

Ablación Electrolítica: Estudio *in silico* e *in vitro* de la Permeabilización del Tejido

H. Schinca¹; N. Oláiz^{1,2}; G. Marshall^{1,2}; P. Turjanski^{1,2}

¹Dpto. Computación, FCEyN, UBA

²CONICET

Introducción

¿En qué consiste la terapia de Ablación Electrolítica (EA)?

EA es una técnica ablativa que opera aplicando una corriente eléctrica de baja intensidad al tejido tumoral durante un período largo de tiempo, generando productos de la electrólisis que destruyen las células.

¿Cómo afecta la EA al tejido tumoral?

La EA, mediante la aplicación de corriente galvánica, induce niveles extremos de pH que resultan nocivos para el tejido tratado. Este fenómeno tiene lugar ya que al aplicar una diferencia de potencial por medio de electrodos a un tejido, se producen reacciones electroquímicas en las interfaces de los electrodos. A lo largo de este proceso, algunas *especies* son consumidas mientras que otras son producidas, generándose, de este modo, una acidificación en la zona del ánodo y una basificación en la zona del cátodo. Algunos autores sugieren que la ablación se debe a la electropormeabilización de la membrana celular [1, 2]. La permeabilización de la membrana celular es un fenómeno físico químico en el que cambia la facilidad que tienen ciertas moléculas para atravesarla. Otros autores, mencionan que no es significativa la permeabilización con campos eléctricos menores a 100 V/cm [3] Resulta de vital importancia el estudio del avance de ambos frentes de pH, para poder comprender cómo evoluciona la terapia teniendo en cuenta el fenómeno de permeabilización celular.

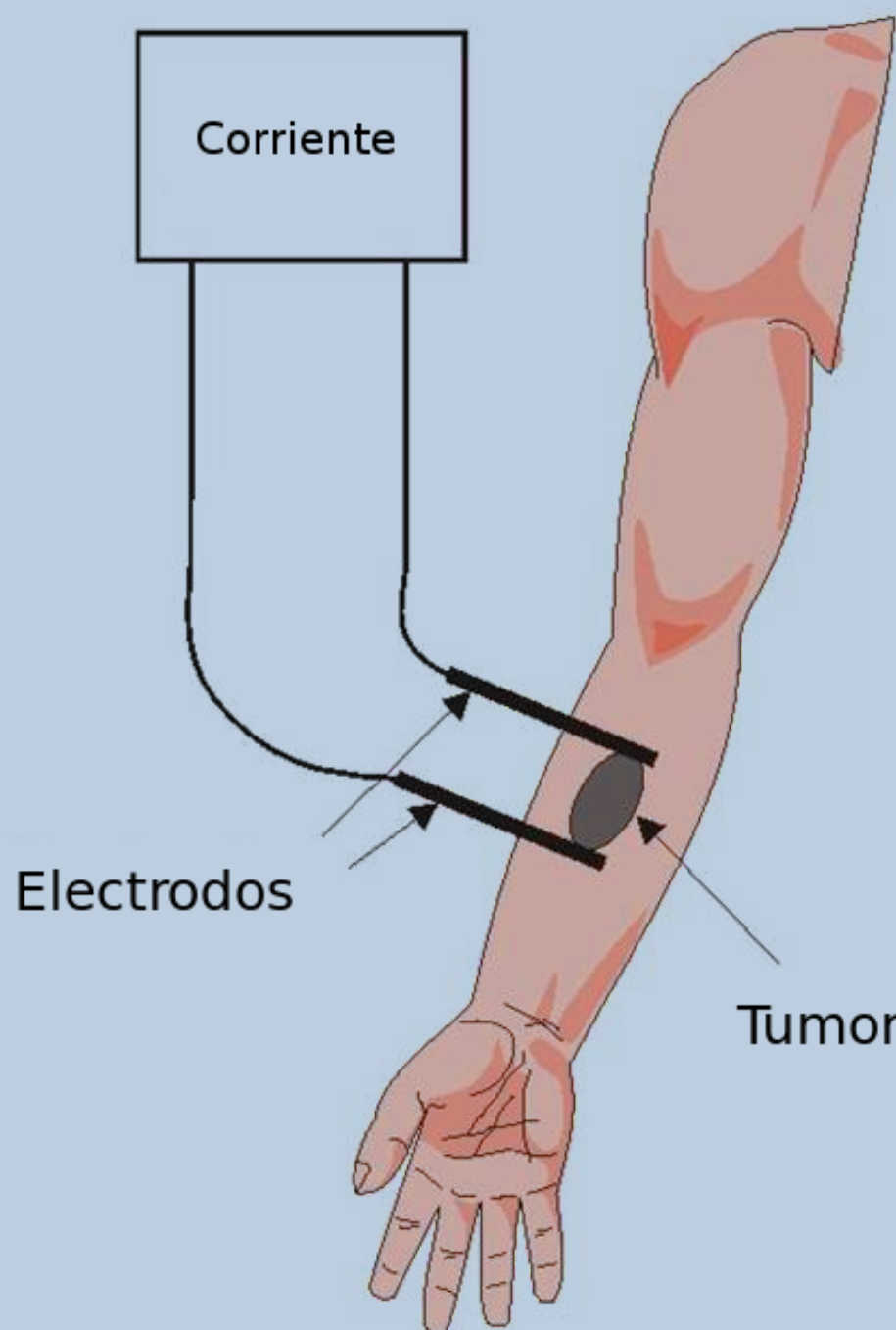


Figura 1: Dispositivo para EA.

Resultados 1

En la figura 2 se observa la distribución de las concentraciones de las especies modeladas. No se aprecian cambios cualitativos entre el modelo *in silico* sin factor de permeabilización (no mostrado) y el modelo con permeabilización (figura 2).

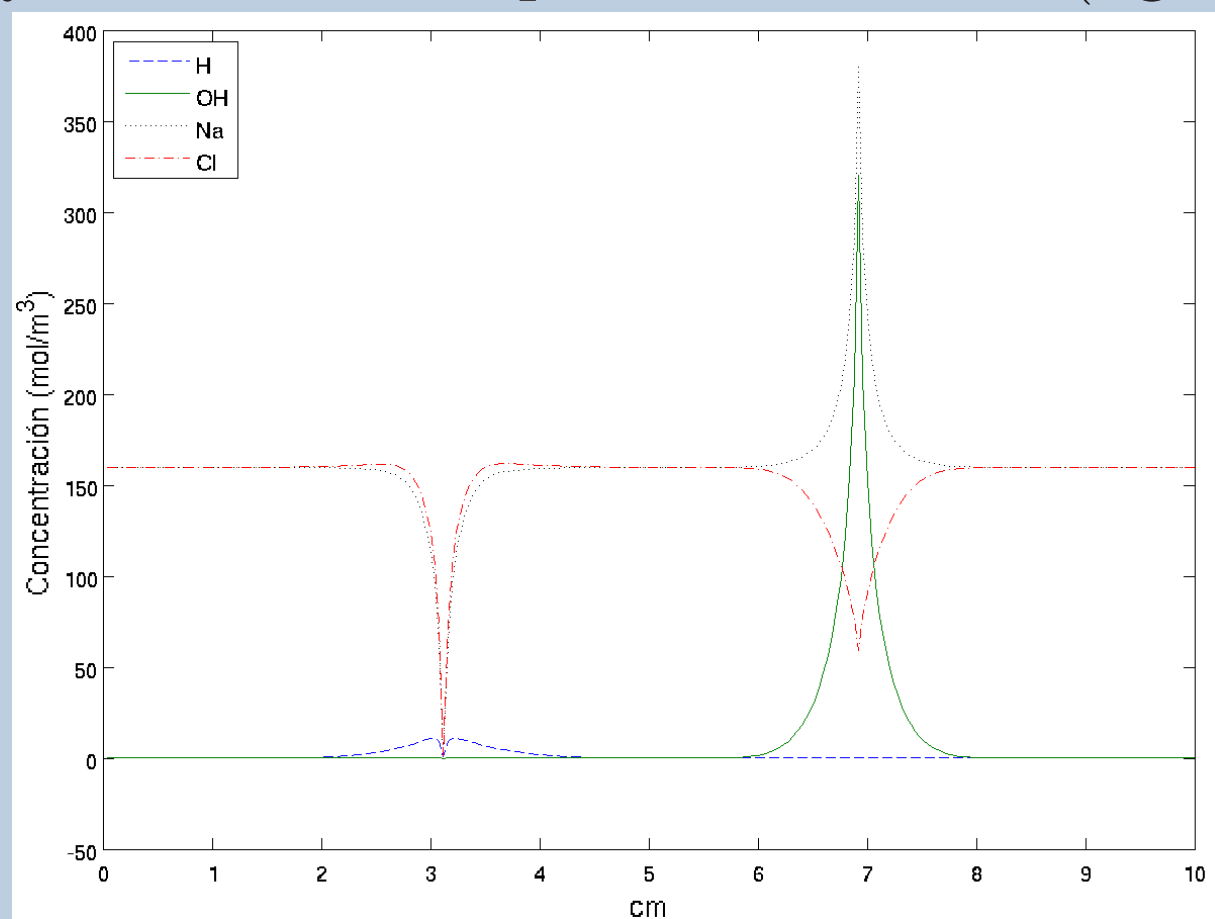


Figura 2: Corte unidimensional de la predicción de las concentraciones de H^+ , OH^- , Na^+ y Cl^- luego de 1550 segundos de aplicación de una terapia EA de 10 mA para una configuración de un ánodo y un cátodo. El ánodo se encuentra ubicado a los 3.1 cm mientras que el cátodo se encuentra a los 6.9 cm, siendo la separación entre ambos de 3.8 cm.

Resultados 2

En Olaiz *et al.* [4] se muestra que el frente de desnaturalización anódico está gobernado principalmente por acción de la difusión (figura 3.a). En concordancia con este resultado, en la figura 3.b se puede observar que la evolución del frente de pH del modelo *in silico* sigue un comportamiento gobernado principalmente por la difusión ($t^{1/2}$).

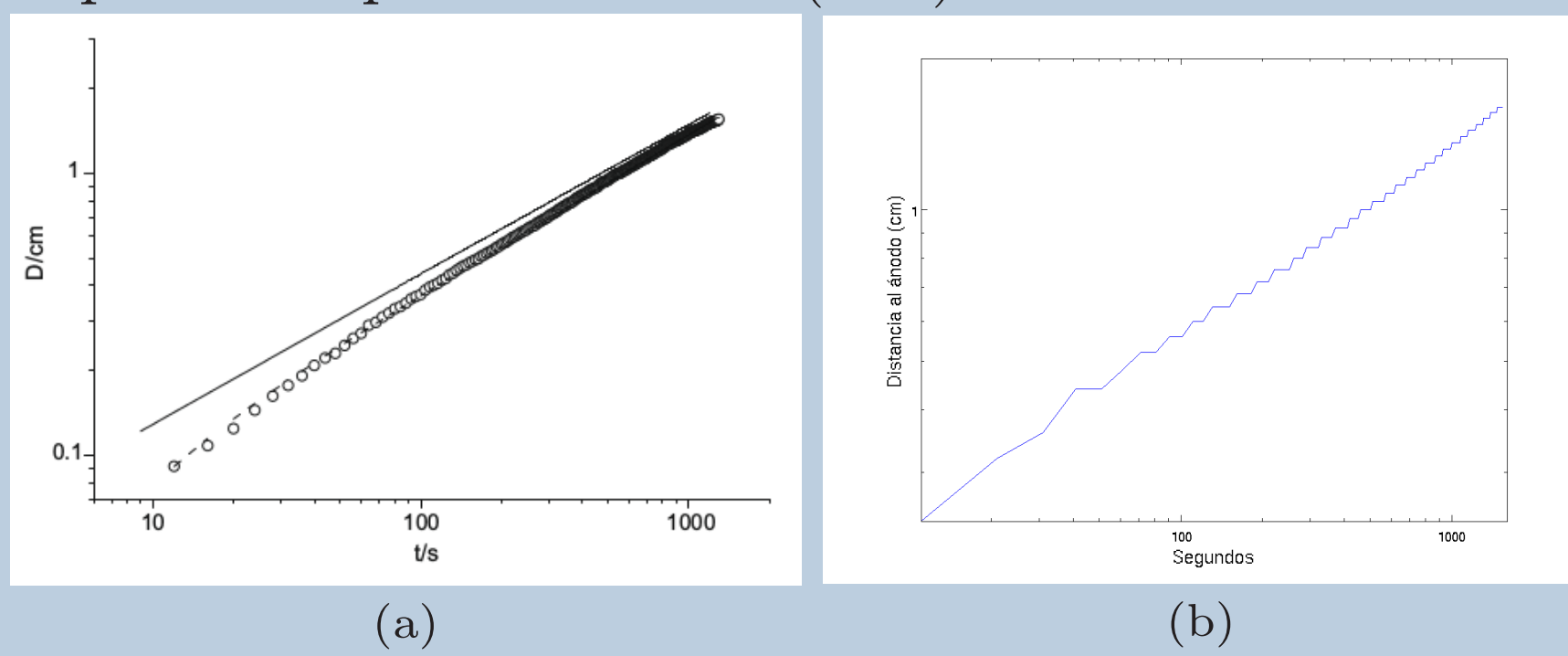


Figura 3: (a) Seguimiento del frente anódico de electrodesnaturalización para el modelo *in vitro* CMG. (b) Seguimiento del frente de pH anódico del modelo *in silico*. Ambos para la aplicación de una terapia EA de 10 mA para un ánodo y un cátodo dispuestos a 3.8 cm de distancia. Los valores representan el radio de cada frente con centro en el ánodo para cada instante de tiempo, en una escala log-log.

Resultados 3

En Olaiz *et al.* [4] se muestra que los frentes de desnaturalización avanzan entre los electrodos y colisionan entre medio de estos (figura 4.a). Los resultados obtenidos con el modelo *in silico* propuesto, muestran una muy buena relación entre los frentes de desnaturalización de la figura 4.a y los frentes de pH de la figura 4.b. En el caso de los frentes de permeabilización (figura 4.c), estos no coinciden con los frentes de desnaturalización (figura 4.a). Estas tres imágenes indicarían que el proceso de ablación tendría lugar, efectivamente, por los valores extremos de pH, tanto ácidos como básicos, y no así por la permeabilización del tejido, que solo tiene lugar en la zona anódica, como sugerían algunos autores [1, 2].

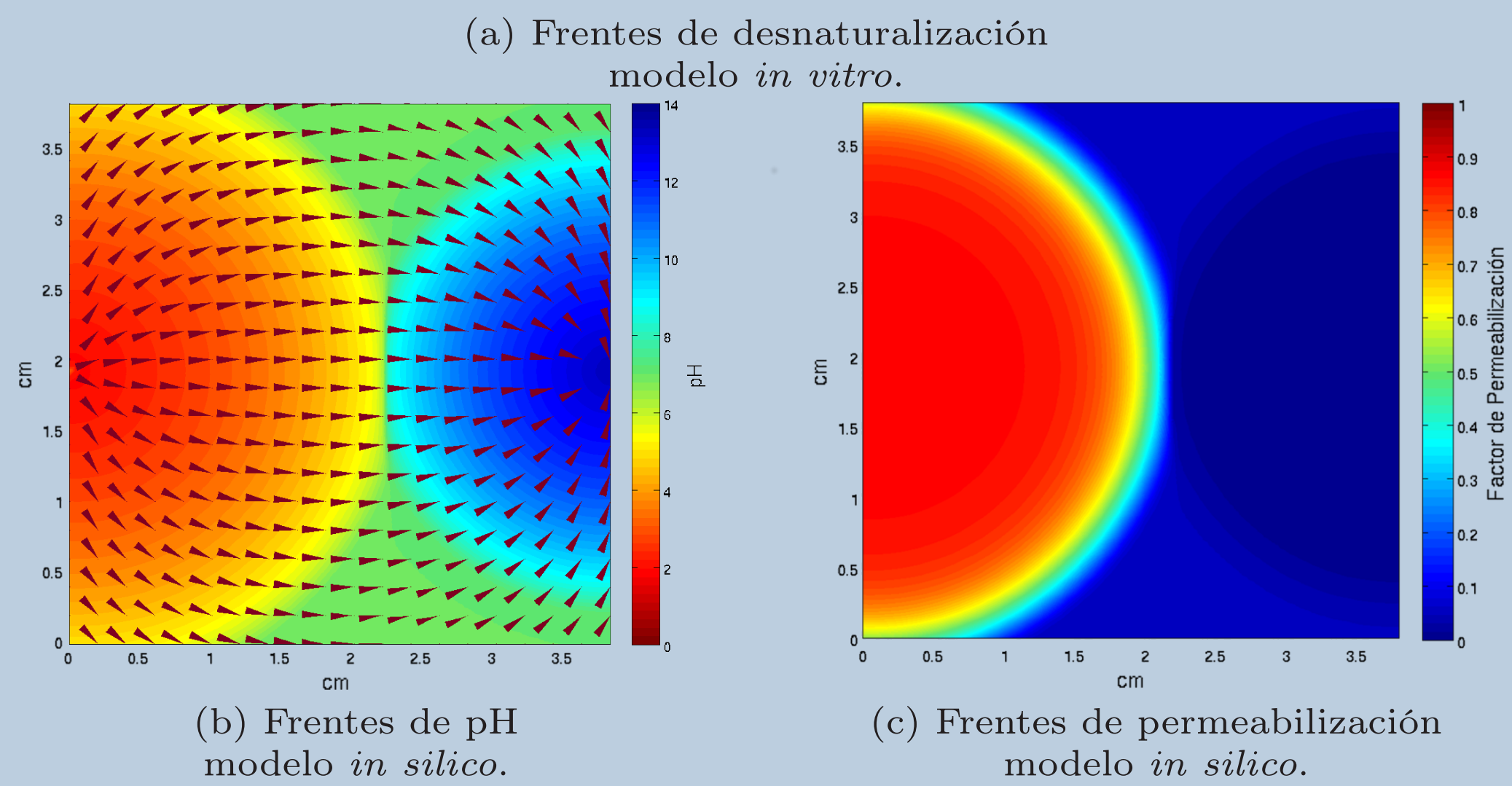
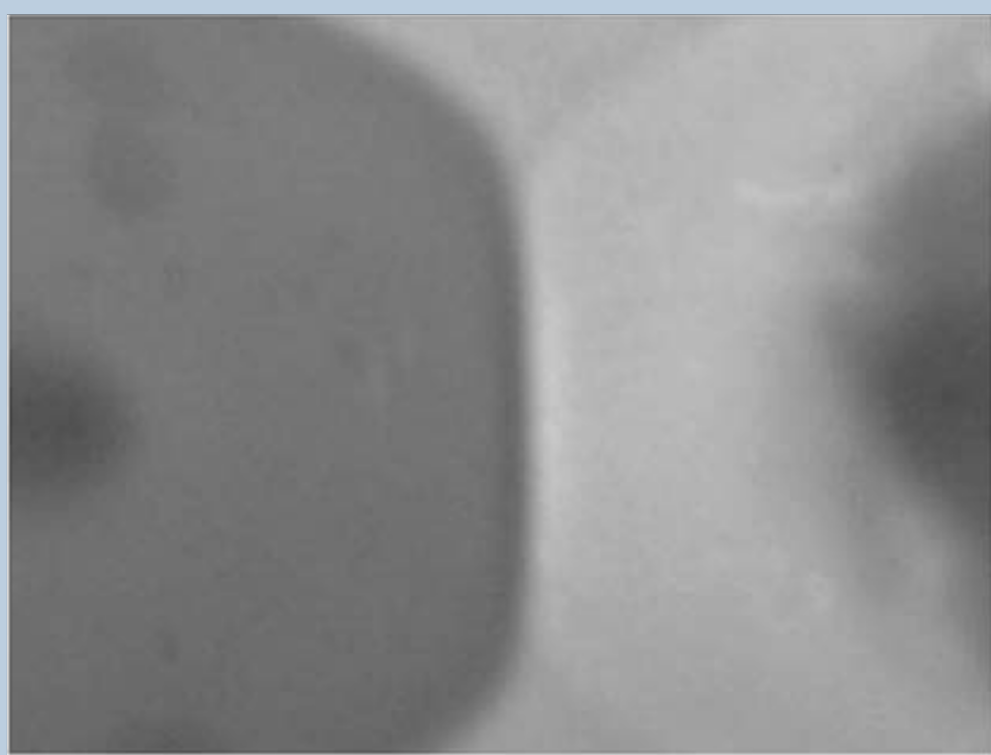


Figura 4: Se muestra la sección central de 10×10 cm² luego de 1550 segundos de aplicación de una terapia EA de 10 mA para un ánodo (izquierda) y un cátodo (derecha) dispuestos a 3.8 cm de distancia. En (a) se observan los frentes de electrodesnaturalización para el modelo *in vitro* CMG. En (b) se muestran en conjunto los frentes de pH y la distribución del campo eléctrico, resultado del modelo *in silico*. En (c) se observan los valores del factor de permeabilización μ_P , también obtenidos del modelo *in silico*.

Referencias

- [1] M. Shawki, M. Elblbesy, T. Shalaby, M. Qotb, and Y. Youssef. Comparative study on the efficiency of using pulsed and direct current electrochemotherapy in treating ehrlich tumor. *International Journal of Biomedical Science*, 8(1):16–21, 2012.
- [2] Li Jing-Hong and Xin Yu Ling. Electrochemical therapy of tumors. In *Conference Papers in Science*, volume 2013. Hindawi Publishing Corporation, 2013.
- [3] N. Olaiz, E. Signori, F. Maglietti, A. Soba, C. Suárez, P. Turjanski, S. Michinski, and G. Marshall. Tissue damage modeling in gene electrotransfer: The role of pH. *Bioelectrochemistry*, 100(0):105 – 111, 2014. Bio-Electroporation.
- [4] N. Olaiz, C. Suárez, M. Risk, F. Molina, and G. Marshall. Tracking protein electrodenaturation fronts in the electrochemical treatment of tumors. *Electrochemistry Communications*, 12:1388–2481, 2010.
- [5] P. Turjanski, N. Olaiz, P. Abou-Adal, C. Suárez, M. Risk, and G Marshall. pH front tracking in the electrochemical treatment (EChT) of tumors: experiments and simulations. *Electrochimica Acta*, 54:6199–6206, 2009.
- [6] Kambiz Vafai. *Porous media: applications in biological systems and biotechnology*. CRC Press, 2010.

Modelo *in silico*

Se modelan Φ y las especies iónicas H^+ , OH^- , Cl^- y Na^+ . Ecuación de Nernst-Plank para la especie i :

$$J_i = \underbrace{-D_i \nabla C_i}_{\text{flujo difusivo}} - \underbrace{\frac{z_i}{|z_i|} u_i C_i \nabla \Phi}_{\text{flujo migratorio}} + \underbrace{R_i}_{\text{término reactivo}}$$

Ecuación para calcular el Φ :

$$\nabla \left(\sum_{i=1}^4 |z_i| u_i C_i \nabla \Phi \right) + \nabla \left(\sum_{i=1}^4 z_i D_i \nabla C_i \right) = 0$$

Electroneutralidad:

$$\sum_{i=1}^4 z_i C_i = 0$$

Condiciones iniciales y de borde ver en [5].

Se incorpora la permeabilización al modelo, aproximando P (coeficiente de permeabilización) al coeficiente D de difusión ($P = D$) y teniendo en cuenta la siguiente ecuación [6]:

$$P = P_{\text{efectivo}} + \mu_P * P_{\text{max}}$$

En resultados experimentales aún no publicados para campos de baja intensidad se observó la relación que guarda P con respecto al pH:

$$\mu_P = 0,014099 + \frac{0,956611}{1 + e^{(pH - 5,41496)/0,49362}}$$

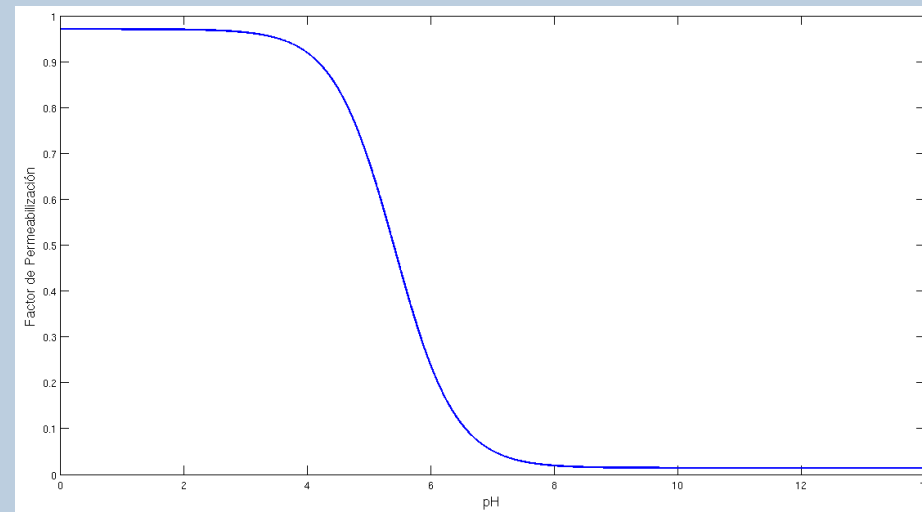


Figura 5: Resultado experimental que muestra la relación entre el pH y el factor de permeabilización del tejido.

Modelo *in vitro*

El modelo de gel de colágeno y macronutrientes (CMG) está basado en una solución de colágeno (30 g/l) con 5 % de yema de huevo, 0,16 mol/dm³ NaCl y 27 mmol/dm³ de NaHCO₃. La solución se coloca en un disco de Petri de 9 cm de diámetro y se deja gelificar. Dos electrodos cuasicónicos de platino con un área expuesta de 0.06 cm² se insertan 0,4 cm dentro del gel, separados 3,8 cm uno del otro. Todos los experimentos se realizan a temperatura ambiente. Las videoimágenes son obtenidas por una cámara digital Canon PowerShot SD1000, de 7.5 megapixels, y se procesan con el paquete de software ImageJ. La corriente eléctrica (10 mA durante 30 segundos) se aplica a través de una fuente Consort E835 (Bélgica) y es continuamente monitoreada, junto con el potencial eléctrico, por un multímetro estándar (muestras cada 20 segundos). La siguiente figura muestra la configuración experimental utilizada:

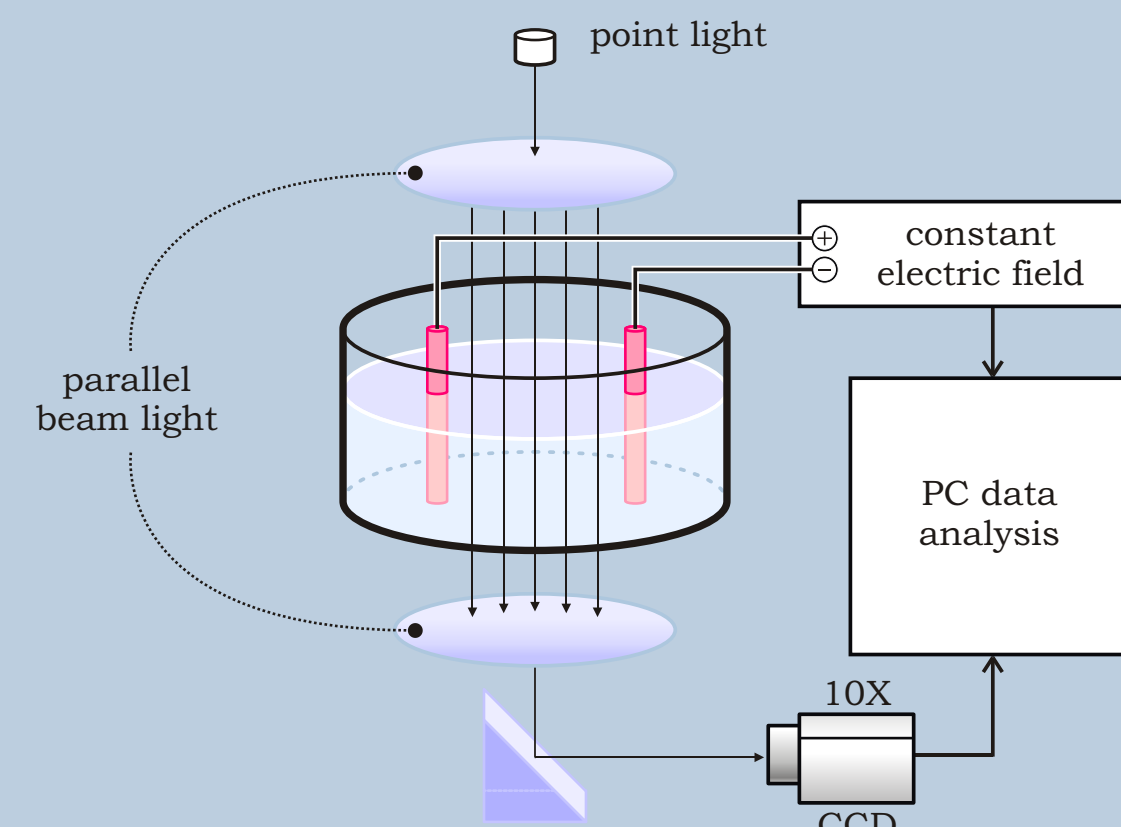


Figura 6: Set experimental del modelo *in vitro*.

Conclusiones

- ✓ No se aprecian cambios cualitativos entre el modelo *in silico* sin factor de permeabilización y el modelo con permeabilización.
- ✓ Se observa que la evolución del frente de pH del modelo *in silico* sigue un comportamiento gobernado principalmente por la difusión.
- ✓ Se puso en evidencia que la permeabilización no juega un rol preponderante en la ablación para esta terapia ya que solamente se da en la región circundante al ánodo, mientras que el tejido necrosado ocupa las regiones tanto del ánodo como del cátodo. Este resultado es muy significativo ya que descarta la hipótesis sugerida por algunos autores de que la ablación se debe a la electropormeabilización [1, 2], reforzando aún más la hipótesis acerca de que, en realidad, son los frentes de pH extremo los causales de la destrucción del tejido.