

ARTÍCULO ORIGINAL

Terapia electroquímica: relación del patrón espacial del daño tisular con la forma del arreglo de electrodos

Electrochemical therapy: relationship of the tissular damage space pattern with the form of electrodes position

MsC. Maraelys Morales González,^I Ph.D. Claudia Hernández Aguilar,^{II} Ph.D. Flavio Arturo Domínguez Pacheco,^{II} Dr.C. Luis Enrique Bergues Cabrales,^{III} Dr. Cs. Juan Bory Reyes^{II} y Dr. Cs. Gustavo Sierra González^{IV}

^I Facultad de Ciencias Naturales, Departamento de Farmacia, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba.

^{II} ESIME-Zacatenco. Instituto Politécnico Nacional, México, DF 07738, México.

^{III} Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba.

^{IV} BioCubaFarma, La Habana, Cuba.

RESUMEN

Se realizó una investigación en la Escuela Superior de Ingeniería Mecánica y Eléctrica del Instituto Politécnico Nacional de Ciudad de México, desde mayo hasta junio de 2016, con el objetivo de determinar cómo cambia el patrón espacial del daño tisular con la forma del arreglo de electrodos en piezas tridimensionales de papa (*Solanum tuberosum* L) bajo la acción de 10 mA durante 30 min para los arreglos de electrodos con formas colineal, circular, elíptica, parabólica e hiperbólica). Los resultados mostraron la estrecha relación entre el daño tisular y la forma del arreglo de electrodos, así como algunos hallazgos que se observan también en tumores, tales como: necrosis circular alrededor de todos los electrodos, daño tisular extensivo en espacio y en tiempo, burbujeo alrededor del cátodo, zona blanca alrededor del ánodo; igualmente, se observó que las regiones alejadas de los electrodos no se afectaron.

Palabras clave: terapia electroquímica, arreglo de electrodos, daño tisular, papa.

ABSTRACT

An investigation in the Mechanical and Electric Engineering Higher School of the National Polytechnic Institute of Mexico City, was carried out from May to June, 2016, aimed at determining how the tissue damage space pattern changes with the electrodes position form in three-dimensional pieces of potato (*Solanum tuberosum* L) under the 10 MA action during 30 minutes for electrodes position with cholineal, round, elliptic, parabolic and hyperbolic forms). The results showed a close relationship between the tissue damage and the electrodes position form, as well as some findings that are also observed in tumors, such as: circular necrosis around all the electrodes, extensive tissue damage in space and time, bubbling around the cathode, white area near the anode; likewise, it was observed that the regions far from the electrodes were not affected.

Key words: electrochemical therapy, electrodes position, tissue damage, potato.

INTRODUCCIÓN

La terapia electroquímica (EChT, por sus siglas en inglés) es la aplicación de una corriente eléctrica directa de muy baja intensidad (CED) al tumor mediante 2 o más electrodos. Uno de los problemas más interesante y aún no resuelto de la EChT es la propuesta de arreglos de electrodos adecuados que maximicen la destrucción del tumor con el mínimo daño al organismo. Al respecto, han sido propuestos modelos bidimensionales (2D)^{1,2} y tridimensionales (3D)³ para conocer la distribución del potencial eléctrico, la intensidad del campo eléctrico, la temperatura y/o la densidad de corriente eléctrica en el tumor, generados por diferentes arreglos de electrodos. La validez de algunos de estos modelos se ha mostrado en papa⁴ y tumores malignos, a pesar de ser sistemas biológicos muy diferentes.

La papa se usa como un medio biológico alternativo al tumor porque su contenido de agua, rango de pH y valores de la conductividad eléctrica son similares.⁵ Además, este tubérculo se puede usar si se tiene en cuenta para el reemplazo, uno de los postulados del principio de las "tres erres" que se usan en la investigación en experimentos con animales.

Hasta el momento, no se conoce cómo el daño tisular inducido por los arreglos de electrodos con formas circular, elíptica, parabólica e hiperbólica,¹ se distribuye espacialmente en un medio biológico conductor 3D. Los objetivos de este trabajo fueron conocer si el daño tisular adopta la forma de cada uno de estos arreglos de electrodos en piezas 3D de papa y comparar dichos daños con el inducido por el arreglo colineal de electrodos, el más usado en la EChT.^{6,7}

MÉTODOS

Se realizó una investigación en la Escuela Superior de Ingeniería Mecánica y Eléctrica del Instituto Politécnico Nacional de Ciudad de México, desde mayo hasta junio de 2016, bajo condiciones controladas de temperatura (23 ± 1 °C) y humedad relativa (65 ± 2 %). Estos dos parámetros se midieron con el instrumento *Temperature and Humidity Station with Atomic Time* (modelo: RMR203HG, resolución 0,1 °C, rango de humedad 25-95 % y resolución para la humedad de 1 %).

Modelo biológico

El tubérculo papa (*Solanum tuberosum* L), *Var. Mondial*, de pulpa pardo-amarillenta, pH 6,1 y contenido de agua de 75 %, ⁵ fue suministrado por el Instituto Mexicano de Genética para el Control de Calidad de Semillas. Este se encontraba fresco y libre de bacterias, virus y hongos, según el análisis fitosanitario. Se le retiró su corteza y luego se extrajo una muestra en 3D, cuya geometría fue un paralelepípedo (5,0 x4,0 x2,0 cm) o un elipsoide (6,0x4,0x2,0 cm).

Formas del arreglo de electrodos

En la figura 1 se muestran los arreglos de electrodos con forma colineal, C-I; circular, C-II ($e=0$ y $m=0$); elíptica, C-III ($e=0,60$ y $m=7$ mm); parabólica, C-IV ($e=1$ y $m=7$ mm) e hiperbólica, C-V ($e=2$ y $m=7$ mm). La posición del n -ésimo se fijó por sus coordenadas polares (r_n , θ_n) para cada forma de arreglo de electrodos; asimismo, r_n (en mm) fue la distancia desde un punto de referencia al electrodo y θ_n (en °) representó el ángulo que se formó entre una dirección de referencia (eje x) y el electrodo (ver detalles en un estudio efectuado por Bergues *et al*).¹

Para C-I, los valores de $(\theta; r)$ fueron $(0; 0)$, $(0; 10)$, $(0; 20)$ y $(0; 30)$ para los electrodos 1, 2, 3 y 4, respectivamente. Para C-II, el electrodo 1 estuvo en $(0; 5)$, el 2 en $(60; 5)$, el 3 en $(120; 5)$, el 4 en $(180; 5)$, el 5 en $(240; 5)$ y el 6 en $(300; 5)$. Para C-III, el electrodo 1 estuvo en $(0; 6,56)$, el 2 en $(60; 5,50)$, el 3 en $(120; 5,50)$, el 4 en $(180; 6,56)$, el 5 en $(240; 5,50)$ y el 6 en $(300; 5,50)$. Para C-IV, el electrodo 1 estuvo en $(60; 9,33)$, el 2 en $(65; 7,20)$, el 3 en $(75; 3,88)$, el 4 en $(285; 3,88)$, el 5 en $(295; 7,20)$ y el 6 en $(300; 9,33)$. Para C-V, los electrodos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 estuvieron en $(0; 4,67)$, $(45; 8,08)$, $(135; 8,08)$, $(180; 4,67)$, $(225; 8,08)$ y $(315; 8,08)$, respectivamente. Estos valores se refirieron al centro de las C-I, C-III y C-V; en el caso de la C-IV, r_n y θ_n al vértice de la parábola. Para la C-I, el origen de coordenada se ubicó en el electrodo 1 (figura 1a). Para C-II, C-III, C-IV y C-V, la generatriz (m), la excentricidad (e) y la posición de cada electrodo se representó esquemáticamente en la figura 1b.

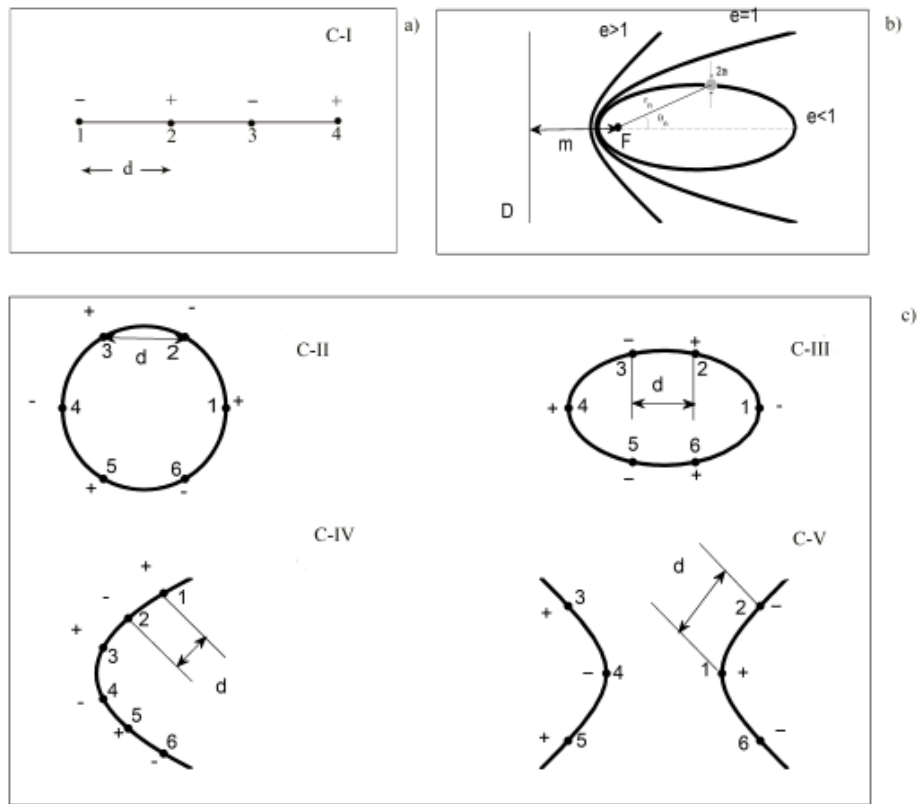


Fig.1. Arreglos de electrodos con formas colineal (C-I), circular (C-II), elíptica (C-III), parabólica (C-IV) e hiperbólica (C-V).

Por otra parte, en la figura 1 también se observa la numeración y la polaridad de cada electrodo, así como la distancia d entre dos electrodos consecutivos $i-j$ ($i \neq j$) para cada forma de arreglo de electrodos. Los electrodos fueron agujas rectas de platino-iridio (Pt-Ir 90/10), de 10 cm de longitud 10 cm y 0,7 mm de diámetro,⁷ insertados a lo largo de la profundidad de cada pieza de papa 3D. Sus polaridades positiva y negativa correspondieron a los ánodos y cátodos, respectivamente. Para la C-I, $d = 1$ cm para los electrodos 1-2; 2-3 y 3-4.^{6,7} Para la C-II, $d = 5$ mm para los electrodos 1-2; 2-3; 3-4; 4-5 y 5-6. Para la C-III, $d = 6,10; 5,50; 6,10; 6,10$ y $5,50$ mm para los electrodos 1-2; 2-3; 3-4; 4-5 y 5-6, respectivamente. Para la C-IV, $d = 2,25$ mm (para

los electrodos 1-2 y 4-5), 3,45 mm (para los electrodos 2-3 y 5-6) y 7,50 mm (para los electrodos 3-4). Para la C-V, $d = 5,81$ mm para los electrodos 2-1; 1-6; 3-4 y 4-5.¹

Tratamiento electroquímico

La muestra de papa 3D de geometría de paralelepípedo se usó para la C-I y la elipsoidal fue para las C-II, C-III, C-IV y C-V. Esta se dividió en 2 piezas 3D iguales. Para la C-I, el tamaño de cada pieza es 5,0x4,0x1,0 cm: una para el grupo control (GC-1) y la otra para el grupo tratado (GT-1); para las C-II, C-III, C-IV y C-V, el tamaño de cada pieza fue 6,0x4,0x1,0 cm: una para cada grupo control, denominadas GC-2 (C-II), GC-3 (C-III), GC-4 (C-IV) y GC-5 (C-V). La otra pieza fue para sus respectivos grupos tratados, denominados GT-2 (C-II), GT-3 (C-III), GT-4 (C-IV) y GT-5 (C-V).

En cada grupo control, los electrodos se insertaron en las piezas 3D de papa durante 30 minutos y no se aplicó la CED; sin embargo, para cada grupo tratado, los electrodos se insertaron en las piezas del tubérculo 3D y se aplicó un solo estímulo de CED de intensidad constante de 10 mA durante 30 minutos, generado por el ONCOCED® B&E-01. Los grupos controles y tratados se mantuvieron bajo las mismas condiciones experimentales.

Observaciones macroscópicas

El cambio de color de cada pieza del tubérculo 3D fue el hallazgo macroscópico, ya que resultó ser un indicador de la apariencia, posibles daños y calidad de este tubérculo.⁵ Para esto, a los 30 min de iniciado el experimento, cada pieza se cortó transversalmente con una rebanadora de papa (*Dicer express* de China). Se extrajeron 2 subpiezas, denominadas P1 y P2, de igual tamaño, de 5,0 x 4,5 x 0,2 cm para C-I y 6,0 x 4,0 x 1,0 cm para C-I, C-II, C-III, C-IV y C-V. La separación entre P1 y P2 fue de 0,4 cm. Las imágenes de P1 y P2 se mostraron a los 30 minutos y 24 h después de finalizado el experimento, y se obtuvieron con una cámara digital *Kodak Easy Share* (modelo M340; tarjeta de memoria 4 GB; 10,2 megapíxeles, de *Eastman Kodak Company, Nueva York, USA*).

Las distancias entre electrodos consecutivos y el tamaño de las piezas de papa se midieron con un pie de rey de alta precisión (modelo 530-104 de 0,05 mm, Mitutoyo). Además, se hicieron 3 réplicas ($N = 3$) del experimento para cada grupo experimental con la finalidad de garantizar la reproducibilidad de los resultados.

RESULTADOS

Aunque los resultados no se mostraron, los daños tisulares en P1 y P2 de los grupos controles solo fueron alrededor de los electrodos cuando se usaron las C-I, C-II, C-III, C-IV y C-V durante 30 minutos. Además, en P1 y P2 se observó una coloración azul-parda aleatoria. Estos hallazgos fueron similares 24 h después de terminado el experimento; en contraste, la coloración fue oscura (daño tisular) cuando se aplicó 10 mA durante 30 min al GT-1 (figuras 2a-c), GT-2 (figuras 3a-c), GT-3 (figuras 3d-f), GT-4 (figuras 4a-c) y GT-5 (figuras 4d-f). Estos daños se mostraron en P1 (figuras 2-4a) y P2 (figuras 2-4b). Además, en las figuras 2-4c se evidenciaron los daños tisulares en P1 a las 24 horas postratamiento; hallazgos que resultaron similares en P2 y, por ende, no se mostraron.

Los daños tisulares en los grupos tratados fueron irreversibles, extensivos en espacio y tiempo, adoptaron la forma del arreglo de electrodo y ocurrieron fundamentalmente alrededor (con forma circular) y entre los electrodos. Estos fueron mayores para las C-II, C-III, C-IV y C-V que los inducidos por la C-I, más notable para las C-II y C-III. Igualmente, en estas figuras se evidenció una coloración azul-parda que se distribuyó al alzar en las regiones alejadas de los electrodos, más marcada a las 24 horas postratamiento; resultados similares se observaron en P2.

La deshidratación (alrededor de los ánodos), la hidratación (alrededor de los cátodos) y los cambios en la textura de las piezas del tubérculo alrededor de estos electrodos se observaron durante la aplicación de CED en P1 y P2 y después de esta; asimismo, se observó burbujeo alrededor de cada cátodo y coloración blanca en la vecindad de cada ánodo, más marcado en P1. Por otro lado, se percibió olor a gas cloro durante la aplicación de la EChT para todos los grupos tratados. Es importante señalar que los mismos hallazgos en P1 y P2 (figuras 2-4) se apreciaron también en la cara frontal de cada pieza 3D (resultados no mostrados).

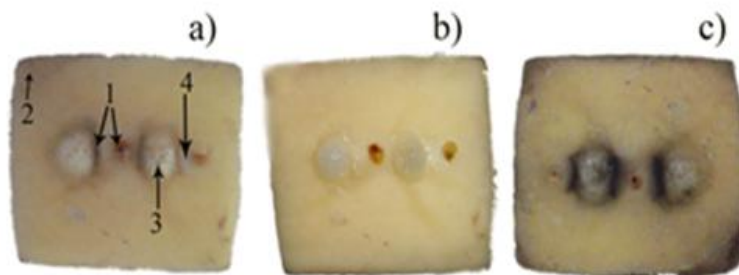


Fig. 2. Hallazgos inducidos en las piezas de papa 3D del GT-1, a los 30 min de exposición en P1 (a) y en P2 (b), y a las 24 h postratamiento en P1 (c). Daño local alrededor y entre los electrodos (1); coloración azul-parda aleatoria (2); burbujeo alrededor del cátodo (3) y zona blanca alrededor del ánodo (4).

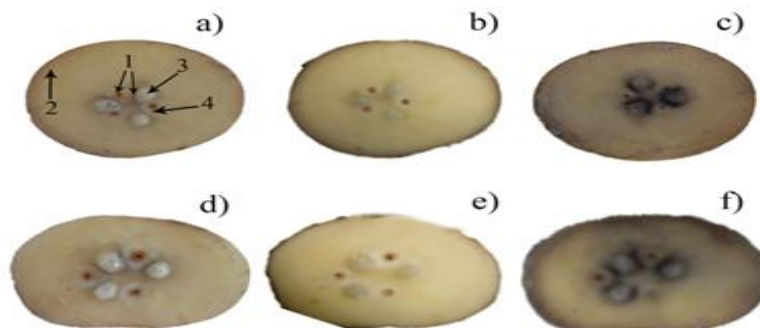


Fig. 3. Alteraciones inducidas en las piezas de papa 3D de los GT-2 (3a-c) y GT-3 (3d-f), a los 30 min de exposición en P1 (3a, d) y en P2 (3b,e), y a las 24 h postratamiento en P1 (3c,f). Daño local alrededor y entre los electrodos (1), coloración azul-parda aleatoria (2), burbujeo alrededor del cátodo (3) y zona blanca alrededor del ánodo (4).

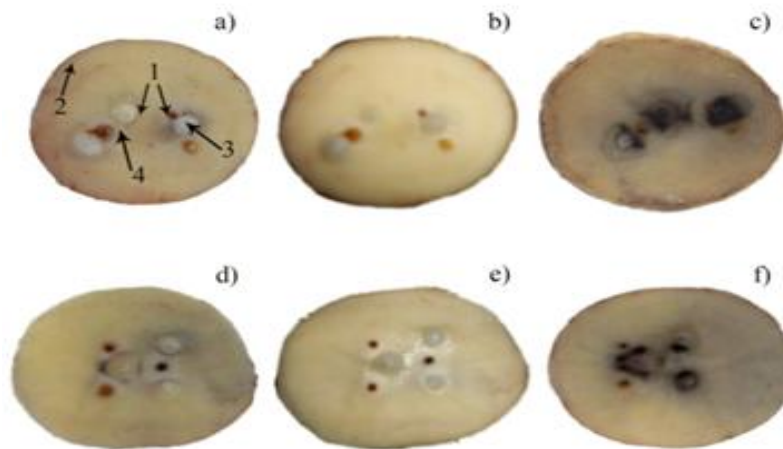


Fig. 4. Cambios inducidos en las piezas de papa 3D de los GT-4 (4a-c) y GT-5 (4d-f), a los 30 min de exposición en P1 (4a, d) y en P2 (4b,e), así como a las 24 h postratamiento en P1 (4c,f). Daño local alrededor y entre los electrodos (1), coloración azul-parda aleatoria (2), burbujeo alrededor del cátodo (3) y zona blanca alrededor del ánodo (4).

DISCUSIÓN

En todas las piezas de papa, la coloración azul-parda aleatoria estuvo dada por los procesos fisiológicos de oxidación y por el envejecimiento del tubérculo, lo cual concuerda con lo encontrado por Borrás *et al*⁸ en su estudio; sin embargo, el daño tisular local (no extensivo en espacio y tiempo) en P1 y P2 del grupo control, se debió a la ruptura mecánica por la inserción de los electrodos rectos a lo largo de la profundidad de la papa. En contraste, el daño tisular de las piezas del tubérculo se hizo irreversible y extensivo en espacio y tiempo, durante y después de aplicada la CED, en concordancia con otros estudios en papa y tumores.^{3,4,6,7,9}

Por su parte, la ablación que produjo la ECHT es de tipo electroquímica, como en tumores, y se relacionó con los cambios drásticos de pH, alrededor de los electrodos y entre estos, y los productos tóxicos provenientes de las reacciones electroquímicas que se indujeron en el tubérculo, como se ha sugerido en papa y en tumores.^{3,4,10}

En todos los grupos tratados, el burbujeo alrededor y a lo largo de cada cátodo se explicó por la formación del gas hidrógeno ($2\text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2 + 2\text{OH}^-$),⁶ como en tumores;^{7,10} asimismo, el olor a gas cloro se debió a su formación en el ánodo ($\text{Cl}^- + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Cl}_2$)⁶ y la formación de cloro explicó las zonas blancas en la vecindad de los ánodos, igual a lo referido por Jarque *et al*⁷ y Cury *et al*.¹⁰

Por otra parte, la deshidratación alrededor del ánodo y la hidratación alrededor del cátodo se argumentó a partir del movimiento del agua desde el ánodo hacia el cátodo, como sugieren otros autores.¹⁰ Todas estas alteraciones pudieron explicar la modificación de las propiedades viscoelásticas del tubérculo y, por ende, el cambio de textura de las regiones de la papa alrededor y entre los electrodos.

El hecho de que los daños tisulares inducidos por las C-II, C-III, C-IV y C-V, en P1 y P2, fueron mayores que el inducido por la C-I sugirió que C-II, C-III, C-IV y C-V son más efectivas que C-I, lo cual fue más notable para C-II y C-III, resultado que concordó con lo obtenido por Corovic *et al.*² El daño tisular provocado por C-I explicó que la ineffectividad de esta forma de arreglo de electrodos en tumores con más de 8 cm de diámetro es porque los daños son solamente alrededor y entre los electrodos.^{6,7}

Igualmente, el daño tisular inducido por C-IV confirmó que esta se puede utilizar para destruir el borde tumoral, como recomiendan Pupo *et al*;¹ sin embargo, ninguno de estos arreglos de electrodos indujeron que el daño tisular cubriera todo (o la mayor parte) del volumen del tubérculo. Esto sugirió la necesidad de explorar otros modelos 3D para proponer nuevas configuraciones de arreglos de electrodos que destruyan un tejido biológico conductor cualquiera (por ejemplo, el tumor, la papa, la manzana, la naranja) a lo largo de su profundidad y dirección radial. Esto fue posible por la estrecha relación entre la forma del arreglo de electrodos y los patrones espaciales del campo eléctrico y del daño tisular. Este hallazgo validó, en buena aproximación, las predicciones teóricas del modelo 2D¹ y concordó con otros estudios efectuados en papa^{4,9} y en tumores malignos.¹¹⁻¹³

Lo antes discutido explica el porqué este artículo no está dirigido a explicar con profundidad cómo la *EChT* modifica las estructuras biológicas de la papa, sino a la verificación experimental de la estrecha relación de la forma del arreglo de electrodos con las distribuciones espaciales del campo eléctrico y el daño tisular. Esto último permitió conocer, *a priori*, cómo insertar convenientemente los electrodos en el tumor sólido, independiente de su variedad histológica, heterogeneidad, anisotropía, tamaño, borde irregular y geometría, así como sentar las bases para la optimización de los parámetros de los modelos 2D¹ y 3D (propuesto recientemente por el Grupo Cubano de Bioelectricidad) para sugerir el arreglo óptimo de electrodos, que induzca la mayor efectividad antitumoral de la *EChT* con el mínimo daño al organismo. Estos aspectos son vitales tanto para la planeación terapéutica y la terapia personalizada de un paciente con cáncer como para la optimización del tiempo de experimentación, de dinero y de recursos materiales y humanos.

Se concluyó que la distribución espacial del daño tisular en papa (*Solanum tuberosum* L) *Var. Mondial* adopta la misma forma del arreglo de electrodo, lo que sentó las bases para la optimización de los parámetros de la *EChT* para la futura planeación terapéutica y tratamiento personalizado de pacientes con cáncer.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bergues Pupo AE, Reyes JB, Bergues Cabrales LE, Bergues Cabrales JM. Analytical and numerical solutions of the potential and electric field generated by different electrode arrays in a tumor tissue under electrotherapy. *Biomed Eng Online*. 2011; 10: 85.

2. Corovic S, Lackovic I, Sustaric P, Sustar T, Rodic T, Miklavcic D. Modeling of electric field distribution in tissues during electroporation. *Biomed Eng Online*. 2013;12:16.
3. Appelbaum L, Ben-David E, Faroja M, Nissenbaum Y, Sosna J, Goldberg SN. Irreversible electroporation ablation: creation of large-volume ablation zones in *in vivo* porcine liver with four-electrode arrays. *Radiology*. 2014;270(2):416-24.
4. Suárez C, Soba A, Maglietti F, Olaiz N, Marshall G. The role of additional pulses in electropermeabilization protocols. *PlosOne*. 2014;9(12):113413.
5. Pereira RN, Rodriguez RM, Genisheva Z, Oliveira H, Freitas V de, Teixeira JA, *et al*. Effects of ohmic heating on extraction of food-grade phytochemicals from colored potato. *LWT-Food Sci Technol*. 2016;74:493-503.
6. Jing-Hong L, Yu Ling X. Electrochemical Therapy of Tumors. *Conference Papers in Medicine*. 2013; 2013:1-13.
7. Jarque MV, Mateus MAO, Palencia FS, Cabrales LEB, Jing-Hong L, Ciria HMC, *et al*. Primeras experiencias clínicas en Cuba sobre el uso de la electroterapia en cuatro pacientes con tumores sólidos malignos superficiales. *MEDISAN*. 2007;11(1):1-8.
8. Borrás Sandoval LM, Iglesias AE, Moyano Bautista MA. Effect of temperature and time on indicators of potato (*Solanum tuberosum*), fermented in solid state. *Ciencia y Agricultura*. 2014;11(2):31-8.
9. Ongaro A, Campana LG, De Mattei M, Dughiero F, Forzan M, Pellati A, *et al*. Evaluation of the electroporation efficiency of a grid electrode for electrochemotherapy: from numerical model to *in vitro* tests. *Technol Cancer Res Treat*. 2016;15(2):296-307.
10. Cury FL, Bhindi B, Rocha J, Scarlata E, Jurdi K, Ladouceur M, *et al*. Electrochemical red-ox therapy of prostate cancer in nude mice. *Bioelectrochem*. 2015; 104:1-9.
11. Keisari Y, Hochman I, Confino H, Korenstein R, Kelson I. Activation of local and systemic anti-tumor immune responses by ablation of solid tumors with intratumoral electrochemical or alpha radiation treatments. *Cancer Immunol Immunother*. 2014;63(1):1-9.
12. Castiello M, Dughiero F, Scandola F, Sieni E, Campana LG, Rossi CR, *et al*. A new grid electrode for electrochemotherapy treatment of large skin tumors. *IEEE Trans Dielectrics and Electrical Insulation*. 2014;21(3):1424-32.
13. Makarov SN, Noetscher GM, Nazarian A. Low-frequency electromagnetic modeling for electrical and biological systems using MATLAB®. New Jersey: Wiley;2016.

Recibido: 3 de marzo de 2017.

Aprobado: 7 de julio de 2017.

Maraelys Morales González. Universidad de Oriente, Facultad de Ciencias Naturales, Departamento de Farmacia. Patricio Lumumba s/n, Santiago de Cuba, Cuba. Correo electrónico: maraelys@uo.edu.cu