



Instrumentos para electroporación reversible e irreversible, con simulaciones de electroporación con el programa Quick-Field

Jorge Villaverde¹

IIE - Facultad de Ingeniería - Universidad de la República, Uruguay

Email: Jorge Villaverde - [jvillav\[en\]fing\[.\]edu\[.\]uy](mailto:jvillav@fing.edu.uy);

Resumen

La ablación de tejido es un procedimiento quirúrgico necesario para tratar algunas enfermedades, entre otras el cáncer. La electroporación es una técnica que permite realizar dicho procedimiento con mínimos efectos secundarios. Esta es una introducción a dicha técnica en sus diversas variantes, donde presentamos algunos valores de referencia y simulaciones de distribución del campo eléctrico en distintas configuraciones sobre diferentes tejidos.

Vemos que ésta técnica es más efectiva para eliminar tejido tumoral de riñón que otros tejidos. Por ejemplo en tejido hepático, a 10KHz la situación es completamente inversa, obteniendo una región de IRE más grande en tejido sano que en el tumor.

1. Introducción

La electroporación de la membrana celular es una técnica conocida desde 1972 [1] utilizada para diversos fines. Consiste en la apertura de un canal hidrofílico en la membrana lipídica, utilizando impulsos eléctricos. Este canal puede servir para introducir elementos químicos por difusión, alterar la estructura genética de la célula, fusionarla con otra (hasta aquí electroporación reversible) o incluso provocarle la muerte (electroporación irreversible o IRE).

Para que esto sea así, es necesario que la energía transferida sea acotada. Estos sistemas utilizan voltajes del orden del kV y corrientes del orden de $1 \cdot 10^2 A$, de forma que los tiempos involucrados deben mantenerse

acotados. El uso de sistemas informáticos nos permite visualizar la respuesta del modelo a diversas configuraciones, pudiéndose elegir el protocolo de forma que la temperatura del tejido se mantenga acotada, en este sentido presentamos simulaciones en *QuickField* [2].

La particularidad de esta técnica es el hecho de no producir efectos secundarios¹ como los térmicos producidos por la ablación con radio frecuencia, o cualquiera de los causados por la quimio o radio terapia.

2. Instrumentos para electroporación

En la actualidad se encuentran en el mercado un buen número de empresas que comercializan electroporadores. La variedad es grande ya que la técnica se utiliza en varias disciplinas, incluyendo cosmética, investigación y oncología.

No todos los electroporadores sirven para todos los tratamientos, así que incluimos el cuadro 1 como referencia de algunos valores utilizados en diferentes técnicas.

Aplicación	Tiempo	E (V/cm)	Corriente (A)
IRE [3]	10-100 μs	hasta 3000V	<50
Fusión celular	10-300 μs	5-300V	N/D
Intra dérmico	0.05-10 ms	50-100V	<100

Cuadro 1: Requerimientos para electroporación

2.1. Equipos para electroporación

El cuadro 2 muestra una referencia de los equipos disponibles para practicar distintas técnicas de electroporación en tejidos. Estos equipos no son complicados conceptualmente. En general son generadores de señal, que manejan formas sinusoidales y ondas cuadradas. Lo crítico en ellos es mantener una buena precisión con las formas de onda. En el caso del Voltain el pulso sinusoidal utilizado en la fase de alineación previa a la fusión debe tener una THD menor al 1% para el máximo valor de amplitud. Además debe generar el pulso de fusión de 500V con tiempos de subida y bajada mínimos. El hecho de mantener formas y tiempos precisos hacen que estos equipos sean realmente complejos desde el punto de vista constructivos.

Fabricante	Modelo	Origen	Utilización	Precio de referencia
AngioDynamics	NanoKnife	USA	IRE	N/D
Harvard Apparatus	ECM 830	USA	IRE	USD 8000
Aditus Medical	CythorLab	Suecia	Electrop Rev.	N/D
Cryologic	Voltain	Australia	Fusión celular	USD 9000

Cuadro 2: Equipos para electroporación

¹Hasta la fecha no hay estudios concluyentes sobre la inocuidad o no de radiaciones electromagnéticas no ionizantes del orden de los kHz.

3. Distribución del campo eléctrico en el tejido

Podemos ver en el cuadro 3 una idea de las distintas propiedades de distintos tejidos [4]. Éstos valores son los que utilizaremos para las simulaciones.

Tejido	Conductividad (S/m)	Permitividad relativa
Blood	0.70004	5248.2
BloodVessel	0.31308	7690.8
BodyFluid	1.5	98.919
BoneMarrow	0.0027347	675.91
BrainGreyMatter	0.11487	22241
CerebroSpinalFluid	2	109
Colon	0.23995	13624
Kidney	0.13774	38748
Liver	0.053495	28930
MucousMembrane	0.0029317	29010
Muscle	0.34083	25909
Nerve	0.042403	35569
Prostate	0.42976	11683
SkinDry	0.00020408	1133.6
SkinWet	0.0029317	29010
SpinalChord	0.042403	35569
Thyroid	0.52974	9189.7
Vacuum	0	1

Cuadro 3: Propiedades eléctricas de algunos tejidos a 10kHz

Como referencia y para fijar ideas incluimos la distribución del campo eléctrico en el tejido muscular sano. Los electrodos tienen 2mm de diámetro y están separados 6.5mm. La diferencia de potencial entre los electrodos es de 3kV, En la figura 1 está delimitado con el anillo interior la zona de electroporación irreversible (IRE), es decir que el campo eléctrico tiene un valor superior a los 640 V/cm. Entre los anillos, tenemos la zona de electroporación reversible, (campo eléctrico con valores entre 640V/cm y 360V/cm). Por fuera está la zona de estimulación neuromuscular.

El tiempo de aplicación del campo está limitado por el efecto Joule sobre el tejido. Con una densidad de corriente alta, los tiempos deben ser cortos para evitar la muerte celular por calor.

3.1. Casos patológicos

Para las simulaciones de casos patológicos, se utilizaron los datos proporcionados por [5] y [6]. Se trabajó con Student's QuickField, con un límite de 255 meshes. Por esta razón la geometría es bastante simple. Los electrodos son hexagonales, y el tejido tumoral se simuló de forma rectangular. Aún así los resultados obtenidos fueron aceptables.

En las imágenes se colocó una región de tejido sano de gran tamaño, con una región rectangular simulando una tumoración.

3.1.1. Análisis cualitativo

El posicionamiento de los electrodos respecto de las estructuras de interés es de crucial importancia para obtener resultados buenos o realmente contraproducentes. En algunos tejidos es más importante que en otros, pero en general se debe tener un posicionamiento preciso. De forma de ilustrar esta afirmación, mostramos

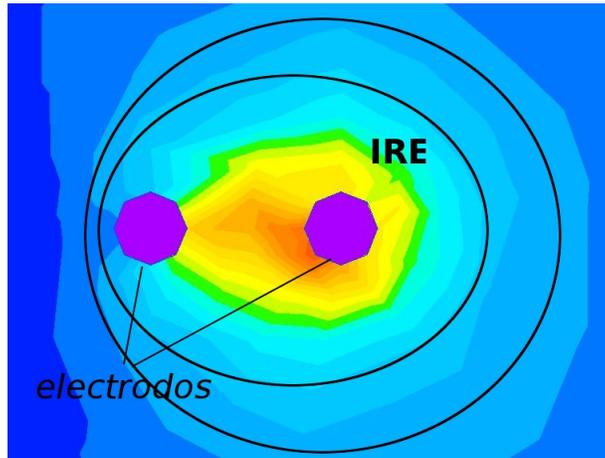


Figura 1: Electroporación en tejido muscular

dos situaciones, en donde la configuración geométrica del experimento varía únicamente la posición de los electrodos.

En la figura 2 vemos que el campo eléctrico es superior en los alrededores de los electrodos (máx 28790 V/cm) y bastante menor dentro del tumor (máx 5546 V/cm). En esta configuración, con los electrodos de 2mm de diámetro, manteniendo una diferencia de potencial de 3kV, el mínimo valor de campo eléctrico producido en el tumor es de 594 V/cm. En contrapartida, la región de tejido sano afectada por la IRE es un poco más grande de la visible en la imagen.

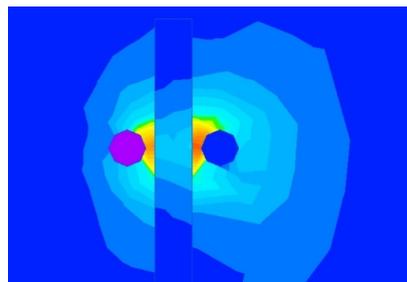


Figura 2: IRE hígado

La figura 3 muestra una situación similar, pero en este caso el potencial entre los electrodos es de 600V. El efecto sobre el tumor (rectángulo rojo) es el mismo, pero el área afectada por la IRE en el tejido sano es mucho menor (delimitado en verde). Los valores máximos de campo eléctrico son 1800 V/m dentro del tumor, y 840 V/m en el tejido sano. (El modelo es similar al de la figura 2, la diferencia de forma de los electrodos es por la cantidad de meshes limitada).

3.1.2. Segundo análisis

Vamos a ver ahora en qué zonas se produce la ablación. Mantenemos la misma configuración con electrodos de 2mm y 3kV de diferencia de potencial. Otra vez colocamos electrodos en diferentes posiciones, y según el valor del campo determinamos las regiones.

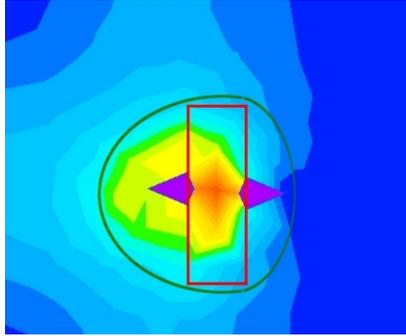


Figura 3: IRE hígado electrodos en contacto con el tumor

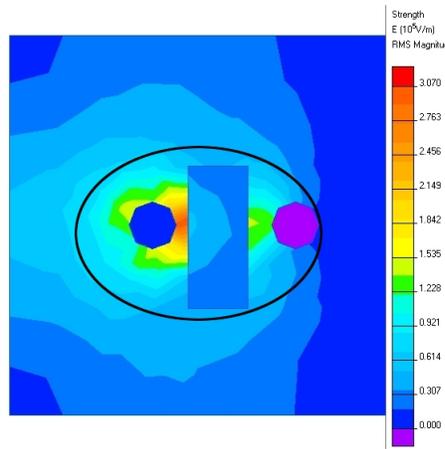


Figura 4: IRE hígado electrodos separados, no hay IRE en el tumor

En la figura 4 vemos que la zona de tejido sano que es afectada por la IRE incluye al tumor, pero el valor de \mathbf{E} dentro de éste no llega al umbral necesario para que sufra la IRE.

La siguiente configuración, figura 5, tiene los electrodos tangentes al tejido. Podemos observar que ahora sí hay ablación, aunque sea parcial del tumor. El área de IRE en el tejido sano es aproximadamente la misma que el caso de la figura 4.

Finalmente colocamos los electrodos parcialmente dentro del tumor. En este caso vemos en la figura 6 que la IRE en el tejido sano es menor que en los casos anteriores. Además la ablación del tejido enfermo es total.

Para completar volvemos a simular las últimas dos situaciones, pero utilizando las características del tejido renal. En la figura 7 vemos que a igual configuración y estímulo, la intensidad de \mathbf{E} en el tejido sano es mucho menor, y el alcance de la IRE en el tumor es casi total para el caso de contacto mínimo. En el caso de contacto franco, disminuye un poco el área de tejido sano afectado. Además es posible disminuir la diferencia de potencial y aún así obtener el mismo resultado de ablación total de tejido enfermo.

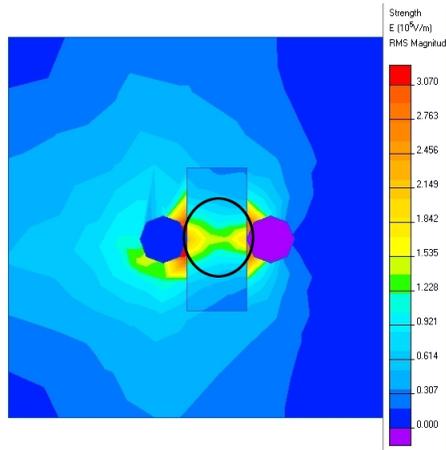


Figura 5: IRE hígado electrodos con contacto mínimo, hay IRE parcial en el tumor

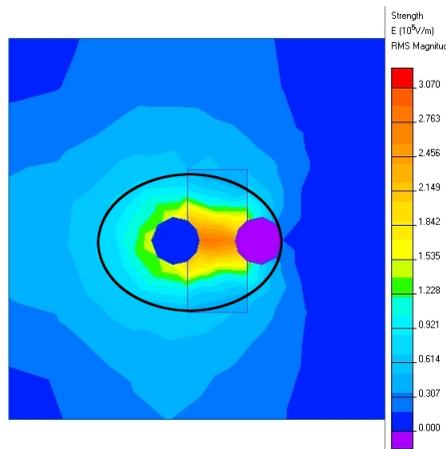


Figura 6: IRE hígado electrodos parcialmente incrustados, hay ablación total del tumor

4. Conclusiones

Las simulaciones muestran que la IRE es una técnica de ablación cuya efectividad cambia de un tejido a otro. Además, el posicionamiento de los electrodos influye de gran manera en la cantidad de tejido afectado. Es posible reducir casi un orden de magnitud la diferencia de potencial entre los electrodos, por el simple hecho de ubicarlos en contacto con el tumor (con un acercamiento menor al diámetro de los electrodos). Esta reducción del campo eléctrico necesario para producir IRE, simplifica enormemente la implementación práctica del sistema.

Como tal la elección del posicionamiento influye en gran forma en el desempeño, y en los requerimientos eléctricos del dispositivo con el cual se aplica la técnica. Esto hace fundamental el hecho de contar con una herramienta de simulación, de forma de poder analizar las distintas configuraciones y elegir la más eficaz para cada caso. En este sentido el QuickField resultó una herramienta intuitiva y poderosa (aún siendo una versión limitada), que permitió visualizar el andamio general del tejido.

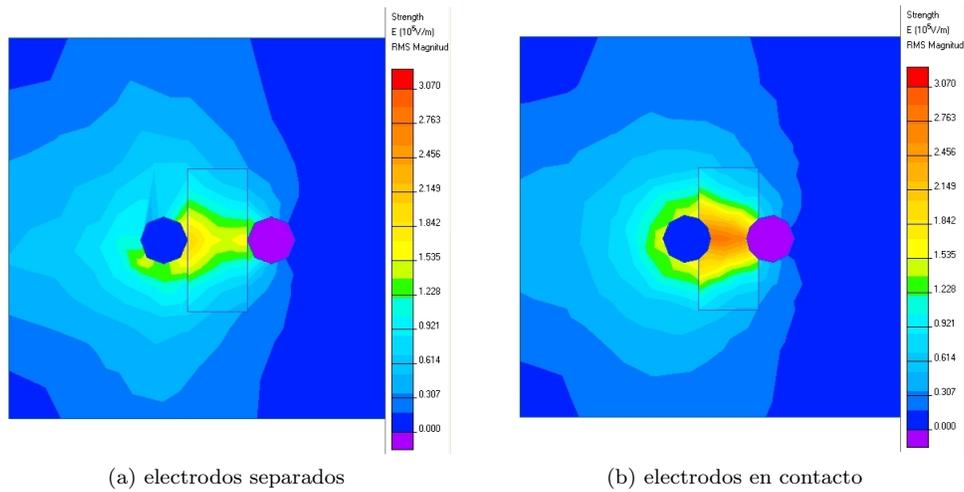


Figura 7: IRE en riñón

Agradecimientos

A Marcelo David, quién me guió a la distancia en la búsqueda de información, y a Franco Simini por marcar claramente el rumbo.

Referencias

1. Neumann E., Rosenheck K *Permeability changes induced by electric impulses in vesicular membranes*, Journal of Membrane Biology, 10(1), pp. 279-290, 1972.
2. www.quickfield.com *Software de simulación electromagnética*
3. Bertaccini C. et al. *Design of an Irreversible Electroporation System For Clinical Use*, Technology in Cancer Research and Treatment, 6(4), Agosto 2007.
4. ITALIAN NATIONAL RESEARCH COUNCIL - Institute for Applied Physics "Nello Carrara" - Florence (Italy) <http://niremf.ifac.cnr.it/tissprop/>
5. Joines William T., et al. *The measured electrical properties of normal and malignant human tissues from 50 to 900MHz* Med. Phys. 21 (4), pp. 547-550, Abril 1994.
6. Laufer S. et. al. *Electrical impedance characterization of normal and cancerous human hepatic tissue* Published Online at stacks.iop.org/PM/31/995, 24 de Junio de 2010.