

Electroporación celular

Mauricio Alfonso

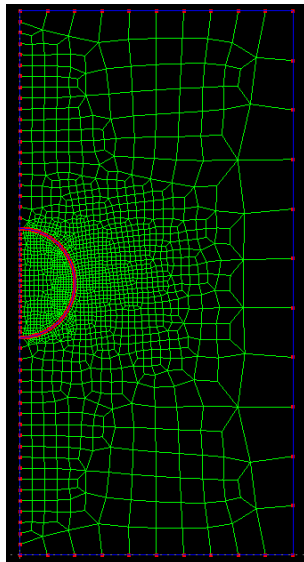
DC - FCEyN - UBA

19 de junio de 2014

Introducción

- Una célula esférica de entre 10 y 50 μm de radio
- Dos electrodos que generan un pulso de 20 ms de entre 40 y 200 kV m^{-1}
- Se estudia la generación de poros en la membrana celular y el ingreso de H^+ , OH^- , Na^+ y Cl^- a la célula.

- Coordenadas cilíndricas (2D)
- Elementos cuadrilaterales
- Programa AutoMesh2D para generar mallas
- Mallas chicas de ~ 1900 y grandes de ~ 7400 elementos



Potencial eléctrico:

$$\sigma_e \nabla^2 \phi = 0$$

Con ϕ el potencial eléctrico y σ_e la conductividad del material. Condiciones de borde de Dirichlet en los electrodos y Neumann en los otros bordes.

Además se asume que la membrana se carga como un capacitor en paralelo con una resistencia:

$$V_m = V_p(1 - e^{-t/\tau}),$$

$$\text{con } \tau = \alpha C_m \left(\frac{1}{\sigma_i} + \frac{1}{2\sigma_o} \right)$$

Con α el radio, C_m la capacitancia de la membrana y σ_i y σ_o las conductividades interna y externa.

Densidad de poros:

$$\frac{\partial N}{\partial t} = \alpha_c e^{(V_m/V_{ep})^2} \left(1 - \frac{N}{N_0 e^{q(V_m/V_{ep})^2}} \right)$$

La densidad depende del ITV en cada región de la célula (no es constante en toda la superficie).

N es la densidad de poros, V_m es el ITV, α_c , V_{ep} , N_0 y q constantes.

Radio de los poros:

$$\frac{\partial r}{\partial t} = \frac{D}{kT} \left(\frac{V_m^2 F_{max}}{1+r_h/(r+r_a)} + \frac{4\beta}{r} \left(\frac{r_*}{r} \right)^4 - 2\pi\gamma + 2\pi\sigma_{eff}r \right),$$

Se aplica a cada poro por separado.

r es el radio de un poro, D es el coeficiente de difusión para los poros, V_m el ITV, k es la constante de Boltzmann, T la temperatura, F_{max} , r_h , r_a , β y γ constantes, y σ_{eff} es la tensión efectiva:

$$\sigma_{eff} = 2\sigma' - \frac{2\sigma' - \sigma_0}{(1 - A_p/A)^2}$$

con σ' y σ_0 constantes, A_p es la suma de las áreas de todos los poros en la célula, y A es el área de la célula.

Transporte de especies: ecuación de Nernst-Planck

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = \nabla \cdot \left(D_i \nabla C_i + D_i z_i \frac{F}{RT} C_i \nabla \phi \right)$$

donde C_i , D_i y z_i son la concentración, la difusión y la valencia de la especie i , para i alguna de las especies mencionadas (H^+ , OH^- , Na^+ , Cl^-).

F y R son las constantes de Faraday y de los gases y T la temperatura.

Como condición de borde se tiene que $-D_i(\nabla C_i \cdot \mathbf{n}) = 0$

La conductividad de la membrana se recalcula según el área ocupada por los poros

$$\sigma_e = \sigma_m(1 - p) + \sigma_p p$$

donde p es la proporción ocupada por poros de una zona esférica de la membrana. σ_m y σ_p son las conductividades de la membrana sin poros y del líquido que llena el poro

Lo mismo se hace con la difusión:

$$D_{i,e} = D_i(1 - p) + D_p$$

D_m y D_p son las conductividades de la membrana sin poros y del líquido que llena el poro

Implementación

- Métodos de elementos finitos para potencial eléctrico (ecuación de Poisson) y transporte de especies
- Diferencias finitas para generación y evolución de poros
- Implementado en C++
- Librería Eigen para resolver sistemas de ecuaciones
- Descomposiciones Cholesky (para Poisson) y Bi-gradientes conjugados estabilizados (para transporte)
- OpenMP para acelerar llenado de matrices (Poisson) y resolución en transporte

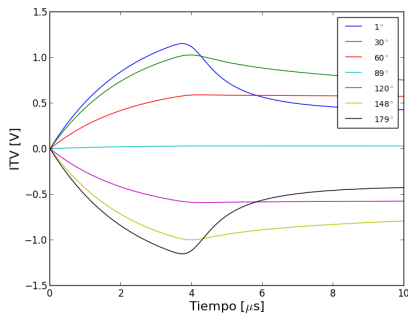


Figura: Para $\alpha = 25 \mu\text{m}$ y 40kV m^{-1}

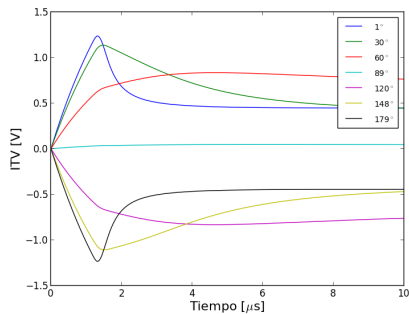


Figura: Para $\alpha = 25 \mu\text{m}$ y 80kV m^{-1}

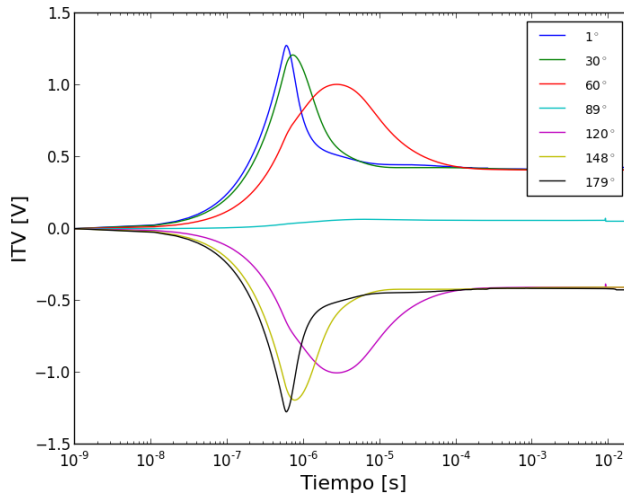


Figura: Pulso entero para $\alpha = 25\mu\text{m}$ y 160kV m^{-1}

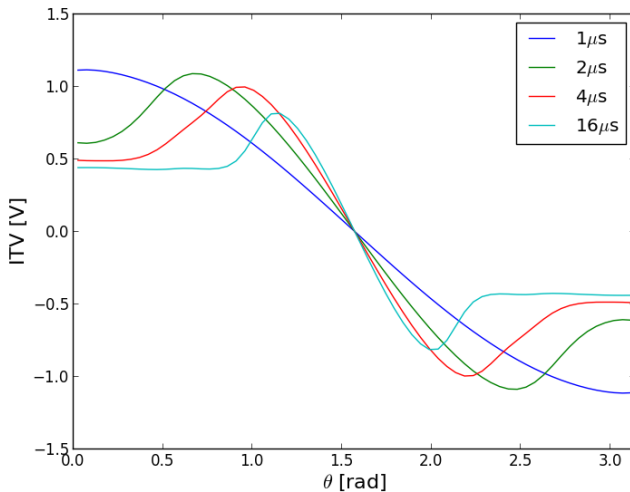


Figura: $\alpha = 50\mu\text{m}$ y 80kV m^{-1}

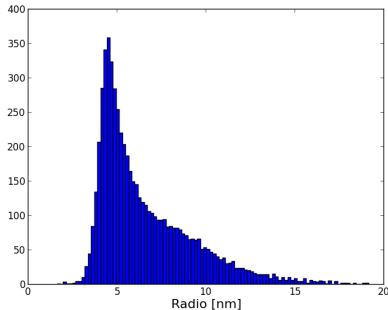


Figura: Para $\alpha = 50\mu\text{m}$,
 40kV m^{-1} y $t = 5 \mu\text{s}$

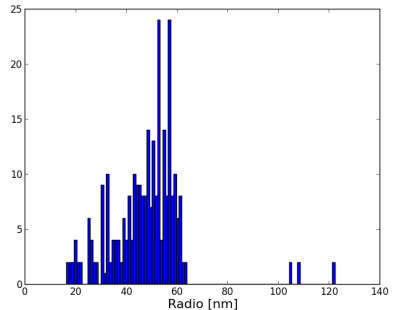


Figura: Para $\alpha = 50\mu\text{m}$ y
 160kV m^{-1} y $t = 5 \text{ ms}$

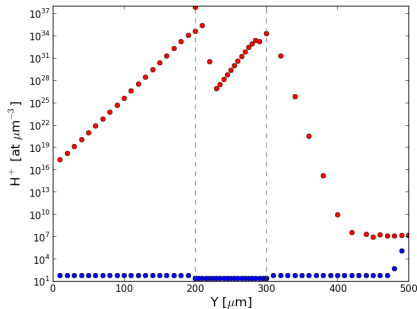


Figura: H^+ para $\alpha = 25\mu\text{m}$,
 160kV m^{-1}

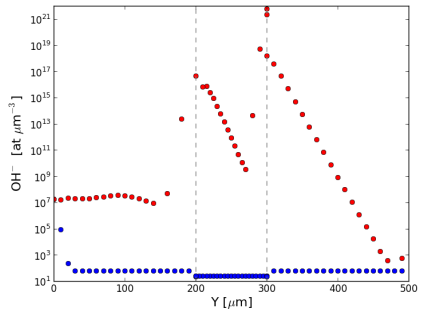


Figura: OH^- para $\alpha = 25\mu\text{m}$,
 160kV m^{-1}

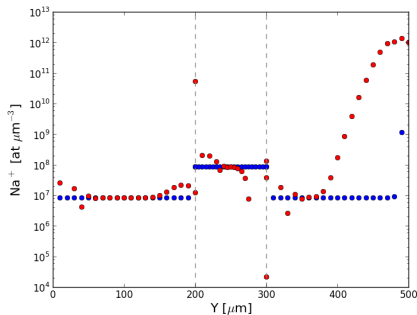


Figura: Na^+ para $\alpha = 25 \mu\text{m}$,
 160 kV m^{-1}

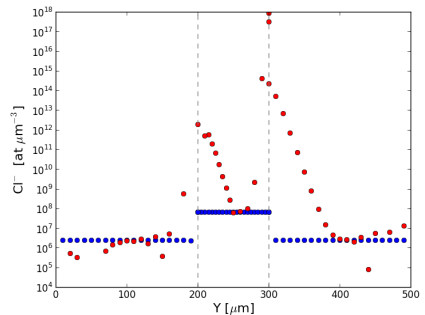


Figura: Cl^- para $\alpha = 25 \mu\text{m}$,
 160 kV m^{-1}

Conclusiones

- Se pueden ingresar las especies, pero se necesitan voltajes muy altos, sobre todo para Na^+ y Cl^-
- Los poros generados disminuyen la conductancia de la membrana, disminuyendo el ITV
- El voltaje aplicado influye en la velocidad con la que se crean los poros, pero no aumenta el ITV, siempre que se alcance un valor mínimo
- La mayoría de los poros creados se cierran muy rápidamente; antes de que lleguen las especies, luego no sirven para permeabilizar la membrana

Pendiente

- Hacer coincidir el la llegada de las especies a la célula con la generación de poros, con más pulsos o pulsos de diferente duración
- Acoplar mejor el cálculo de la capacitancia con el del potencial eléctrico