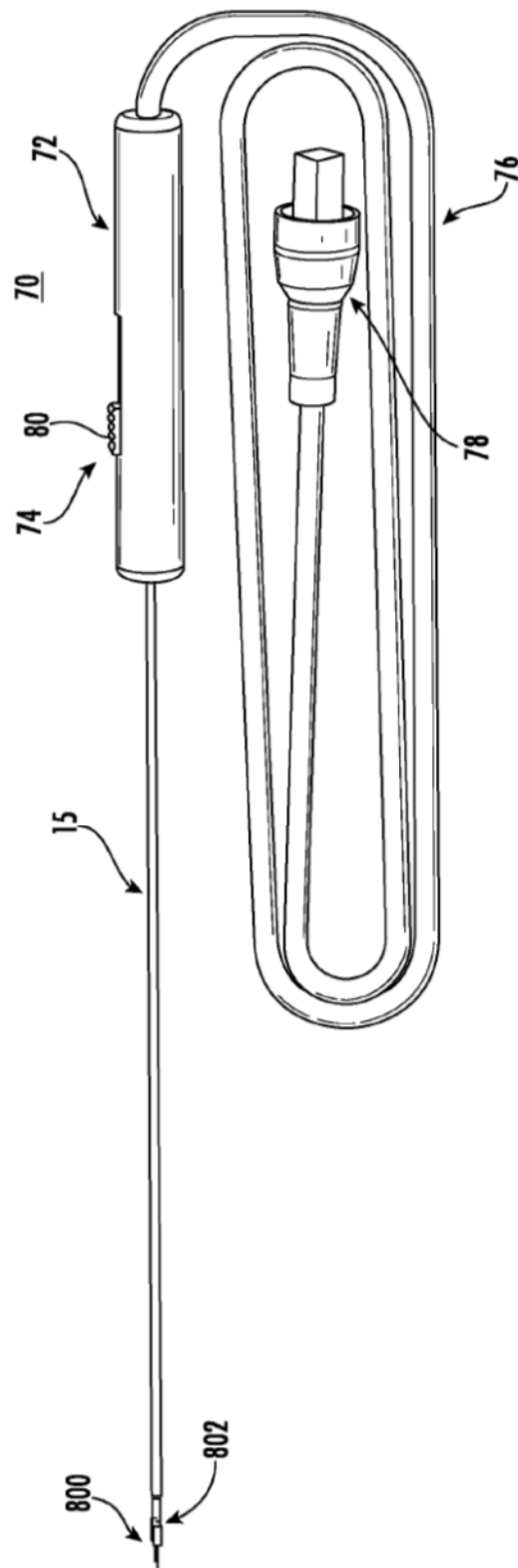


Figura 28

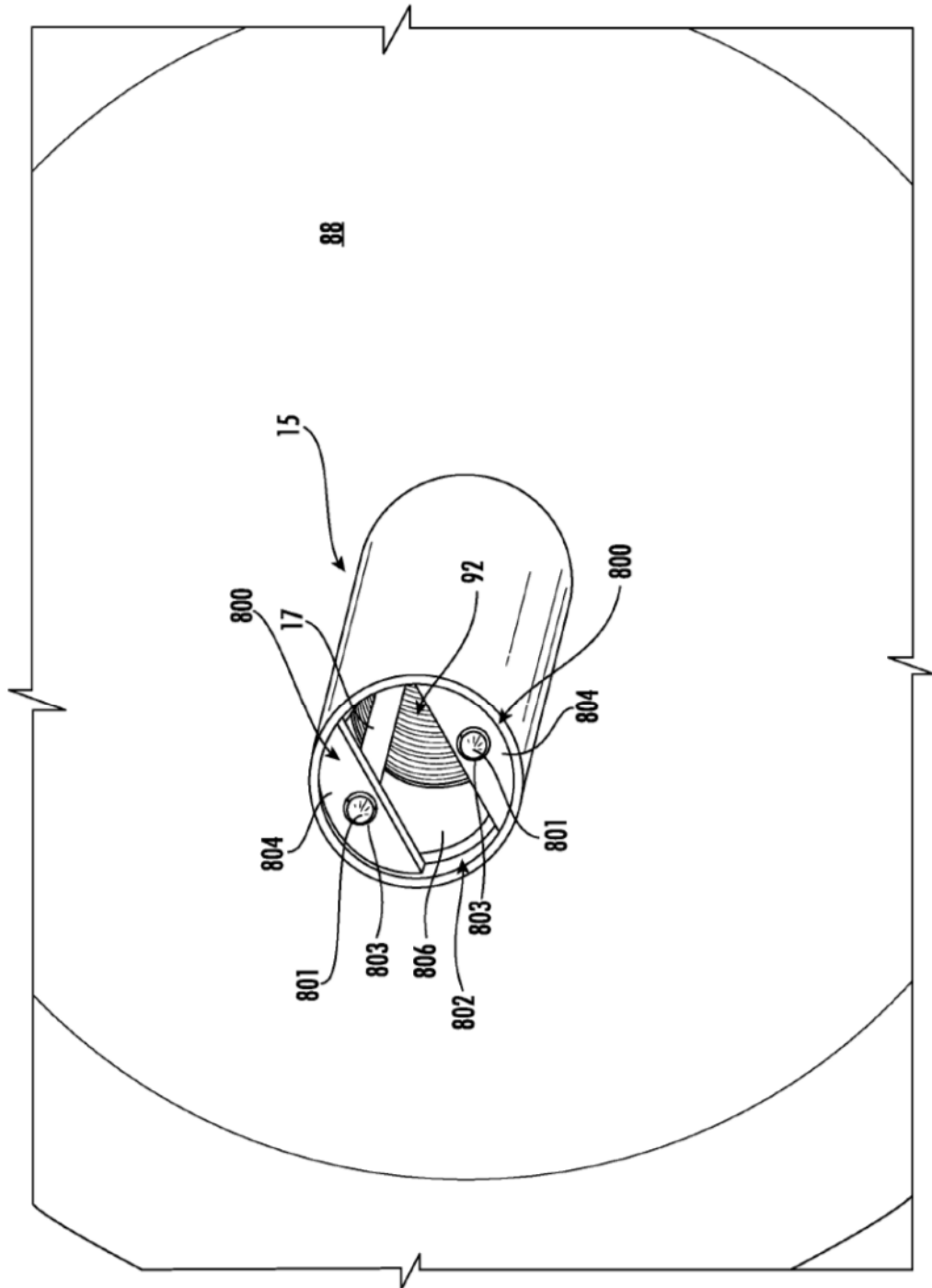


Figura 29

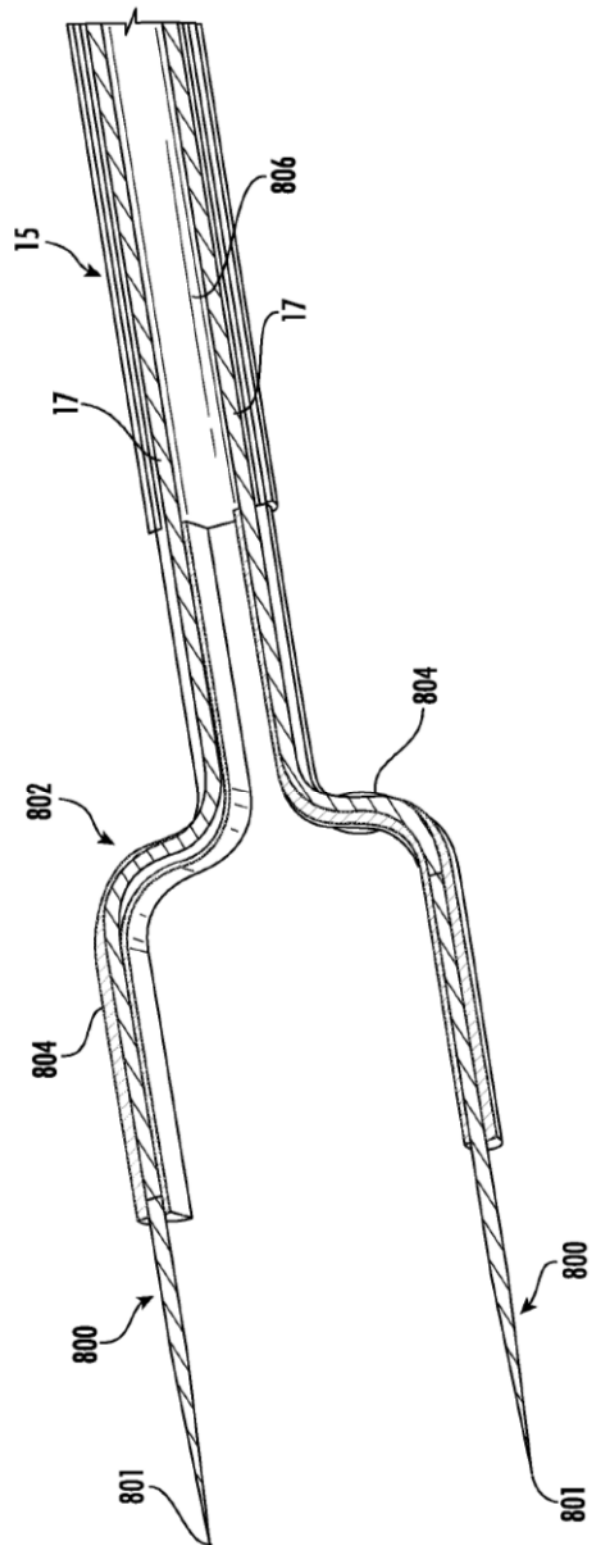


Figura 30

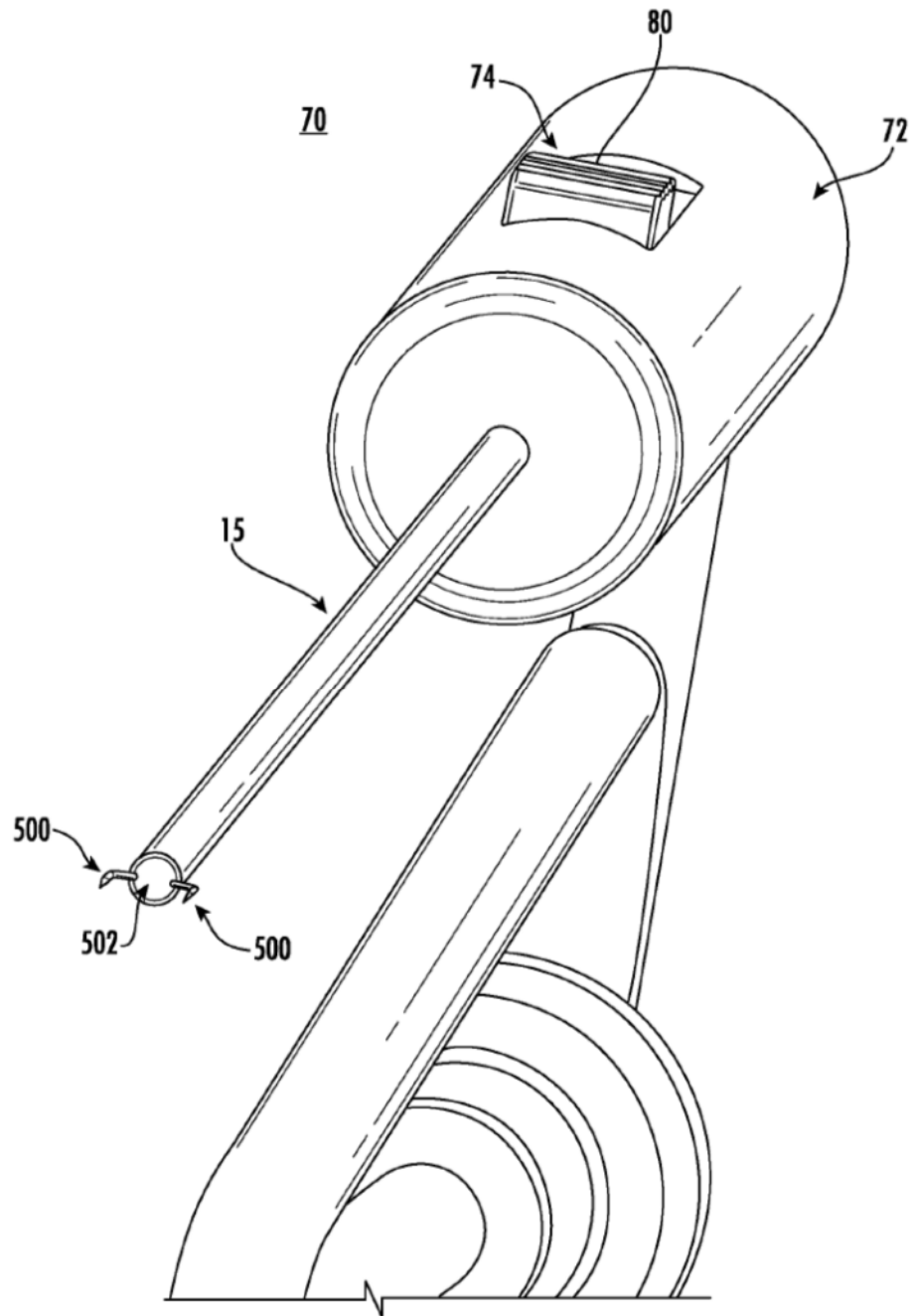


Figura 31

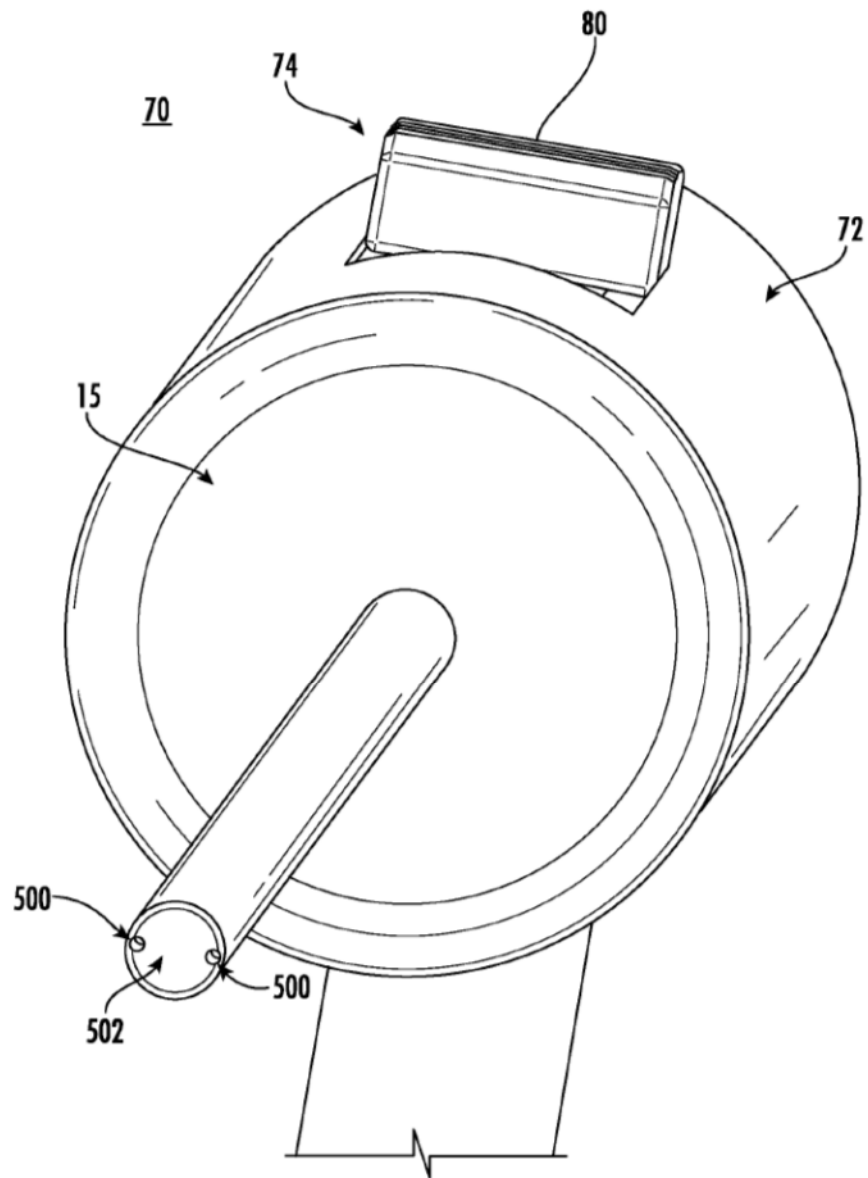


Figura 32

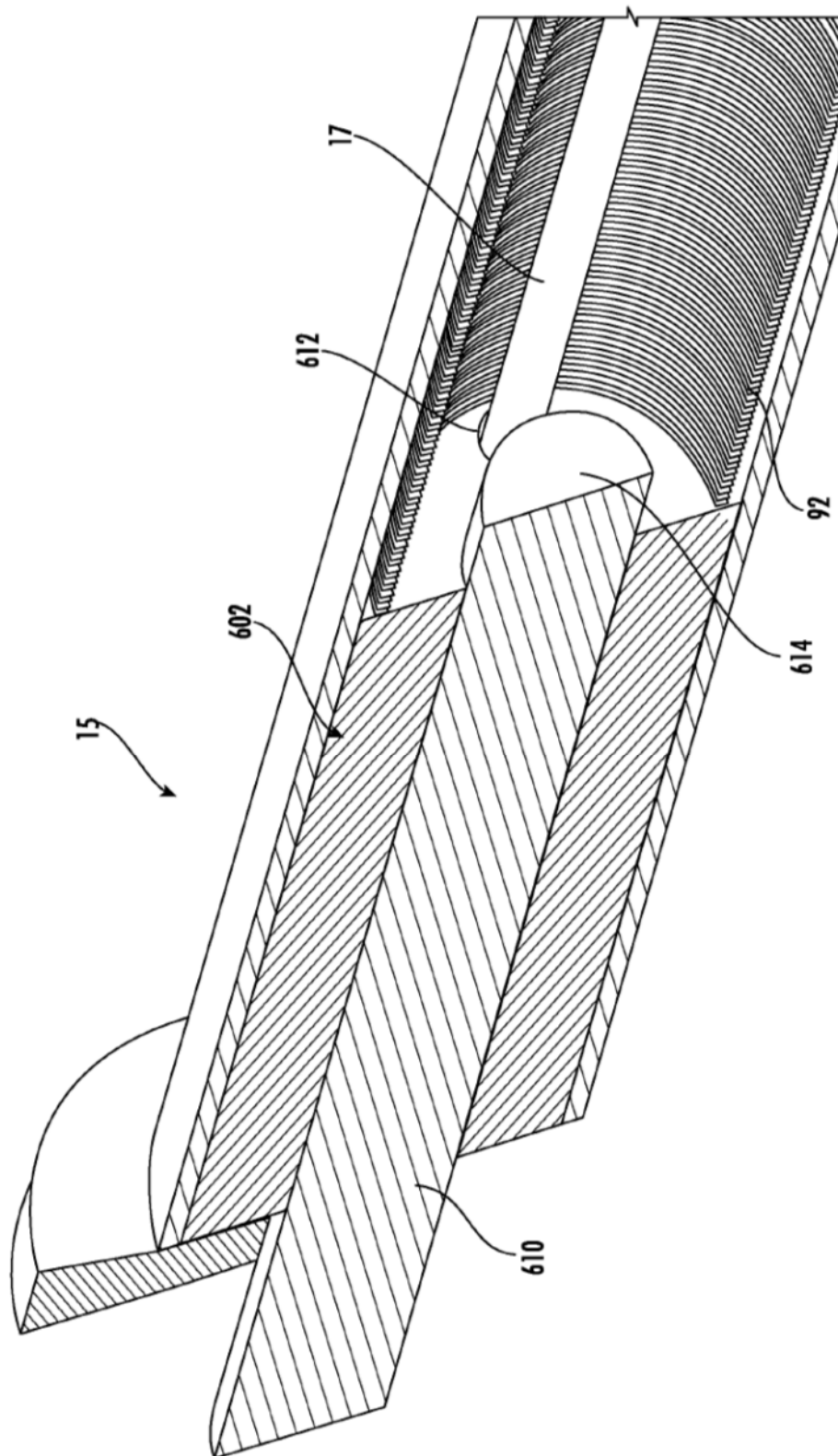


Figura 33

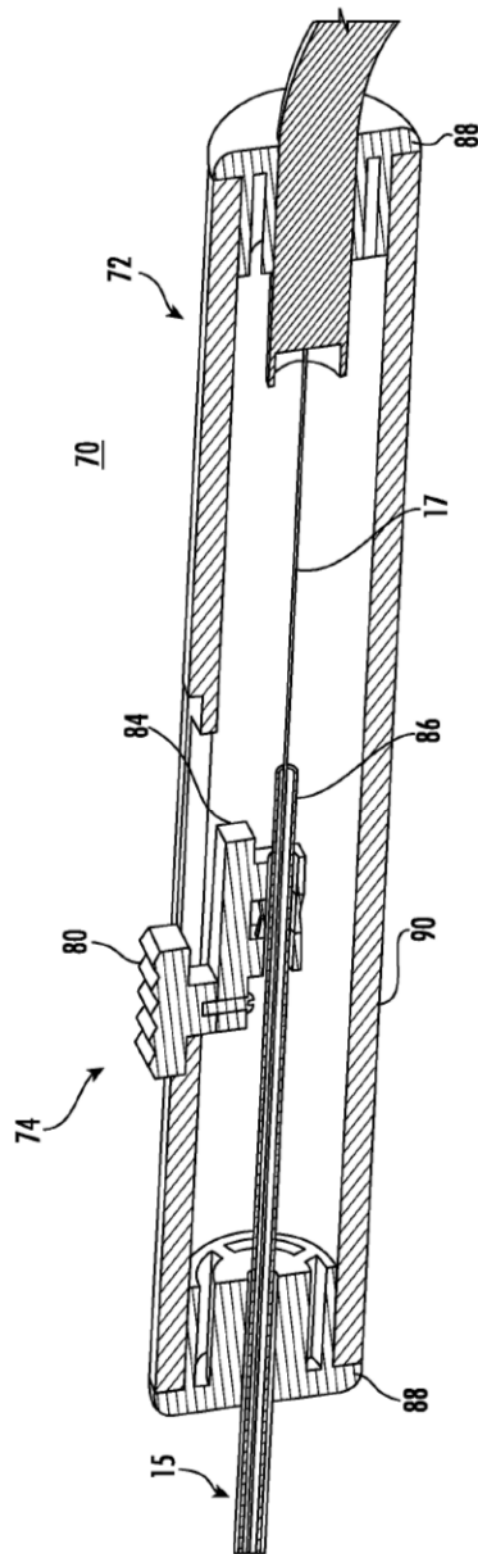


Figura 34

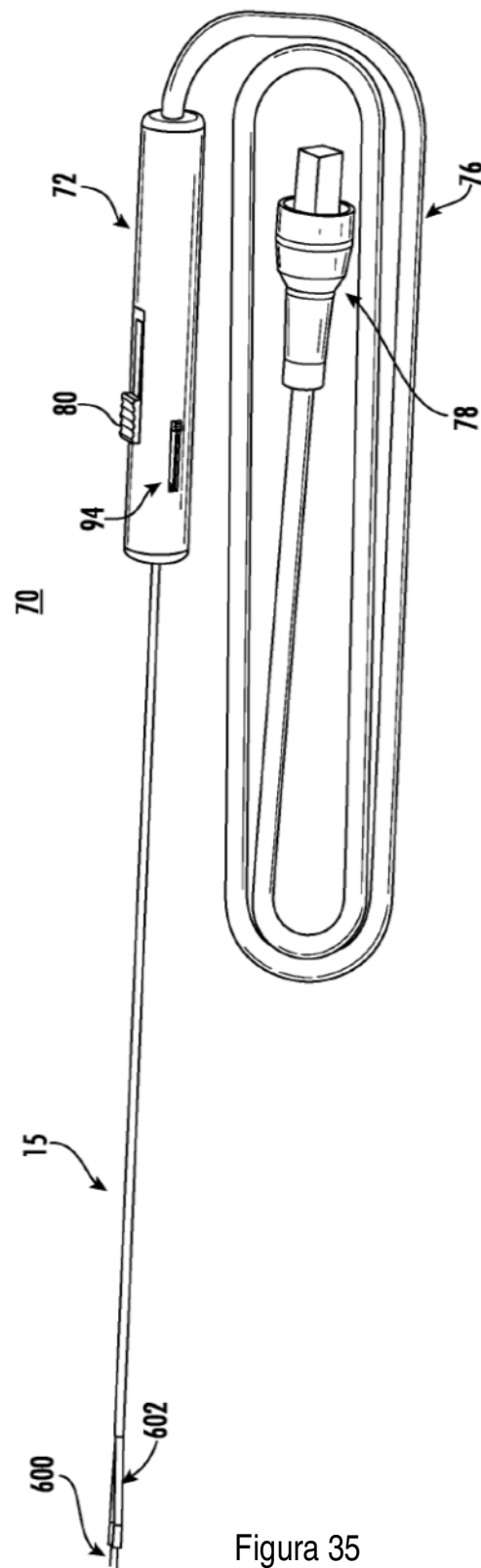


Figura 35

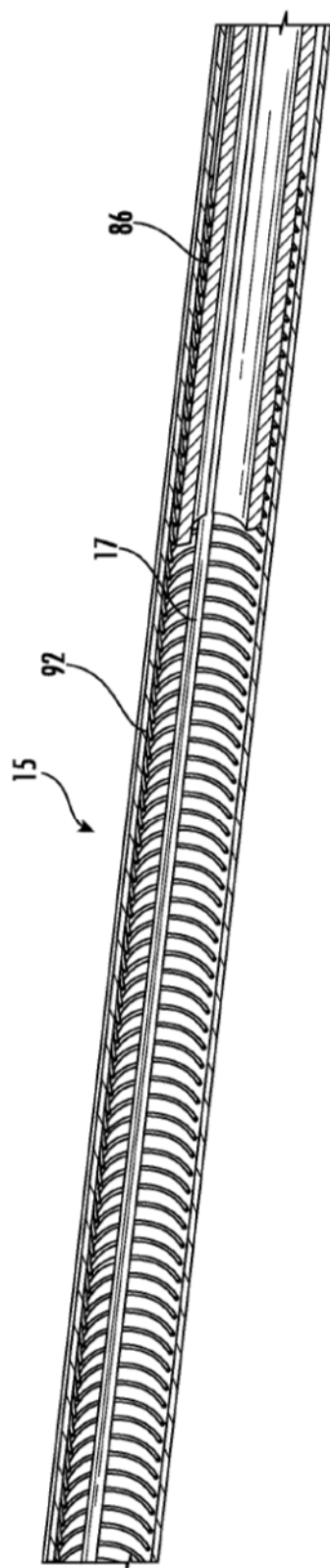


Figura 36

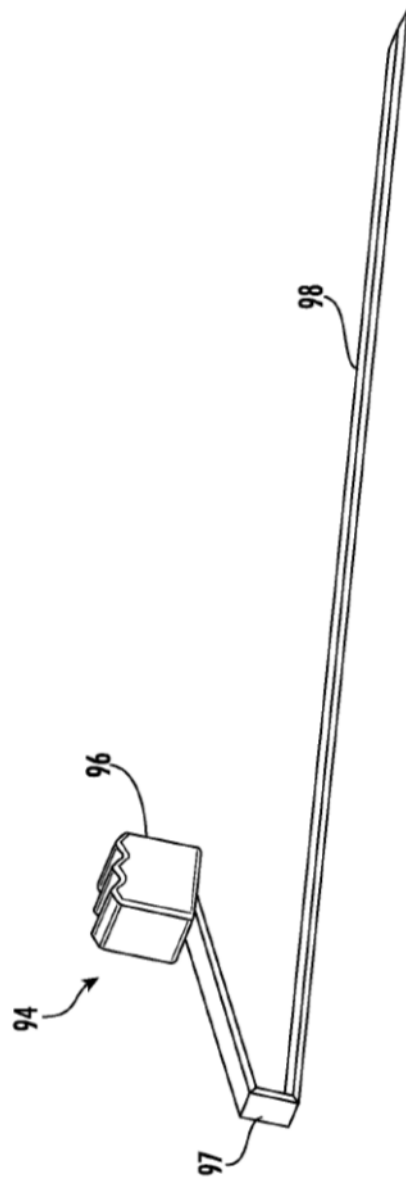


Figura 37

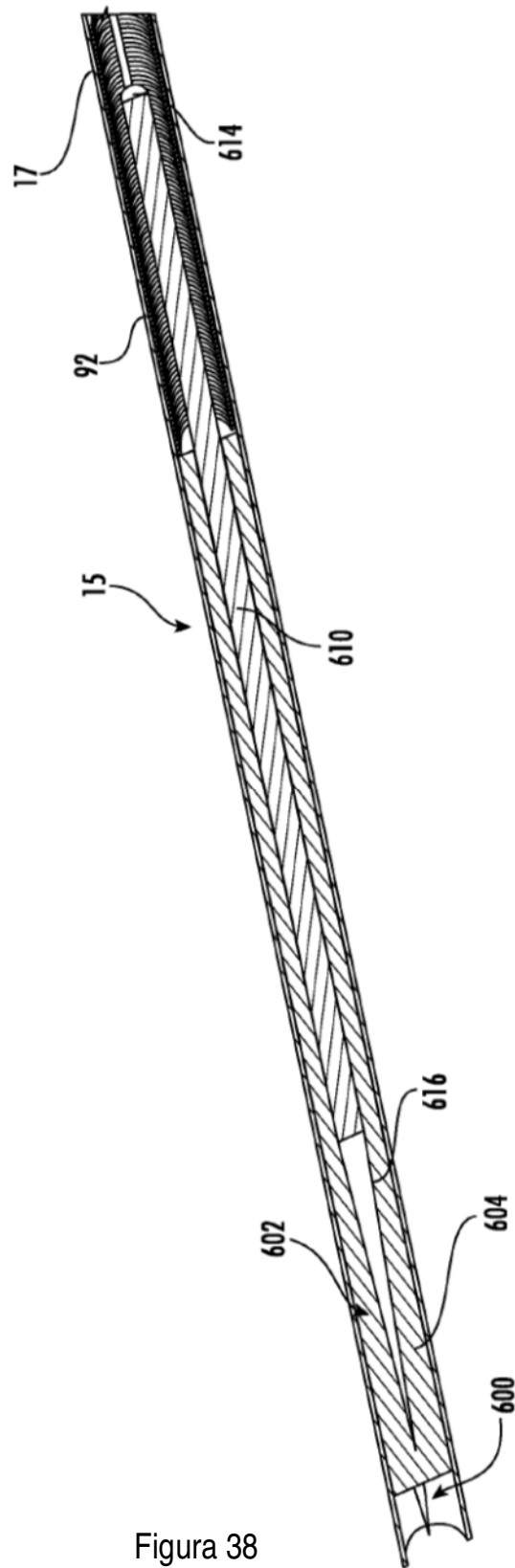


Figura 38

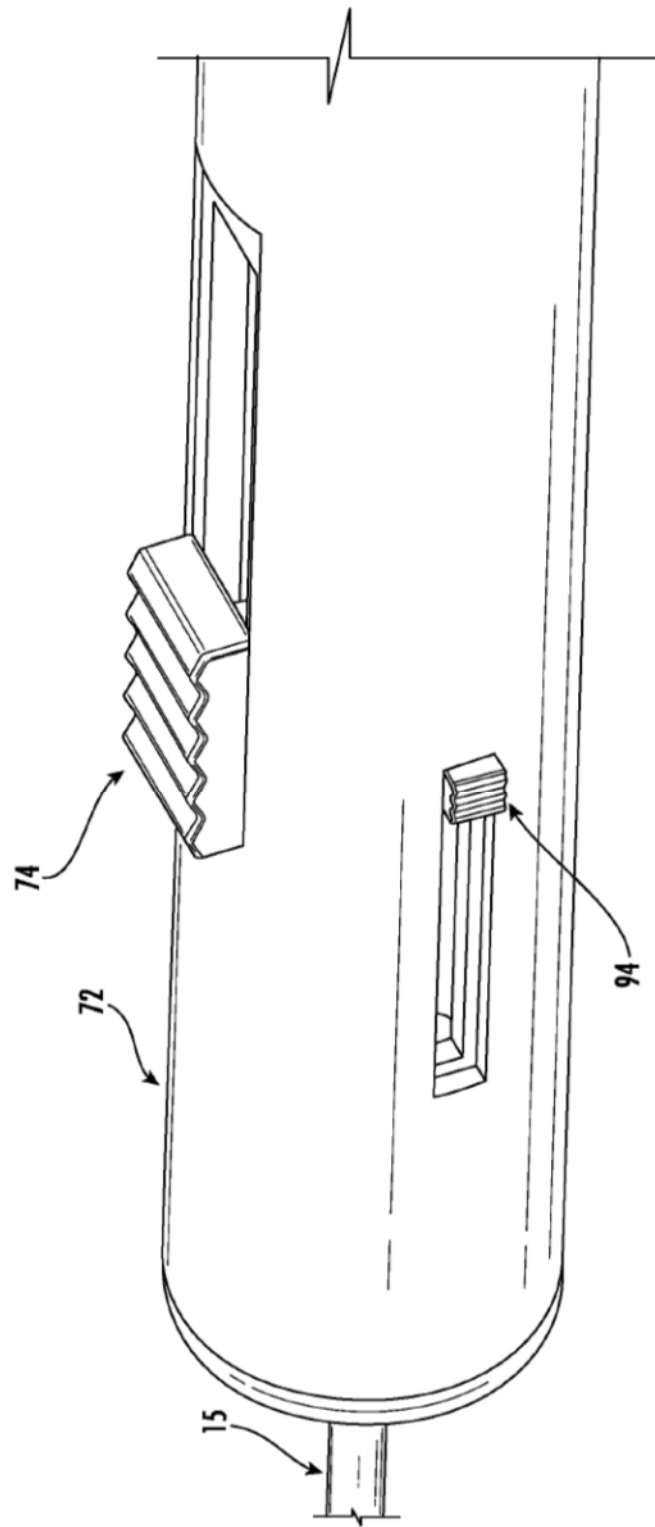


Figura 39

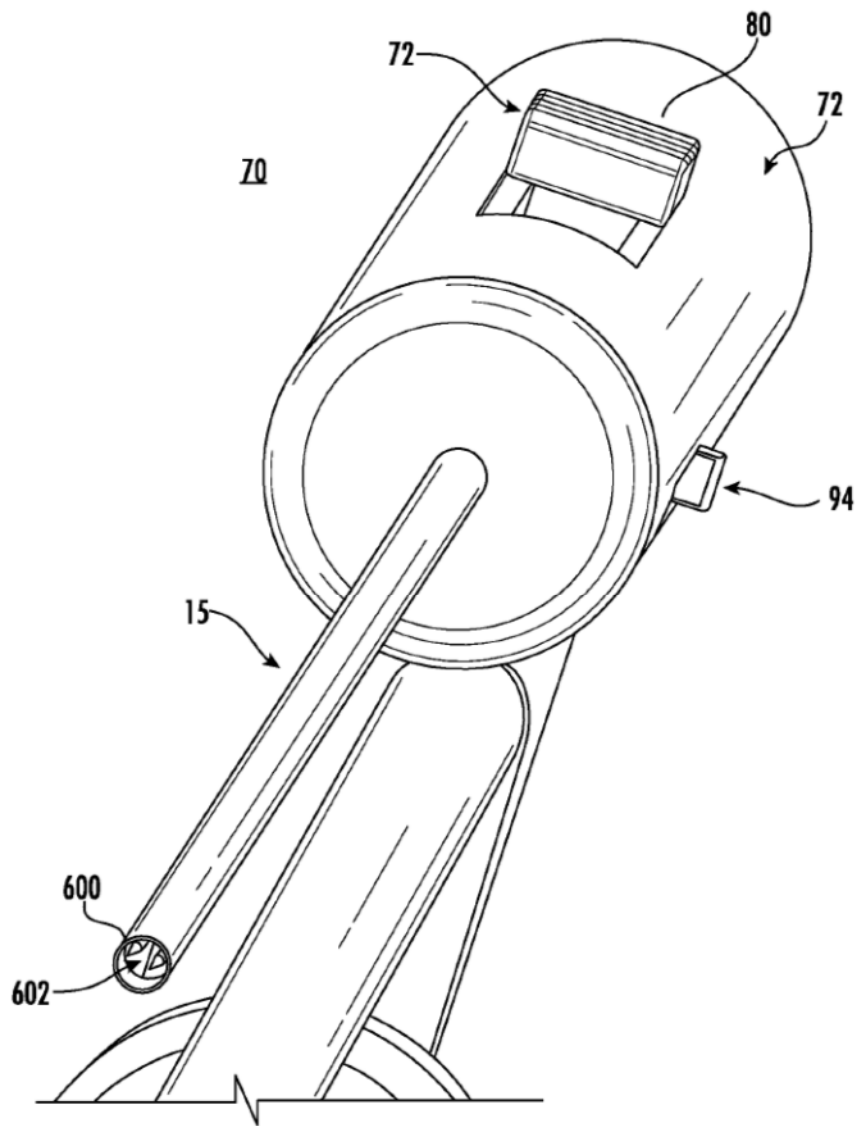


Figura 40

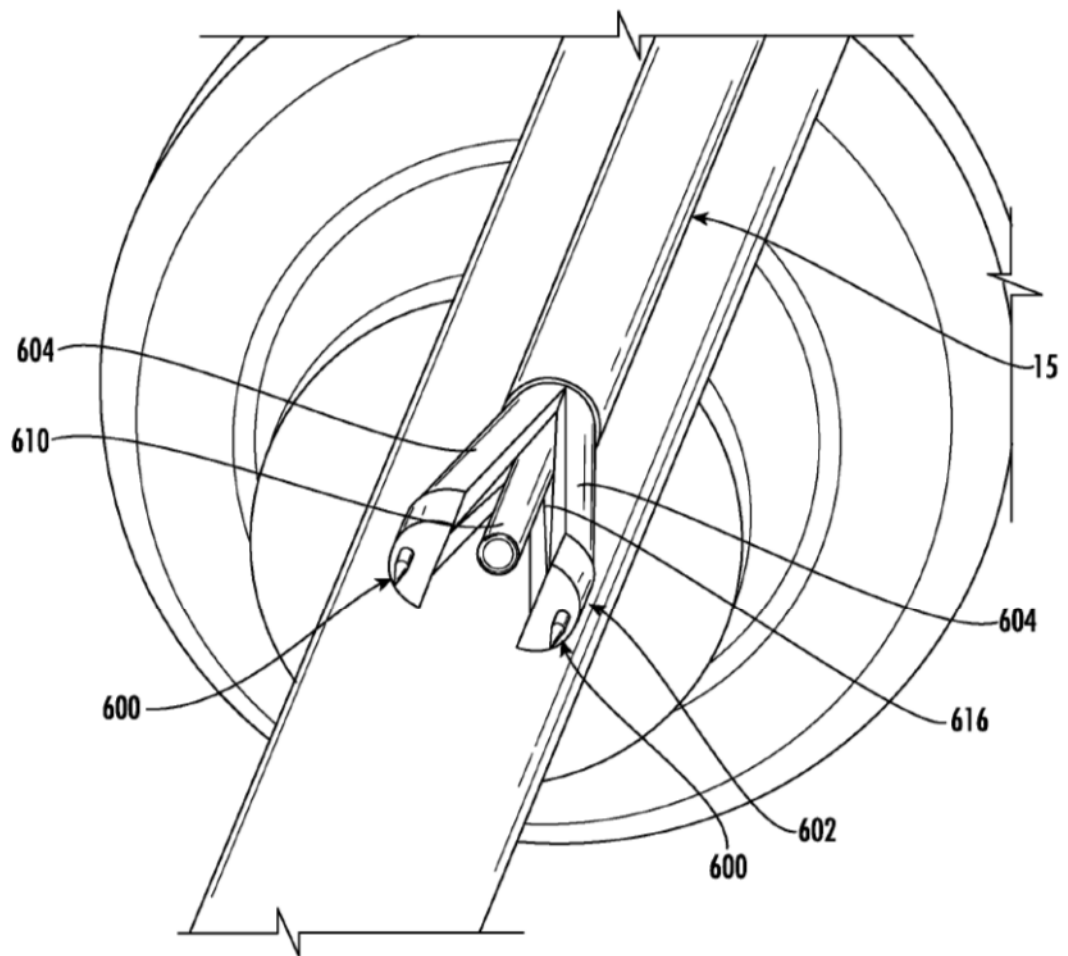


Figura 41

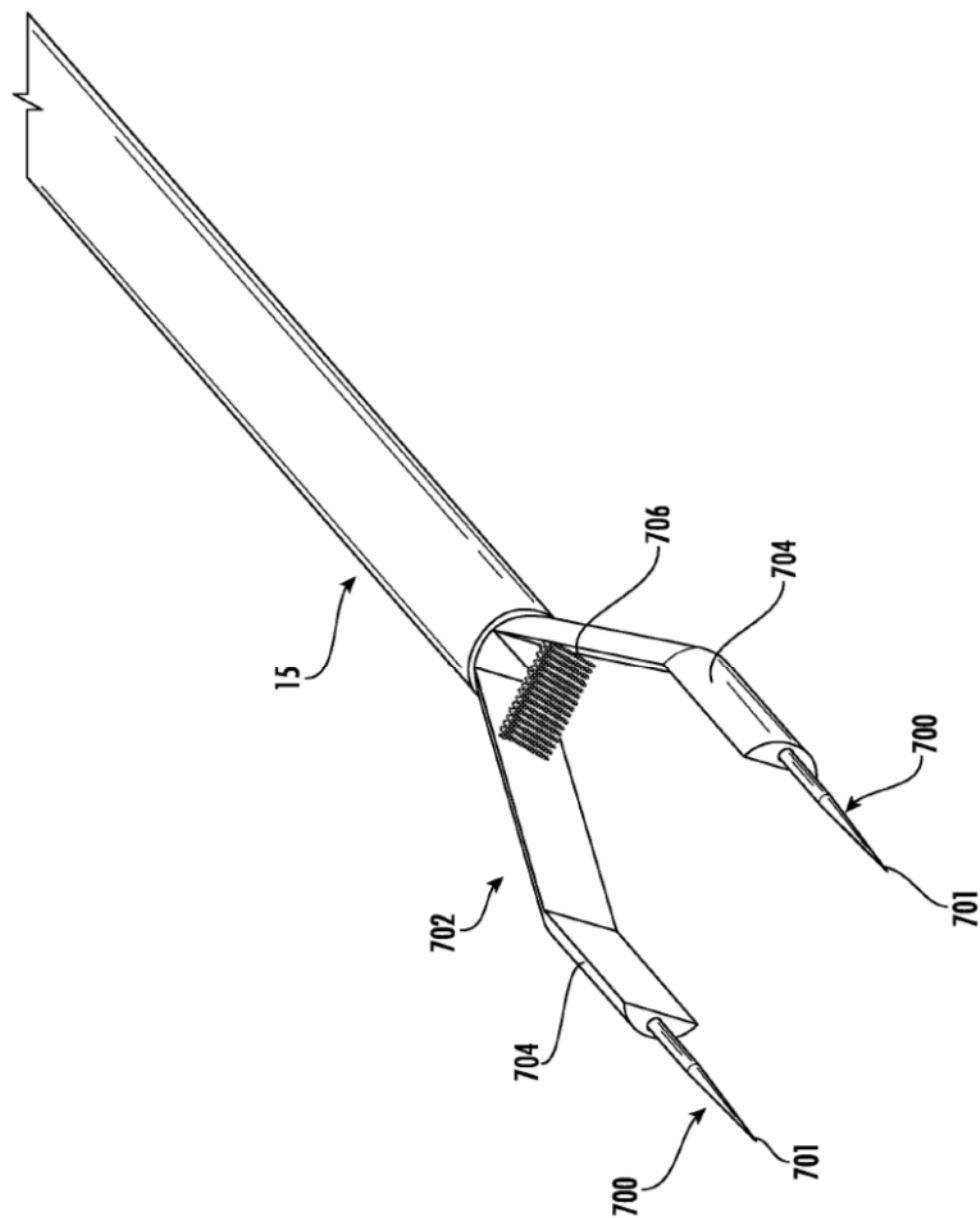


Figura 42

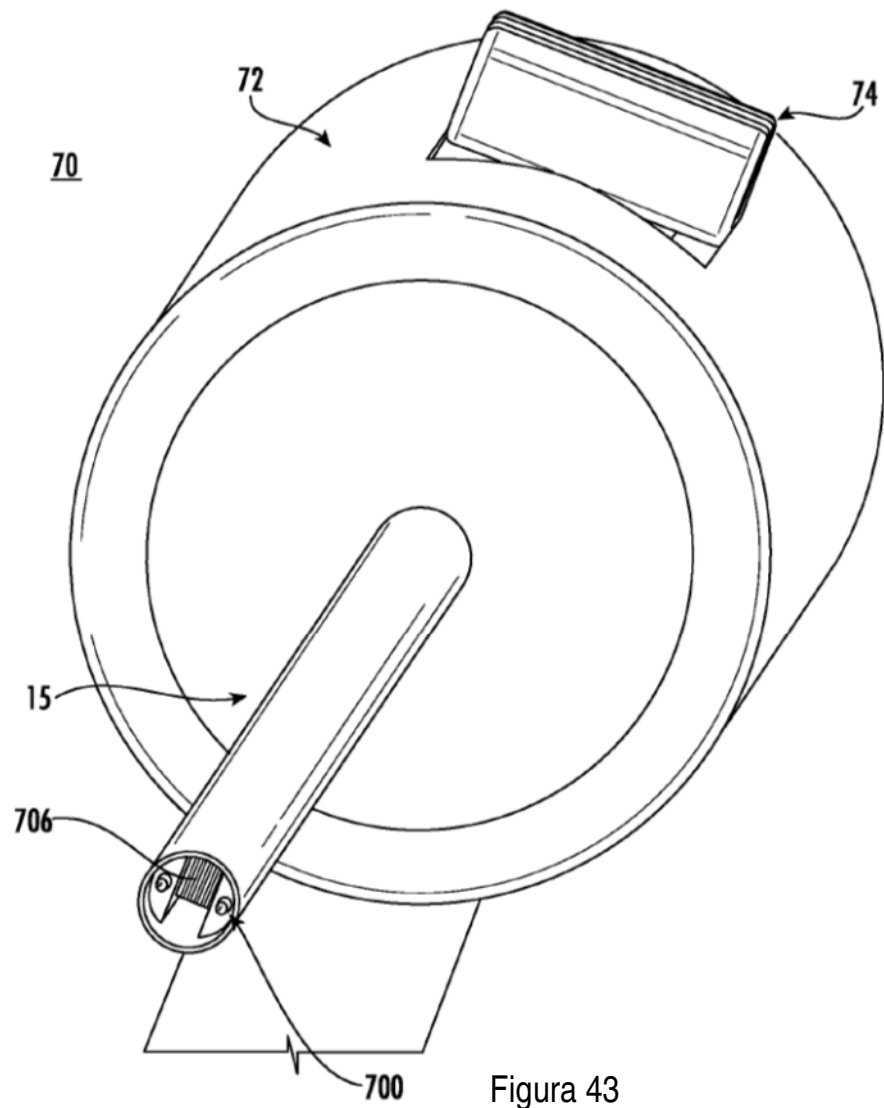


Figura 43

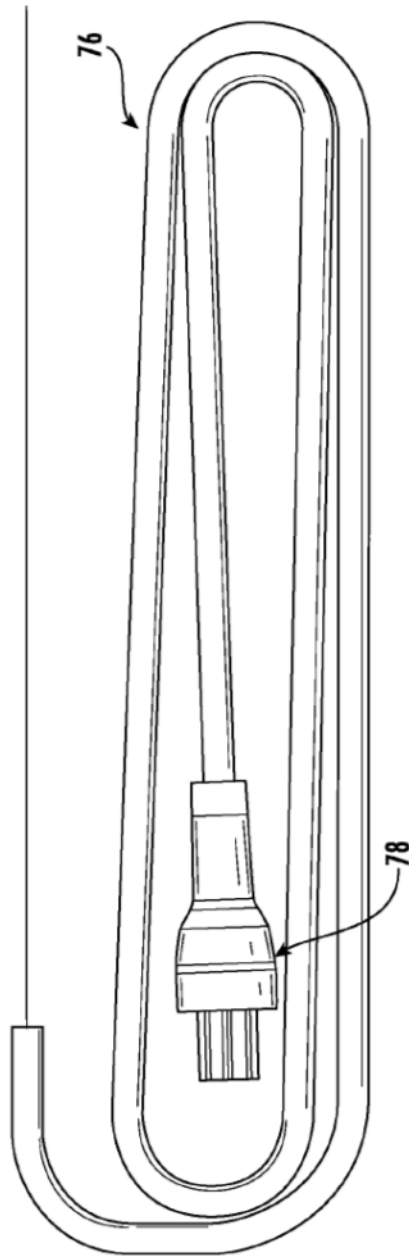


Figura 44

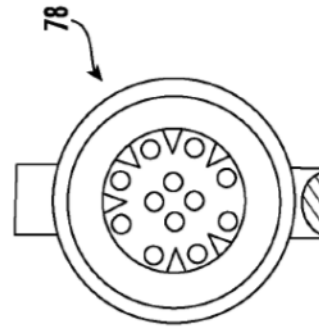


Figura 46

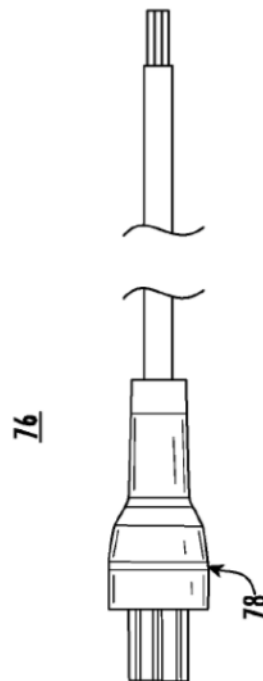


Figura 45

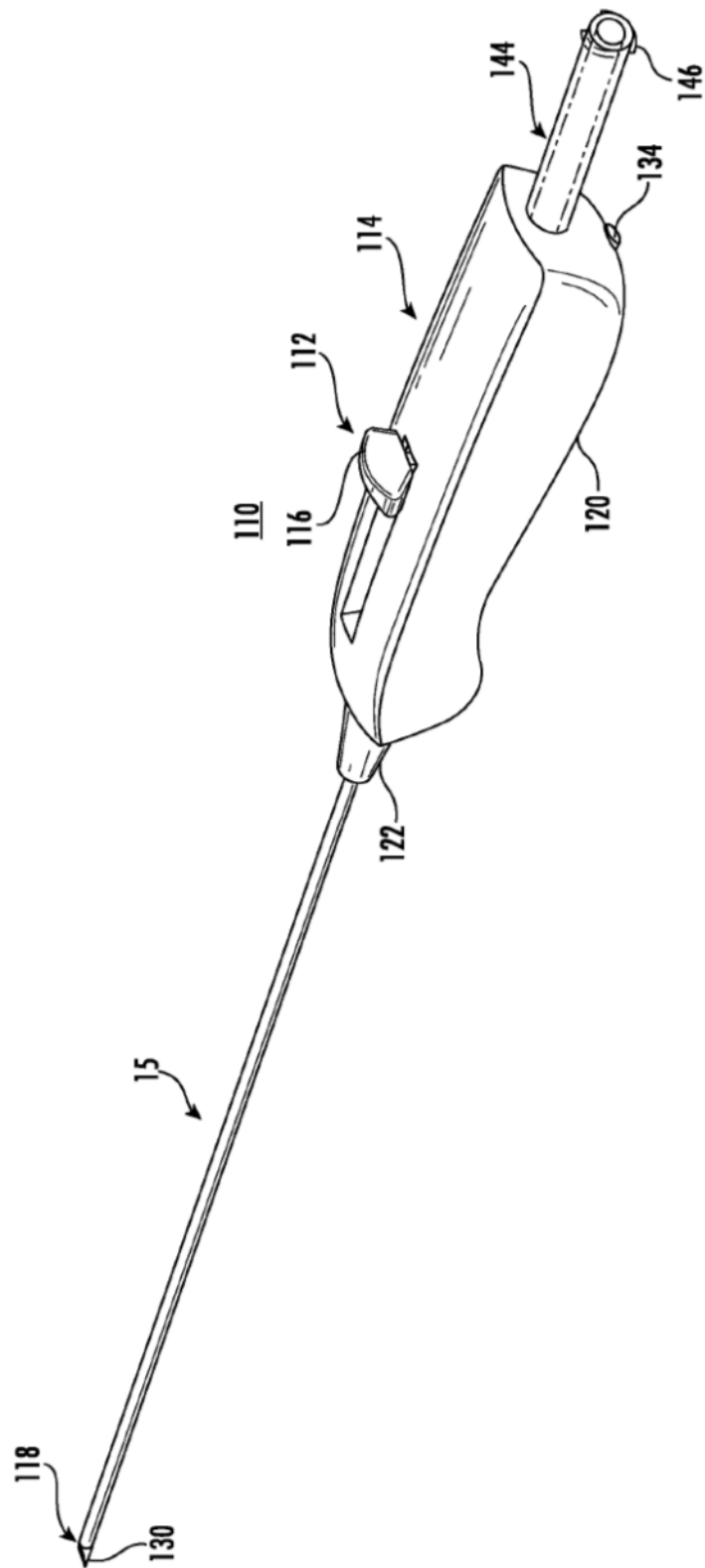


Figura 47

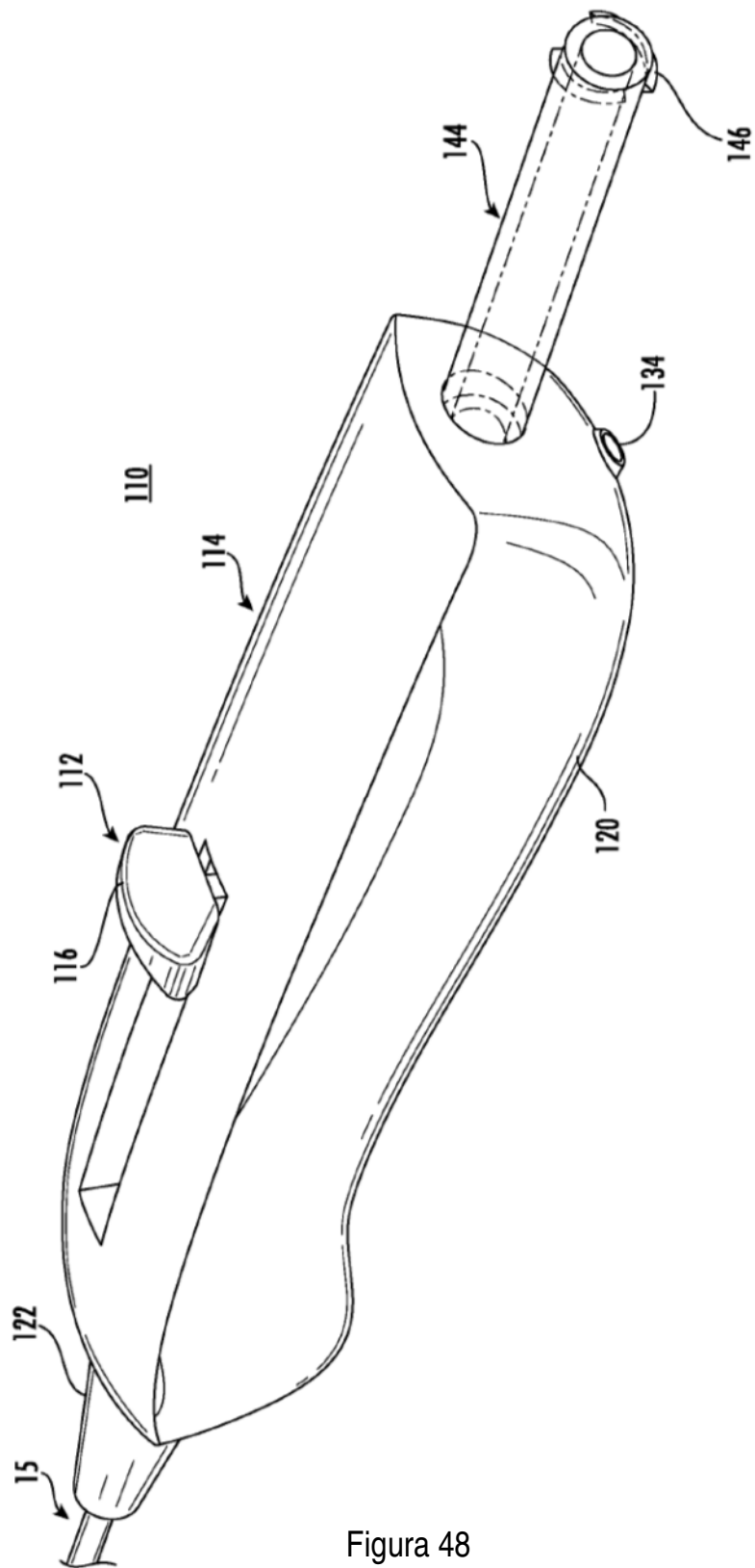


Figura 48

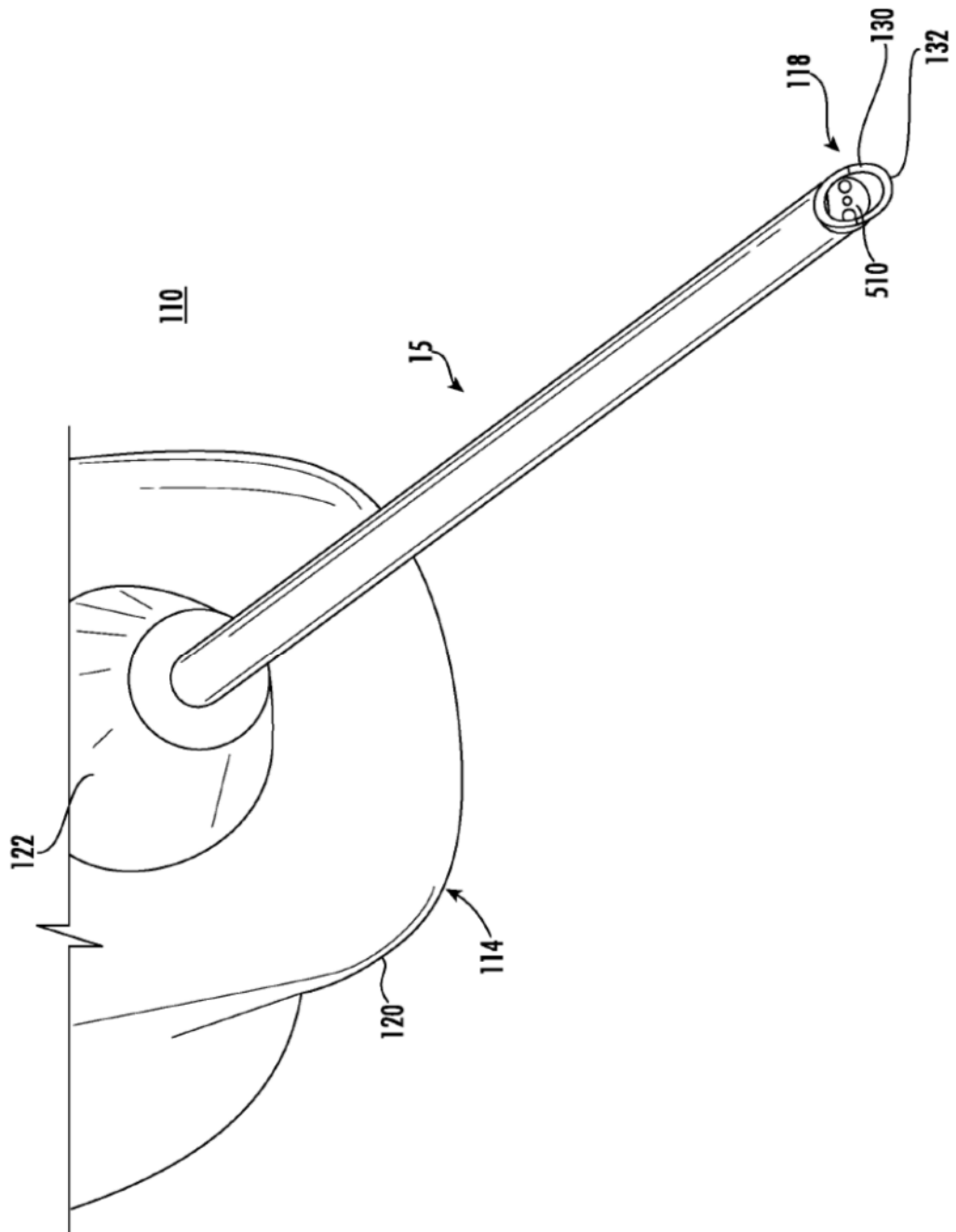


Figura 49

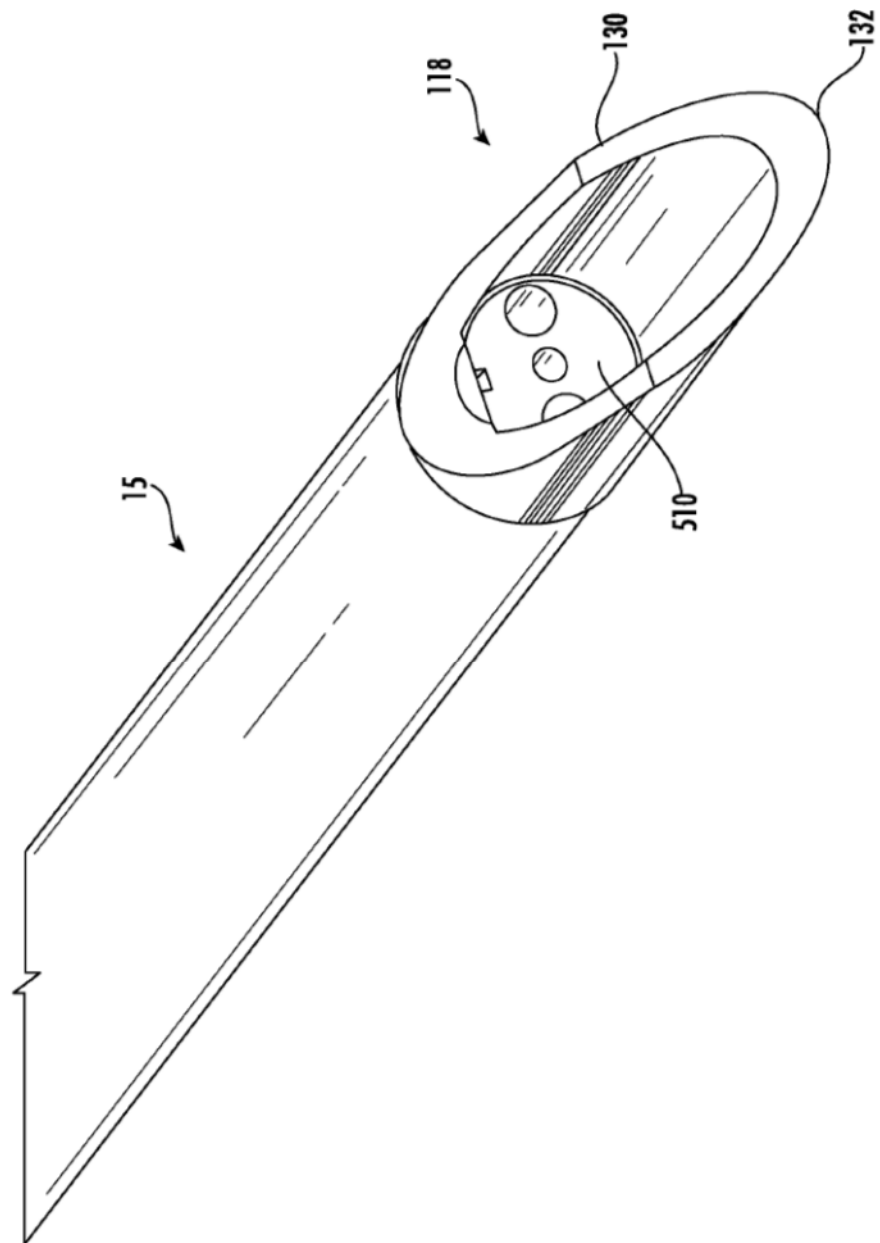


Figura 50

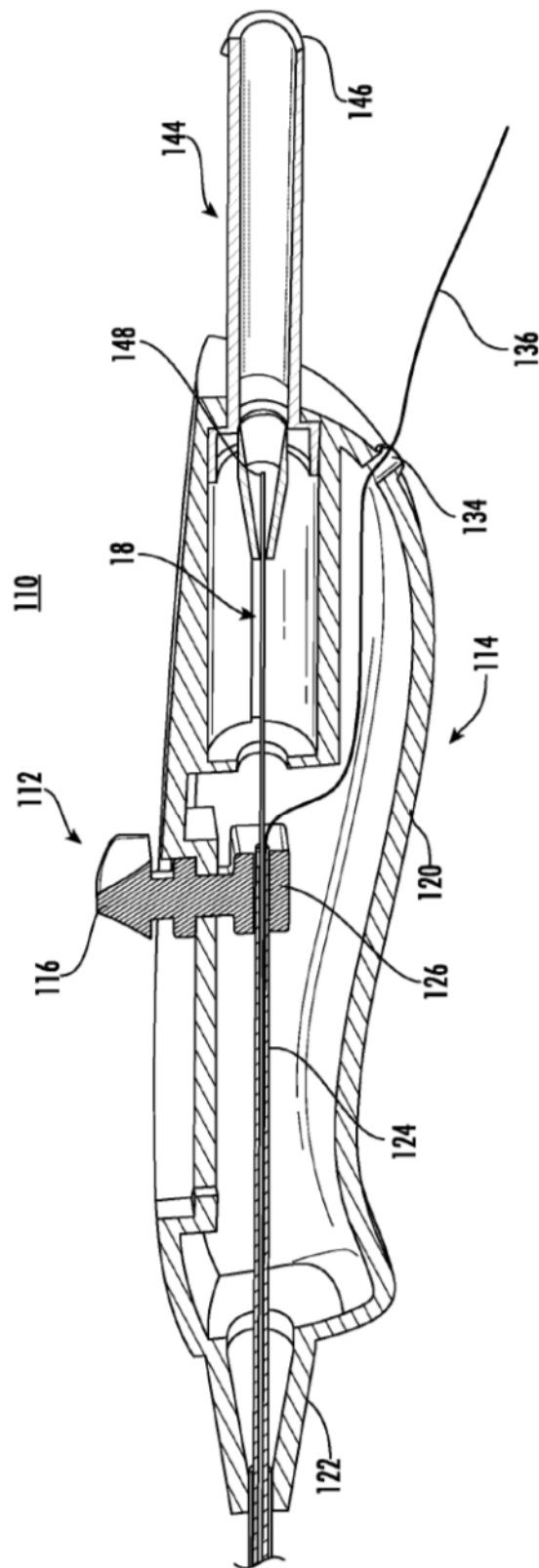


Figura 51

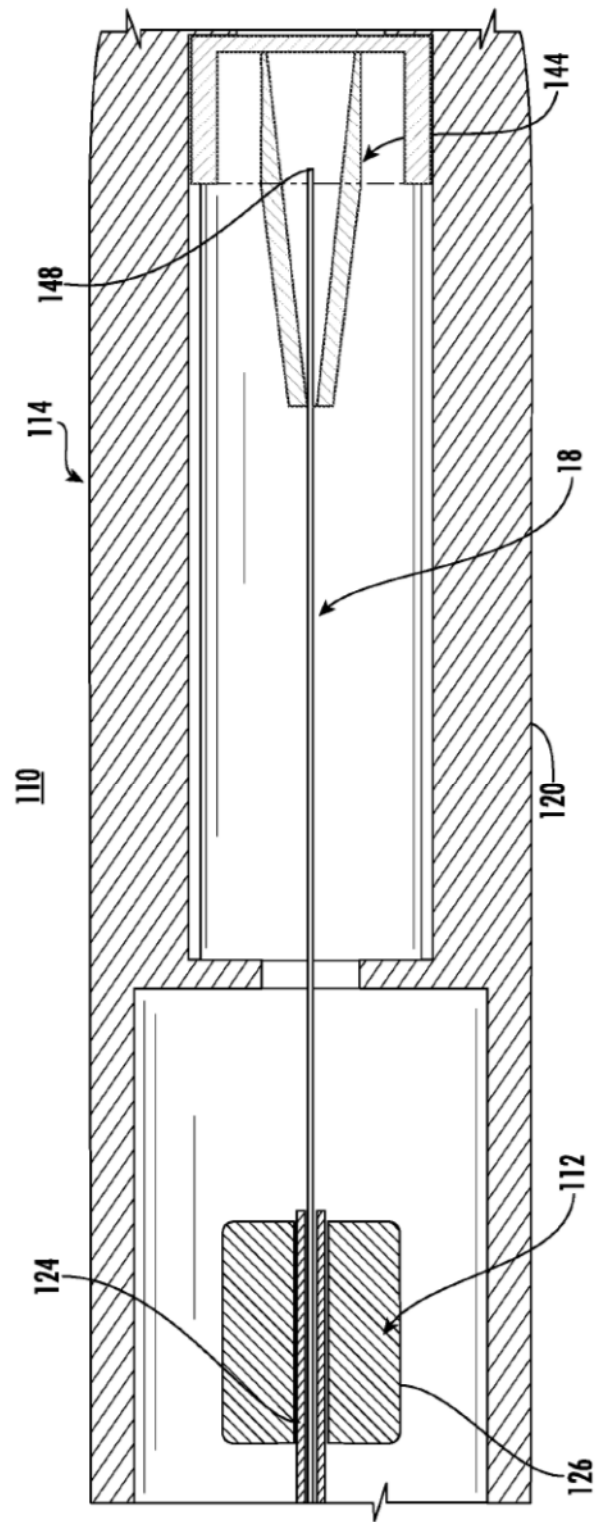


Figura 52

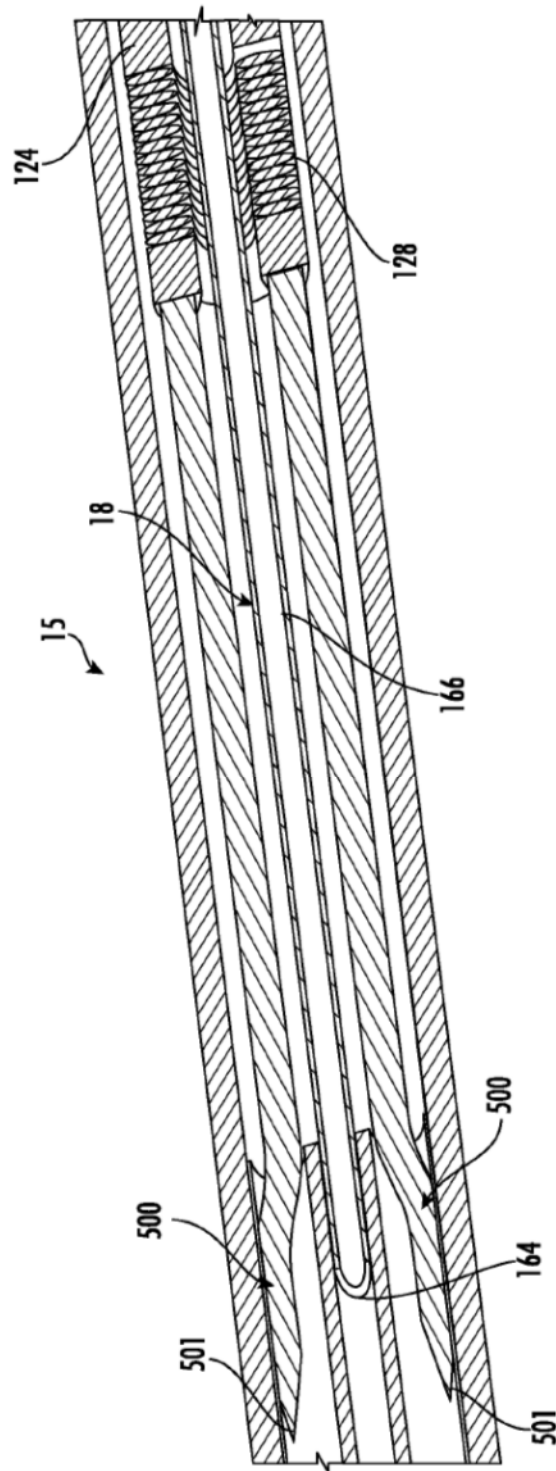


Figura 53

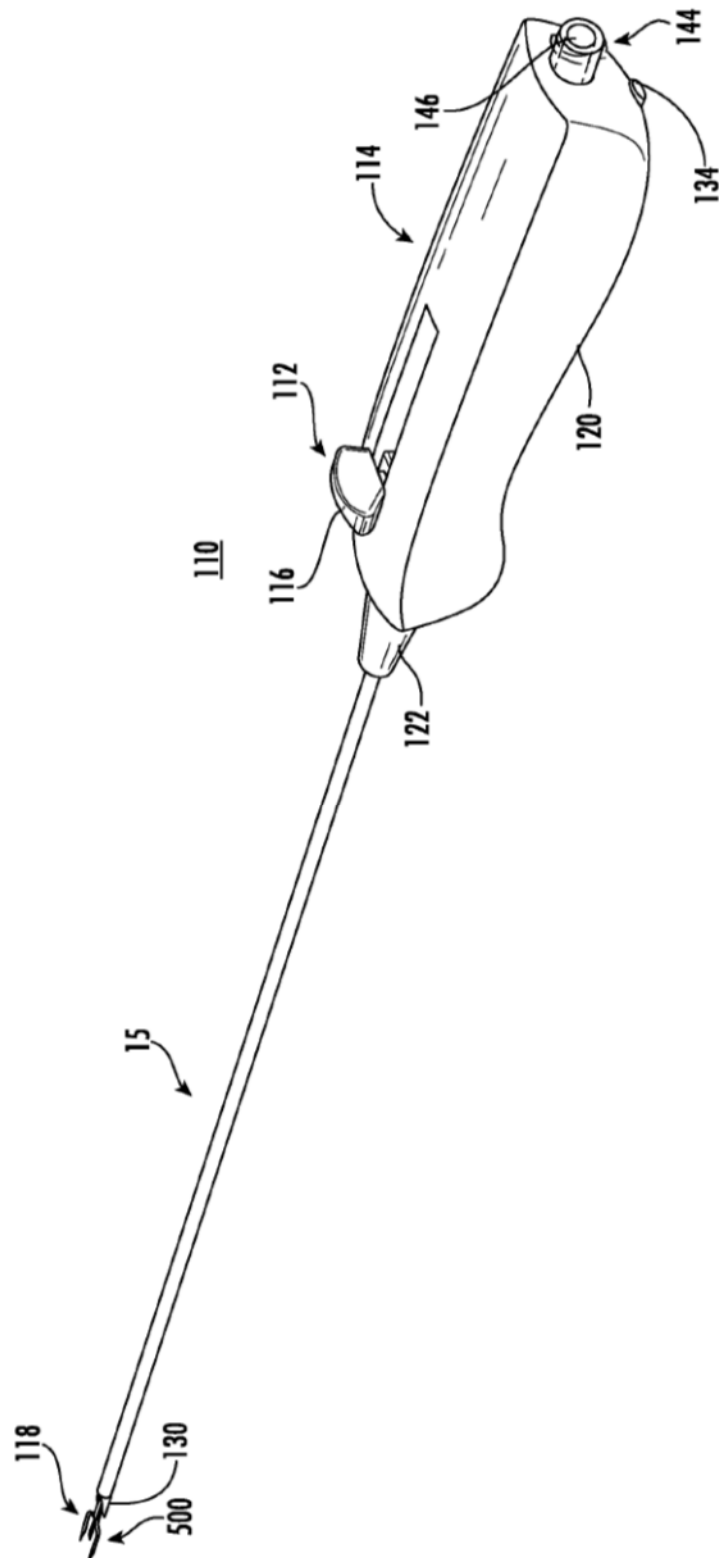


Figura 54

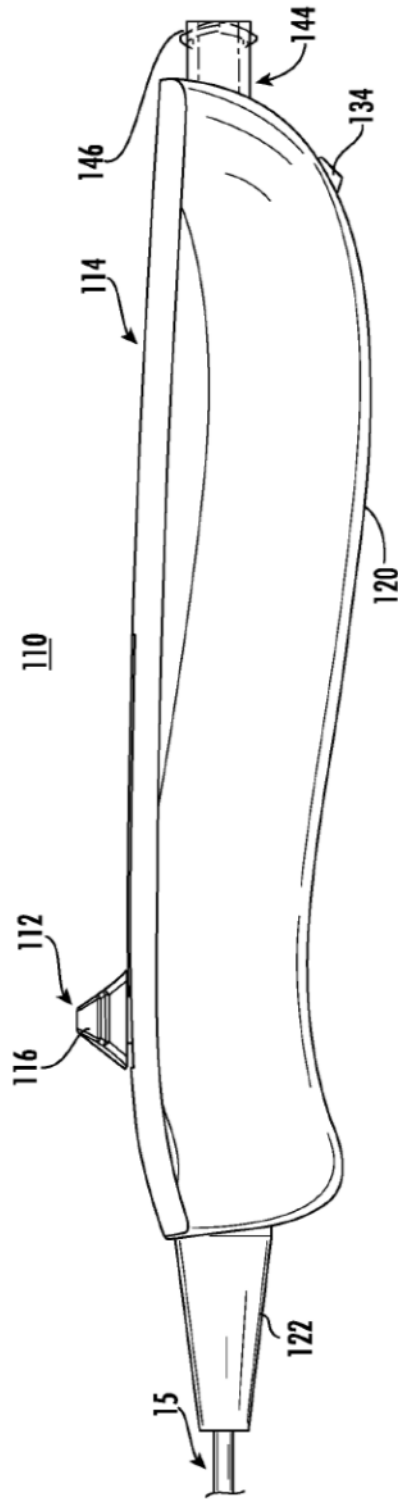


Figura 55

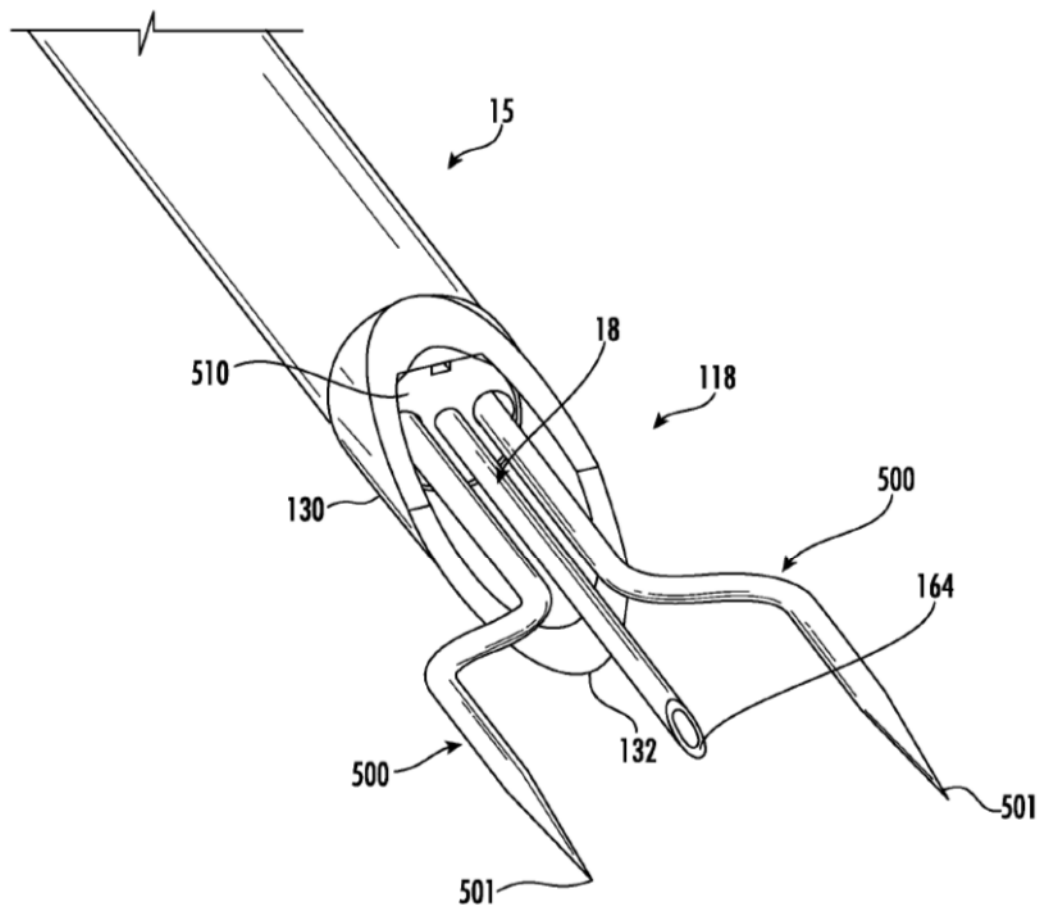


Figura 56

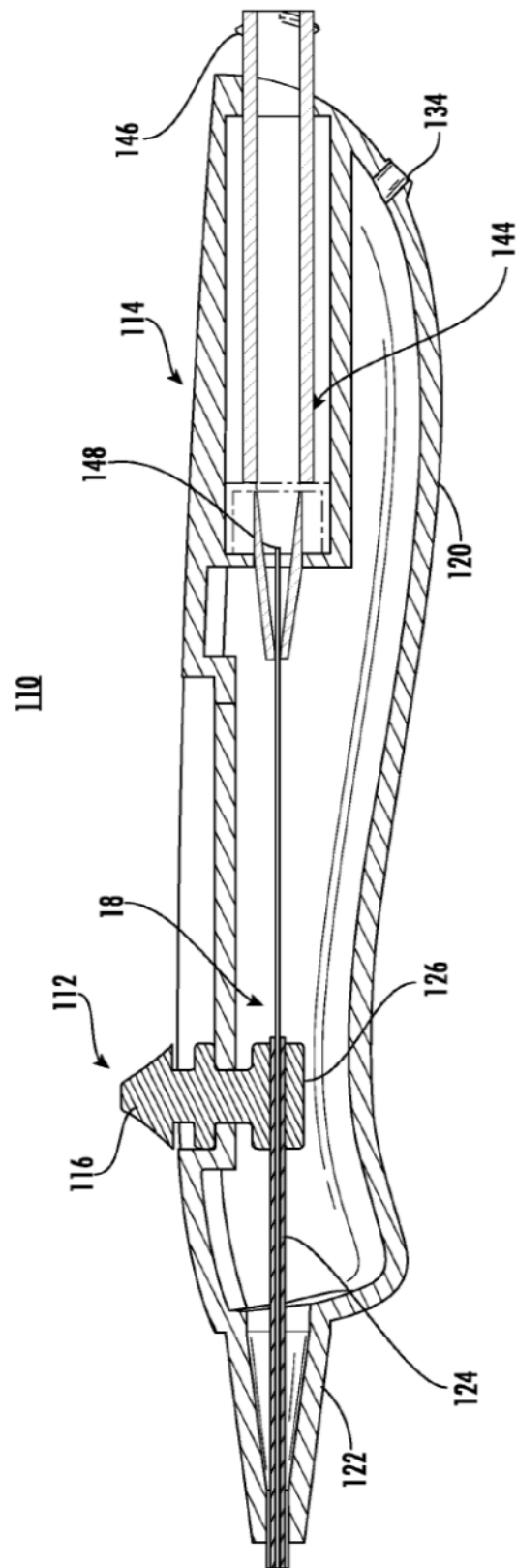


Figura 57

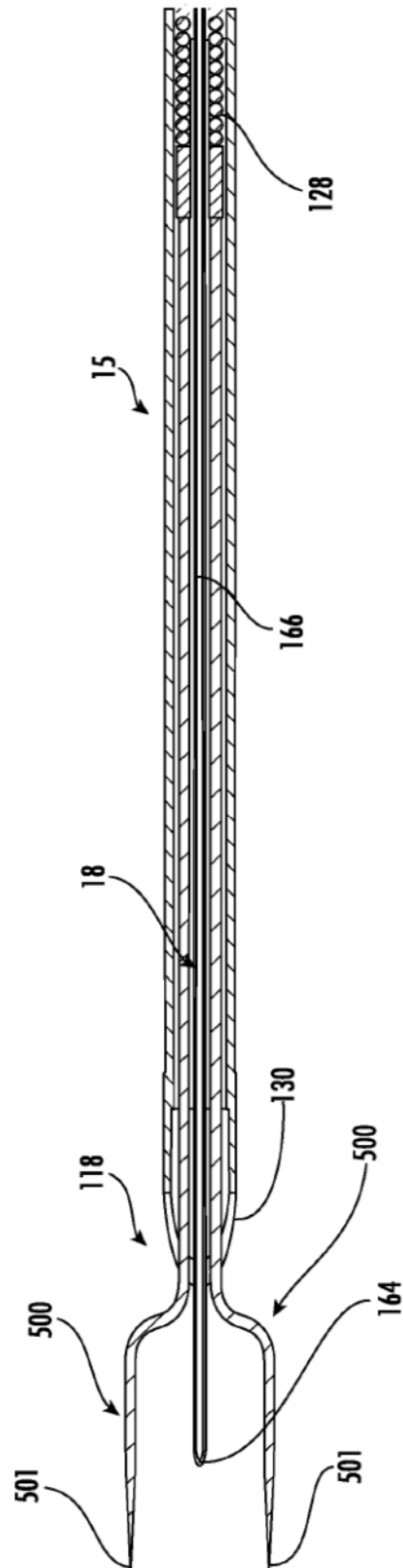


Figura 58

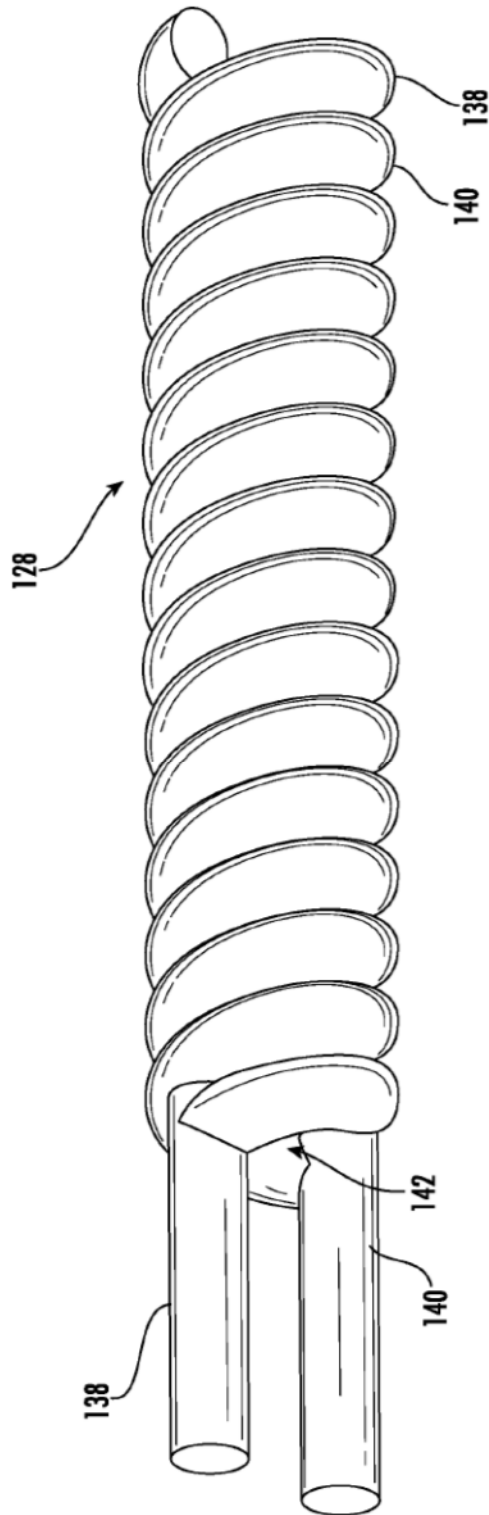


Figura 59

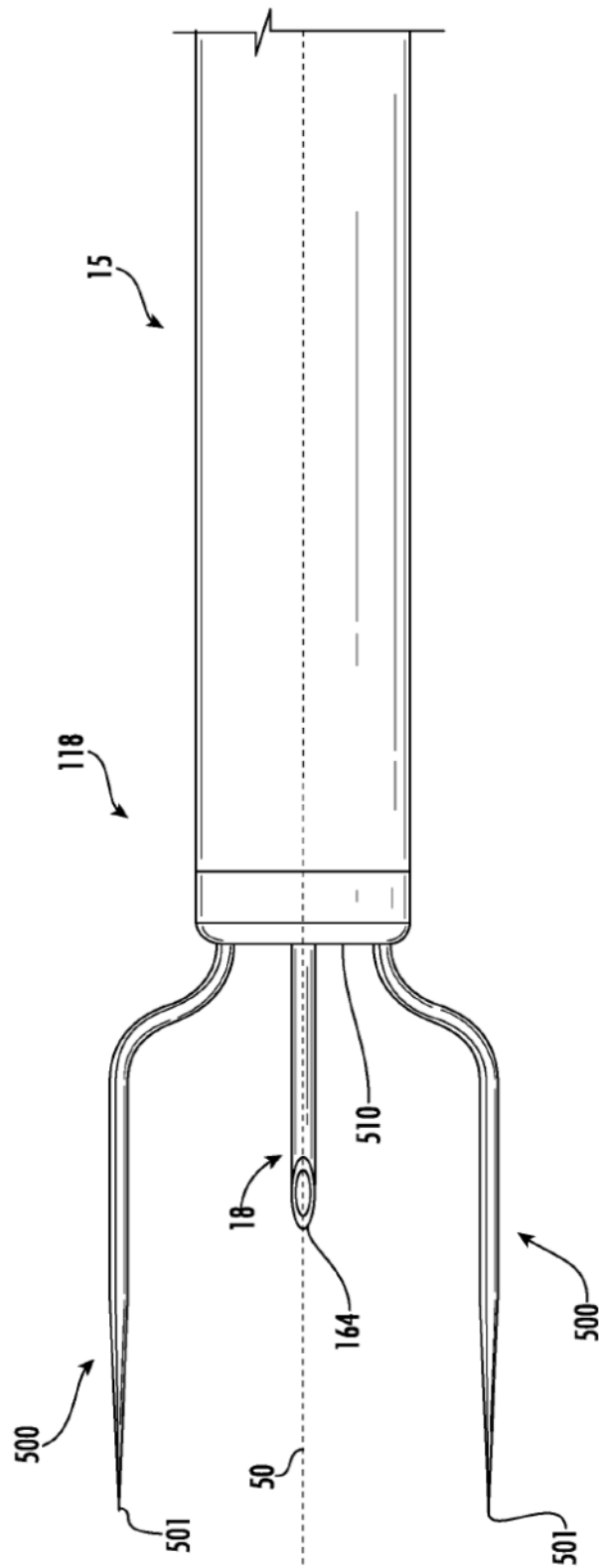


Figura 60

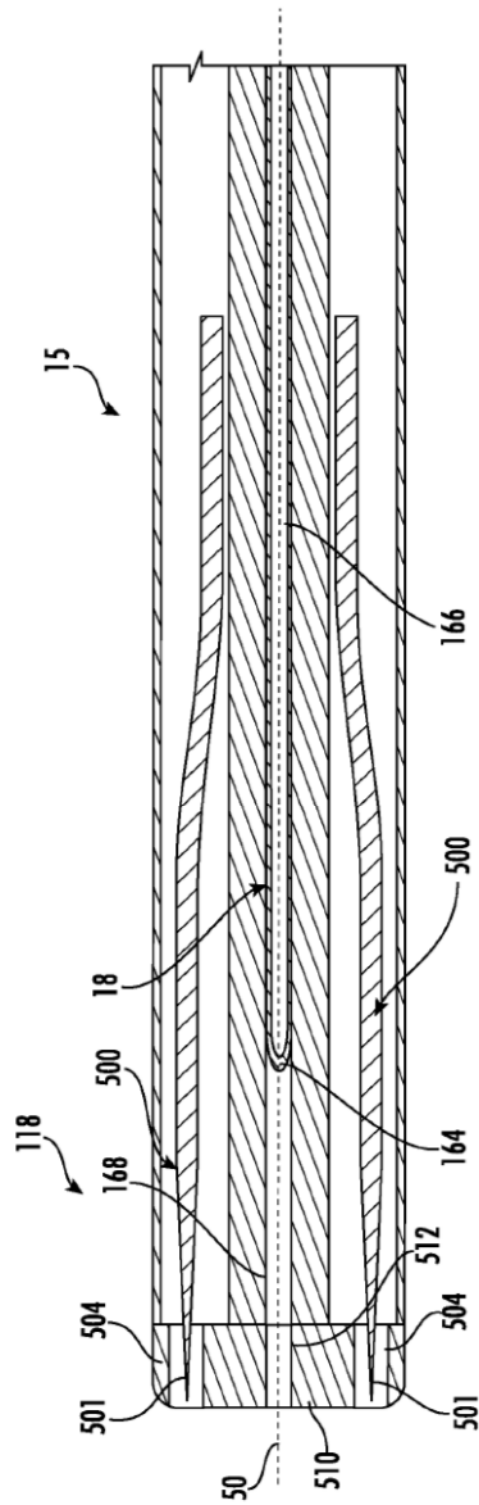


Figura 61

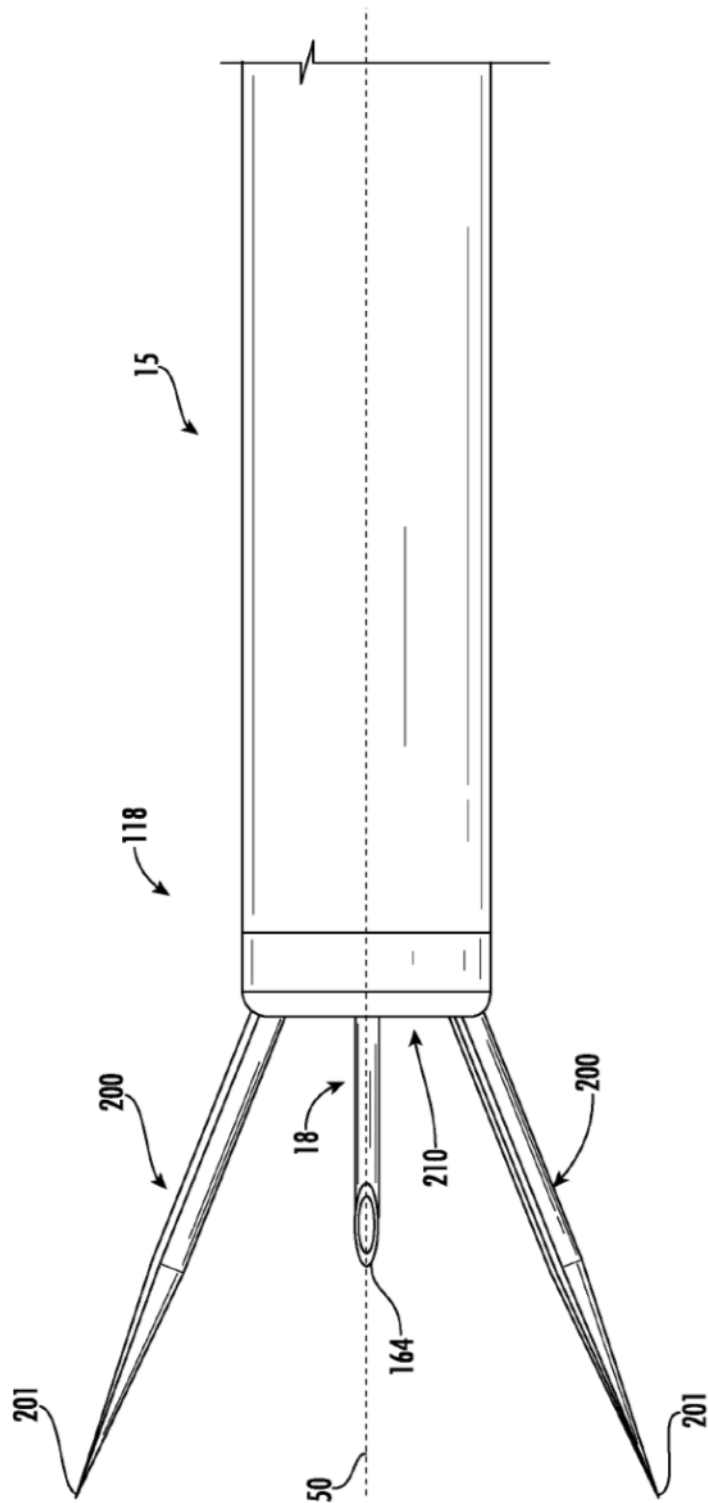
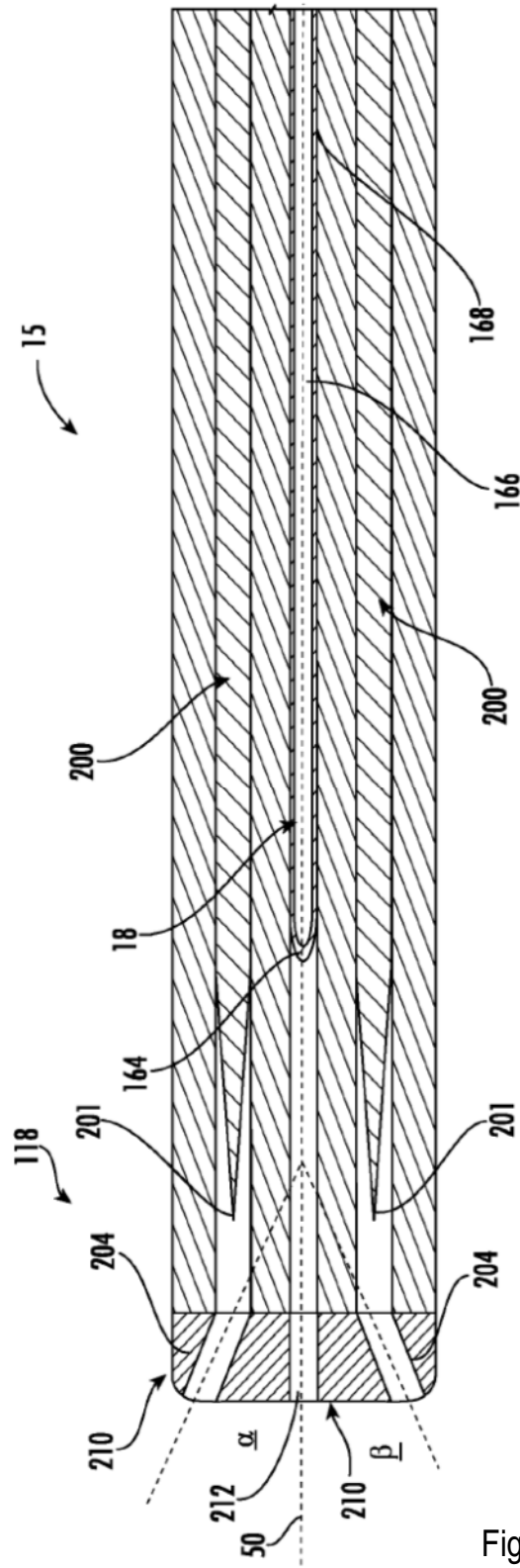


Figura 62



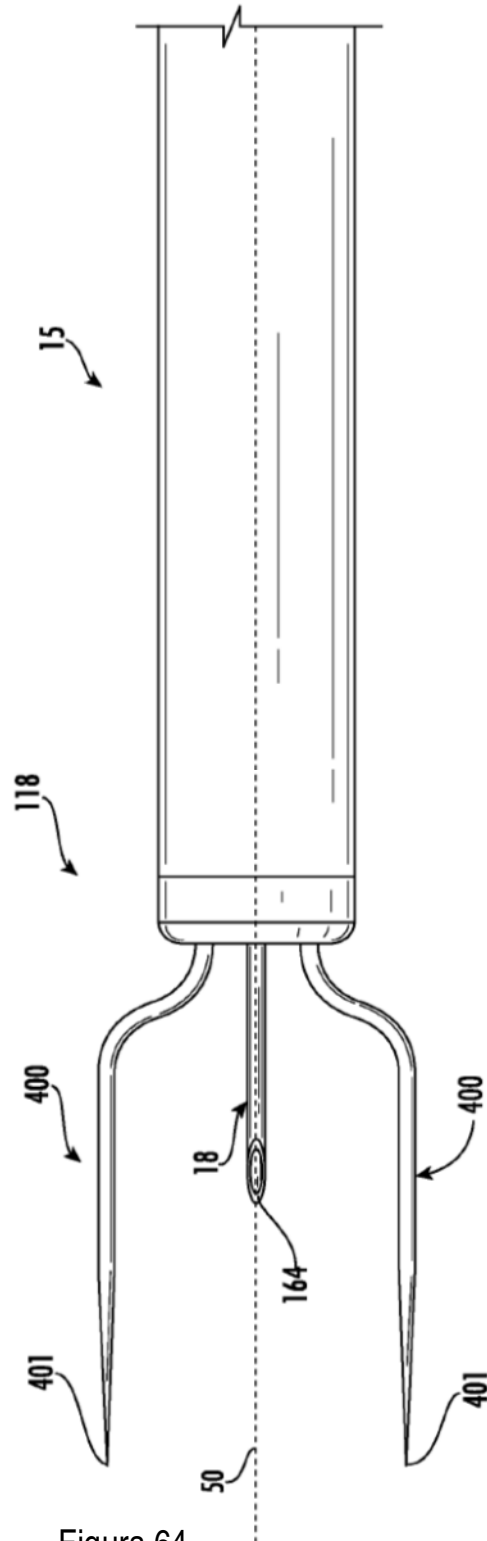
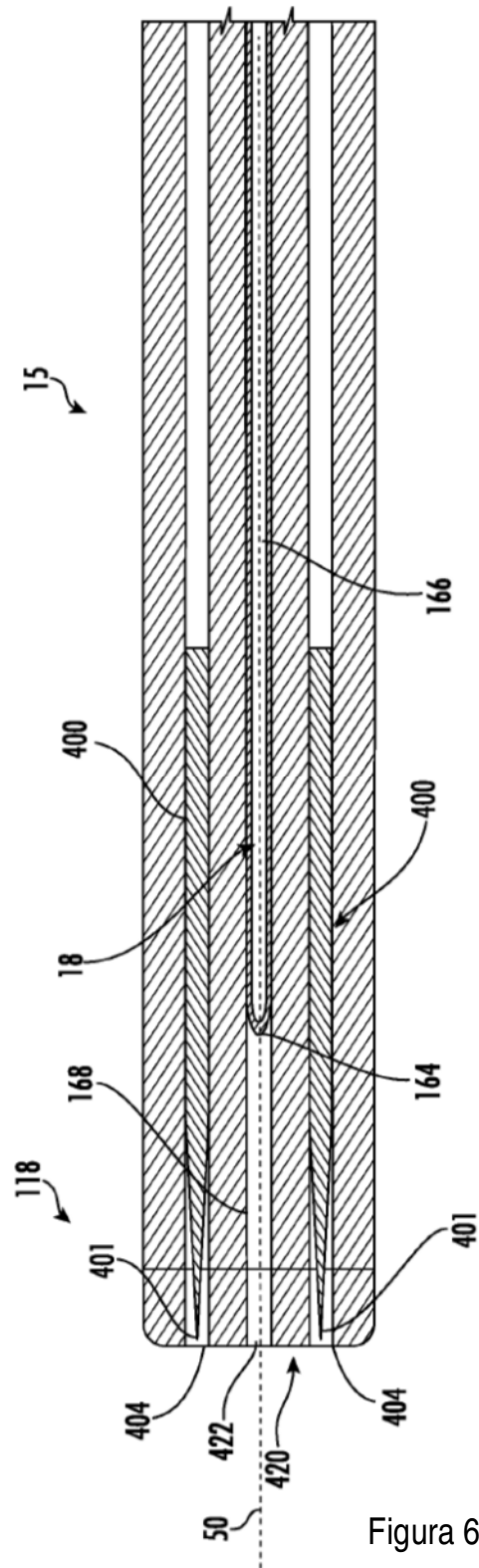


Figura 64



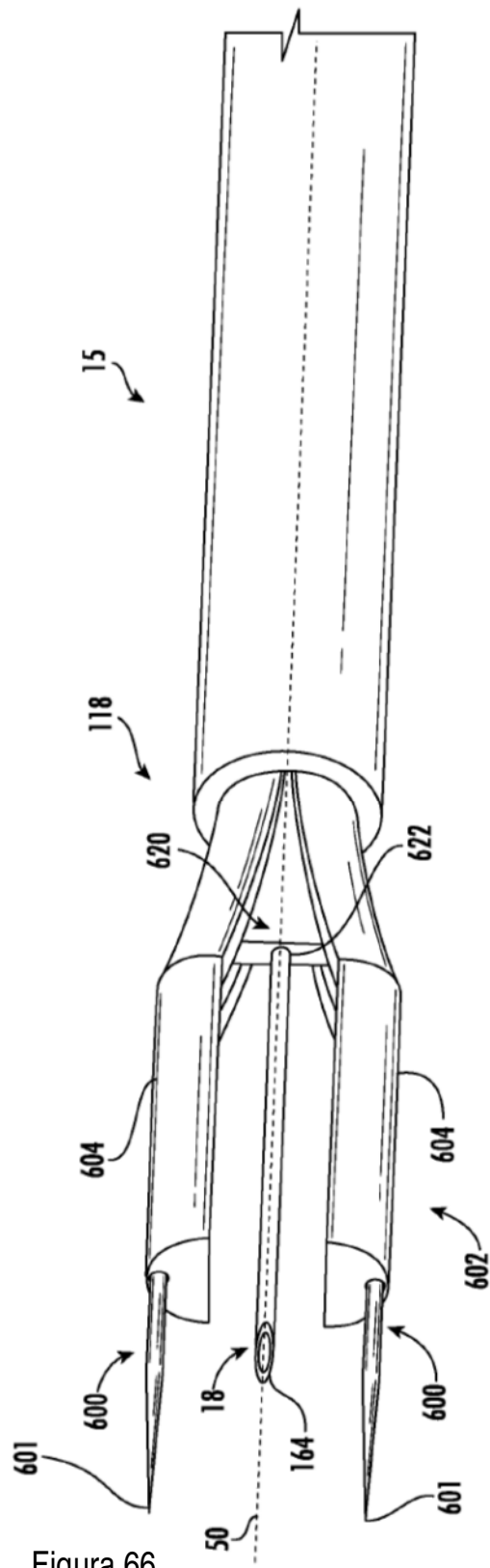


Figura 66

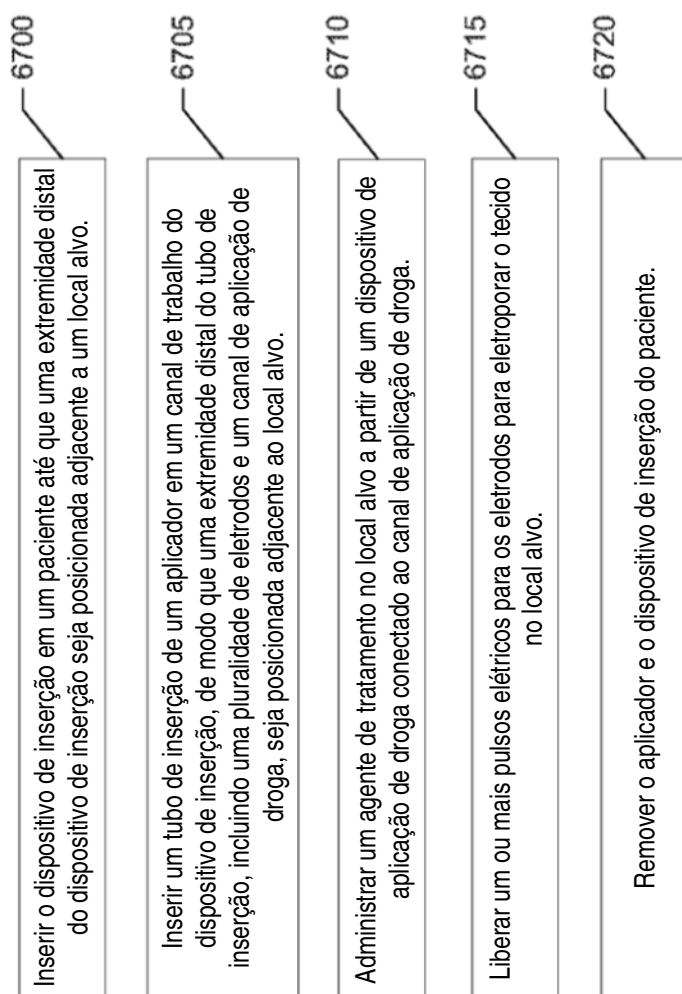


Figura 67

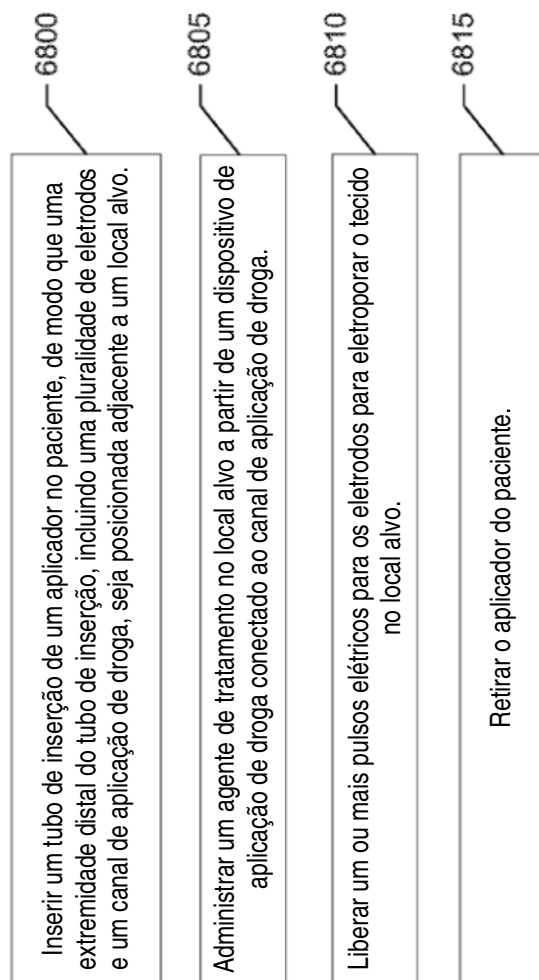


Figura 68

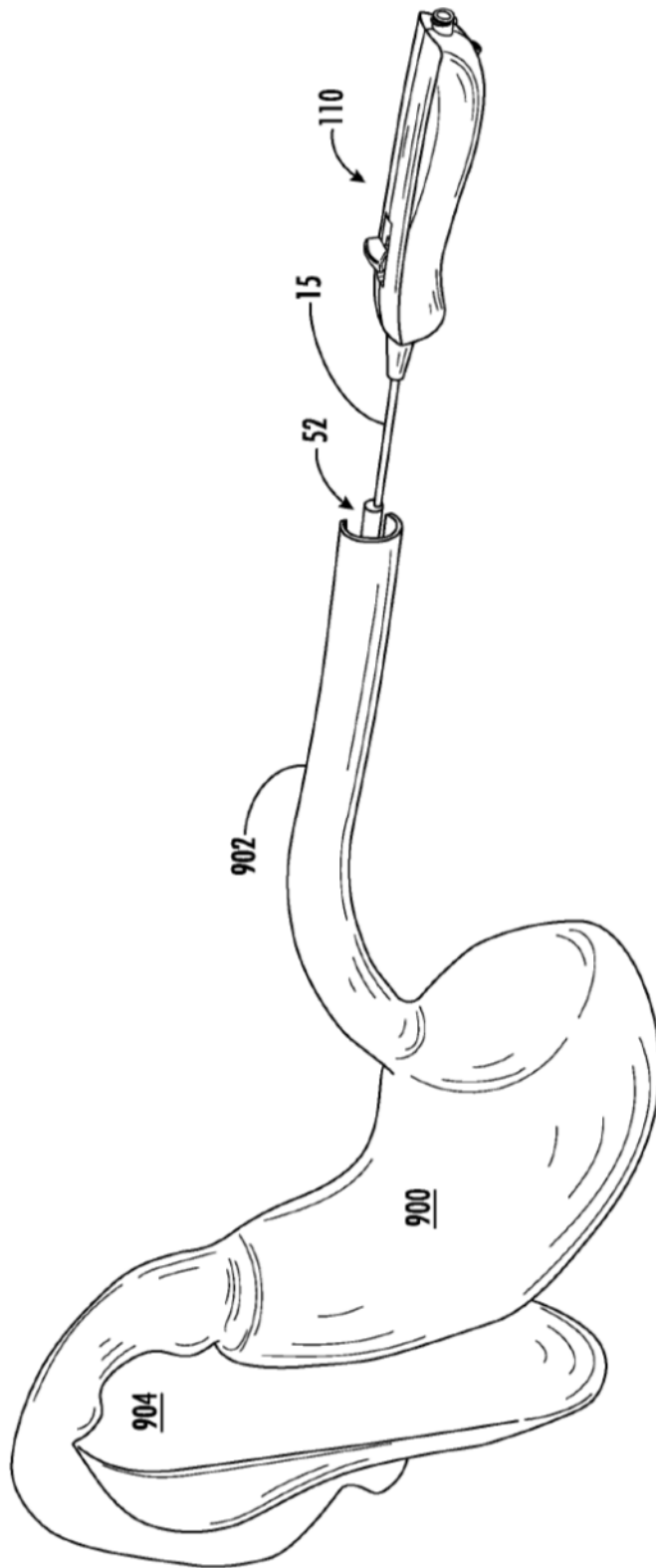


Figura 69

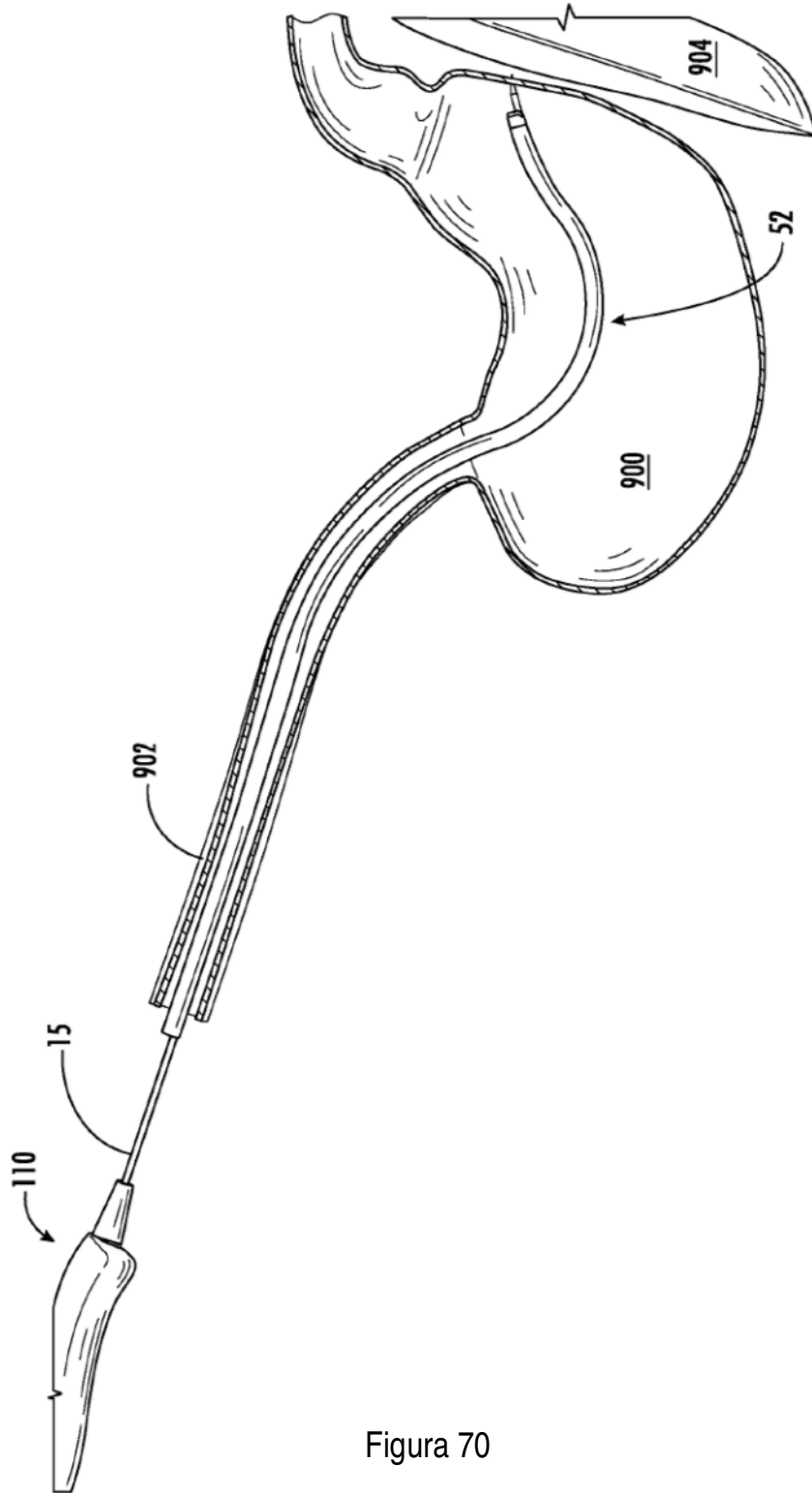


Figura 70

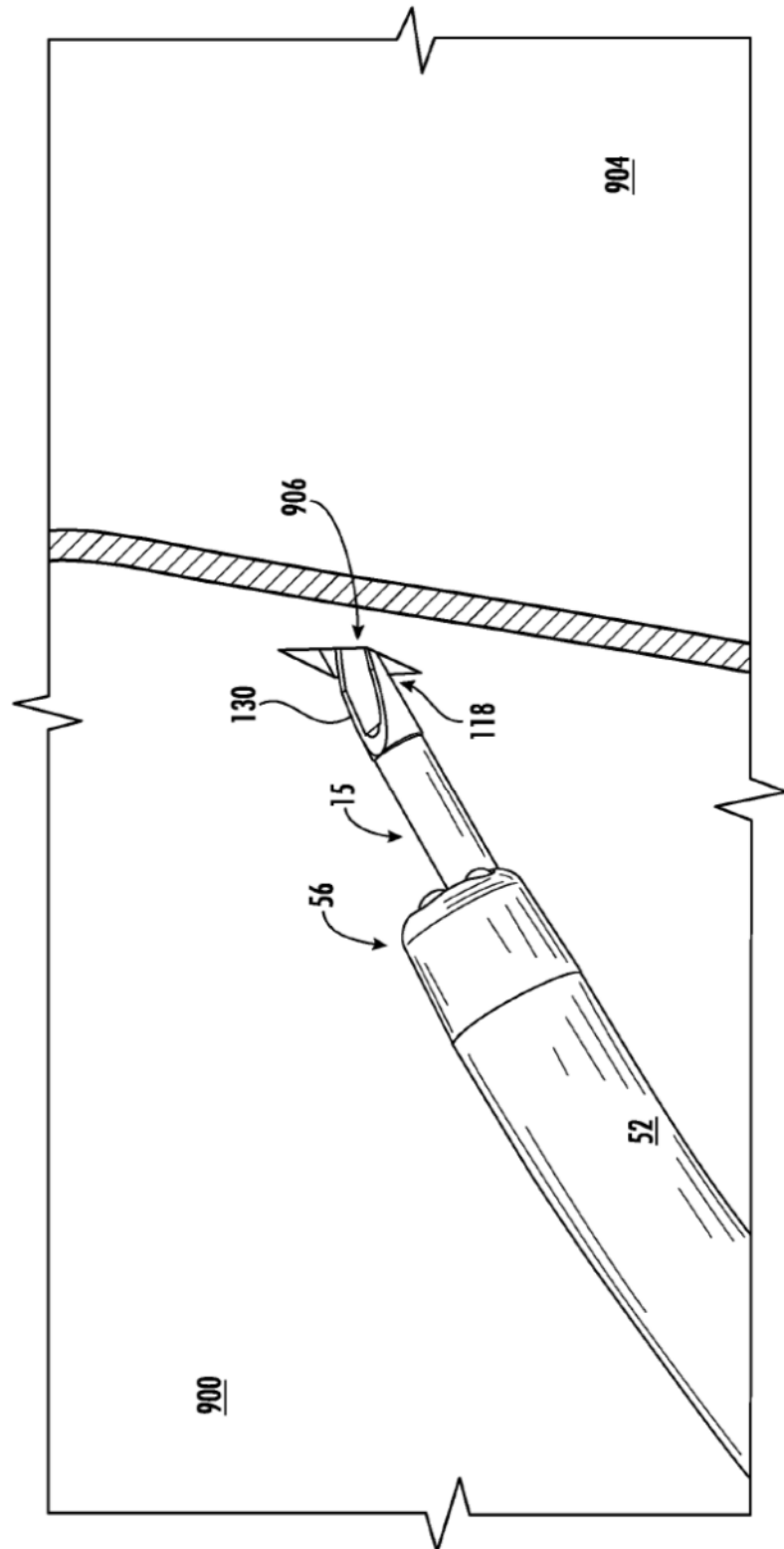


Figura 72

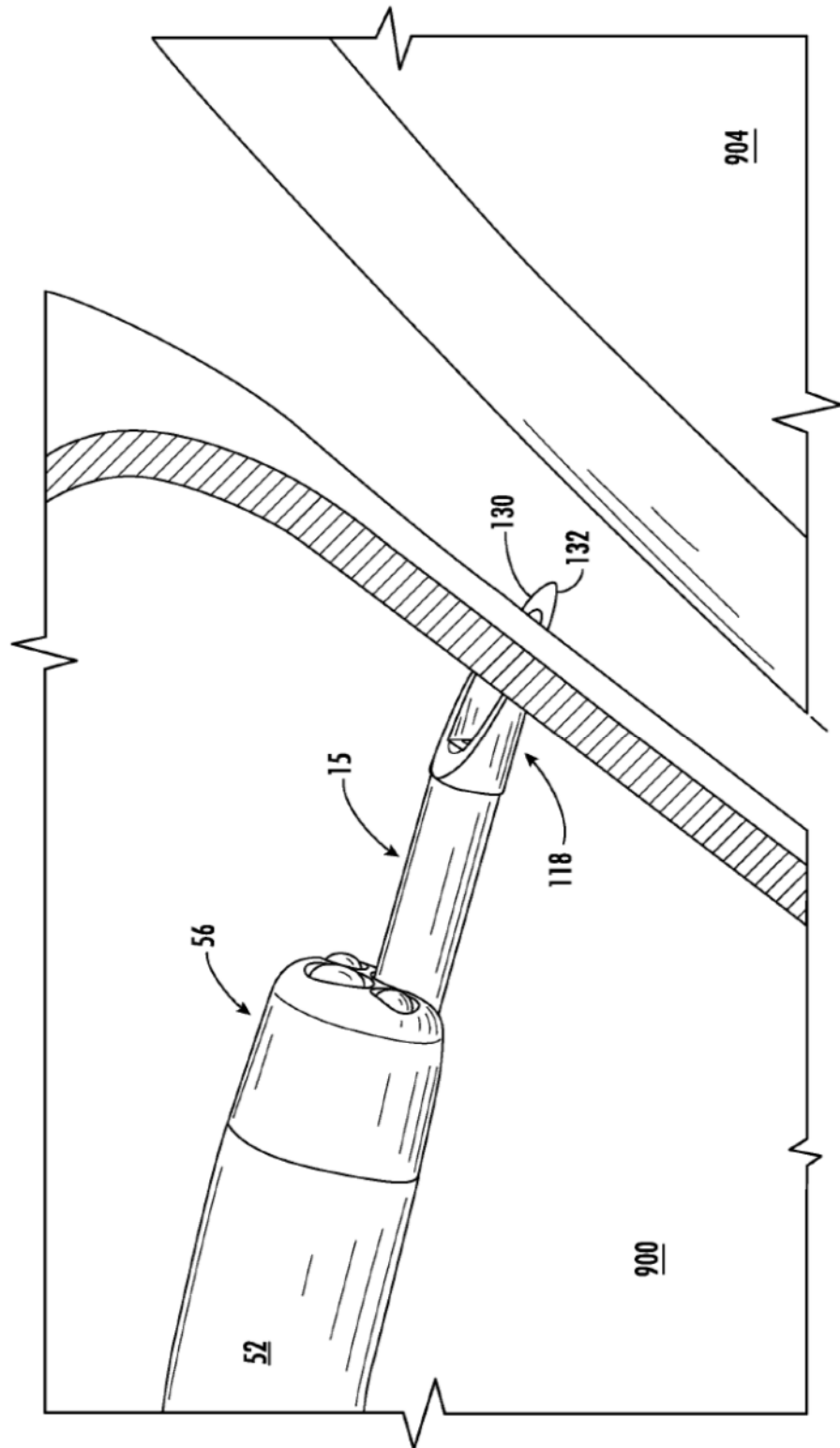


Figura 73

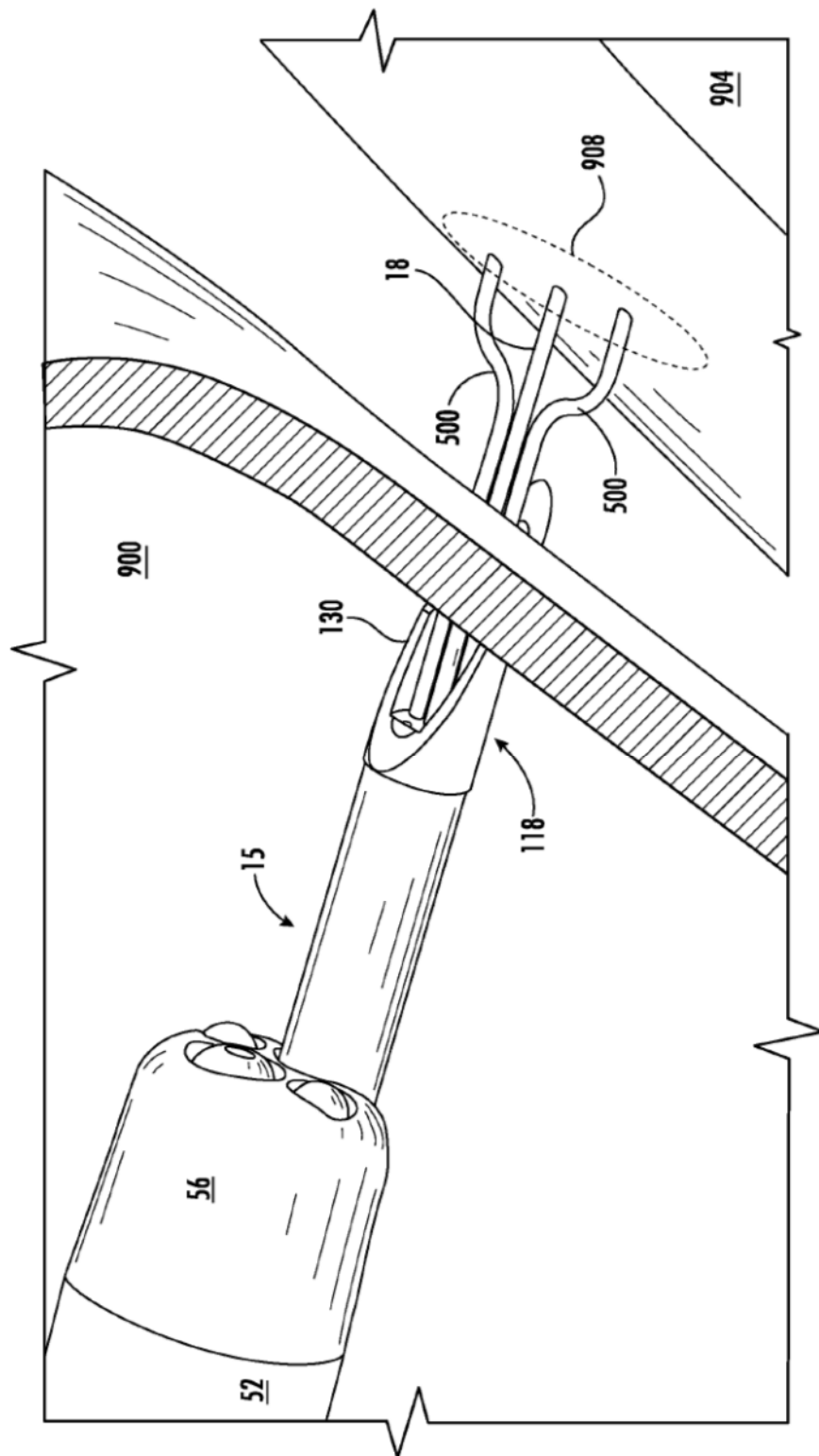


Figura 74

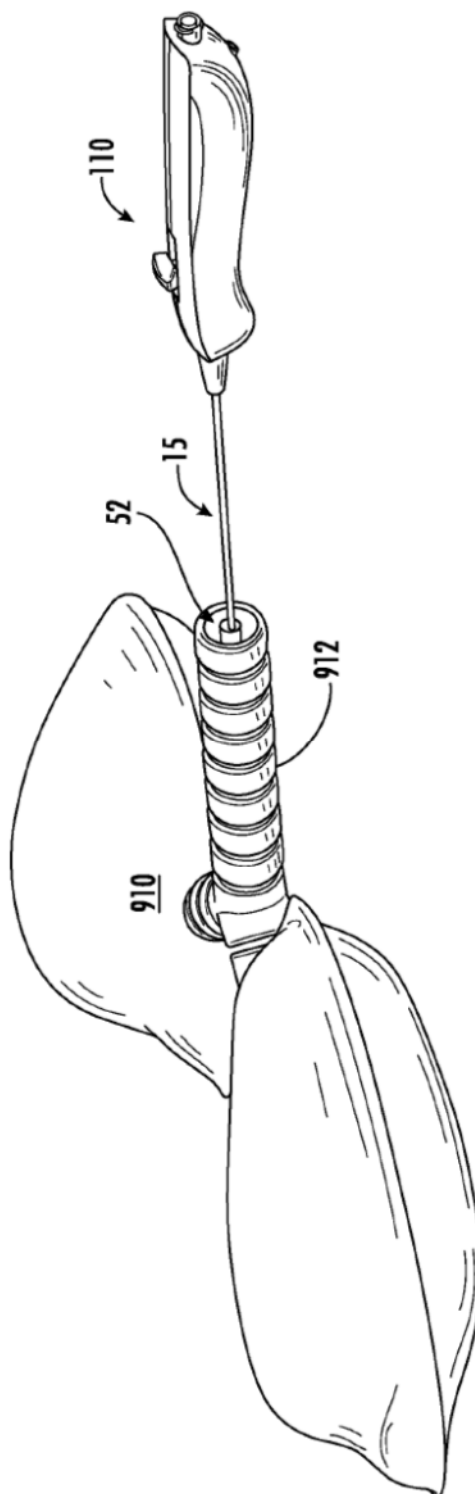


Figura 75

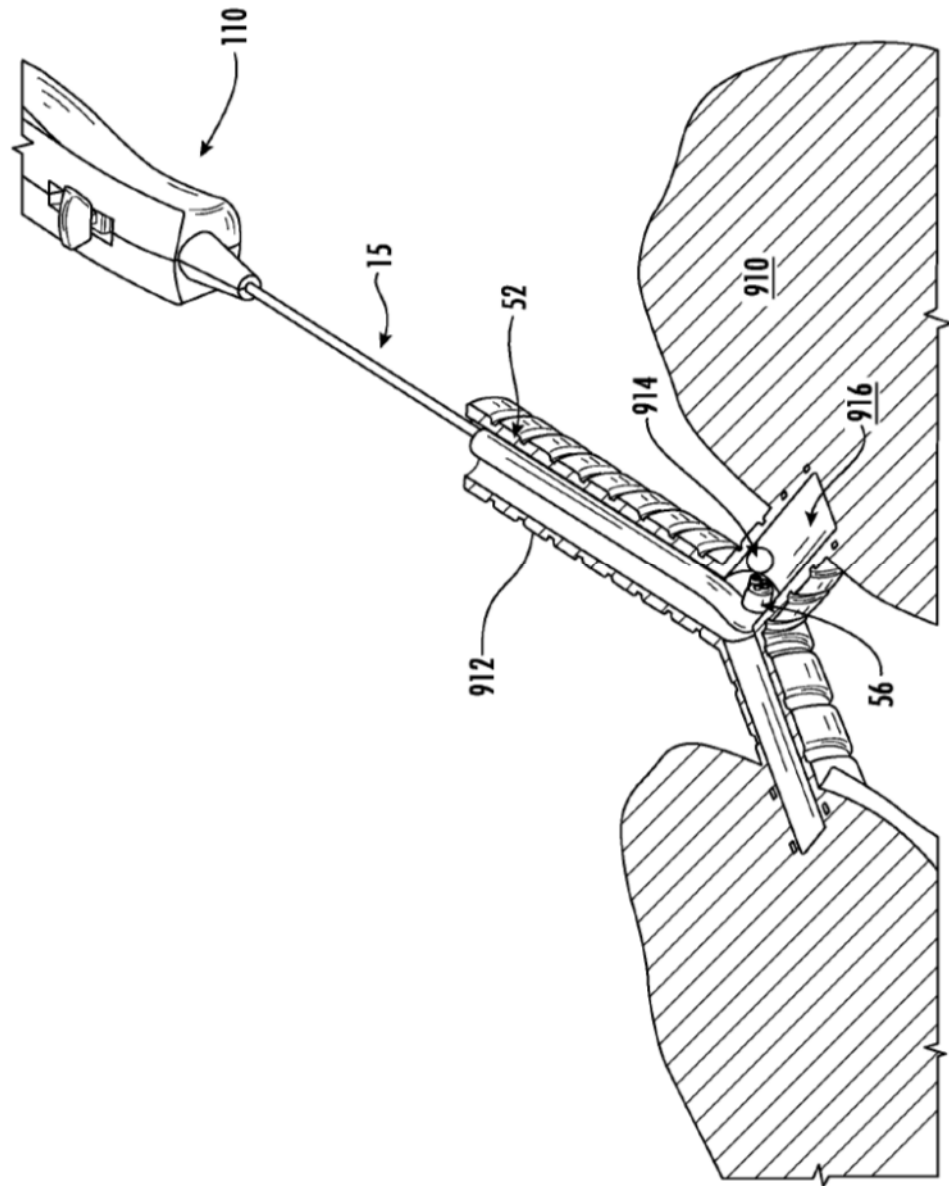


Figura 76

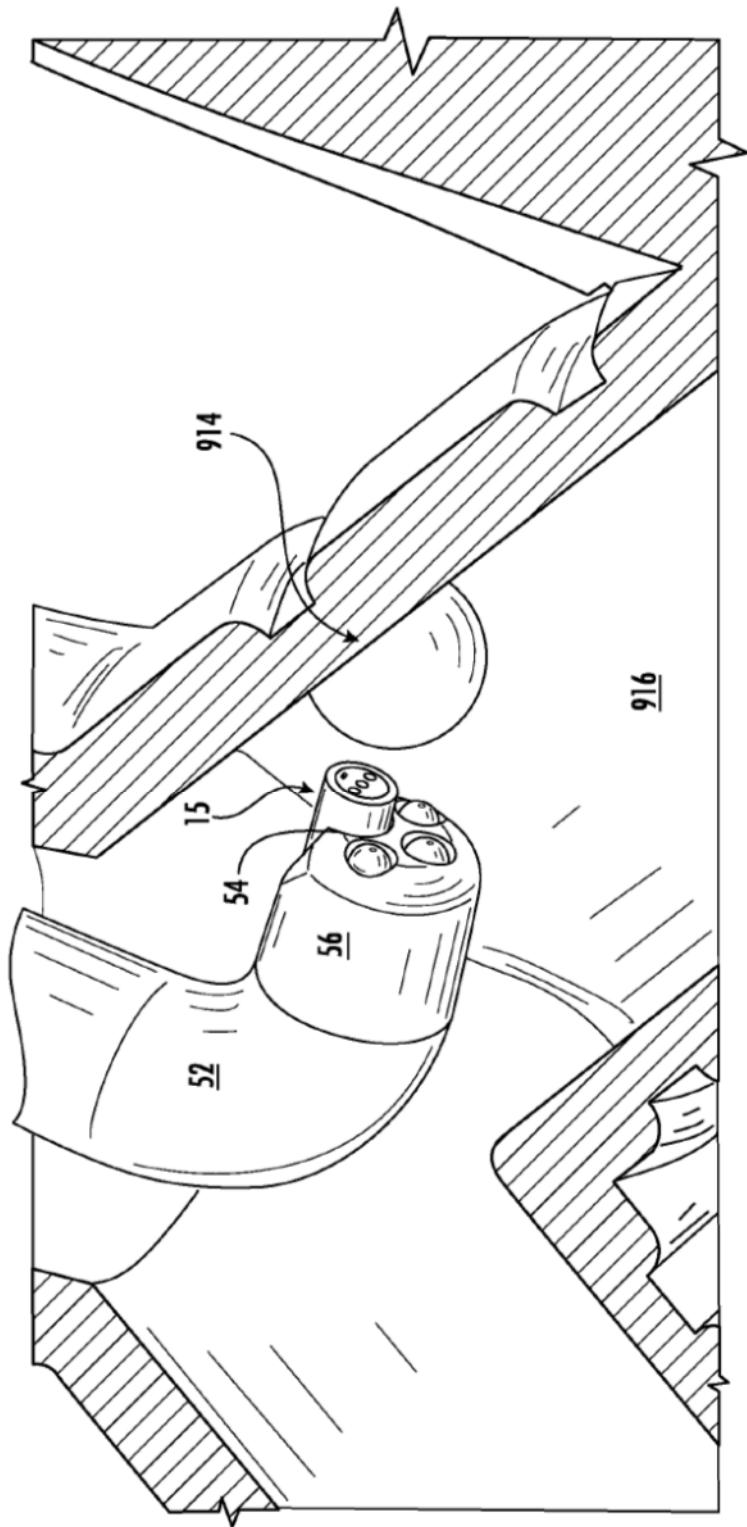


Figura 77

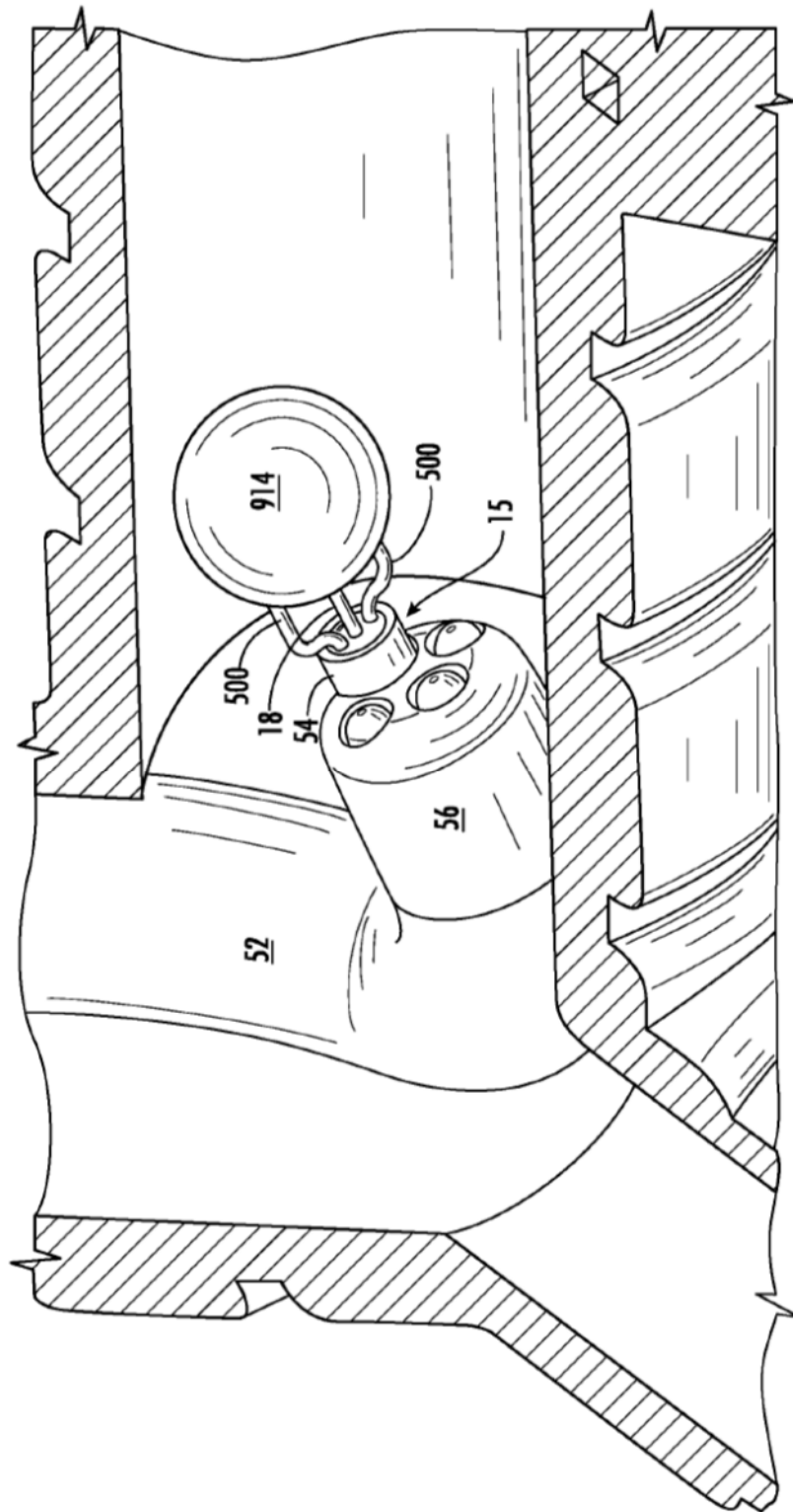


Figura 78

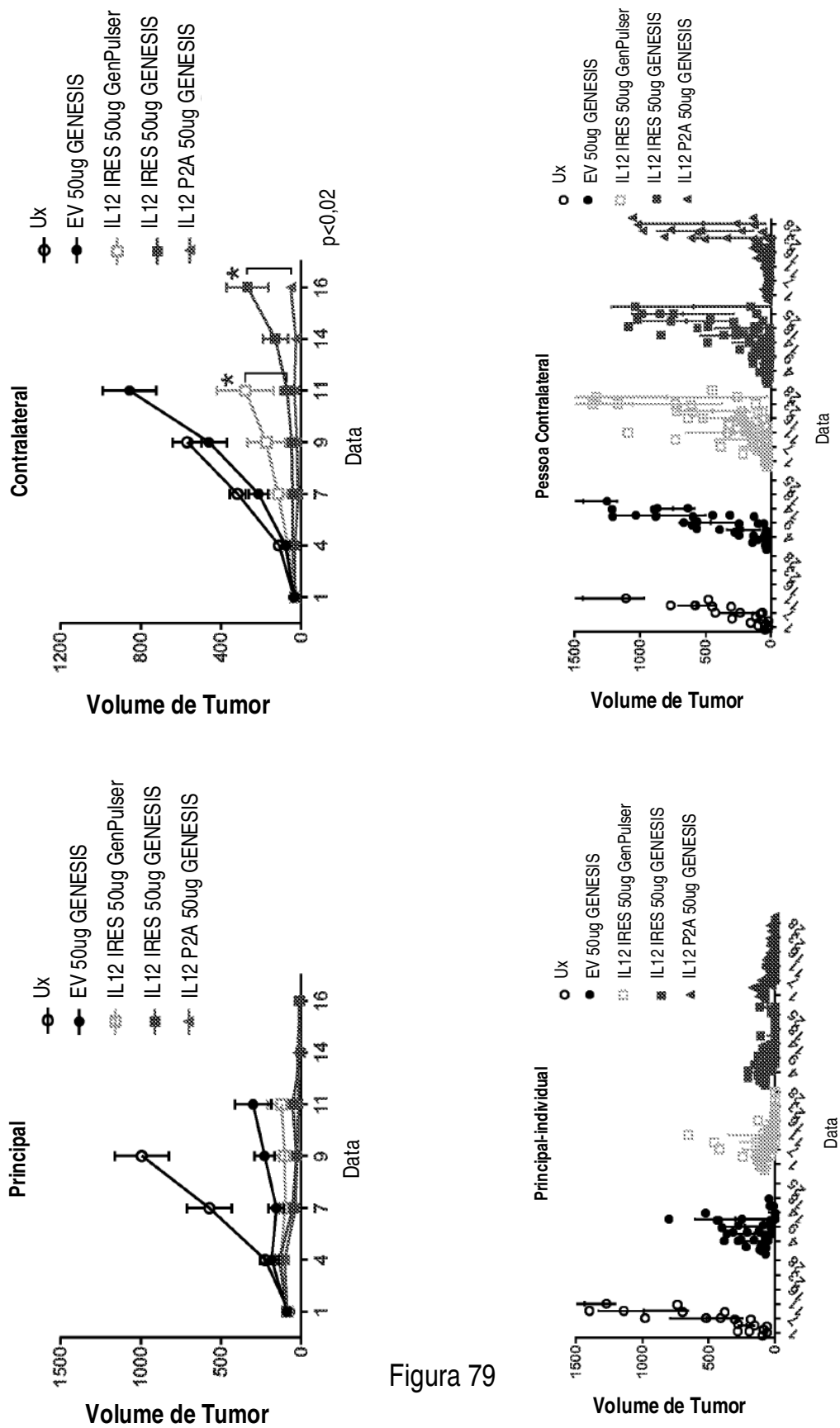


Figura 79

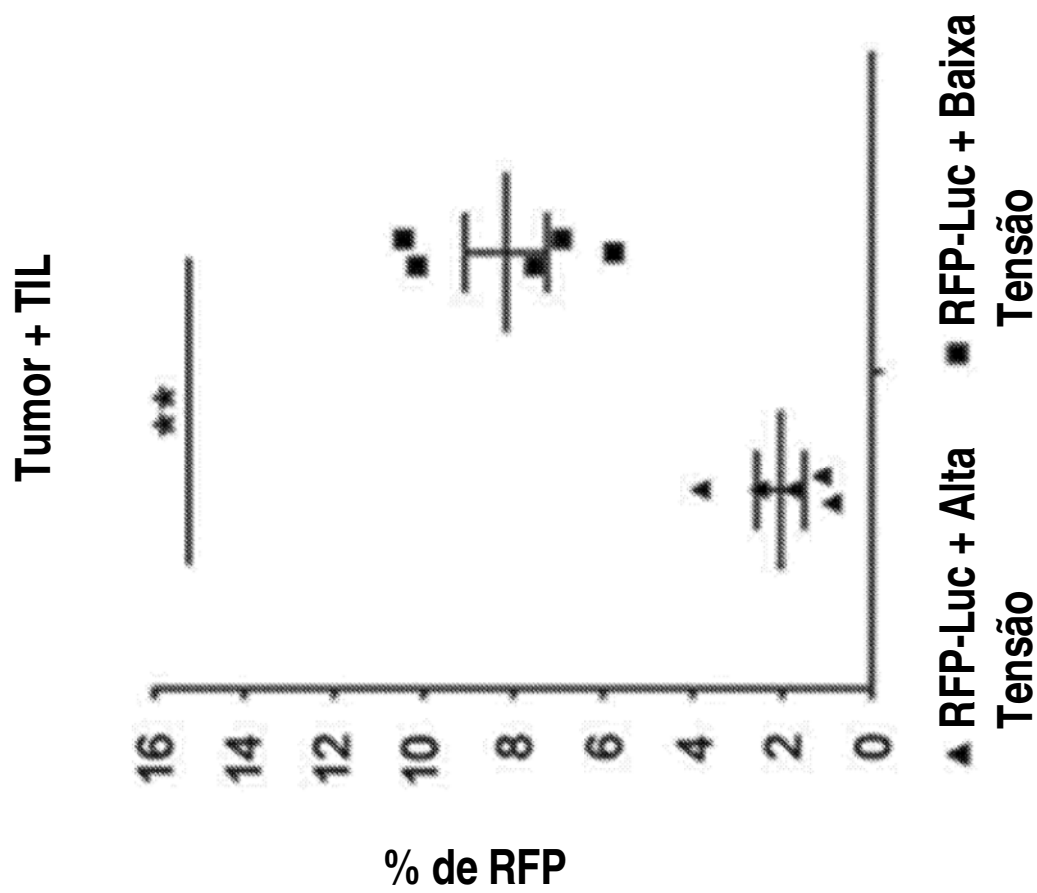


Figura 80

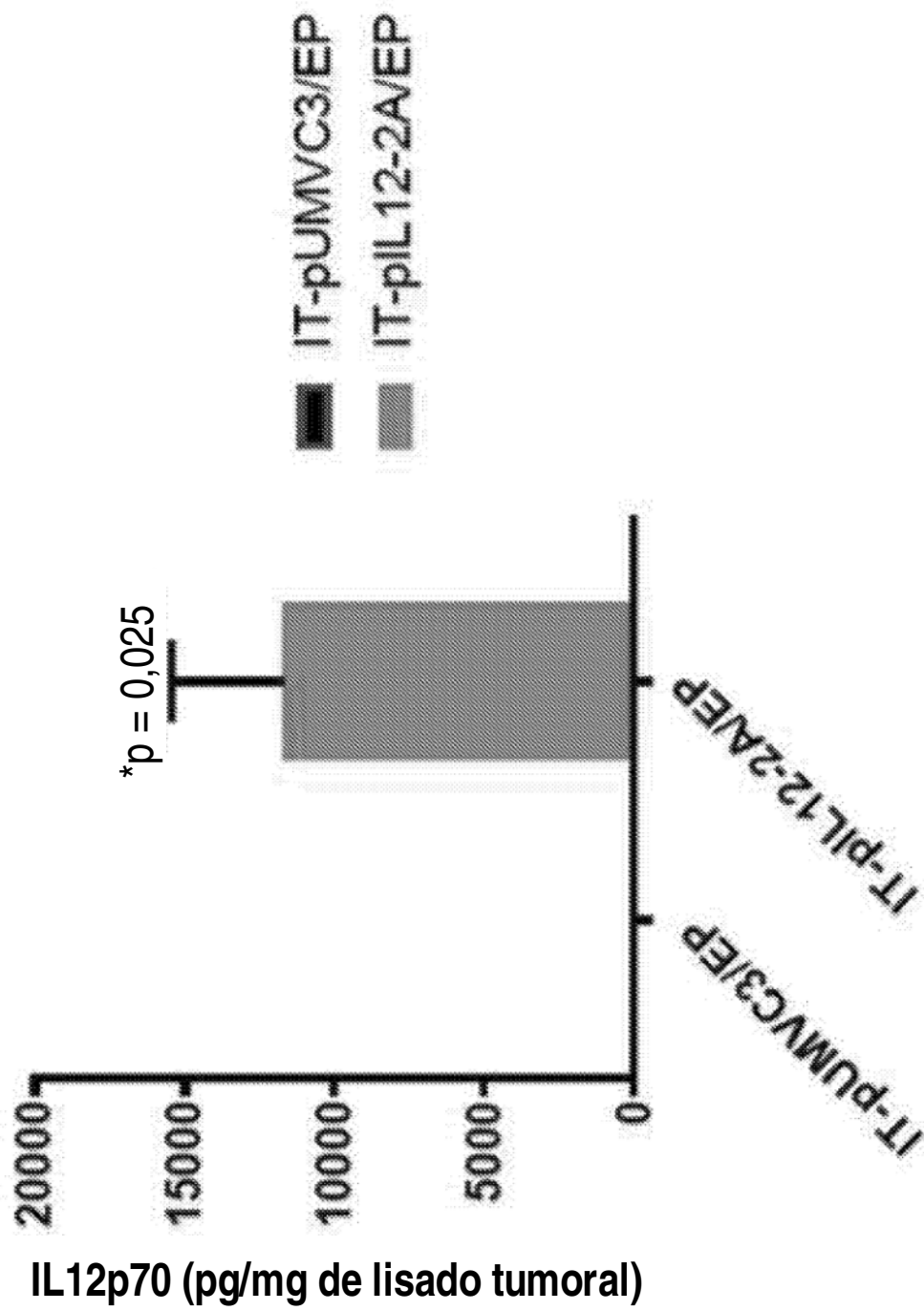


Figura 81

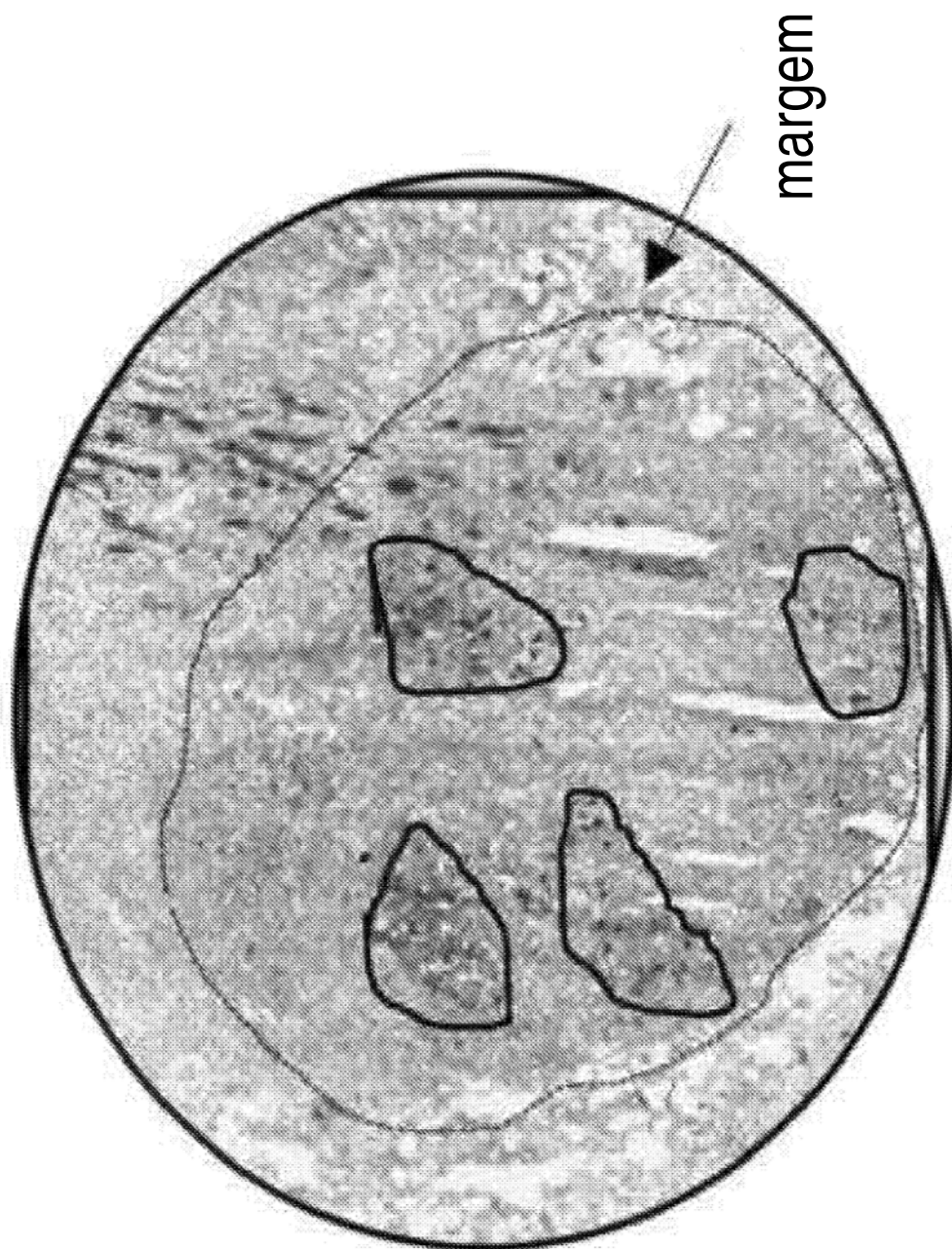


Figura 82

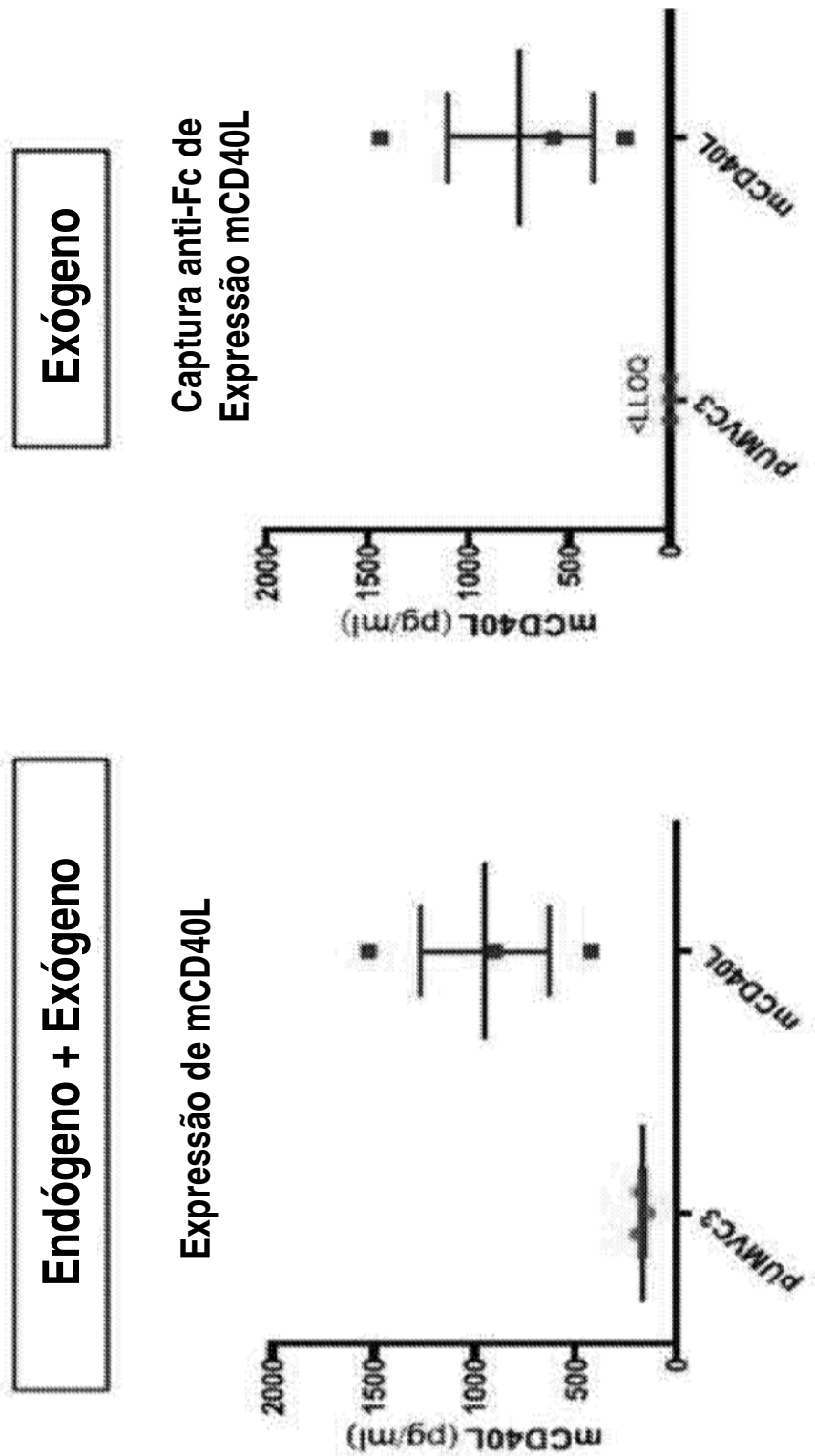


Figura 83

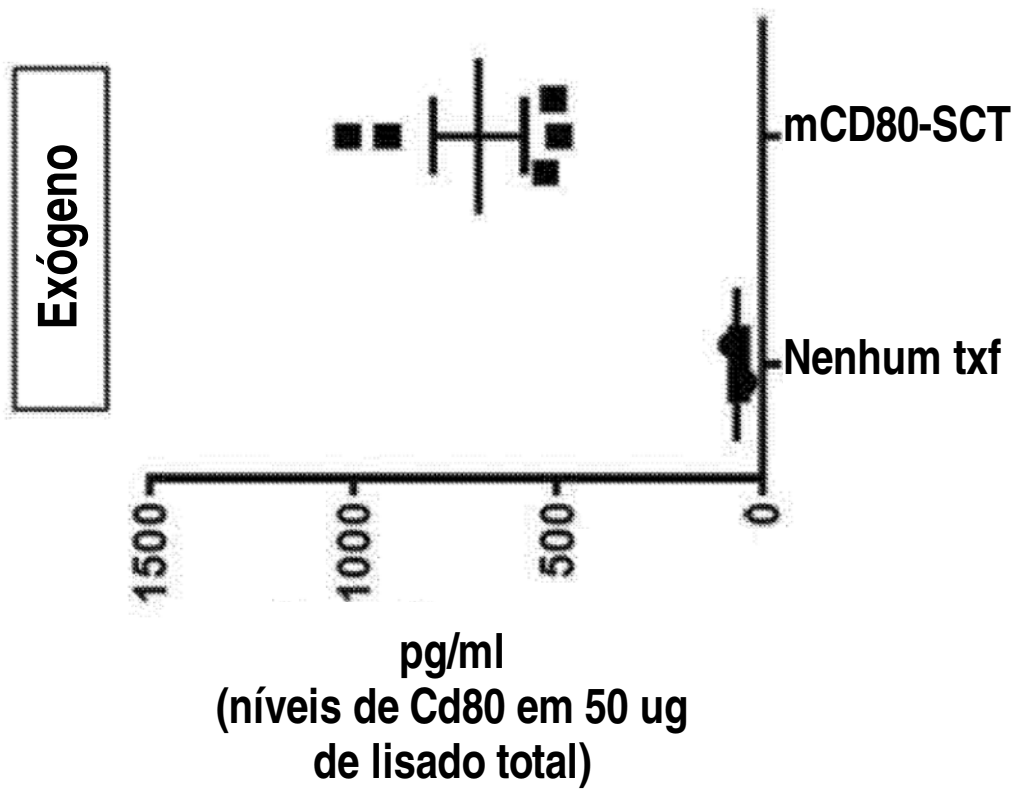


Figura 84

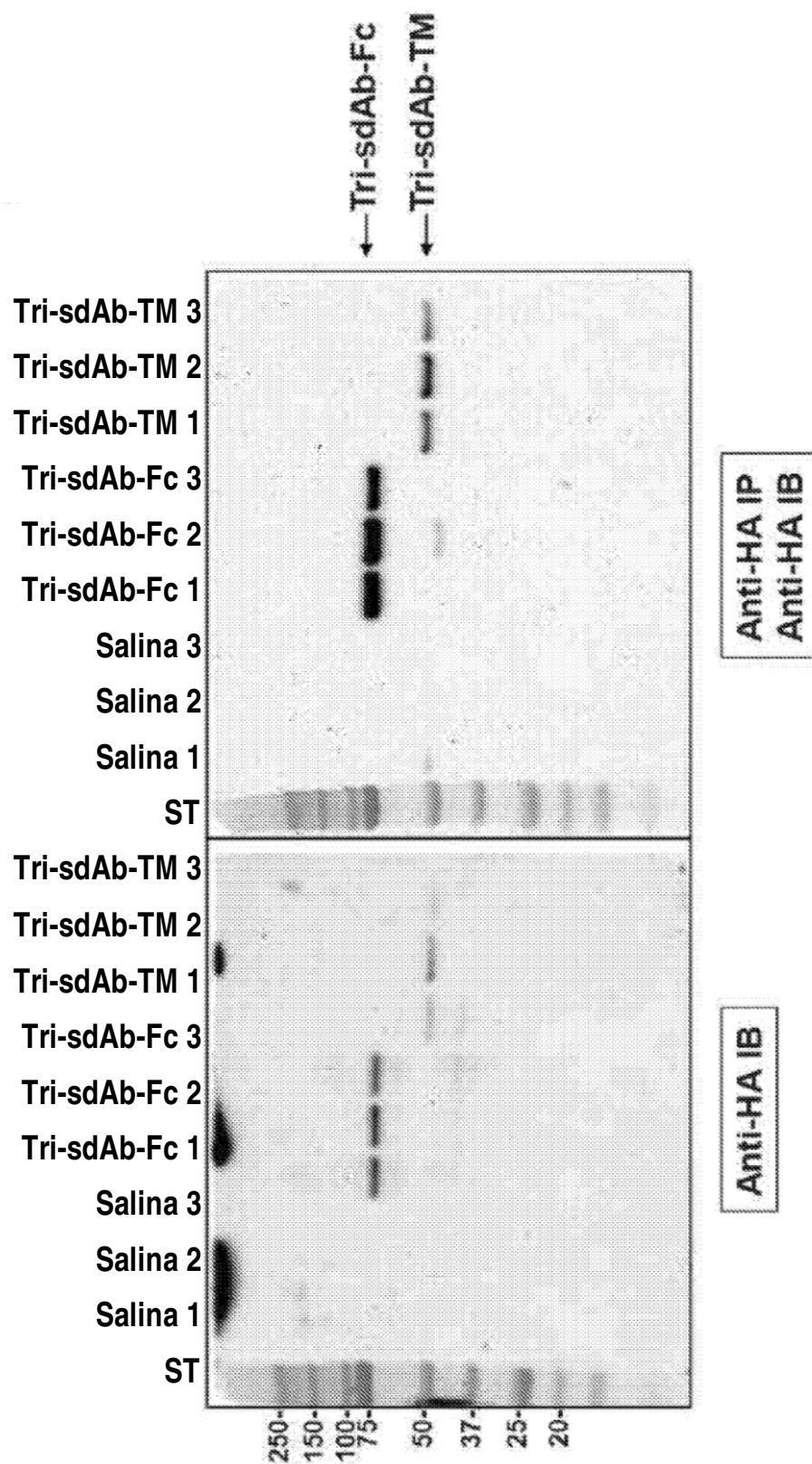


Figura 85

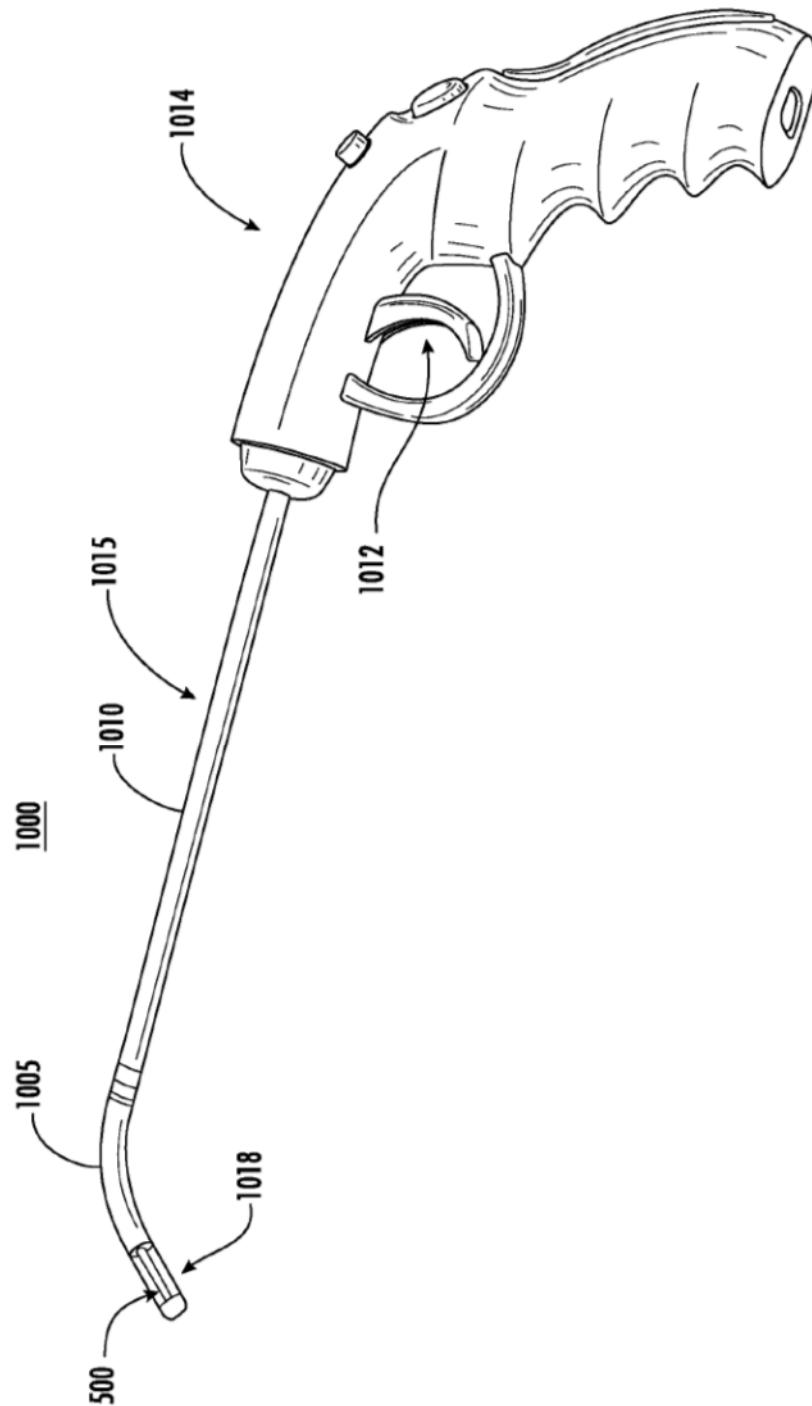


Figura 86

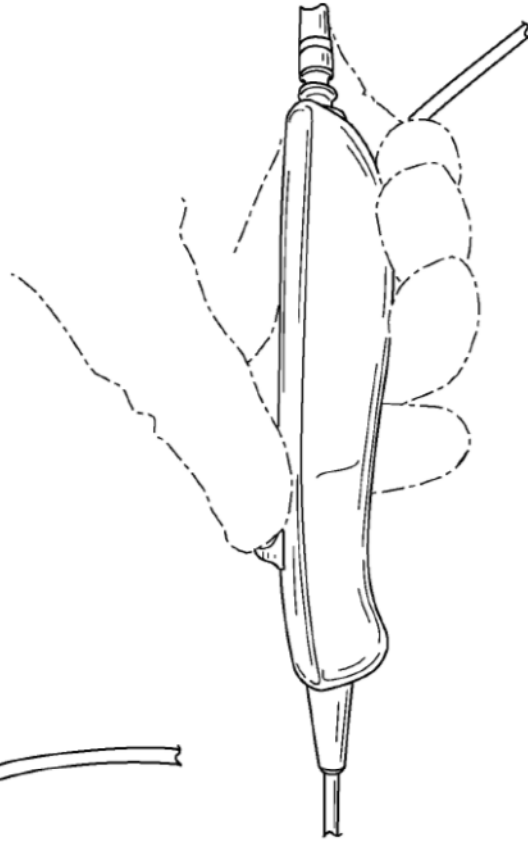


Figura 88

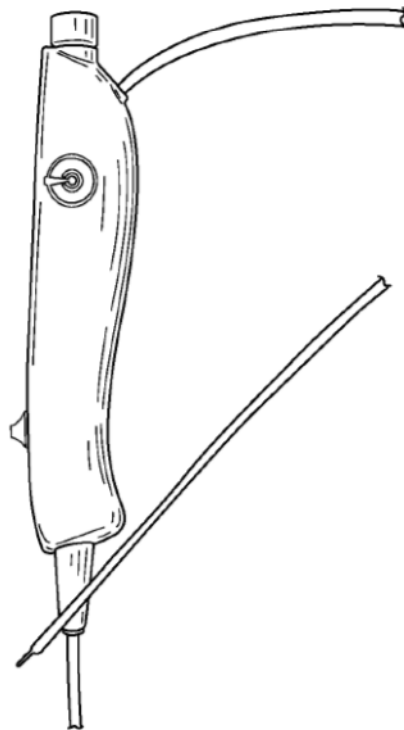


Figura 87



Figura 90

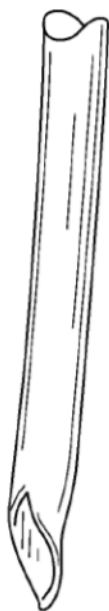


Figura 89

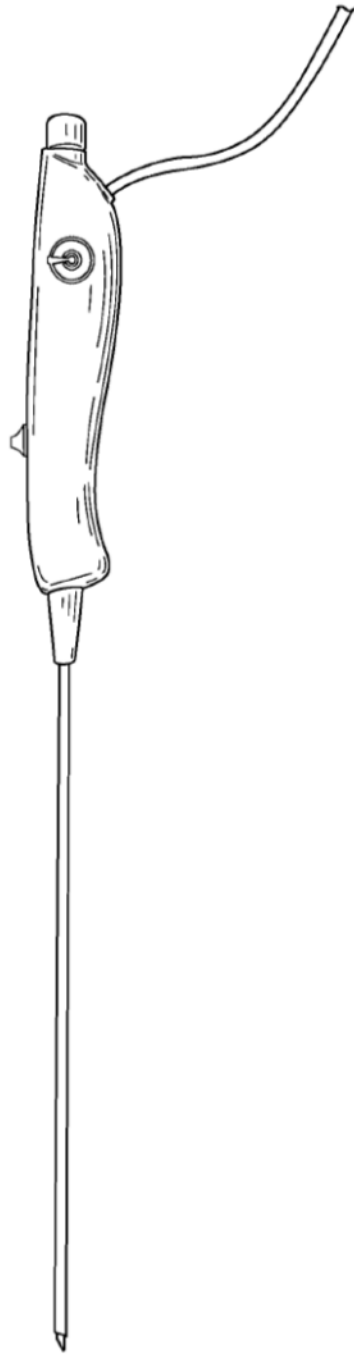


Figura 91

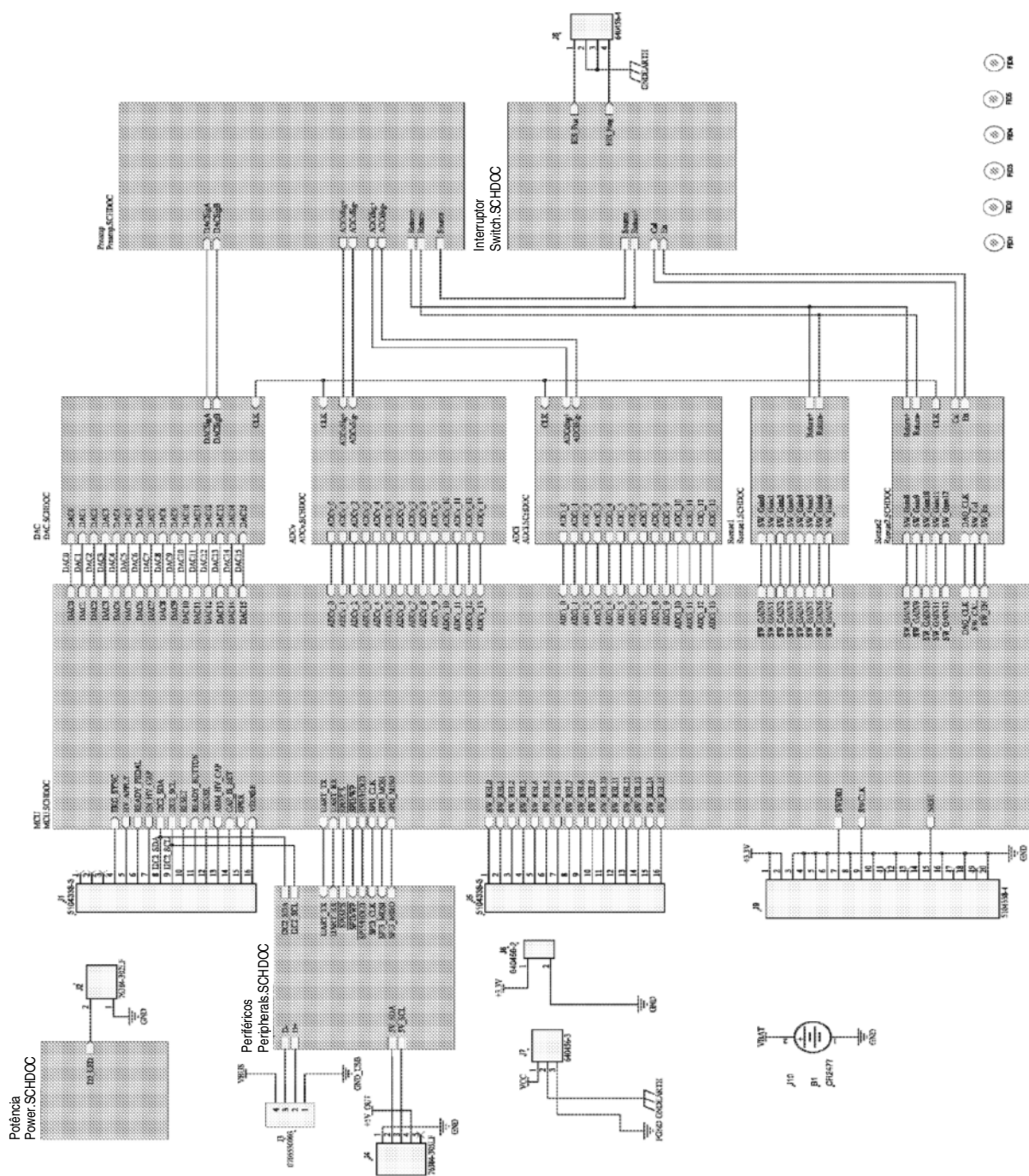


Figura 92

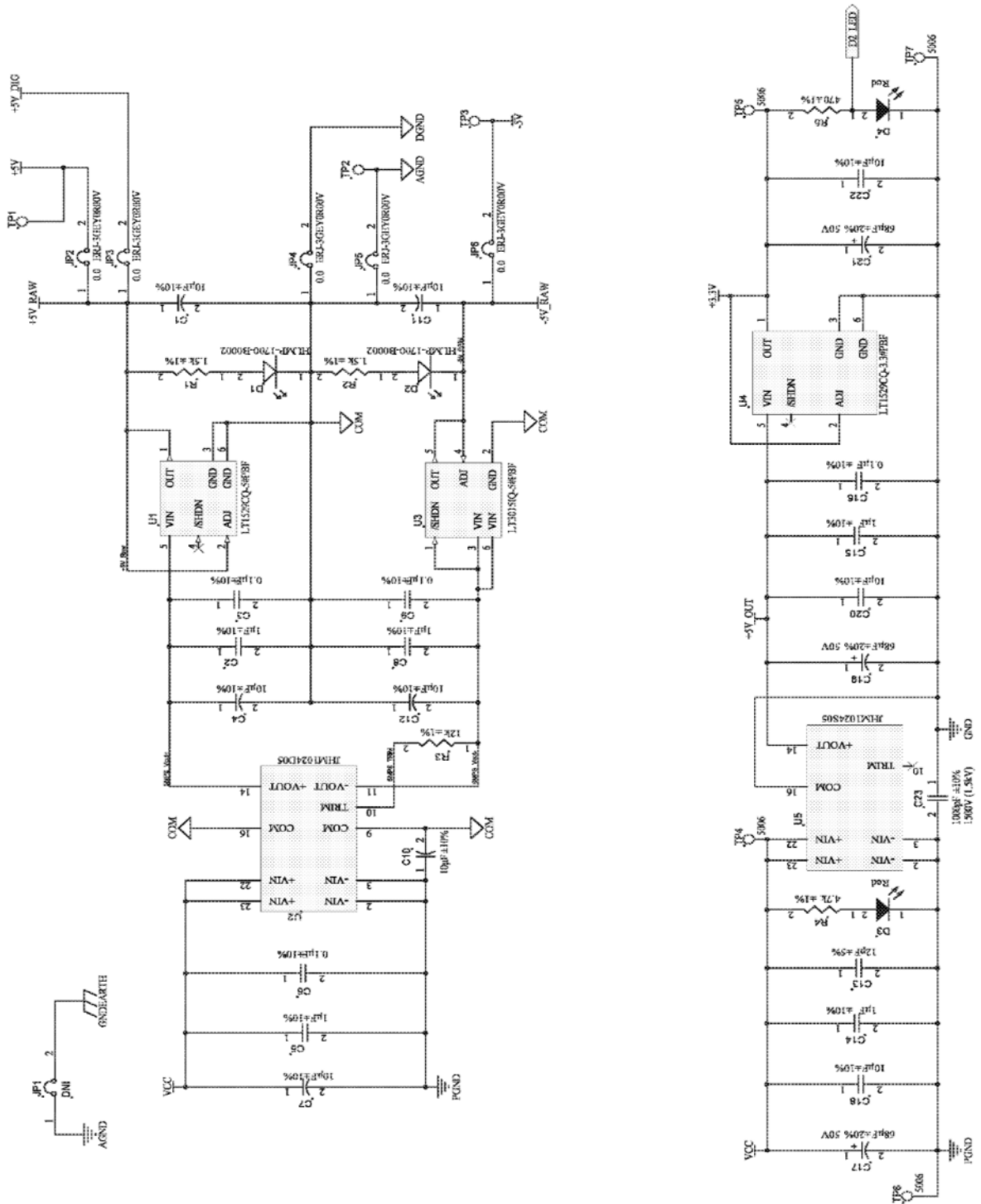


Figura 93

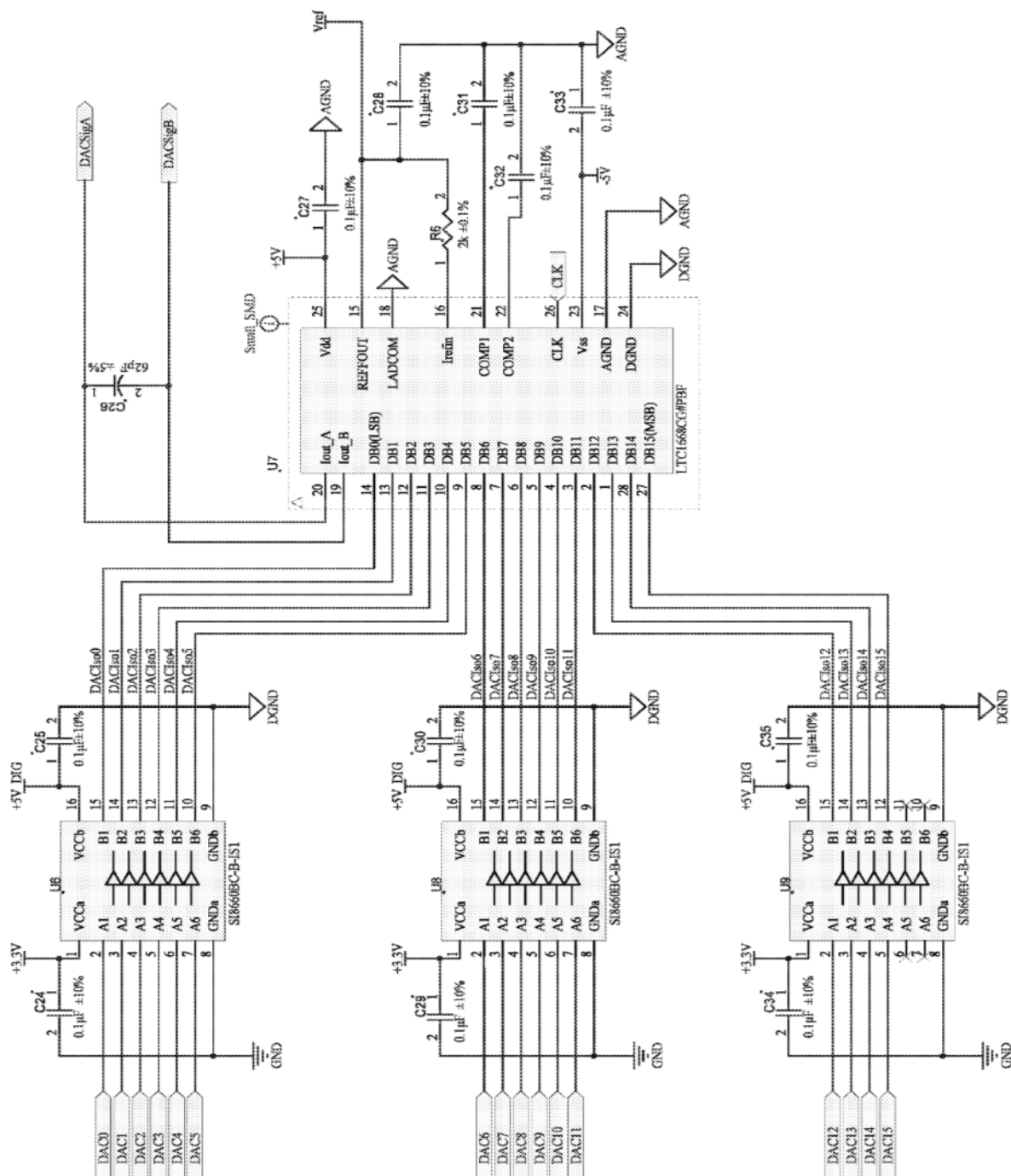


Figura 94

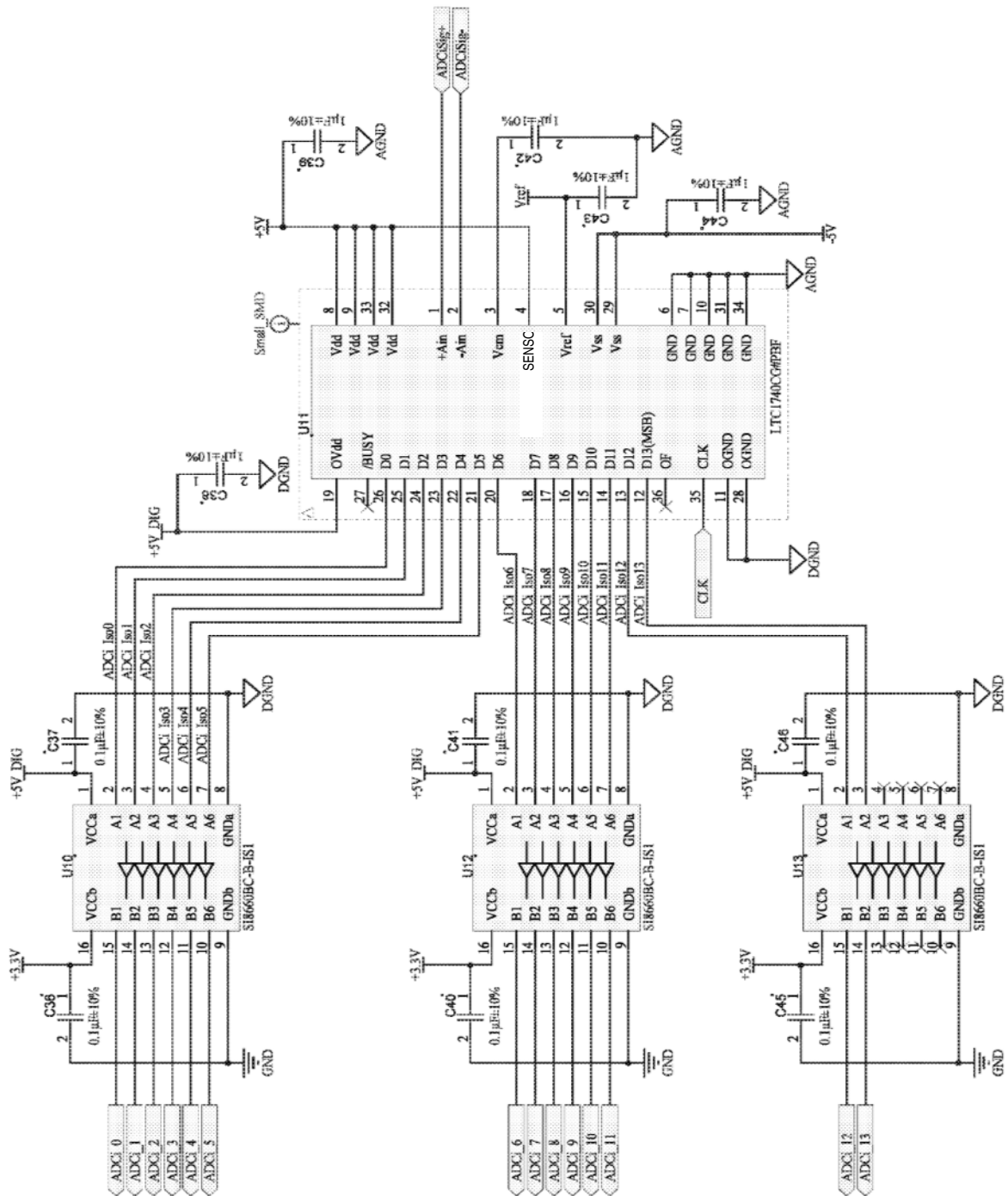


Figura 95

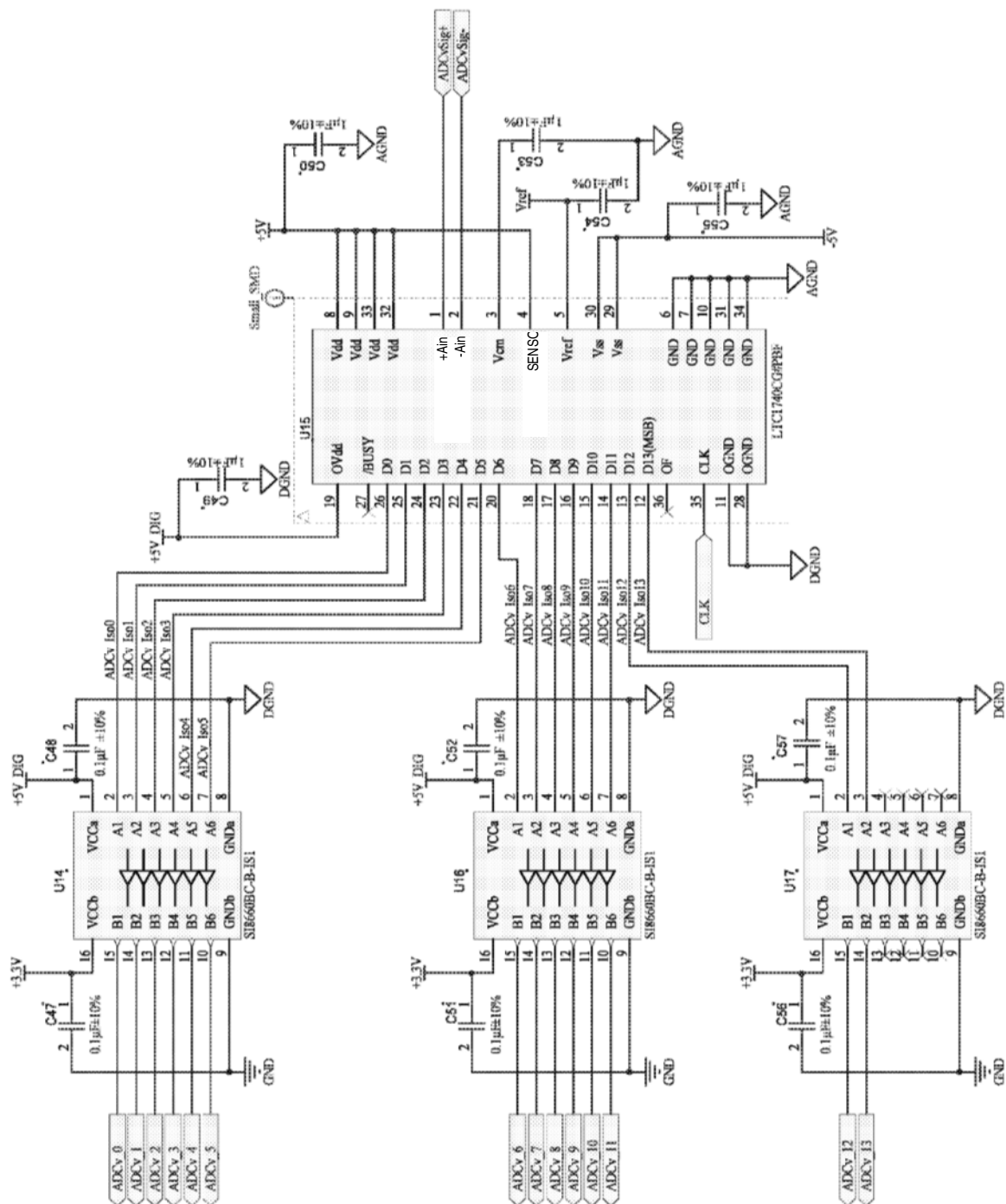


Figura 96

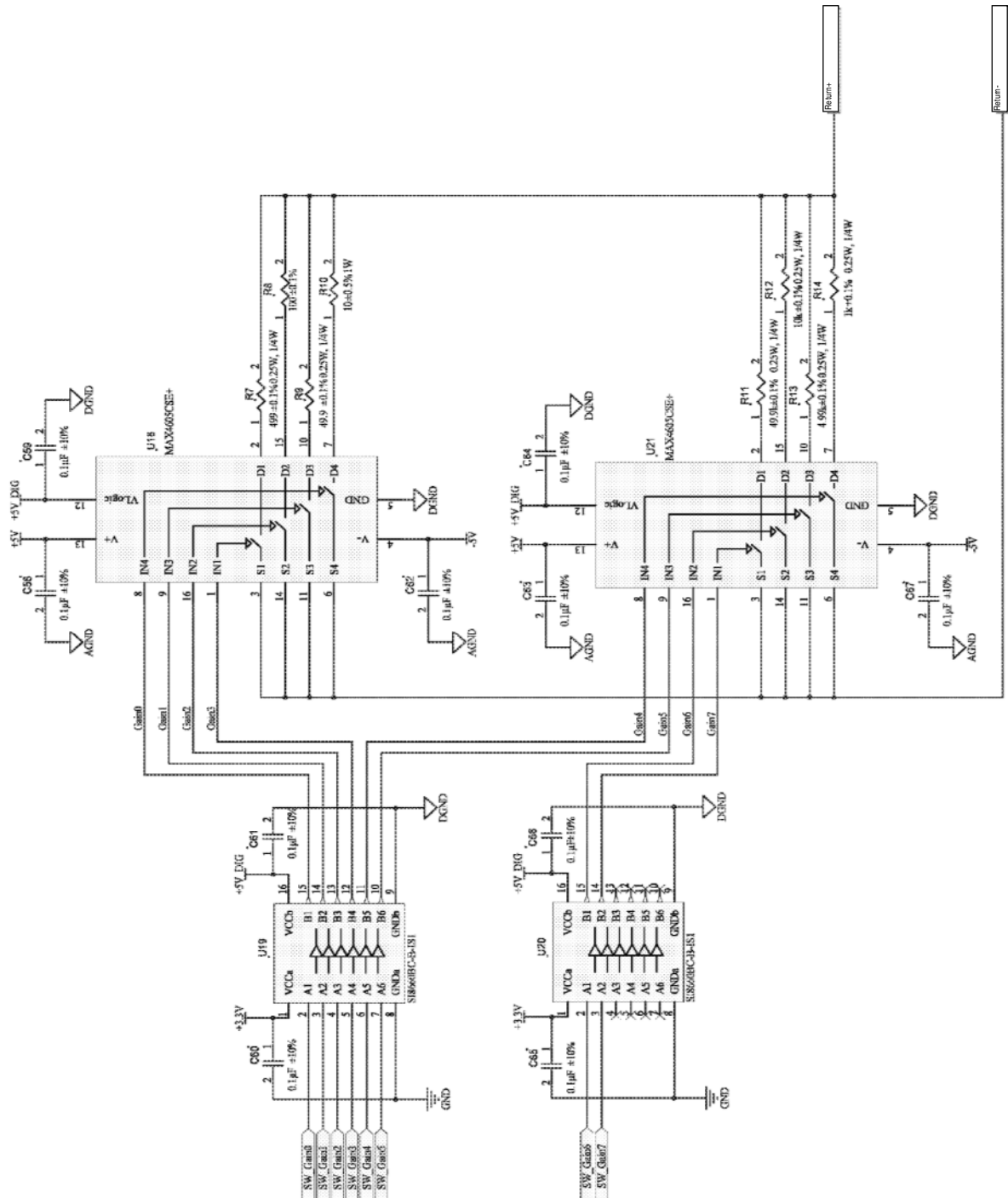


Figura 97

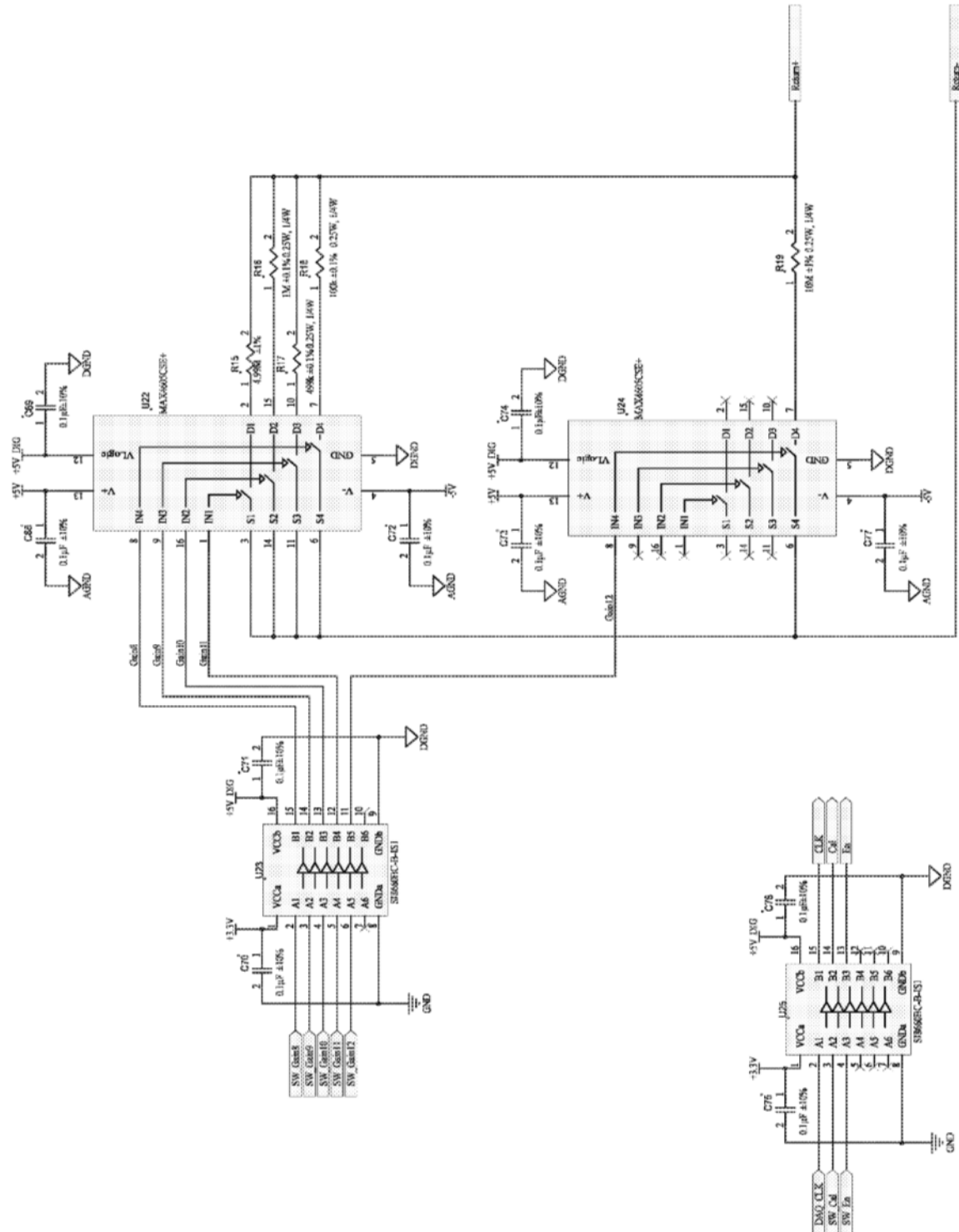


Figura 98

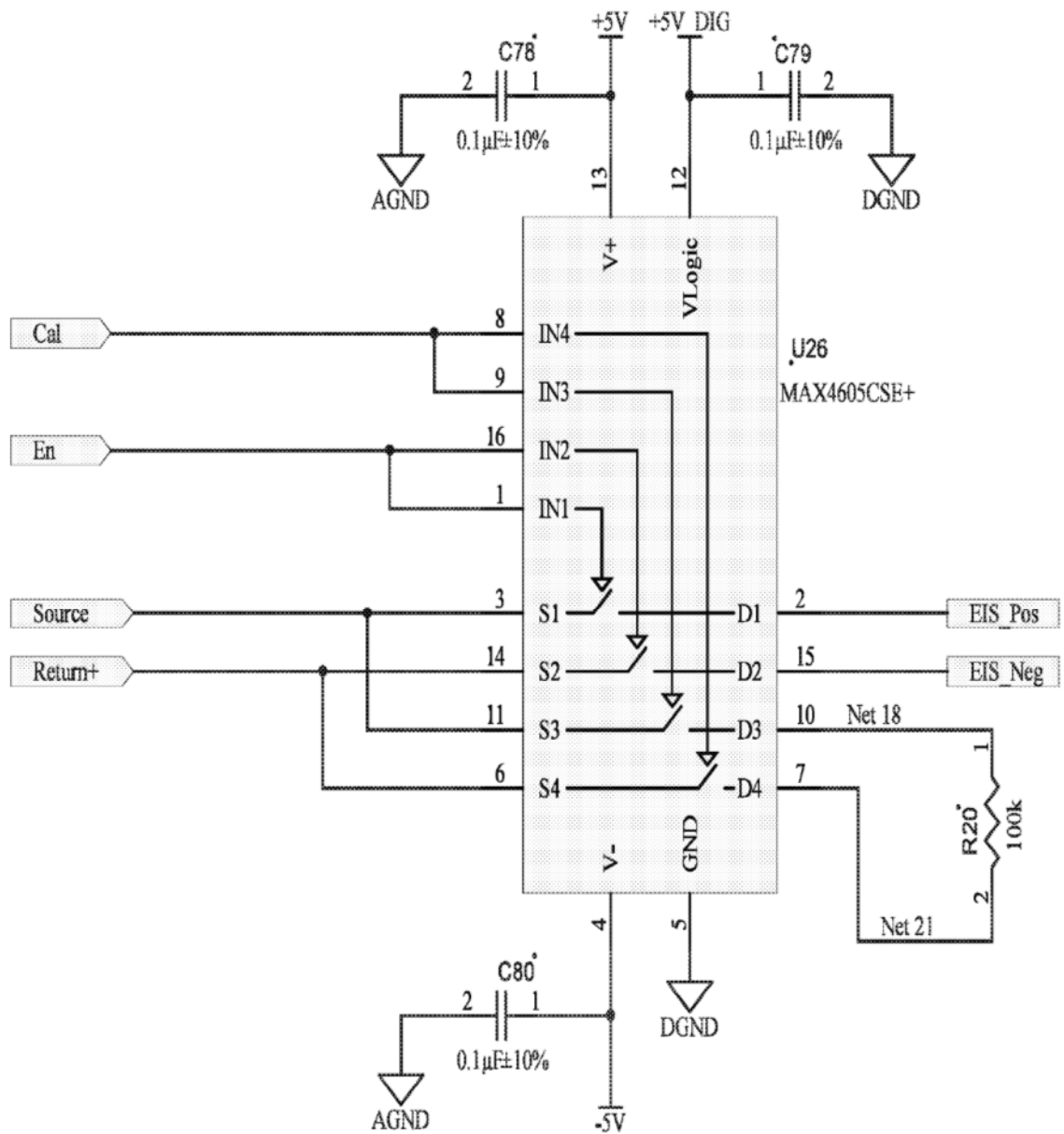


Figura 99

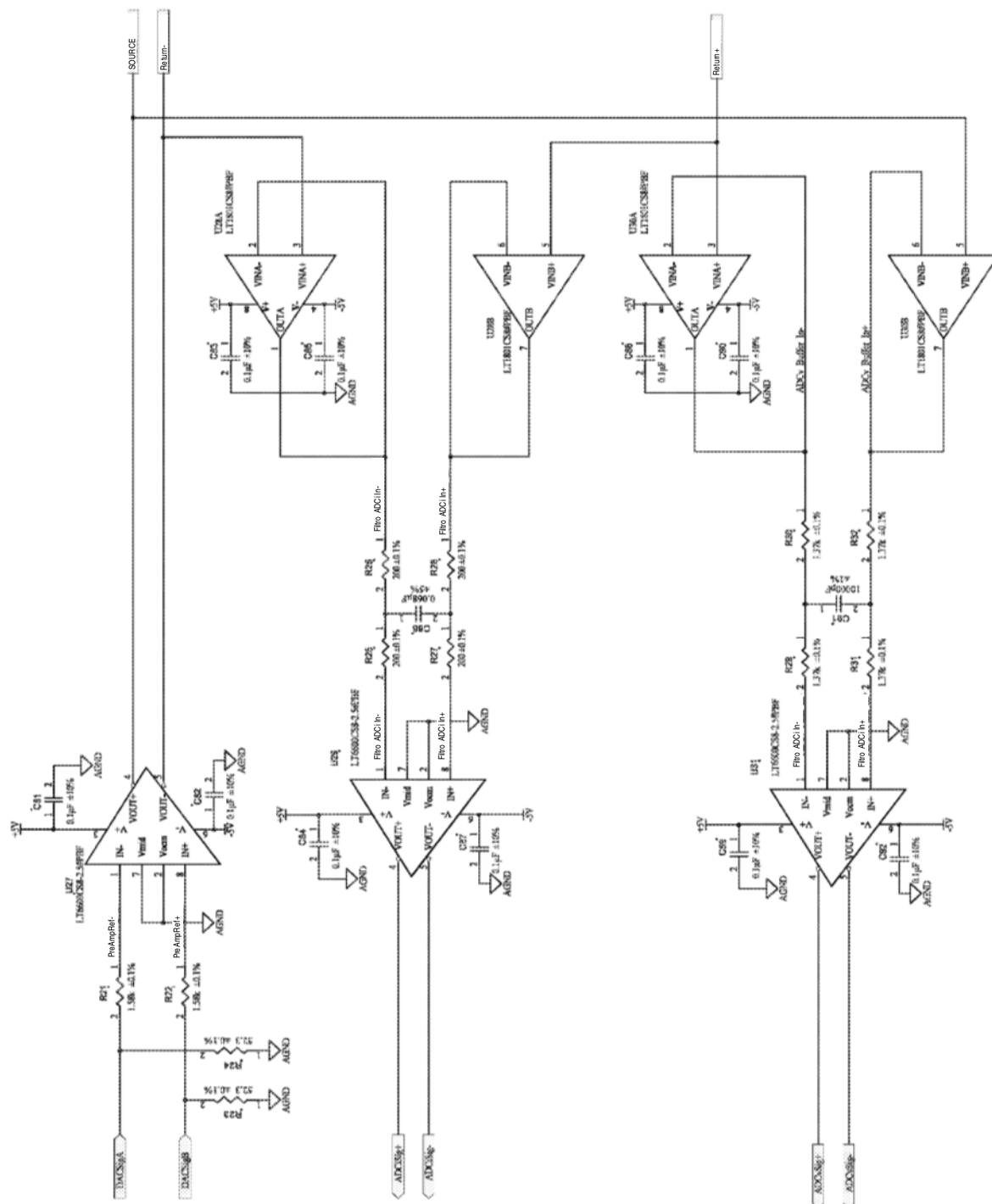


Figura 100

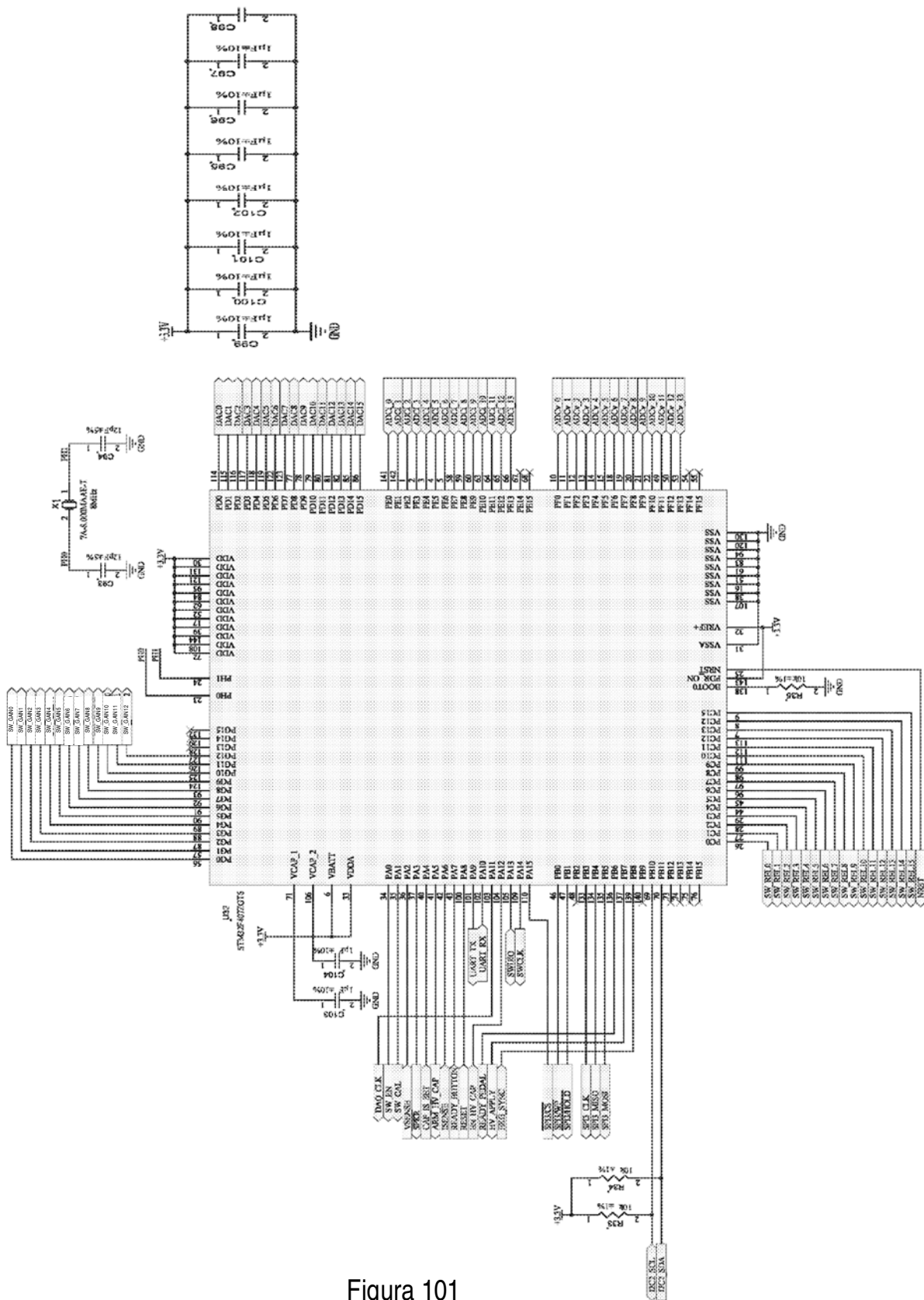


Figura 101



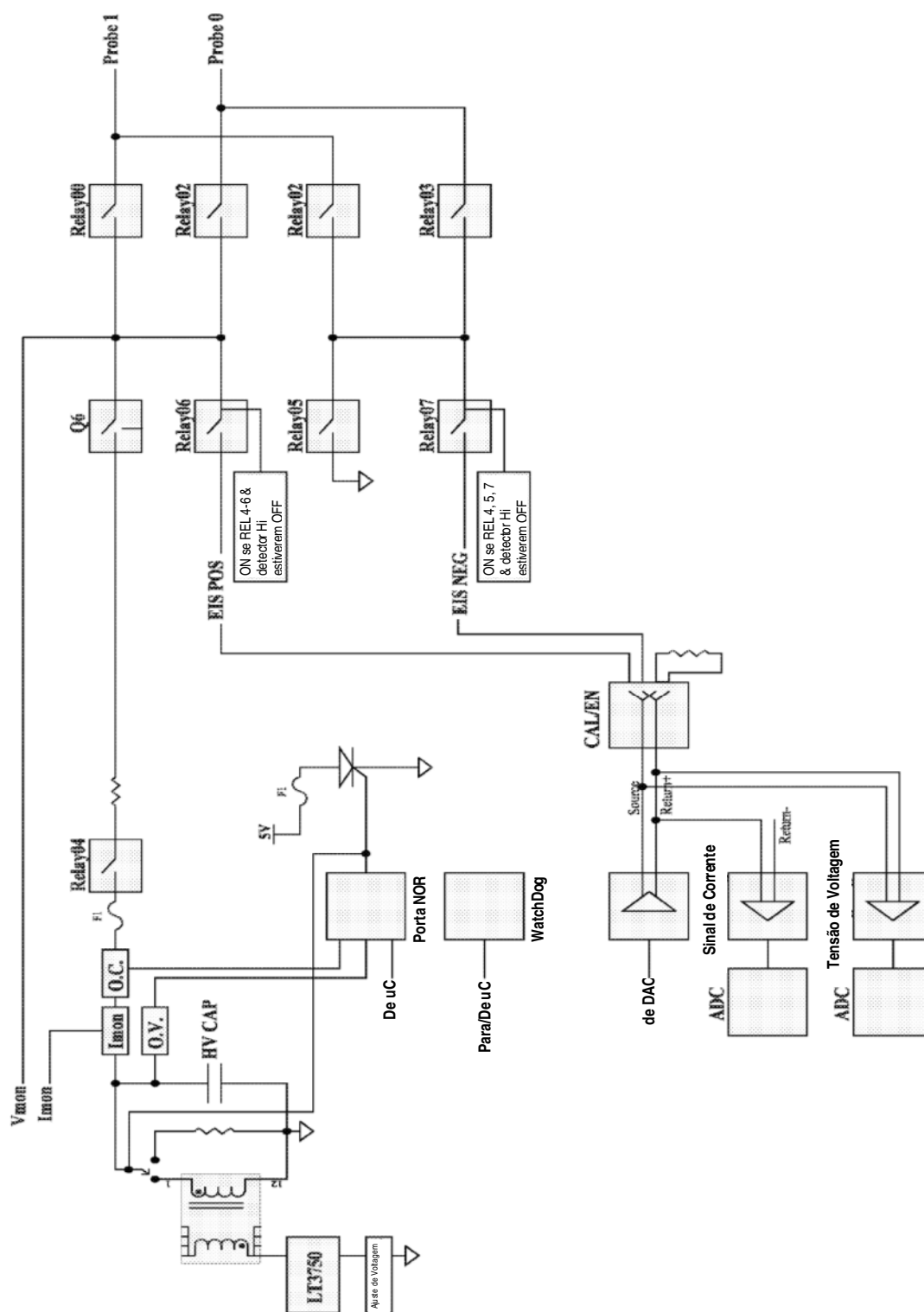


Figura 103

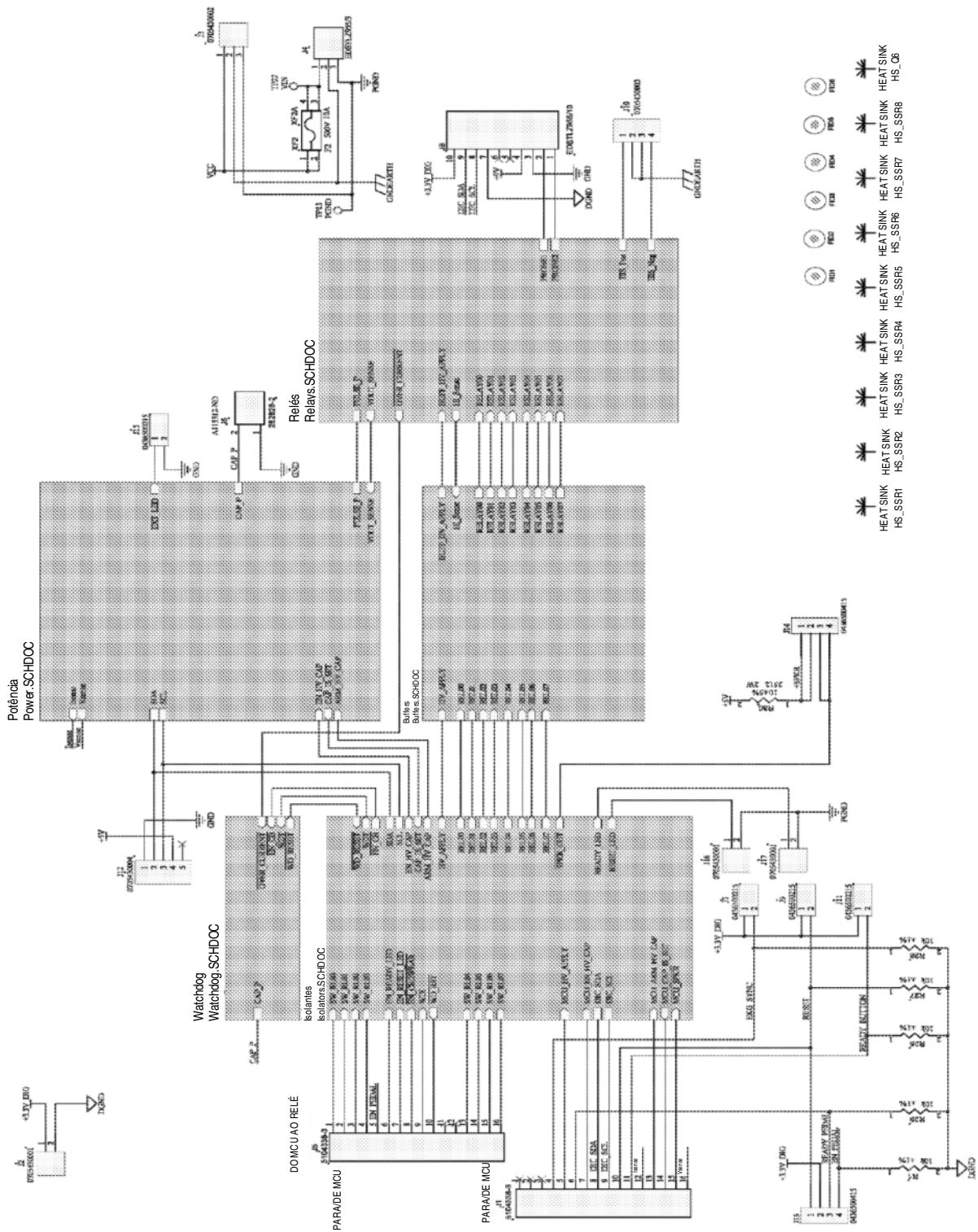


Figura 104

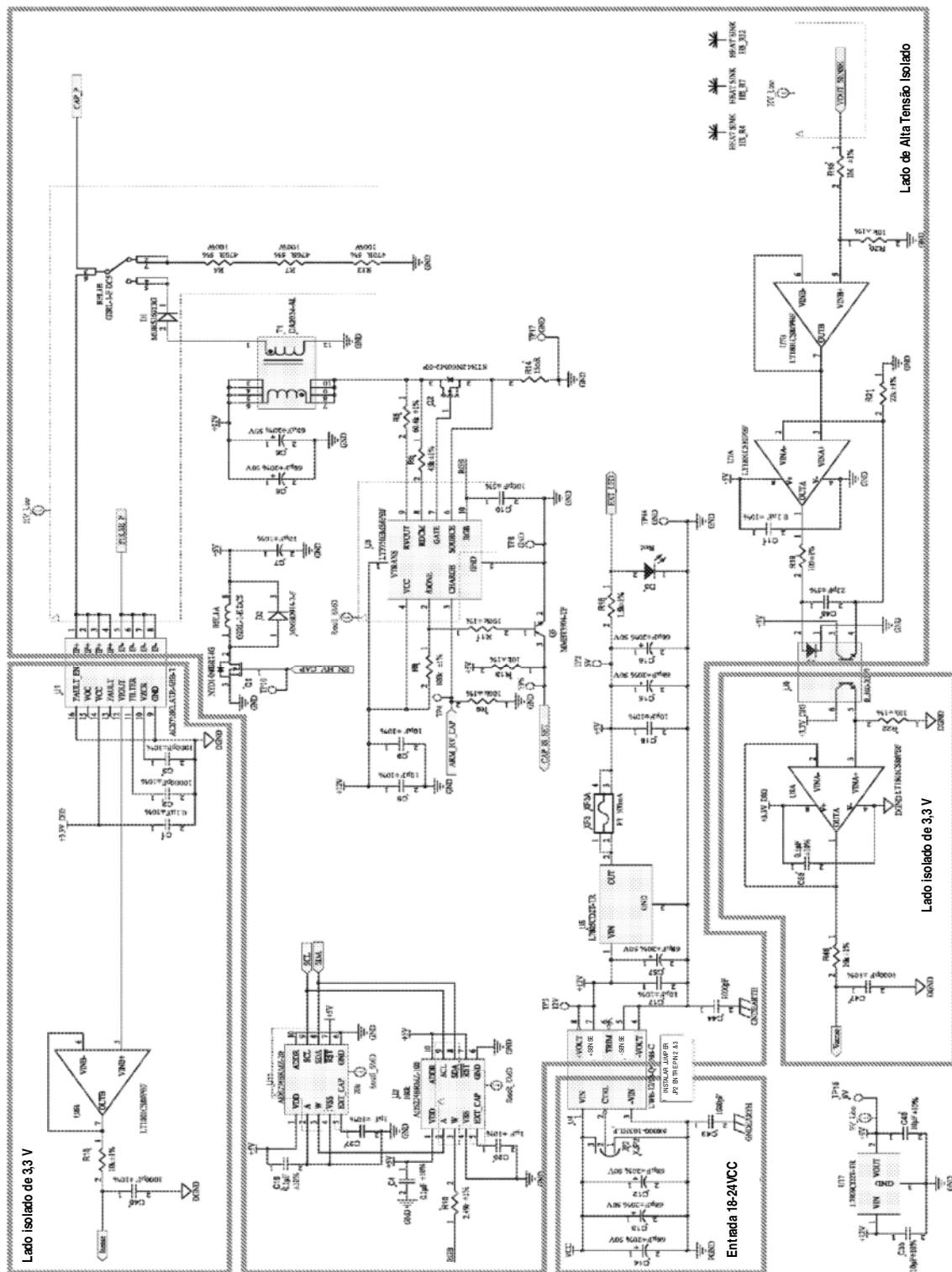


Figura 105

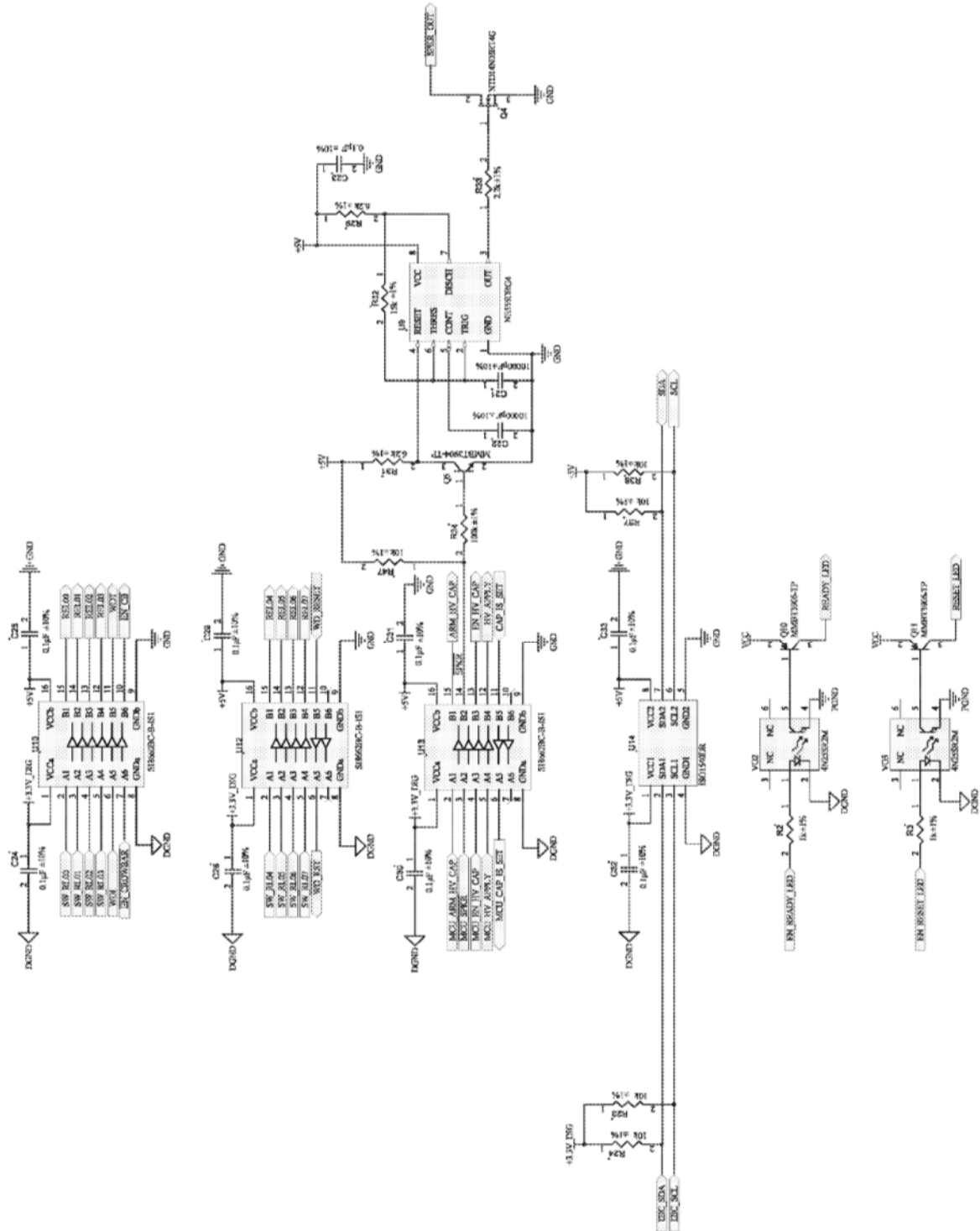


Figura 106

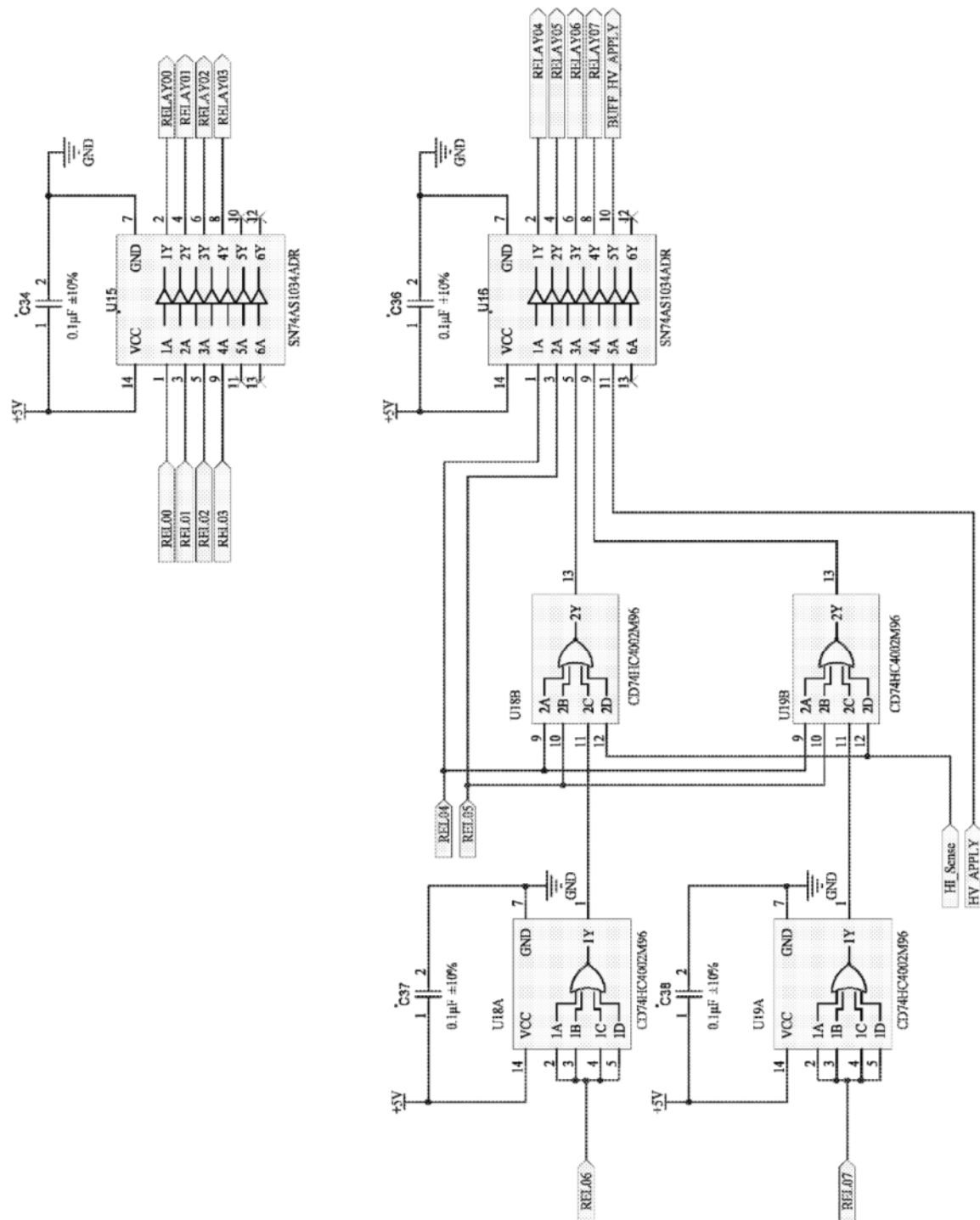
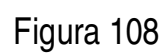


Figura 107



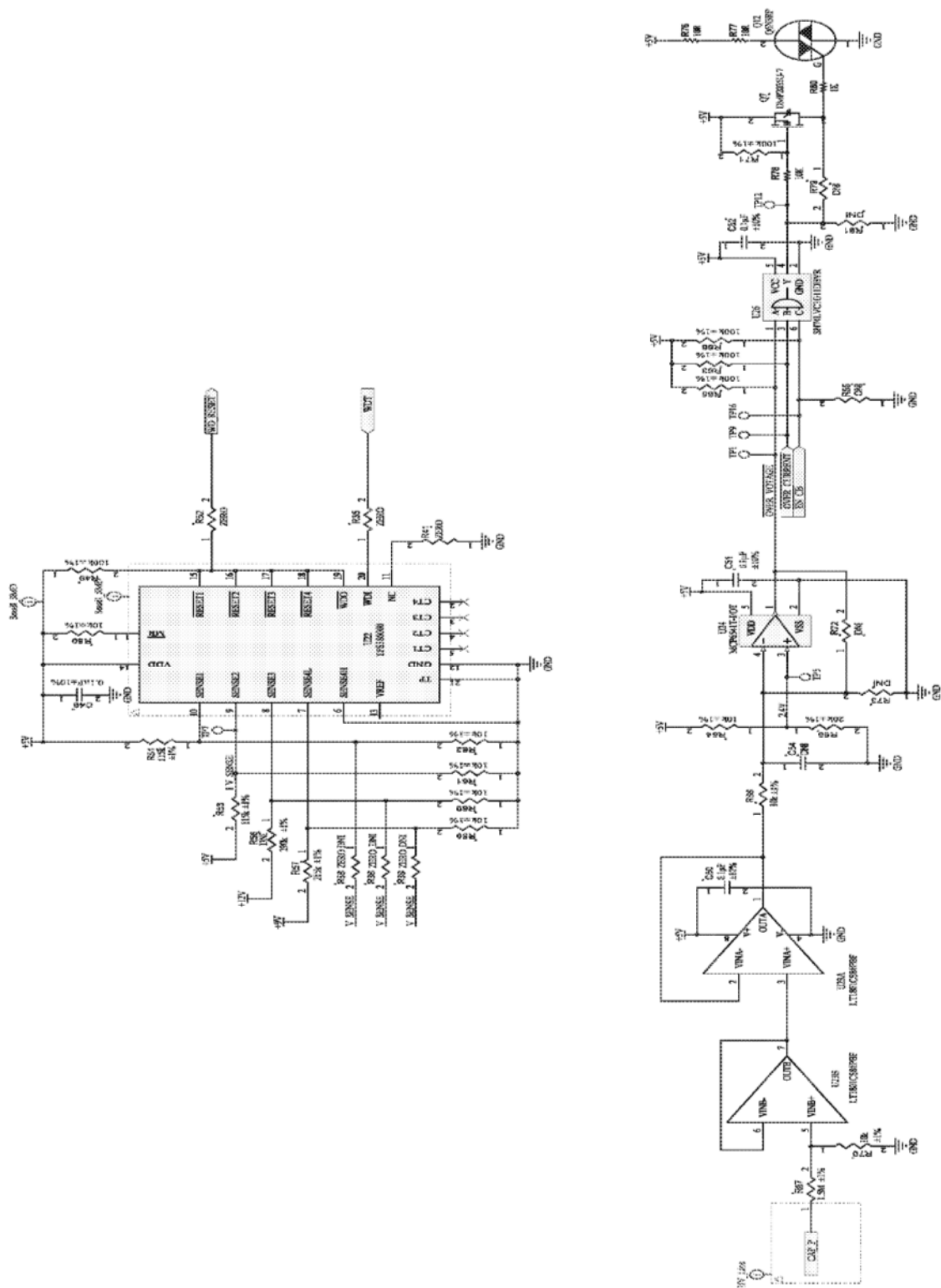


Figura 109

RESUMO

Patente de Invenção: **“SISTEMAS, MÉTODOS E APARELHOS PARA ELETROPORAÇÃO”**.

A presente invenção refere-se a sistemas, métodos e aparelhos (conjunto de dispositivos e montagens associadas) para eletroporação, que podem incluir um aplicador; um endoscópio, trocarte ou similares; um gerador; e um dispositivo de aplicação de fármaco. O aplicador pode incluir uma porção de controle, um tubo de inserção conectado à porção de controle, um atuador acoplado à porção de controle e uma pluralidade de eletrodos compreendendo um primeiro eletrodo tendo uma primeira ponta e um segundo eletrodo tendo uma segunda ponta. A pluralidade de eletrodos pode ser configurada para mover-se entre uma posição retraída e uma posição implantada em resposta ao acionamento pelo atuador. Uma distância entre a primeira ponta do primeiro eletrodo e a segunda ponta do segundo eletrodo pode ser maior na posição implantada do que na posição retraída. Também se refere a diversos métodos de tratamento