



Trabajo Fin de Máster

Modelado electro-térmico y caracterización en
gran señal de electroporación de grandes tejidos para
tratamientos oncológicos.

Autor

Borja López Alonso

Directores

Dr. Óscar Lucía Gil
Dr. Héctor Sarnago Andía

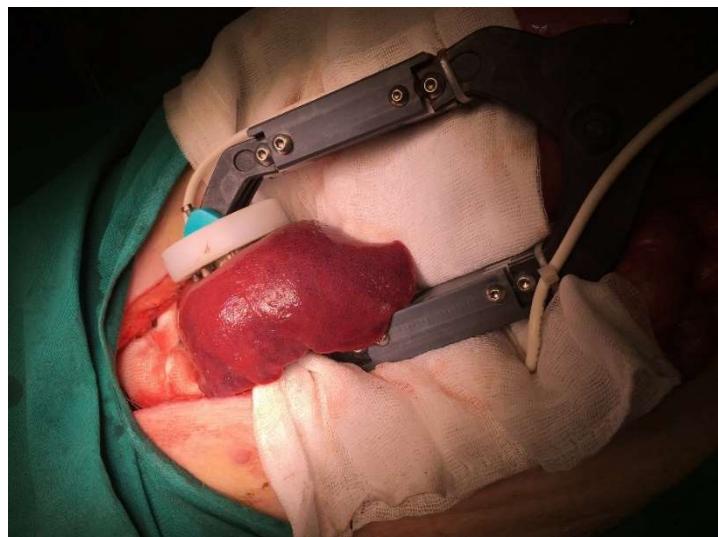
Escuela de Ingeniería y Arquitectura
Zaragoza, Septiembre 2017



Trabajo Fin de Máster

Máster en Ingeniería Electrónica

**Modelado electro-térmico y caracterización en
gran señal de electroporación de grandes tejidos
para tratamientos oncológicos.**



Autor:

Borja López Alonso

Directores:

Dr. Óscar Lucía Gil

Dr. Héctor Sarnago Andía



DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

(Este documento debe acompañar al Trabajo Fin de Grado (TFG)/Trabajo Fin de Máster (TFM) cuando sea depositado para su evaluación).

D./D^a. Borja López Alonso, con nº de DNI 73219873v en aplicación de lo dispuesto en el art. 14 (Derechos de autor) del Acuerdo de 11 de septiembre de 2014, del Consejo de Gobierno, por el que se aprueba el reglamento de los TFG y TFM de la Universidad de Zaragoza, Declaro que el presente Trabajo de Fin de (Grado/Máster) Máster, (Título del Trabajo) Modelado electro-térmico y caracterización en gran señal de electroporación de grandes tejidos para tratamientos oncológicos, es de mi autoría y es original, no habiéndose utilizado fuente sin ser citada debidamente.

Zaragoza, a 1 de septiembre de 2017

Fdo: Borja López Alonso

Agradecimientos:

Tanto para mi TFG como para mi TFM ha sido necesario no solo un esfuerzo por mi parte, si no por parte de un conjunto de profesionales y familiares sin los cuales no habría sido posible.

En lo que a este TFM respecta y su contenido, el primer agradecimiento es para mis directores Óscar Lucía Gil y Héctor Sarnago Andía, quienes, aunque ya en menor medida, siguen aguantando mis lloriqueos y mis burradas, y con los cuales aprendo cada día un poco más. Sinceramente gracias por ayudarme, permitirme aprender de vosotros, y disfrutar del trabajo. También en este punto cabe agradecerles su ayuda a José Miguel Burdío Pinilla, Claudio Carretero Chamarro, Alejandro Naval Pallarés y Mario Pérez Tarragona, quienes, aunque me han aguantado menos que mis directores también me han ayudado en lo que he necesitado siempre. Finalmente, en este apartado, también ha sido necesario un equipo de profesionales médicos para permitirnos desarrollar esta investigación, y aunque se lo agradezco a todos cabe destacar a Antonio Güemes Sánchez, y Alba Hernández Arzoz.

Para finalizar los agradecimientos, mi familia y mis amigos siempre me apoyan y ayudan, aunque no estén día a día conmigo, gracias a mis padres Julio Ignacio López Gozalo, y Elida Alonso Puente, y a mi hermanita Esther López Alonso.

Resumen:

En este Trabajo de Fin de Máster se presenta un modelo electro-térmico en gran señal, que busca reproducir una experiencia de electroporación irreversible sobre hígado de cerdo llevada a cabo en condiciones reales. El objetivo es modelar y reproducir la evolución de las señales de corriente y temperatura para poder estudiar la dependencia de la impedancia del tejido biológico en función de las variables biológicas intrínsecas del hígado, y de las características del estímulo en forma de campo eléctrico que se toma como entrada del modelo.

En la presente memoria se recopila un amplio estado del arte que estudia los orígenes de la electroporación y su situación actual. También se analiza el papel de la electrónica y el modelado en este campo a día de hoy. Tras analizar los orígenes y estado actual de este campo, se comienza con el desarrollo del modelo, un modelo de elementos finitos realizado mediante un software multi-físico, que permite estudiar las interacciones entre la parte eléctrica y térmica. Se han desarrollado y estudiado distintas estrategias a fin de lograr un modelo versátil permitiendo así tomar parámetros y datos reales para su ajuste. Con el trabajo de simulación ha sido posible estudiar y plantear hipótesis sobre problemas reales encontrados en la experimentación, tales como la dificultad de colocar los sensores térmicos o la necesidad de refrigeración en los electrodos.

También se ha llevado a cabo una experimentación en quirófano que ha permitido recopilar datos eléctricos y térmicos, con el fin de ajustar y validar el modelo previamente desarrollado. Mediante la experimentación, también ha sido posible extraer información sobre la evaluación de las lesiones producidas, las características necesarias de los electrodos y generadores para que el equipo médico pueda operar de manera cómoda y segura, e incluso ha sido posible extraer datos biológicos importantes para la investigación en este campo.

Índice:

1.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.	Electroporación	1
1.2.	Objetivos y alcance	3
1.3.	Descripción de la memoria	4
2.	ESTADO DEL ARTE	5
2.1.	Historia.....	5
2.2.	IRE en electrocirugía	7
2.2.1.	Procedimientos y experiencias llevadas a cabo	8
2.3.	Tecnología electrónica para IRE.....	10
2.3.1.	Etapas de potencia	10
2.3.2.	Electrodos	11
2.4.	Modelos	13
3.	MODELADO	15
3.1.	Fundamentos de los modelos utilizados	15
3.1.1.	Modelo de distribución de campo eléctrico.....	15
3.1.2.	Modelo térmico.....	18
3.2.	Ecuaciones fundamentales del modelo	21
3.2.1.	Modelo eléctrico	21
3.2.2.	Modelo térmico.....	22
3.3.	Modelo electro-térmico basado en elementos finitos	24
3.3.1.	Modelo 2D	25
3.3.2.	Modelo 3D	26
3.3.3.	Comparación y crítica a los modelos.....	27
4.	RESULTADOS Y MEDIDAS EXPERIMENTALES.....	29
4.1.	Resultados del modelo	29
4.1.1.	Evolución temporal de las señales eléctricas y térmicas	29

4.1.2. Problemas asociados a la medida de temperatura.....	31
4.2. Propuesta experimental.....	34
4.2.1. Objetivos de la experimentación	34
4.3. Resultados de la experimentación.....	35
4.3.1. Resultados.....	35
4.3.2. Validación del modelo	37
5. CONCLUSIONES.....	41
5.1. Conclusiones	41
5.2. Líneas futuras.....	41
ANEXO 1: Descripción de la experimentación	44
BIBLIOGRAFÍA:	47

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Electroporación

La electroporación es una rama de la electroquímica y de la electrobiología, especialidades que se centran en el estudio de los efectos producidos por la aplicación de energía eléctrica a los seres vivos.

La electroporación o electroporación consiste en lograr un aumento de la permeabilidad de la membrana plasmática celular mediante la aplicación de un campo eléctrico externo de alta intensidad [1]. Como consecuencia del aumento de la permeabilización de la membrana, se produce un aumento de la conductividad eléctrica y una reducción de su permitividad. En función de las características del campo eléctrico aplicado, las células pueden llegar a presentar lesiones de distinto grado. En base a la gravedad de estas lesiones es posible hablar de dos tipos de electroporación. En primer lugar, la electroporación reversible (Fig. 1 (a)) o *reversible electroporation* (RE), se caracteriza por generar lesiones de carácter reversible, es decir, las células afectadas recobran su estado inicial transcurrido un cierto periodo temporal. Esta rama de la electroporación tiene un gran campo de aplicación en la actualidad. Por ejemplo, en el ámbito médico se utiliza para poder introducir fármacos y ARN (ácido ribonucleico) directamente en las células de tejidos biológicos *in vivo*. Aunque la aplicación médica de la RE es altamente relevante, también destacan otros campos de aplicación como el alimentario, donde se estudia su uso en la conservación de productos frescos, y en la optimización de procesos de cocinado y fermentación.

La otra rama de la electroporación, es la electroporación irreversible o *irreversible electroporation* (IRE). Este proceso se caracteriza por la aplicación de un campo eléctrico de mayor intensidad. Las lesiones generadas en este caso tienen un carácter definitivo, dando lugar a una necrosis o una posible apoptosis en función de las características del campo aplicado. En la Fig. 1 (b) se representan los efectos de la aplicación de un campo eléctrico de alta intensidad sobre una célula animal. Si se produce una degradación suficiente de la membrana celular la muerte de la célula es inmediata y se denomina necrosis, sin embargo, si el daño causado es más controlado, es posible producir una apoptosis [2] o muerte celular programada. La IRE también tiene un gran campo de aplicación en la actualidad, tanto en la medicina como en la alimentación. Una de las aplicaciones más innovadoras es la ablación tumoral, un tratamiento poco invasivo y con

interesantes ventajas sobre otros tratamientos más extendidos en la actualidad. Entre las ventajas de esta aplicación, se destaca la posibilidad de tratar tumores en tejidos con alta perfusión sanguínea, es decir tejidos con mucho riego sanguíneo. Otra ventaja es la ausencia, en principio, de efectos secundarios debidos a sobretemperatura, y la posibilidad de ser un tratamiento complementario a prácticamente todos los existentes en la actualidad.

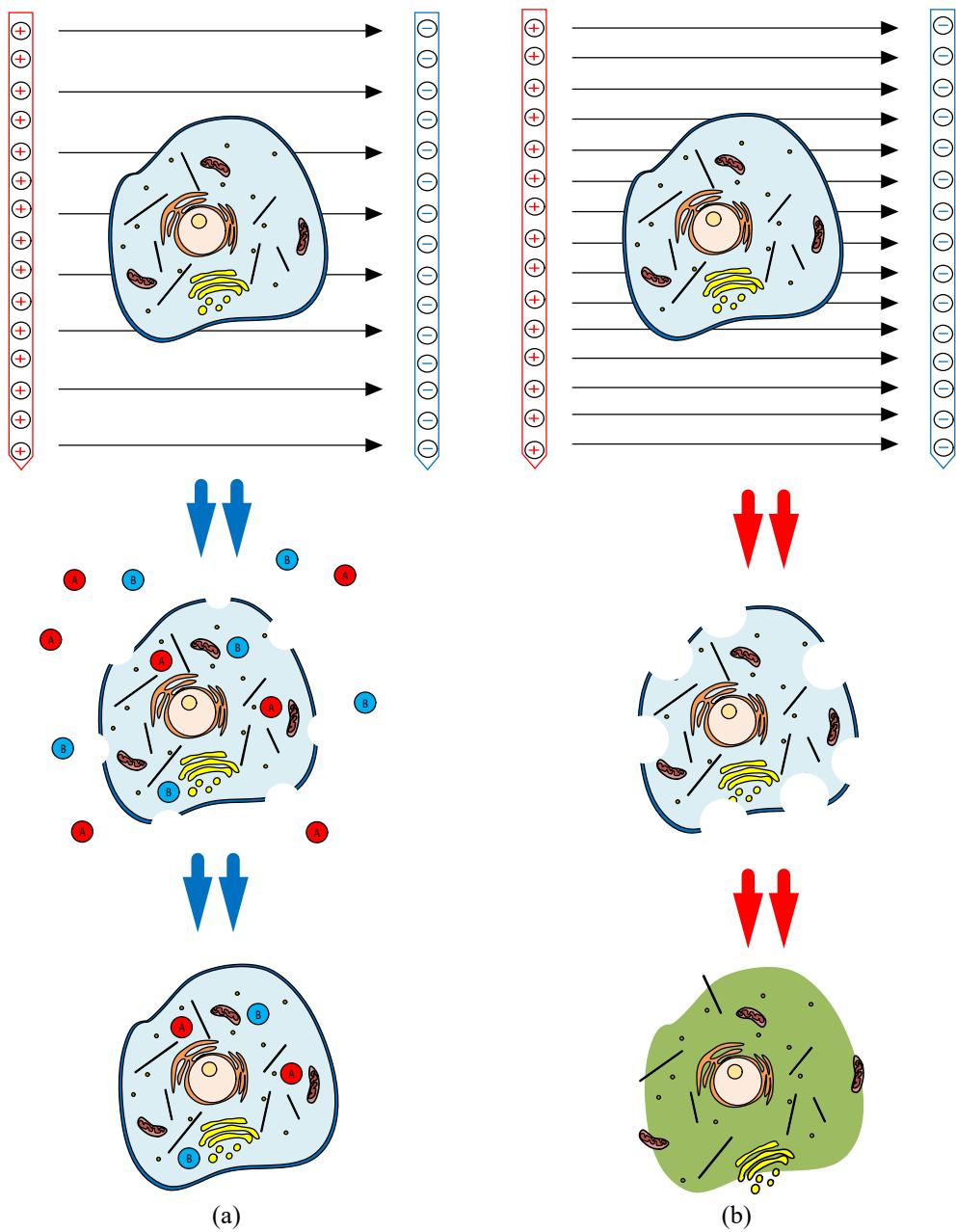


Fig. 1 Electroporación de una célula animal: (a) proceso reversible y (b) proceso irreversible.

1.2. Objetivos y alcance

El principal objetivo de este Trabajo de Fin de Máster es el desarrollo de un modelo electro-térmico mediante la técnica de análisis y simulación por elementos finitos, que permita reproducir el comportamiento de las señales eléctricas y térmicas observadas en una experiencia real llevada a cabo en un quirófano. De esta manera, el objetivo final es poder minimizar el número de experiencias necesarias en animales. El carácter del trabajo es de tipo es de tipo investigador y, partiendo de un estudio bibliográfico, se procederá a recopilar información sobre los actuales modelos desarrollados para la técnica de IRE. Este trabajo se enmarca dentro de un proyecto de investigación del GEPM (Grupo de Electrónica de Potencia y Microelectrónica), con el que el autor de esta memoria ya ha trabajado para el desarrollo de su Trabajo de Fin de Grado.

Para el desarrollo del modelo será necesario una recopilación preliminar de datos para su generación y validación. La toma de datos se realizará en un quirófano con la ayuda de personal médico especializado, y con la previa aprobación del comité de ética. Será necesario tanto tomar como procesar los datos térmicos y eléctricos de varias experiencias reales llevadas a cabo sobre animales *in vivo*. Para realizar las experiencias se utilizará un generador de pulsos de altas prestaciones desarrollado previamente por el GEPM [3].

Previamente al desarrollo del modelo, se deberá estudiar y analizar las distintas alternativas para plantear el desarrollo de un modelo robusto y que permita predecir y estudiar los distintos fenómenos que se dan lugar durante el tratamiento, y la relación que existe entre los mismos. Tras la adquisición de datos y la profundización en la bibliografía se procederá al desarrollo del modelo. Como herramientas de desarrollo software se utilizará COMSOL Multiphysics para la generación del modelo, y Matlab para llevar a cabo las simulaciones y el procesado de los datos.

Para finalizar, se plantearán las posteriores mejoras del modelo y sus necesidades, no sin antes extraer todas las conclusiones posibles sobre el mismo, analizando problemas ya existentes en el tratamiento y la experimentación. Todo esto se realizará para poder encontrar la manera de mejorar el tratamiento, dado que aún quedan muchas variables que han de ser optimizadas, labor que se podrá llevar a cabo mediante el modelo que se presenta en este trabajo, buscando así una reducción de la experimentación animal.

1.3. Descripción de la memoria

En la presente memoria se expone y recopila el trabajo realizado en este Trabajo de Fin de Máster. En primer lugar, en el capítulo 2, se ha recopilado un extenso estado del arte sobre la electroporación, analizando los orígenes e historia, tanto en el campo de la electrocirugía, como en otras ramas del conocimiento. Se expondrán también los avances de la electroporación irreversible, y se analizarán estos avances haciendo énfasis en los más recientes.

Tras analizar los antecedentes, se procederá a explicar el papel de la electroporación irreversible dentro de la electrocirugía, centrando el estudio en los convertidores de potencia utilizados y en los procedimientos llevados a cabo en la actualidad.

Posteriormente en el capítulo 3 se centra en el modelado, el tema principal de este trabajo, analizando los distintos tipos existentes y planteando los motivos por los cuales se ha desarrollado el presentado en este trabajo. Tras presentar el modelo, en el capítulo 4, se exponen los datos que se ha sido posible extraer, y han permitido generar conclusiones que ayudan a estudiar problemas reales surgidos durante el desarrollo de este trabajo.

Durante la realización de este trabajo se ha llevado a cabo una experimentación, cuyos resultados serán expuestos, y utilizados para validar y mejorar el modelo. Esta experimentación será descrita en profundidad, estableciendo las bases para la continuación de la misma.

Para finalizar, en el capítulo 5, se recopilan las principales conclusiones extraídas en este Trabajo de Fin de Máster, así como las líneas de investigación futuras que surgen a raíz del mismo.

En esta memoria se acompaña, además, de un anexo en el cual se recogen datos de interés, y se amplía la información de la memoria.

2. ESTADO DEL ARTE

2.1. Historia

La electroporación irreversible o IRE, es una rama de la electrocirugía, y a pesar de que en el presente trabajo solo se profundiza en una única aplicación de esta, si se quiere ahondar en la historia de la electroporación es necesario comenzar por sus orígenes. Actualmente las ramas de la electroporación están fuertemente ligadas y evolucionan en paralelo en muchos campos de investigación.

Las primeras publicaciones del estudio de la aplicación de campo eléctrico a tejido biológico son de J. A. Nollet, quien en 1754 documentó la formación de manchas rojas en el tejido tras exponerlo a chispas eléctricas [3]. Debido a la insuficiente corriente proporcionada por los medios de la época, se estableció la diferencia de potencial como causa del citado fenómeno, descartándose por la falta de potencia aplicada el efecto térmico. Posteriormente, en 1898, G. W. Fuller puso en práctica la aplicación de campos eléctricos al agua para lograr la potabilización produciendo la destrucción bacteriana. Este avance fue llevado a cabo ignorando la maximización de la permeabilidad de la membrana celular y sus aplicaciones [3].

En la primera mitad del siglo XX ya se estableció el carácter dieléctrico de la membrana celular, y la posibilidad de producir un daño reversible e irreversible por medio de la aplicación de campo eléctrico. Ya en 1950 se aportaron las primeras cifras sobre el campo necesario para lograr una apoptosis celular, de la mano de R. Stämpfli, quien estableció esta cifra en 500 V/cm con un potencial de membrana de 110 mV. Con estos datos se desarrollaron aplicaciones germicidas en el tratamiento de alimentos. Finalmente, cerca de 1970, Venta y Hamilton sentaron la base de la Electroporación irreversible. Establecieron que los campos eléctricos producían cambios conformacionales en la estructura de las membranas celulares, cuya magnitud era dependiente de la magnitud del campo y de su tiempo de exposición. Tomando como base las Ecuaciones de Maxwell, crearon el primer modelo de estimación para la tensión de transmembrana inducida [4].

U. Zimmerman estableció un máximo asintótico en el efecto de poración para un tiempo entre los 50-100 μ s, y la tensión utilizada, entre 2,6 kV-2,8 kV, determinando a su vez la tensión de ruptura transmembrana en 1 V. Prácticamente al mismo tiempo se demostró este carácter asintótico, así como un cambio de estos parámetros dependiendo

del tipo de tejido. En 1977, T. Kinoshita justificó que la disminución de la temperatura produce efectos similares a la IRE con parámetros de RE, al ralentizar la recuperación de la membrana. En 1982 se logró la fusión celular y la introducción de ADN plasmático, lo que supuso un avance en los campos de la biotecnología y medicina. Para ello se utilizó la RE en la inclusión de agentes citotóxicos en células cancerosas, denominándose electroquimioterapia [4].

En 1998 se descubrió el bloqueo vascular por campo eléctrico, dada la reducción del flujo y la aparición de isquemia en tejidos tratados. Así, la permeabilización de las células endoteliales provoca un aumento de la presión intestinal y una disminución de la presión intravascular que produce el colapso vascular. Estos descubrimientos supusieron el punto de partida al establecimiento de la RE como apoyo a los tratamientos farmacológicos.

Se asocia la IRE a la muerte celular debido a la permeabilización excesiva de la membrana y la ruptura del equilibrio osmótico. A finales de los 90 se justifica la asociación de la muerte celular con una apoptosis que conduce a la fragmentación del ADN cromosómico. Estudios realizados en torno a 1997, proponen ya aplicaciones para la destrucción tumoral y establecen la afectación de estos tratamientos a la velocidad del crecimiento de los tumores [4].

Se plantean también variantes del tratamiento como el SPEF (Steep Pulsed Electric Field), que se basa en la verticalidad de los flancos de subida de los pulsos aplicados, seguido de un decremento exponencial lento. Mediante esta técnica se pretende anular los efectos asociados a las altas y bajas frecuencias, como afectaciones nerviosas. Esta técnica intenta aunar los efectos asociados a la alta y baja frecuencia, destruyendo así primero el núcleo y después la membrana. Sin embargo, las limitaciones tecnológicas impiden el desarrollo de esta técnica [1].

En 2004, R. Dávalos y B. Rubinsky propusieron el uso de IRE para la ablación de tejidos con alta perfusión, es decir, con proximidad a vasos sanguíneos, proponiendo la aplicación de trenes de pulsos del orden de ms. Este método se propuso en contraposición a los tratamientos térmicos, intentando buscar una opción menos agresiva para el tejido, ya que la electroporación evita el calentamiento térmico y ofrece una mejor cicatrización post-tratamiento, menos afectación al tejido colindante al área de exposición, y resulta efectivo, aunque el tumor esté altamente vascularizado o cerca de un gran vaso sanguíneo. La aplicación de IRE se demostró apropiada para el tratamiento cerca de vasos sanguíneos principales dado que no se ve afectada por el denominado efecto "heatsink", y produce una muerte celular por apoptosis más controlada y focalizada que los tratamientos

anteriores. La electroporación demostró no activar el sistema inmune, con lo que también lo hizo ideal para pacientes inmunodeprimidos. Como ya se expondrá posteriormente, este tratamiento ofrece una fácil caracterización y estudio que permite simular sus efectos sin demasiada complejidad y con resultados más que aceptables [5].

A continuación, se introducirá el concepto de electrocirugía y se analizará y comparará la IRE bajo este contexto.

2.2. IRE en electrocirugía

La electrocirugía consiste en el empleo quirúrgico de la corriente eléctrica, normalmente corriente de alta frecuencia, para cortar tejidos blandos y conseguir la coagulación de los pequeños vasos sanguíneos seccionados. Un ejemplo relevante de aplicación electroquirúrgica es la ablación de tumores mediante radiofrecuencia. La ablación por radiofrecuencia se basa en la aplicación de corriente focalizada en la zona afectada, a fin de lograr un calentamiento capaz de desnaturalizar el tejido afectado para destruirlo. Este tratamiento es de tipo térmico y, a pesar de ser usualmente poco invasivo, presenta ciertas desventajas. Es un tratamiento focalizado pero las zonas próximas se ven afectadas por el sobrecalentamiento; debido a la perfusión sanguínea [6] es necesario transmitir mucha potencia para lograr alcanzar la temperatura necesaria; la temperatura elevada afecta a todo el tejido y por tanto afecta a la circulación sanguínea, haciendo necesario en muchos casos más cirugía para eliminar el tejido al que se le ha suprimido el riego sanguíneo. Ante estas desventajas, la electroporación irreversible se plantea como alternativa a los tratamientos térmicos.

Aunque IRE está siendo utilizada con éxito en otros ámbitos, tales como, aplicación en la industria alimentaria y cosmética, una de sus aplicaciones más innovadora es la electrocirugía. IRE permite realizar tratamientos poco invasivos, de corta duración, y con reducidos efectos secundarios. En oposición a los tratamientos térmicos existentes, IRE permite tratar tejidos con alta perfusión, resultando mínimamente invasivo para sistema circulatorio. Aunque es novedoso y aún tiene muchos retos a superar, su aplicación resulta muy interesante y ventajosa.

En el siguiente subapartado se presentan las generalidades de los procedimientos que se han llevado a cabo en este campo.

2.2.1. Procedimientos y experiencias llevadas a cabo

Uno de los principales inconvenientes de la investigación en IRE es la experimentación requerida. IRE produce muerte celular sin efectos térmicos ni mecánicos, lo que conlleva que para observar sus efectos sea necesario trabajar sobre células vivas. Para trabajar en estas condiciones se pueden realizar tres tipos de ensayos: ensayos *in vitro*, ensayos *in vivo* con animales, y estudios clínicos en humanos. En los ensayos *in vitro* se trabaja sobre células suspendidas en fluidos sintéticos o comunidades celulares, observando los efectos mediante coloraciones con contraste y microscopía. Los ensayos *in vitro* son útiles para estudiar los fenómenos de poración de las membranas o el comportamiento de los orgánulos internos de las células, sin embargo, no permiten estudiar los parámetros del campo eléctrico necesario para una aplicación macroscópica real, ni los efectos térmicos. Por su parte la experimentación con animales es mucho más útil, pero requiere una inversión mayor, una planificación más compleja, y un compromiso ético que ha de ser ratificado ante las instituciones públicas. Esta experimentación es necesaria antes de ser posible realizar ensayos clínicos en personas. A pesar del tiempo e inversión necesarios, ya han sido llevadas a cabo experiencias tanto en animales [7, 8] como humanos [9, 10].

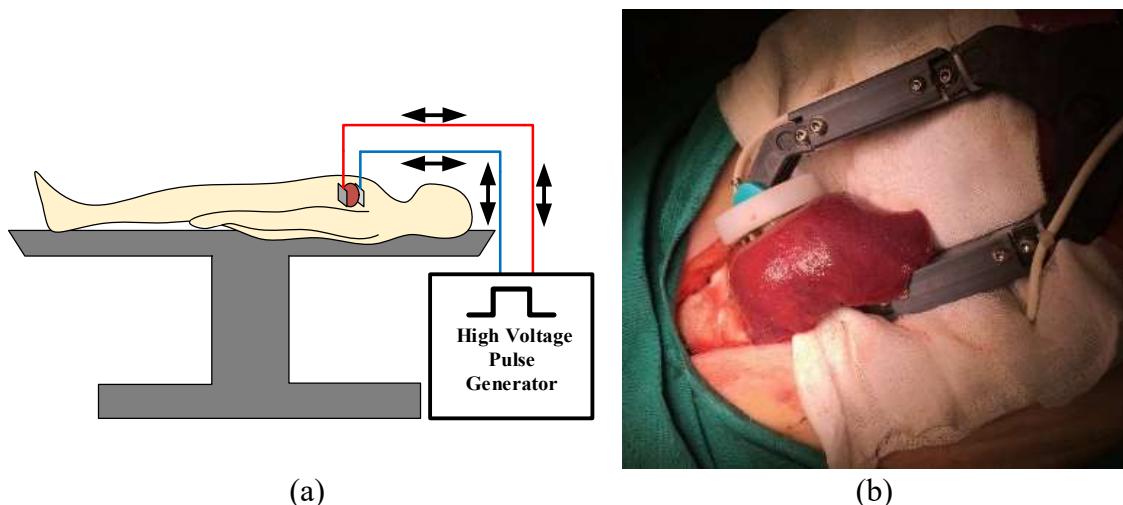


Fig. 2 Aplicación del tratamiento: (a) diagrama de aplicación y (b) experiencia real sobre hígado de cerdo.

La aplicación de IRE se realiza con dos electrodos diferenciales como se muestra en el diagrama de la Fig. 2 (a). Tras la aplicación del tratamiento un punto importante es la evaluación del tratamiento. Generalmente, en la experimentación animal Fig. 2 (b), los sujetos han de ser sacrificados para evaluar distintos efectos.

La evaluación de las lesiones en animales se realiza mediante tintados y microscopía normalmente tras el sacrificio del animal, mientras que en humanos la evaluación se realiza por métodos más diversos y complejos durante el tratamiento, al finalizar y durante el seguimiento postoperatorio durante varios meses. En la Fig. 3 se encuentran los principales métodos de evaluación del tratamiento, en función del estado del sujeto, y cuando se quieran realizar.

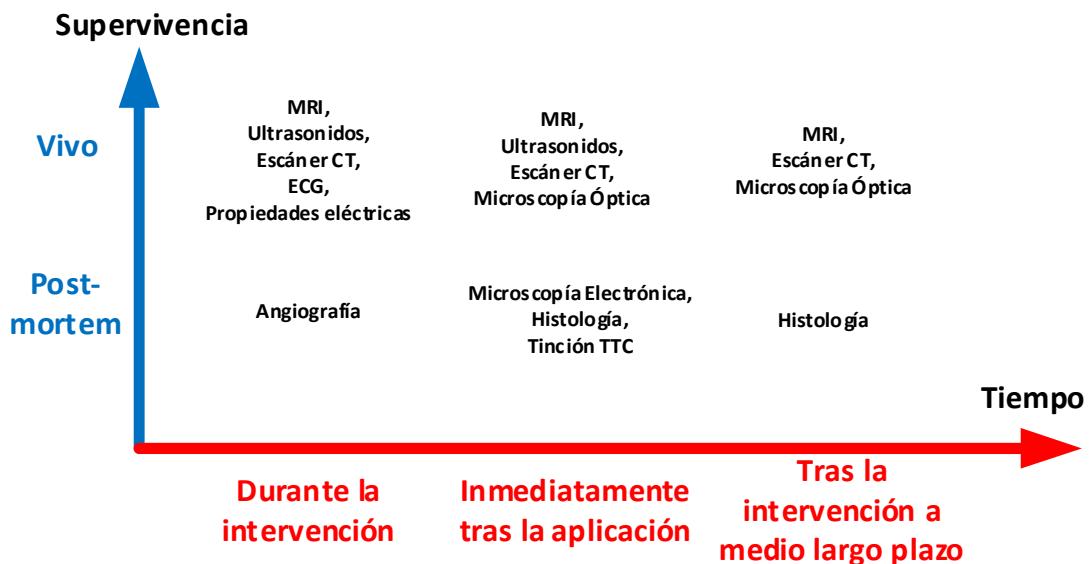


Fig. 3 Evaluación de lesiones en función del estado y el tratamiento del paciente.

El primer ensayo clínico en humanos se realizó para tratar un cáncer de riñón y en 2011 en Australia se llevó a cabo el primer ensayo de grupo, con 38 sujetos de patologías diversas con un volumen promedio de tumor de 36 cm^3 [4]. Estos tratamientos fueron validados mediante CT (*computing tomography*), con un porcentaje de éxito del 66%. Desde entonces se han realizado más ensayos y cada vez se realizan más.

2.3. Tecnología electrónica para IRE

Otro apartado que es imprescindible analizar para este trabajo es el estado del arte de la electrónica. Esta aplicación de la electroporación que se engloba en el marco de la medicina, requiere de diseños con altas prestaciones y necesidades muy concretas. En los siguientes subapartados se recopila información sobre dos puntos muy importantes en este marco, las etapas de potencia, y los electrodos con los cuales se aplica el tratamiento.

2.3.1. Etapas de potencia

La electroporación Irreversible, consiste en la aplicación de pulsos de campo eléctrico de alta intensidad. Los pulsos aplicados son del orden de decenas de μs y la amplitud de tensión aplicada está en el orden de los kV. Normalmente para evitar efectos no deseados como la electrolisis, los pulsos aplicados suelen ser de carácter bipolar. El equipo necesario para llevar a cabo el tratamiento deberá ser robusto y seguro para que sea posible utilizarlo en un quirófano.

Para esta aplicación las topologías más comunes y capaces de cumplir sus especificaciones son las de tipo puente y semipuente. Debido a los altos valores de corriente y tensión que son necesarios (tensiones del de decenas de kilo-voltios y corrientes de hasta centenares de amperios) parece claro que las topologías enunciadas por si solas no son suficientes [3], por lo que será necesario trabajar con arquitecturas de tipo multinivel [11, 12] (Fig. 4 (a)) o con transformadores [13] (Fig. 4 (b)). También es necesario diseñar un bus que acumule una tensión suficientemente alta y que permita suministrar las corrientes requeridas. El control y seguridad de este tipo de sistemas también requiere de un diseño complejo que asegure que tanto cirujano como paciente no corren peligro.

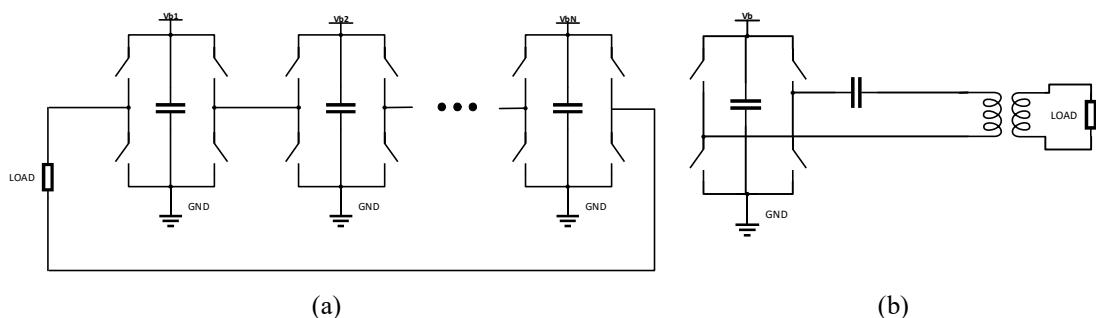


Fig. 4 Topologías tipo Puente: (a) puente multinivel y (b) puente con transformador

A pesar de ser un tratamiento innovador ya existen en el mercado dos equipos capaces de aplicar el tratamiento: Cliniporator® de IGEA y Nanoknife® de Angiodynamics. Ambos generadores permiten aplicar un tratamiento en unas condiciones muy concretas y con un solo tipo de electrodos (agujas). Por tanto, son máquinas poco flexibles no aptas para investigación, ni para tratar más que una serie tumores y zonas muy concretas. A pesar de la existencia de estos equipos, es necesario para avanzar en la investigación, desarrollar nuevos equipos, trabajo que ya se está siendo realizado por parte de varios equipos de investigación. Un ejemplo de estos desarrollos son los equipos realizados por los investigadores del GEPM en la Universidad de Zaragoza. Los nuevos diseños permiten trabajar con mayores rangos de frecuencia, tensión y corriente, permitiendo investigar sobre la influencia de los distintos parámetros que se pueden variar en la aplicación del tratamiento [3].

2.3.2. Electrodos

Otro punto importante desde el punto de vista electrónico son los electrodos utilizados por los convertidores de potencia. Para aplicar a IRE los electrodos más utilizados son: catéter, agujas, abrazadera y placas planas. Tanto en investigación como en aplicación real, los más utilizados hasta el momento han sido las agujas (Fig. 5 (a)). Los electros de aguja se componen de un mínimo de dos agujas que se introducen en el tejido con una cirugía de complejidad mínima, y permiten aplicar el tratamiento con una intervención sencilla, dando lugar a un posoperatorio con pocos efectos secundarios. Como contrapartida, estos electrodos generan un campo eléctrico poco uniforme, normalmente requieren varios pares de agujas [14] para lograr grandes volúmenes. Debe destacarse que el correcto posicionamiento de las agujas es complejo y resulta clave para el tratamiento, pues determina la dosis recibida y no debe seccionar vasos importantes. Habitualmente se realiza con la ayuda de ecografías y personal especializado.

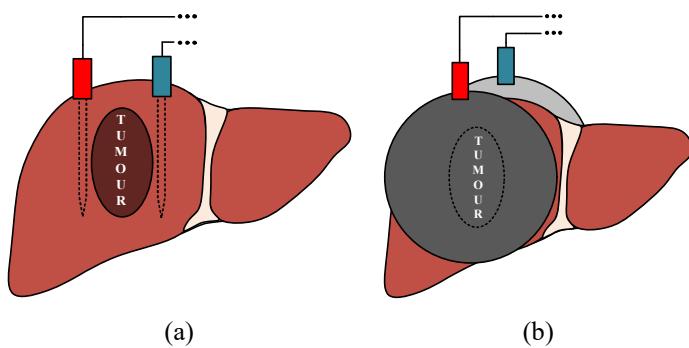


Fig. 5. Electrodos: (a) agujas y (b) placas planas.

Para la realización de este trabajo se han utilizado placas planas (Fig. 5 (b)). Estos electrodos se componen de dos placas planas que han de ser colocadas sobre el tejido a tratar, lo más paralelas posibles. Este tipo de electrodo permite generar un campo más uniforme y controlado, y tratar mayores volúmenes de tejido. Como consecuencia, la potencia aplicada mediante estos puede generar un mayor calentamiento, un efecto secundario que haría perder las ventajas que tiene la electroporación respecto a los tratamientos térmico.

Para llevar a cabo los experimentos se ha desarrollado un electrodo que permite colocar de manera segura dos placas de acero inoxidable circulares, lo más paralelas posibles en el órgano a tratar. En la Fig. 6 se encuentra una imagen del electrodo, en la que se puede apreciar la ergonomía de la pinza que permite al cirujano manejarla y posicionarla de manera cómoda y segura.



Fig. 6. Imagen electrodo real utilizado para realizar la experimentación sobre hígado de cerdo.

Para poder controlar el campo eléctrico aplicado y la evolución de la temperatura a lo largo del tratamiento, una herramienta muy interesante es el modelado. En apartados posteriores se presenta el desarrollo de los modelos en este campo actualmente.

2.4. Modelos

Una de las herramientas más útiles de la ingeniería son los modelos, ya que estos permiten estudiar y predecir el comportamiento de los sistemas de una manera sencilla. Los modelos permiten controlar y predecir comportamientos de fenómenos y sistemas desde un punto de vista teórico posibilitando la reducción de la experimentación real requerida. La electroporación debido a sus característicos efectos requiere una experimentación *in vivo*, como ya se ha expuesto. Este tipo de experimentación es muy compleja y costosa, por tanto, el desarrollo de modelos en este campo supone un aporte muy interesante y ventajoso.

Tanto en electroporación como en otros tratamientos de características similares, existen muchos modelos ya en la bibliografía. Concretamente en lo referente a electroporación existen modelos estudiando muchos efectos individuales: modelos eléctrico [15], modelos térmicos [16], modelos de poración [17, 18], modelos comportamentales [8], modelos analíticos [19], entre otros.

El principal problema de estos modelos es que suelen estudiar un solo efecto, sin modelar la interacción entre los distintos efectos que se dan lugar durante el tratamiento. Un ejemplo de estas interacciones es la degradación de la conductividad producida no solo por la electroporación, sino por la variación de temperatura del tejido.

Como ya se ha expuesto, un punto muy importante en el avance de la investigación de esta materia es el desarrollo de convertidores de potencia para la aplicación de tratamiento. Para poder desarrollar este tipo de electrónica son necesarios modelos eléctricos que permitan estudiar la evolución temporal y la respuesta en frecuencia de los tejidos vivos ante electroporación. El modelo más aceptado [17] y extendido a este respecto se encuentra en la Fig. 7, y es un modelo compuesto por elementos pasivos. Este modelo se compone por una resistencia R_e que representa la resistencia del fluido intracelular, una resistencia R_i que modela la resistencia del fluido intracelular, una resistencia R_m y una capacidad C_m que caracterizan el efecto resistivo y capacitivo de la membrana, y finalmente la resistencia variable R_{ep} que es la responsable de la caída de la impedancia y la capacidad, y está relacionada con el efecto de la electroporación en el tejido.

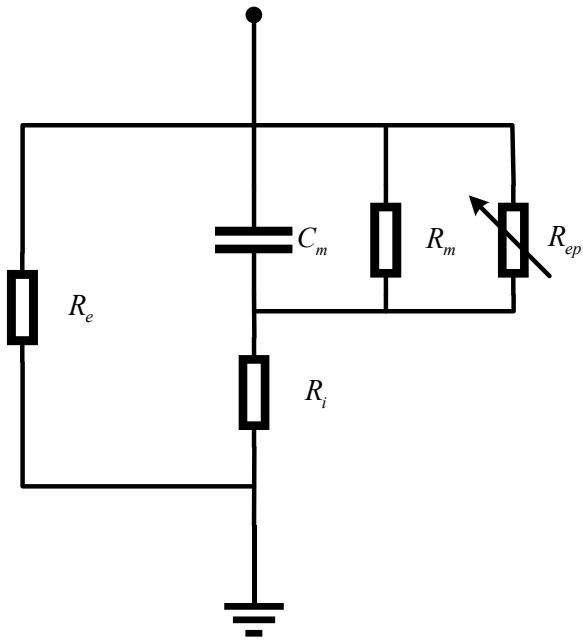


Fig. 7 Modelo eléctrico del tejido biológico.

Otro punto muy importante en este tratamiento es la temperatura, ya que si no se tiene control sobre esta la electroporación dejara de ser un tratamiento no térmico. Ya existen modelos térmicos en la bibliografía que tienen en cuenta efectos biológicos como la perfusión sanguínea. Tal como se muestra en la Fig. 8 si la temperatura no se controla, los efectos pueden ser muy adversos, pudiendo empeorar el posoperatorio o llegando a ser mortales.

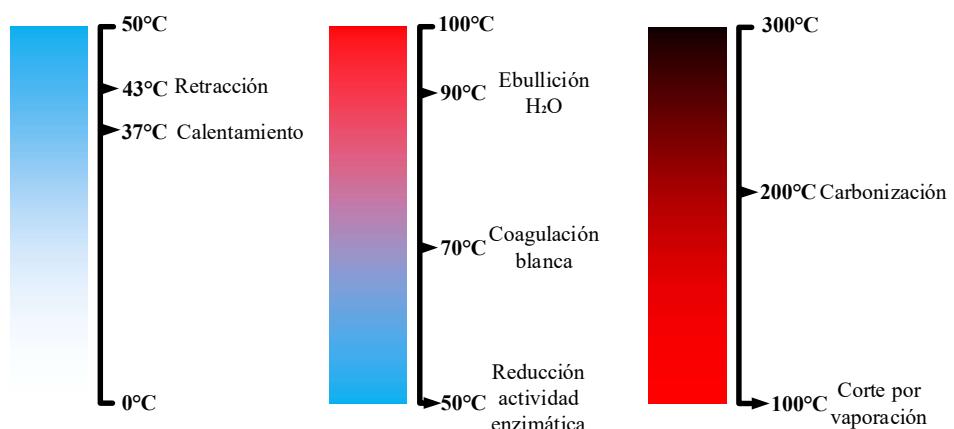


Fig. 8 Representación gráfica de los puntos críticos de temperatura para tejido biológico.

Se pone, por tanto, de manifiesto la necesidad de desarrollos cada vez más complejos y completos, que tengan en cuenta más efectos y sus relaciones. Dos modelos que tienen mucha importancia son el eléctrico y el térmico, lo que hace muy interesante el desarrollo de un modelo FEA electro-térmico, que permita estudiar la relación de estas físicas con las distintas variables presentes en un tratamiento real.

3. MODELADO

Una de las herramientas más útiles de la ingeniería es el modelado; modelando de manera adecuada un fenómeno, es posible estudiarlo y predecir su comportamiento. Los modelos también permiten estudiar de manera rápida y con un coste reducido aquello que reproducen. En los apartados que siguen se presentan los fundamentos del modelo objetivo de este trabajo. Con este desarrollo se pretende reproducir el comportamiento eléctrico y térmico de la IRE. El objetivo final, es relacionar ambas físicas y reproducir una experiencia real en un hígado de cerdo in vivo.

3.1. Fundamentos de los modelos utilizados

Antes de utilizar el modelado por elementos finitos es necesario plantear un estudio inicial de los efectos que se pretende reproducir. A continuación, se exponen dos modelados iniciales, uno térmico, y uno eléctrico, sobre los cuales se justificará el posterior desarrollo del modelo FEA.

3.1.1. Modelo de distribución de campo eléctrico

La electroporación se basa en la aplicación de pulsos de campos eléctrico, que en la práctica se establecen mediante una diferencia de potencial, por tanto, es imprescindible modelar de manera adecuada la distribución de campo eléctrico que se da en el tejido durante el tratamiento. La aproximación más sencilla a este fenómeno es suponer que nuestros electrodos componen un condensador de placas planas (Fig. 9) y que el hígado hace las veces de dieléctrico. En una primera aproximación, sólo se tendrá en cuenta el estado estacionario, despreciando los efectos transitorios, suponiendo un problema electroestático en el que los efectos de borde son despreciables. Con todo lo expuesto, para plantear el modelo más sencillo podemos partir de las ecuaciones de Maxwell en medios materiales.

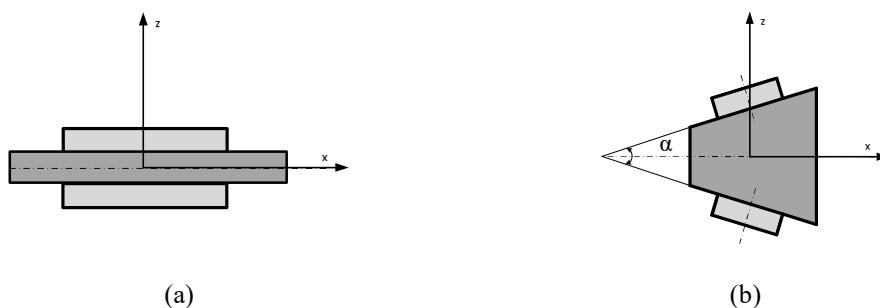


Fig. 9 Esquema de electrodos de placas planas: (a) paralelas y (b) oblicuas.

$$\nabla \cdot \mathbf{E} = \frac{q}{\epsilon_0 \epsilon_r}. \quad (1)$$

Tomando como punto de partida la ecuación (1), se establece la relación entre la divergencia del campo eléctrico \mathbf{E} , la carga q , y las permitividades absoluta y relativa ϵ_0 y ϵ_r respectivamente.

$$\Delta V = -\int \mathbf{E} d\mathbf{l}. \quad (2)$$

Si se desarrolla la ley de Gauss del campo eléctrico y se combina con la definición de diferencia de potencial ΔV se obtiene la ecuación (2). Resolviendo esta ecuación para un condensador de placas obtenemos el modelo más simple para la distribución del campo eléctrico dentro del hígado, en la ecuación (3).

$$\Delta V = E_z d. \quad (3)$$

En la ecuación (3) podemos ver que la diferencia de potencial aplicada es proporcional al producto de la distancia que separa las placas d y el campo eléctrico en la dirección perpendicular a ambas placas planas (Fig. 9 (a)) E_z .

La ecuación (3) supone un modelo muy simple de manejar, pero no modela por completo el problema bajo estudio. En la Fig. 10 se ha comparado el modelo analítico con un modelo FEA que permite estudiar la distribución de campo eléctrico, y en el cual se han modelado los electrodos como cilindros, tal como se da en un caso real. Para realizar la comparación se ha supuesto una separación entre placas d de 1 cm y se ha aplicado una diferencia de potencial ΔV de 1000 V.

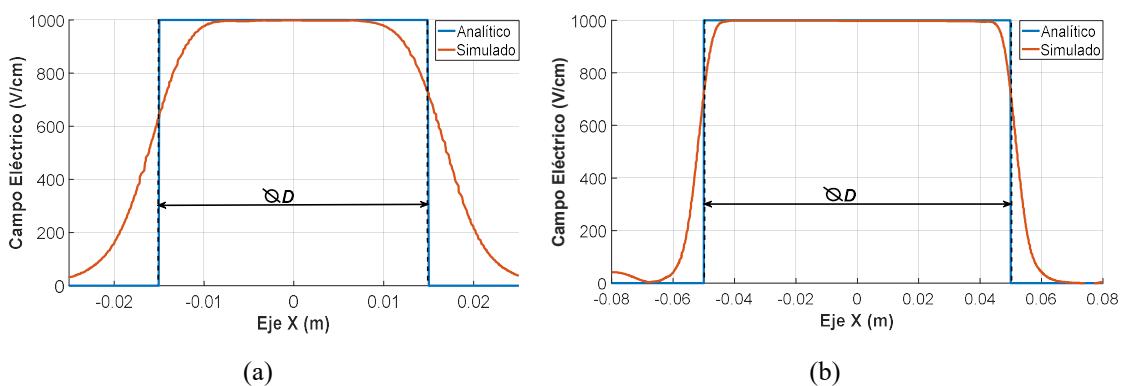


Fig. 10 Comparación de del modelo analítico con modelo FEA: (a) electrodo de 3 cm y (b) electrodo de 10 cm.

Dado que las placas solo quedan paralelas en condiciones de laboratorio demasiado ideales, es necesario incluso en un modelado inicial, tener en cuenta la oblicuidad de las placas. Teniendo en cuenta las mismas ecuaciones ya presentadas, y las simplificaciones asumidas, se plantea la ecuación (4) para resolver el caso de la Fig. 9 (b). En esta ecuación se tiene en cuenta la posición sobre el eje x , y el ángulo de desfase entre las placas α .

$$\Delta V = E_z 2x \tan(\alpha / 2) \quad (4)$$

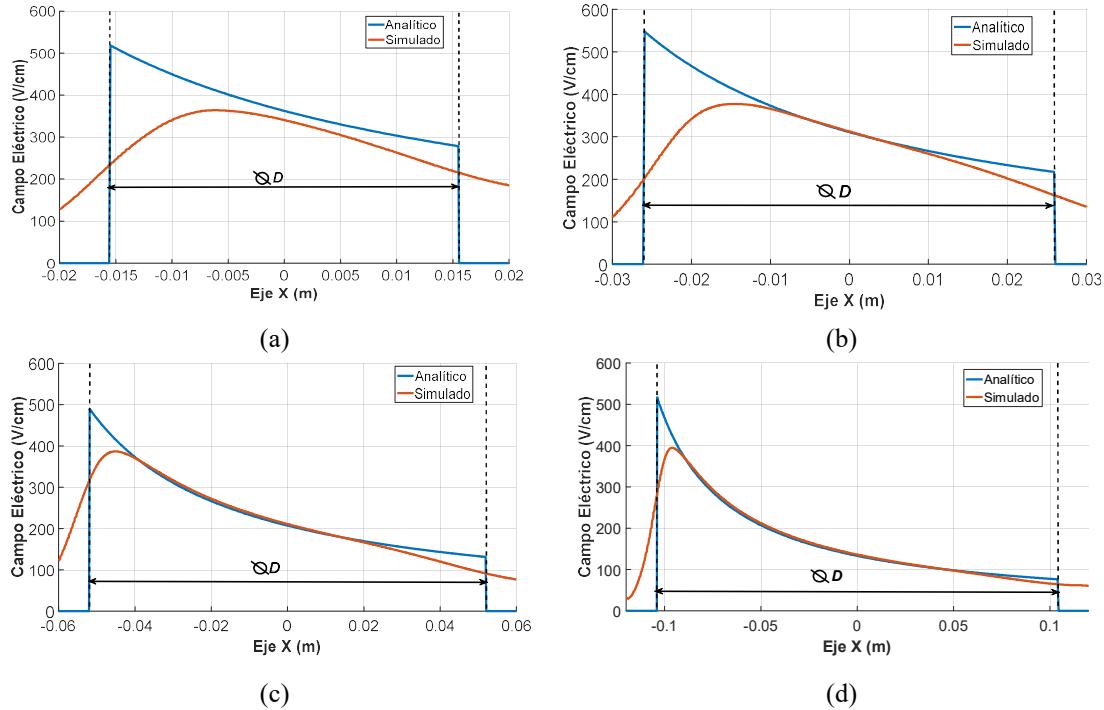


Fig. 11 Comparación de del modelo analítico con modelo FEA, con electrodos inclinados 30°: (a) electrodo de 3 cm, (b) electrodo de 5 cm, (c) electrodo de 10 cm, y (d) electrodo de 20 cm.

En la Fig. 11 se compara el modelo analítico en el que solo consideramos la componente z , con el modelo FEA que tiene en cuenta las tres componentes del campo eléctrico. Se puede apreciar que, en ambos modelos, si se consideran diámetros suficientemente grandes el cálculo analítico es razonable, pero al despreciar los efectos de borde, con diámetros inferiores a 5 cm este modelo se vuelve insuficiente. En este apartado inicial el modelado del campo eléctrico obtenido es útil para la comprensión del problema, pero deja la clara la necesidad de desarrollar un modelo FEA, dado que en general, el tamaño de electrodos considerados será igual o inferior a 3 cm.

3.1.2. Modelo térmico

Al igual que con el modelado eléctrico, es también importante conocer las bases del modelado térmico, e intentar realizar una aproximación analítica inicial al problema. Como ya se ha mencionado existen multitud de modelos a este respecto, por ejemplo en el artículo [20] se encuentra un modelo en el que es posible caracterizar el problema que nos ocupa, aunque inicialmente se ha optado por un modelado más sencillo.

Al igual que el caso anterior deberemos asumir algunas simplificaciones que permitan trabajar de manera sencilla con las ecuaciones. En primer lugar, se suponen electrodos totalmente paralelos, obteniendo así un perfil simétrico como en la Fig. 12.

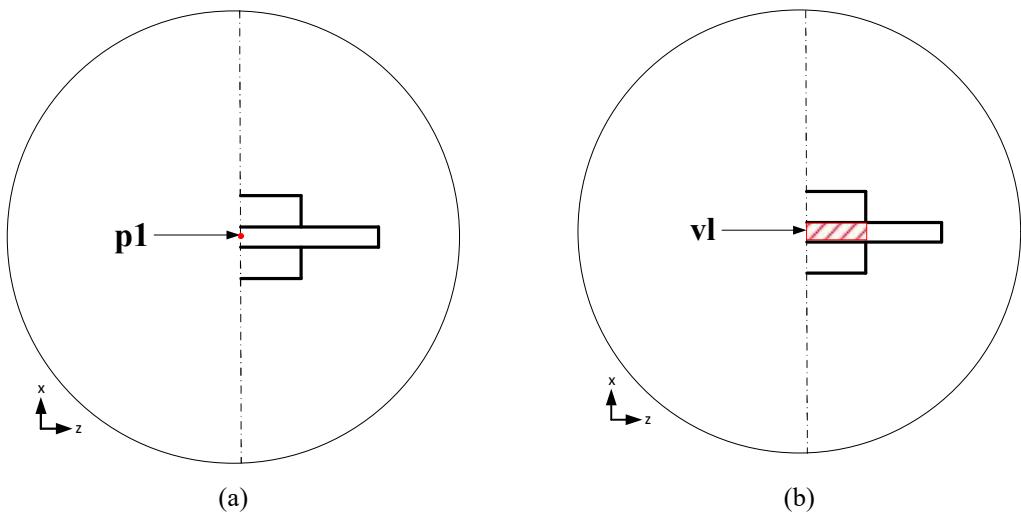


Fig. 12 Esquema modelo térmico : (a) modelo FEA, y (b) volumen utilizado en la ecuación analítica.

La ecuación (5) es la forma diferencial de la ecuación de conducción térmica, asumiendo conductividad térmica k , densidad ρ , y calor específico C_p , como propiedades constantes y homogéneas en todo el material. En esta ecuación se relaciona el laplaciano de la temperatura $\nabla^2 T$ con la derivada temporal de la temperatura y la generación volumétrica de calor \dot{q} .

$$\nabla^2 T(x, y, z, t)K = \rho C_p \frac{\partial T(x, y, z, t)}{\partial t} + \dot{q}(x, y, z, t). \quad (5)$$

Asumiendo que en este caso particular la dirección principal dentro del gradiente térmico es x , y considerando el resto de direcciones despreciables podemos simplificar la ecuación (5) dando lugar a la ecuación (6).

$$\frac{\partial^2 T(x, t)}{\partial x^2} K = \rho C_p \frac{\partial T(x, t)}{\partial t} + \dot{q}(x, t). \quad (6)$$

Para poder resolver la ecuación (6), el primer paso es definir el termino de generación volumétrica \dot{q} . Este término, recogido en la ecuación (7), se compone en este caso de dos partes, la disipación de calor por perfusión sanguínea, \dot{q}_b , y la generación de calor por efecto *Joule* durante la electroporación, \dot{q}_{Ju} . La perfusión sanguínea, \dot{q}_b , que es el termino responsable de la refrigeración del tejido biológico. Una de las maneras más extendidas de modelarla es de manera similar a la convección, pero dependiente de la densidad de la sangre ρ_b , su calor específico C_{pb} , y el ratio de perfusión sanguínea ω_b , que hace referencia a la velocidad de circulación de la sangre. El segundo término es la potencia disipada a causa del efecto *Joule*, que ha de ser tenida en cuenta por unidad de volumen, en este caso se asume que se disipa uniformemente en el volumen del hígado tratado v_l ; Aunque el tejido se modela con una capacidad y una resistencia, para esta aproximación se considera solo la parte resistiva, puesto que la parte capacitiva normalmente tiene una influencia despreciable en la disipación de calor.

$$\begin{aligned}\dot{q}(x,t) &= \dot{q}_b(x,t) - \dot{q}_{Ju}(t), \\ \dot{q}_b(x,t) &= \rho_b C_{pb} \omega_b (T_b - T(x,t)), \\ \dot{q}_{Ju}(t) &= \frac{|I(t)V(t)|}{v_l}.\end{aligned}\tag{7}$$

La ecuación planteada hasta ahora es diferencial de segundo orden en derivadas parciales. No es una ecuación sencilla para abordar desde un punto analítico, y aún es posible asumir una última simplificación. Si se considera que el volumen es suficientemente pequeño, o la conductividad térmica suficientemente elevada, es posible asumir que todo el volumen es isotermo, y por tanto eliminar de la ecuación el termino de derivada espacial. El resultado de esta simplificación se desarrolla en la ecuación (8).

$$\begin{aligned}\rho C_p \frac{\partial T(t)}{\partial t} + \dot{q}(t) &= 0, \\ \frac{\partial T(t)}{\partial t} &= \frac{\rho_b C_{pb} \omega_b}{\rho C_p} (T(t) - T_b) + \frac{|I(t)V(t)|}{\rho C_p v_l}.\end{aligned}\tag{8}$$

La ecuación obtenida (9) es ahora diferencial de primer orden, y por tanto, para poder ser resuelta de manera directa es necesario establecer una condición inicial, en este caso se asumirá que todo el sistema está a una temperatura igual a la de la sangre.

$$\begin{aligned}\frac{\partial T(t)}{\partial t} &= \frac{\rho_b C_{pb} \omega_b}{\rho C_p} (T(t) - T_b) + \frac{|\hat{V} \hat{I}| D}{\rho C_p v_l}, \\ T(0) &= T_{ini} = T_b.\end{aligned}\tag{9}$$

El resultado final de resolver la ecuación diferencial es (10). Esta ecuación de carácter exponencial tiene en cuenta que el volumen tratado es un cilindro y por eso interviene en su cálculo el espesor t_l y el radio R_l . Por último, las ondas de tensión y corriente son cuadradas y el cálculo de su promedio se realiza con la relación de servicio D .

$$T(t) = T_b + \frac{|\hat{V}\hat{I}| D}{\rho C_p v_l \rho_b C_{pb} \omega_b} \left(1 - e^{-\frac{\rho_b C_{pb} \omega_b}{\rho C_p} t}\right),$$

$$v_l = \pi R_l^2 t_l.$$
(10)

En la Fig. 13 se compara la ecuación analítica evaluada en el volumen completo (Fig. 12 (b)) con un modelo FEA que evalúa la temperatura en el centro del volumen (Fig. 12 (a)), para realizar la comparación los parámetros utilizados han sido los mismos en ambos modelos y se recogen en Tabla II y Tabla III; ambas se encuentran en la siguiente sección. El resultado del modelo analítico aproximado resulta bastante cercano al obtenido mediante simulación por elementos finitos y sirve, por tanto, como primera aproximación rápida para poder tomar decisiones.

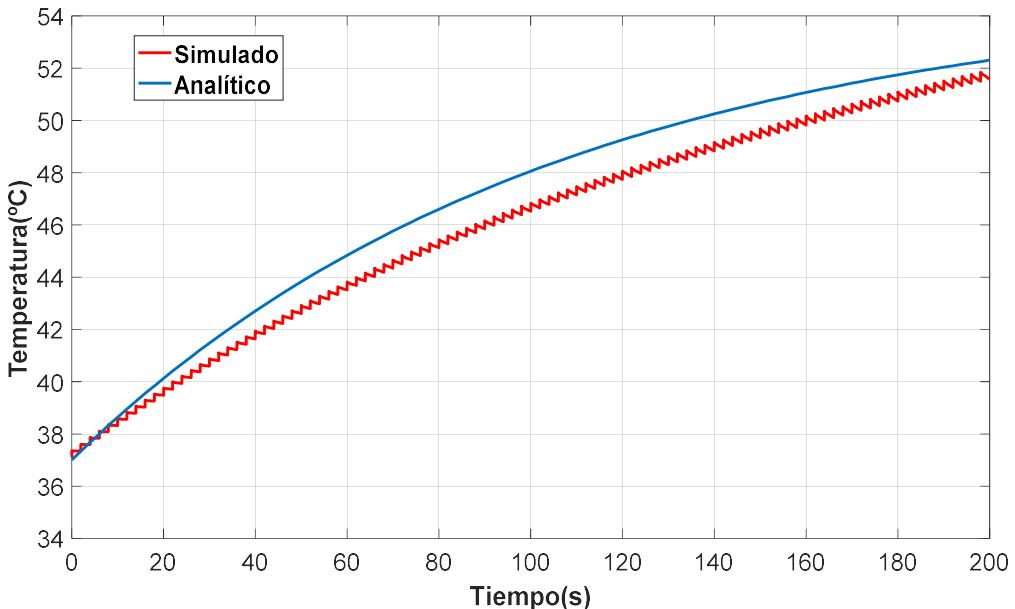


Fig. 13 Evolución térmica analítica y simulada en 100 pulsos de 100 μ s separados 2 segundo aplicando 3000 V y 45 A de pico.

A diferencia del apartado eléctrico, el modelo térmico arroja una complejidad mayor. La resolución analítica de este modelo no es sencilla sin asumir las simplificaciones propuestas. Aun así, el estudio de estas ecuaciones ha permitido comprender el modelado que ha sido desarrollado en este trabajo, y por tanto cumplir los objetivos propuestos.

3.2. Ecuaciones fundamentales del modelo

El modelo que se ha desarrollado es un modelo FEA, y está gobernado por ecuaciones físicas fundamentales que se pueden clasificar en dos grupos. En primer lugar, se presentan las ecuaciones que modelan los efectos eléctricos, y posteriormente los efectos térmicos y su relación con los primeros. Para poder comprender el modelo es necesario analizar en primer lugar estas ecuaciones de manera detallada.

3.2.1. Modelo eléctrico

El modelo eléctrico debe ser capaz de describir la distribución del campo eléctrico, el comportamiento de la corriente y la disipación energética debida al efecto Joule, ante la imposición de un potencial eléctrico externo. Estos fenómenos son una aproximación razonable para estudiar el comportamiento eléctrico de la electroporación irreversible. Con todo esto y tomando como punto de partida las ecuaciones de Maxwell en medios materiales, obtenemos las siguientes ecuaciones fundamentales del modelo:

$$\mathbf{E} = -\nabla V. \quad (11)$$

La ecuación (11) describe la relación entre el campo eléctrico \mathbf{E} y la diferencia de potencial eléctrico entre dos puntos V . Aunque parezca una relación muy simple describe la relación entre uno de los fenómenos que es necesario estudiar (el campo eléctrico) y el estímulo para nuestro modelo (una diferencia de potenciales eléctricos).

$$\mathbf{J} = \sigma \mathbf{E} + \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial t} + \mathbf{J}_e. \quad (12)$$

La ecuación (12) modela el comportamiento de la densidad de corriente \mathbf{J} , como la suma del producto de la conductividad eléctrica σ y el campo eléctrico, la derivada temporal del vector de desplazamiento \mathbf{D} , y una densidad de corriente externa \mathbf{J}_e . Este último sumando no se tendrá en cuenta, aunque está contemplado en las ecuaciones fundamentales del software utilizado para el desarrollo del modelo.

$$\mathbf{J} = \sigma \mathbf{E} + \varepsilon_r \varepsilon_0 \frac{\partial \mathbf{E}}{\partial t} + \mathbf{J}_e. \quad (13)$$

La ecuación (13) representa el desarrollo de la ecuación (12) para medios materiales. En esta ecuación se ha sustituido el vector desplazamiento \mathbf{D} por el producto entre el campo eléctrico \mathbf{E} y las permitividades eléctricas, relativa ε_r y en vacío ε_0 . Con este desarrollo se puede estudiar la densidad de corriente \mathbf{J} como la relación entre tres constantes y el campo eléctrico \mathbf{E} .

$$\nabla \cdot \mathbf{J} = Q_j. \quad (14)$$

Finalmente la ecuación (14) es la que nos permite modelar la disipación térmica, y es la que utilizara como punto de partida el modelo térmico. Esta ecuación representa la relación entre la divergencia de la densidad de corriente $\nabla \cdot \mathbf{J}$ y el calor disipado Q_j , consecuencia del efecto Joule.

Para poder implementar estas ecuaciones el punto de partida es identificar los valores de las constantes presentadas, para los distintos materiales presentes en el modelo. Estos valores han sido recopilados en la bibliografía [21] y están recogidos en Tabla I.

Tabla I
CONSTANTES ELÉCTRICAS DEL MODELO

Símbolo	Propiedad	Valor
σ_l	Conductividad Eléctrica (Hígado) (inicial)	0.25 S/m
σ_a	Conductividad Eléctrica (Aire)	0 S/m
σ_s	Conductividad Eléctrica (Acero)	300000 S/m
ϵ_{rl}	Permitividad Relativa (Hígado) (inicial)	140
ϵ_{ra}	Permitividad Relativa (Aire)	1
ϵ_{rs}	Permitividad Relativa (Acero)	1

Hay que destacar que para ajustar el comportamiento eléctrico en el modelo se han utilizado como parámetros variables la conductividad y la permitividad del hígado, partiendo de unos valores iniciales obtenidos en la bibliografía.

3.2.2. Modelo térmico

El modelo térmico a diferencia del eléctrico, no ha sido tan trabajado en la bibliografía. Este modelado requiere tener en cuenta fenómenos de tipo biológico como la perfusión sanguínea y la generación de calor metabólico. Con esto se pretende estudiar la evolución de la temperatura en cualquier punto del tejido en función de los resultados del modelo eléctrico. Las principales ecuaciones de la parte térmica son las que siguen:

$$\mathbf{q} = K \nabla T. \quad (15)$$

La ecuación (15) describe la relación entre el gradiente de temperatura ∇T , la conductividad térmica K y el flujo de calor \mathbf{q} . Esta es una de las ecuaciones fundamentales de la termodinámica que modela la conductividad de calor en medios sólidos, y que permite estudiar gradientes térmicos en una dimensión.

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} + \rho C_p \mathbf{u} \nabla T + \nabla \cdot \mathbf{q} = Q + Q_{bio}. \quad (16)$$

La ecuación (16) muestra una relación muy importante entre el calor Q_j de la ecuación (14) que en la presente ecuación se asume como Q , el calor que genera o extrae el tejido biológico Q_{bio} , con la densidad ρ , el calor específico C_p , la derivada de la temperatura T , su gradiente ∇T , y la divergencia del flujo de calor $\nabla \cdot \mathbf{q}$. Esta ecuación es la que podemos considerar como enlace entre ambos modelos, eléctrico y térmico. Esta contempla además los efectos asociados a tejidos de carácter biológico, tales como la generación de calor en las células, Q_{bio} , y la perfusión sanguínea. Por último, esta ecuación es la que nos permite hablar de inercia térmica, debido al término que contiene la derivada temporal.

$$Q_{bio} = \rho_b C_{pb} \omega_b (T_b - T) + Q_{met}. \quad (17)$$

La ecuación (17) es la última presente en el modelo, y es la que describe los efectos biológicos. Esta ecuación relaciona el Q_{bio} presente en la ecuación (16), con la densidad de la sangre ρ_b , el ratio de perfusión sanguíneo ω_b , la temperatura de la sangre T_b , y el calor metabólico Q_{met} . Esta ecuación no estará presente en todo el modelo, es decir, dado que solo aporta significado dentro del tejido biológico, solo forma parte la geometría encargada de caracterizar el hígado animal.

Igual que en el apartado anterior, el punto de partida para la implementación de esta física es el establecimiento de los valores contenidos en la Tabla II. Esta tabla contiene las constantes recopiladas en la bibliografía [22] para los distintos materiales presentes en los modelos que se presentaran a continuación. Es importante destacar que para realizar el ajuste en este caso se ha utilizado el parámetro de perfusión sanguínea, encontrando en la tabla el valor final que se ha obtenido.

Tabla II
CONSTANTES TÉRMICAS DEL MODELO

Símbolo	Propiedad	Valor
ρ_l	Densidad (Hígado)	1030 kg/m ³
ρ_a	Densidad (Aire)	1 kg/m ³
ρ_s	Densidad (Acero)	8000 kg/m ³
ρ_b	Densidad (Sangre)	1060 kg/m ³
K_l	Conductividad Térmica (Hígado)	0.5 W/(m·K)
K_a	Conductividad Térmica (Aire)	0.024 W/(m·K)
K_s	Conductividad Térmica (Acero)	50 W/(m·K)
C_{pl}	Calor Específico (Hígado)	3600 J/(kg·K)
C_{pa}	Calor Específico (Aire)	1007 J/(kg·K)
C_{ps}	Calor Específico (Acero)	447 J/(kg·K)
C_{pb}	Calor Específico (Sangre)	4180 J/(kg·K)
γ_a	Ratio de Calor Específico	1.403
ω_b	Ratio de Perfusion Sanguínea	0.008 1/s
T_b	Temperatura de la Sangre	37 °C

Las ecuaciones presentadas sobre el modelado eléctrico y térmico junto con las constantes recopiladas son el punto de partida del modelo objetivo de este trabajo. En los siguientes apartados se presentan las geometrías utilizadas, y sobre las que se han implementado estas físicas.

3.3. Modelo electro-térmico basado en elementos finitos

Después de decidir las físicas que ha de contener el modelo, los materiales que lo compondrán, y recopilar todos los datos de la bibliografía, es necesario describir la geometría del modelo. Se trata de un modelo FEA y por tanto la descripción geométrica no es trivial ya que el modelo debe ser capaz de simplificar el fenómeno arrojando datos predictivos y adecuados. De la descripción acertada del modelo depende su velocidad de cómputo y su capacidad predictiva. A continuación, se presentarán dos modelos con las mismas físicas, pero distintas descripciones geométricas, ambos modelos serán presentados y comparados distinguiendo la utilidad específica de cada uno.

3.3.1. Modelo 2D

El primer modelo en ser presentado es el modelo 2D. El modelo, representado en la Fig. 14, es un modelo en dos dimensiones, con simetría de revolución. Este se compone de tres partes bien diferenciadas y conformadas de distintos materiales. En primer lugar, consta de un cilindro que representa el hígado, este se encuentra entre otros dos cilindros paralelos de material metálico, que representan los electros. Finalmente, todo se encuentra contenido en una esfera con propiedades de aire. El modelo ha sido descrito en coordenadas cilíndricas y resuelto mediante simetrías.

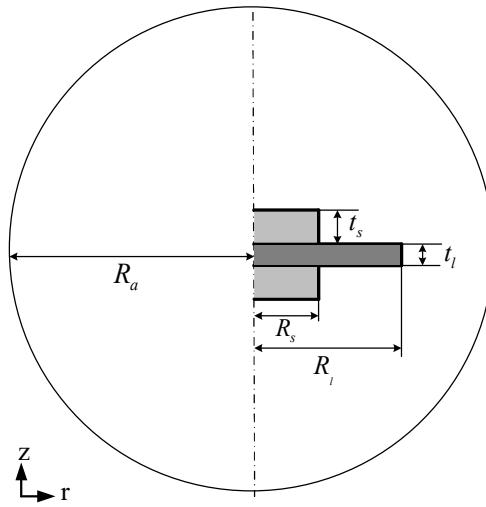


Fig. 14. Esquema modelo 2D.

Dada la finalidad del modelo este se ha diseñado de manera que sea parametrizable y flexible tanto en las propiedades de los materiales como en las de su geometría. En la Tabla III se encuentran los parámetros geométricos utilizados inicialmente.

Tabla III

PARAMETROS GEOMETRICOS MODELO 2D

Símbolo	Propiedad	Valor
t_l	Espesor (Hígado)	1.5 cm
t_s	Espesor (Acero)	0.8 cm
R_a	Radio (Aire)	10 cm
R_l	Radio (Hígado)	5 cm
R_s	Radio (Acero)	1.5 cm

El presente modelo es una simplificación tanto a nivel físico como geométrico, pero presenta unas propiedades computacionales excelentes debido a su simplicidad. Su parametrización lo hace un modelo flexible y fácil de ajustar, aunque presenta algunas carencias que el siguiente modelo buscara corregir.

3.3.2. Modelo 3D

El siguiente modelo está basado en una geometría en tres dimensiones, 3D con simetría horizontal, representado en la Fig. 15. Este modelo se compone de tres partes bien diferenciadas y conformadas de distintos materiales. En primer lugar, consta de un ortoedro que representa el hígado tratado, este se encuentra entre otros dos cilindros conformados de material metálico, que modelan los electrodos. Finalmente, todo se encuentra contenido en una esfera con propiedades de aire. El modelo ha sido descrito en coordenadas cilíndricas.

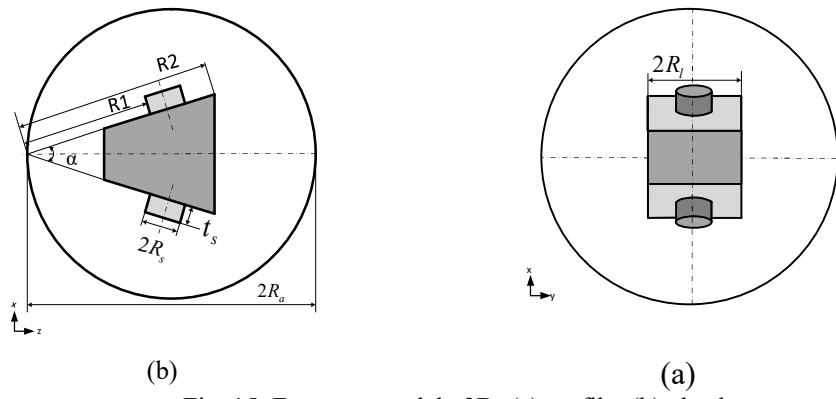


Fig. 15. Esquema modelo 3D: (a) perfil y (b) alzado.

Dada la finalidad del modelo, este se ha diseñado de manera que sea parametrizable y flexible tanto en las propiedades de los materiales como en las de su geometría. En la Tabla IV se encuentran los parámetros geométricos utilizados inicialmente.

Tabla IV

PARAMETROS GEOMETRICOS MODELO 3D

Símbolo	Propiedad	Valor
R_s	Radio (Acero)	1.5 cm
t_s	Espesor (Acero)	0.8 cm
R_a	Radio (Aire)	10 cm
R_1	Radio menor	3 cm
R_2	Radio mayor	9 cm
α	Angulo	15°

Este modelo, a diferencia del anterior, permite trabajar con la desalineación de los electrodos y también incluir de manera más sencilla objetos adicionales, como un termopar. El presente modelo es una simplificación tanto a nivel físico como geométrico. Su parametrización lo hace un modelo flexible y fácil de ajustar, aunque presenta algunas carencias que serán analizadas en el siguiente apartado.

3.3.3. Comparación y crítica a los modelos

En la Tabla V se reúnen las características principales que permiten comparar los modelos generados. Para posibilitar la comparación de ambos modelos se ha generado una simulación con las mismas características tanto geométricas como paramétricas, persiguiendo representar como siempre un caso real, aunque aplicando un único pulso. En primer lugar, sobre el modelo 2D queda claro lo que ya se ha comentado con anterioridad, este modelo es muy ligero computacionalmente, y mucho más rápido, lo que permite ajustar los distintos parámetros del modelo con los datos experimentales, de una manera rápida, y en cuestión de días, un trabajo que de llevarse a cabo con el modelo 3D podría llevar semanas. En segundo lugar, el modelo 3D, tiene también sus puntos fuertes, su geometría flexible, permite introducir cambios en el modelo mucho más reales, como la inclusión de tumores, tubos de refrigeración, y sensores de medida, entre otros. Debido a la similitud de ambos modelos estos están hechos para funcionar de manera complementaria, es decir mediante el modelo 2D es posible trabajar con los datos experimentales, ajustando los parámetros del modelo que luego se pueden utilizar en el modelo 3D para estudiar supuestos más cercanos a la realidad.

Tabla V
PARAMETROS DE SIMULACIÓN

	2D	3D
Número de nudos	515	2000
Tiempo de simulación modelo eléctrico (s)	14	32
Tiempo de simulación modelo térmico (s)	25	60
Tiempo de simulación modelo electro-térmico (s)	30	138
Flexibilidad de la geometría	Mala	Buena
Convergencia	Buena	Mala

En conclusión, ambos modelos tienen sus ventajas e inconvenientes, pero ambos pueden ser útiles para el desarrollo de investigación. Es necesario conocer el funcionamiento de los modelos y los algoritmos que los mueven para que sea posible extraer de ellos información relevante, adecuada y útil. Una vez ya conocido todo esto es posible extraer resultados, los cuales se exponen en el siguiente capítulo.

4. RESULTADOS Y MEDIDAS EXPERIMENTALES

4.1. Resultados del modelo

4.1.1. Evolución temporal de las señales eléctricas y térmicas

El objetivo principal de los modelos presentados es lograr predecir la evolución de las señales eléctricas y térmicas durante la aplicación de un tratamiento real. Para lograr este fin, se han implementado las ecuaciones ya presentadas en las geometrías expuestas, se ha buscado en la bibliografía las constantes principales de estas y se han analizado los parámetros que han de utilizarse como entradas del modelo. Aunque se han presentado dos modelos, el ajuste de ambos se realizará de la misma manera, y debido a la reducida complejidad del modelo 2D se ha optado por este para realizar el ajuste. En el esquema de la Fig. 16 podemos identificar los puntos del modelo en los que se evalúa la temperatura, y la superficie en la cual se integra la densidad de corriente. Tomando como punto de partida experiencias llevadas a cabo en anteriores experimentos, los resultados iniciales de los modelos se presentan a continuación.

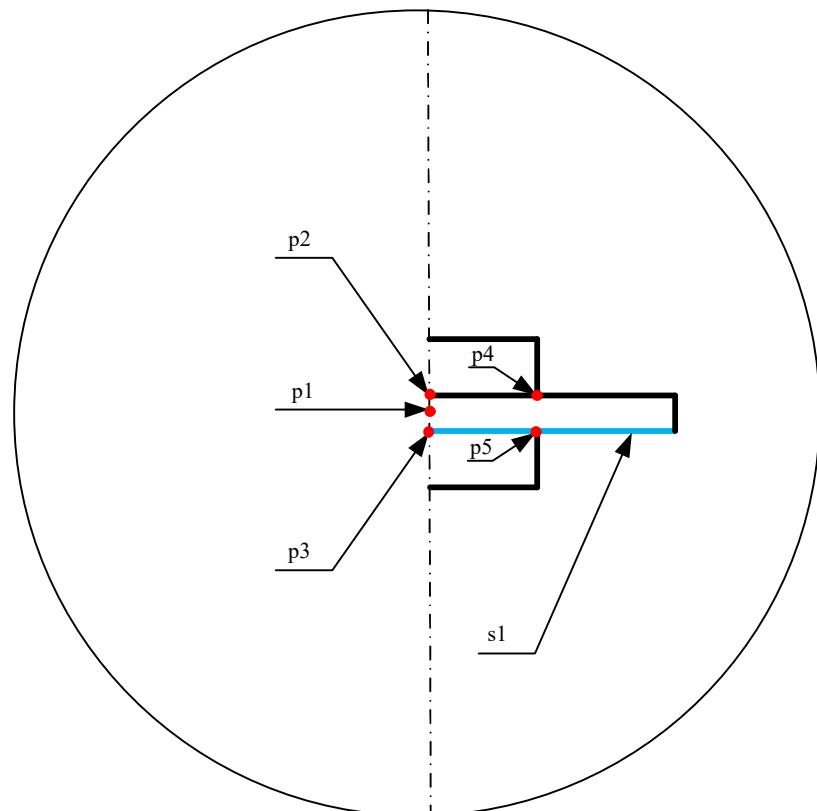


Fig. 16 Esquema del modelo 2D.

En lo que a la parte eléctrica se refiere, el modelo utiliza como entrada la separación de los pulsos, el número de estos, su duración y amplitud. En la Fig. 17 se presenta un ejemplo de simulación. En la figura se puede apreciar el cambio de la corriente y de la impedancia en función del número de pulso. Esta variación se corresponde con el comportamiento del tejido al sufrir el tratamiento. El comportamiento eléctrico del tejido consiste en una rápida reducción de la impedancia en los primeros pulsos, para alcanzar un posterior estado estacionario. Hay que destacar que solo se han estudiado los valores medios y de pico, pero en posteriores desarrollos del modelo la impedancia también deberá variar dentro del propio pulso.

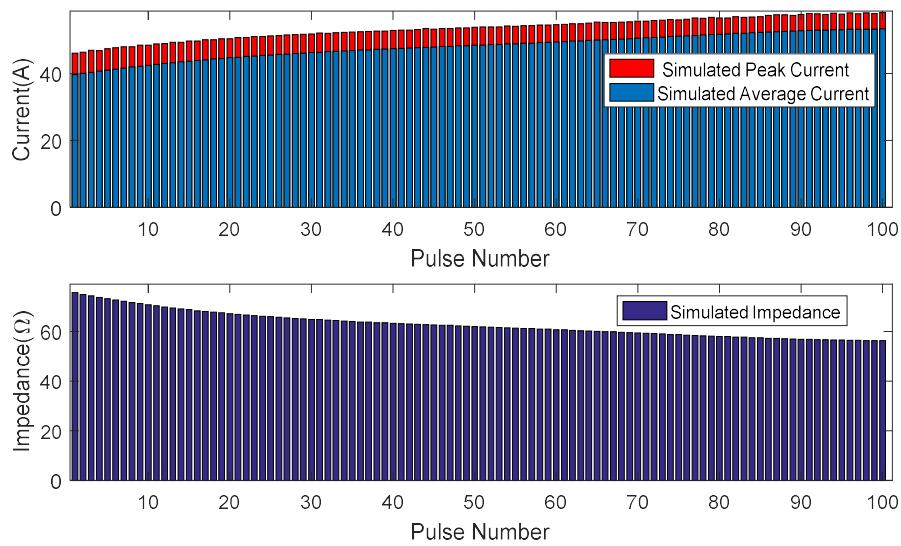


Fig. 17 Evolución eléctrica simulada.

Para la parte térmica se ha evaluado la temperatura en distintos puntos y se ha integrado en su volumen. En la Fig. 18 se encuentra la evolución de los distintos puntos del esquema y cada uno de ellos presenta resultados diferentes pero coherentes, aunque todos los puntos exhiben un comportamiento similar. En la aplicación de cada pulso podemos ver el rápido incremento térmico, seguido por una disipación en el tiempo de reposo. Podemos observar también que los puntos que más se calientan son los puntos interiores porque tienen menos disipación con el ambiente. Lo que también deja claro la simulación es el efecto de la perfusión sanguínea. Se puede ver que en todos los puntos la evolución tiende a alcanzar un régimen estacionario, es decir, que un efecto que puede ser perjudicial en otros tratamientos es, de hecho, positivo en este, ya que podremos comunicar más potencia sin peligro de calentamiento excesivo.

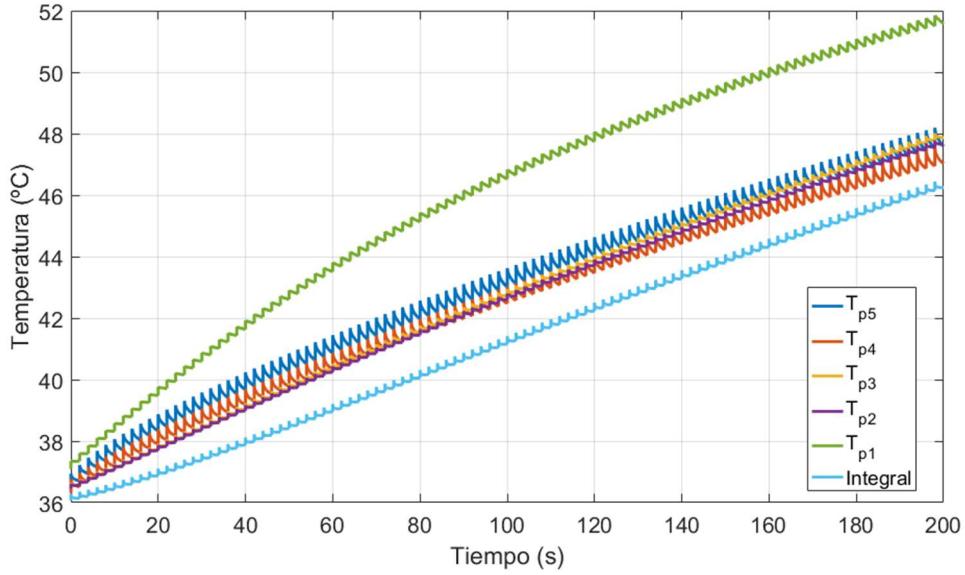


Fig. 18 Evolución térmica simulada.

A la vista de los resultados de las simulaciones es necesario validar el modelo, lo cual se llevará a cabo en apartados posteriores. Para la validación es necesario utilizar experimentación in vivo, en este caso sobre hígado de cerdo. Además de la evoluciones térmicas y eléctricas, en los siguientes apartados se presentarán otras conclusiones y estudios que se pueden llevar a cabo gracias a los modelos desarrollados. Aunque solo es un modelo inicial, este permite extraer muchas conclusiones y establecer las bases para el desarrollo de un modelo más predictivo.

4.1.2. Problemas asociados a la medida de temperatura

Como ya se ha expuesto uno de los puntos clave del desarrollo de los modelos es la toma de datos. Dado que el generador de pulsos utilizado durante la experimentación ha sido diseñado pensando en la experimentación, la medida y registro de las señales eléctricas no supone ningún problema. Sin embargo, las señales térmicas presentan una mayor problemática, ya que estas han de ser medidas sobre un órgano in vivo mientras se aplica el tratamiento. Para esta tarea se ha utilizado un termopar, un sensor térmico muy extendido y robusto que, aunque de modo no ideal, ha permitido llevar a cabo la tarea de una manera satisfactoria. Para poder hacer uso de este método ha sido necesario estudiar inicialmente los problemas que su uso conlleva, y para ello se utilizó el modelo 3D, cuya geometría permite estudiar la distribución de campo eléctrico en función del posicionamiento del termopar. Para llevar a cabo las simulaciones se ha modelado el termopar como una varilla metálica con el mismo diámetro que el termopar real.

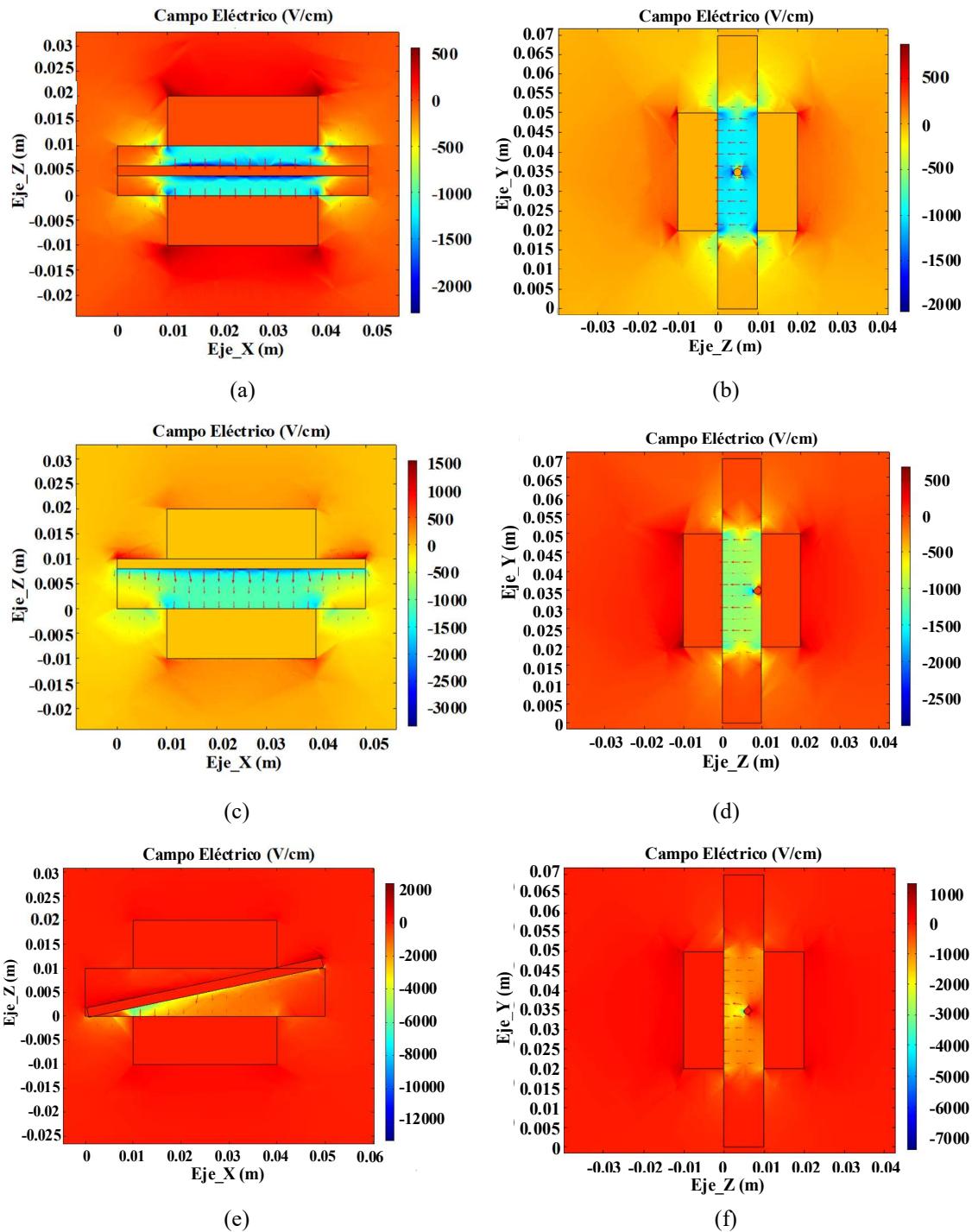


Fig. 19. Distribuciones de campo eléctrico y líneas de corriente: (a) Corte 1: posicionamiento intermedio paralelo a los electrodos, (b) Corte 2: posicionamiento intermedio paralelo a los electrodos, (c) Corte 1: termopar paralelo y en contacto con el electrodo, (d) Corte 2: termopar paralelo y en contacto con el electrodo, (e) Corte 1: termopar oblicuo y en contacto con el electrodo y (f) Corte 2: termopar oblicuo y en contacto con el electrodo.

En la Fig. 19 se encuentran los cortes del modelo 3D donde se representa la distribución del campo eléctrico y las líneas de corriente para las principales posiciones del termopar estudiadas. En primer lugar, en las Fig. 19 (a) y (b) se estudia el caso de un posicionamiento intermedio del termopar. En esta configuración se logra una distribución casi perfecta del campo, aunque existe una distorsión debida a un efecto borde en la zona de contacto con el termopar. Esta distorsión se da para cualquier configuración y consiste en una concentración del campo y de la corriente que, aunque no afecte al tratamiento global, puede llegar a distorsionar la medida. En las Fig. 19 (c) y (d) se observa lo que sucede cuando el termopar queda totalmente en contacto con uno de los electrodos. En esta configuración también existe una distorsión similar al caso anterior, aunque en este caso esta tiene un efecto menor dado que en vez de concentrarse el campo en toda la superficie del termopar, esta solo es notable en la parte que no está en contacto con el electrodo. Aunque esta configuración puede ser algo más peligrosa por exponer más superficie metálica cargada, el error introducido en la medida es menor, y su posicionamiento es más fácil. En las Fig. 19 (f) y (g) se presenta el caso de que el termopar quede oblicuo y en contacto con un electrodo. Esta configuración arroja muchos más problemas que las anteriores puesto que no solo introduce una distorsión en la periferia del termopar. En este caso la distorsión afecta a gran parte del volumen tratado puesto que no solo produce un fallo en la medida sino que también da lugar a una disminución del volumen de lesión generada. Por último, aunque no ha sido representada, la configuración más peligrosa es aquella en la que el termopar este en contacto con ambos electrodos. En este caso se producirá un cortocircuito que podría llegar a destruir el generador y producir lesiones de tipo térmico en el órgano tratado.

En conclusión, es necesario remarcar la importancia de la adecuada colocación del termopar, y la necesidad de estudiar posteriormente alternativas de medida de temperatura, que permitan medir en más puntos simultáneamente, y una medida de mayor precisión y seguridad. Para realizar la experimentación se utilizará la segunda configuración presentada por las ventajas ya expuestas.

4.2. Propuesta experimental

Una vez claros los objetivos y necesidades del modelo, es necesario llevar a cabo una experimentación que permita poner a prueba el modelo y poner a prueba las dificultades encontrados. Como punto de partida se utiliza la bibliografía y a partir de lo ya desarrollado, se plantea la experimentación que se llevará a cabo en este trabajo. Es importante señalar que este experimento no solo pretende cubrir las necesidades del presente Trabajo Fin de Máster, si no que ha sido diseñados con fines mayores que serán detallados a continuación. Hasta el momento se ha participado en un total de 6 experiencias completas de quirófano y evaluación de lesiones, en las que se han llevado a cabo una media de 4 ablaciones por sujeto experimental.

4.2.1. Objetivos de la experimentación

El experimento que se planteó tiene por objetivo principal realizar un estudio exhaustivo y metódico para determinar la eficacia de la electroporación irreversible (IRE) de grandes volúmenes de tejido empleando electrodos en forma de placas paralelas. Dadas las similitudes fisiológicas y la disponibilidad de los mismos, este estudio está centrado en la aplicación en hígado sano de cerdos de un tamaño medio (40-50 kg).

La gran aportación de este estudio se basa en lograr grandes y homogéneas ablaciones, comparables con otras técnicas, en un solo tratamiento mediante placas paralelas de gran diámetro (entre 3 cm y 5 cm). El uso de placas paralelas permitirá evaluar con mayor precisión los efectos de la electroporación irreversible ante un campo eléctrico constante, a diferencia de lo que ocurre con las aplicaciones actuales basadas en electrodos de aguja. Hay que destacar en este punto que el equipo utilizado presenta características únicas, posiblemente a nivel mundial, por lo que debe ser aprovechado.

Se considera necesario determinar ciertas variables mediante un animal de test (fase 1). Una vez determinados estos parámetros, se procederá a la fase de experimentación (fase 2). En la fase final también se recopilarán datos fisiológicos eléctricos y térmicos, a fin de lograr un modelado que permita caracterizar el tratamiento llevado a cabo. El objetivo global es verificar la viabilidad de la electroporación irreversible de grandes volúmenes mediante placas paralelas, y, por tanto, sería esperable poder confirmar dicho efecto mediante las técnicas de microscopía y citometría. En el Anexo 1 se encuentra una descripción más detallada de la experimentación.

4.3. Resultados de la experimentación

En este apartado se presentan los distintos resultados extraídos de las experiencias llevadas a cabo y detalladas en el Anexo 1. En primer lugar, se presentarán los resultados generales de la experimentación, para centrarse luego en los resultados referentes al modelo desarrollado en este Trabajo Fin de Máster.

4.3.1. Resultados

Tras la realización de la primera fase de la experimentación se extrajeron numerosos datos y conclusiones. En primer lugar, el tamaño fijado para los será de 3 cm de diámetro, dado que es el que ha permitido generar una lesión más uniforme, presenta un efecto borde asumible, y al tratar un volumen intermedio de tejido exige una potencia segura para el generador.

En lo que a al campo eléctrico aplicado se refiere los valores seleccionados para el desarrollo del resto de experimentos son: 1000 V/cm, 1500 V/cm y 2000 V/cm. Estos valores, y sobre todo el de 2000 V/cm, requieren un tiempo entre pulsos de 2 s para asegurar que la perfusión sanguínea refrigerue la zona de manera adecuada. El orden en que se aplicarán será siempre de mayor a menor campo, para que la medicación relajante que evita las convulsiones sea lo más efectivo posible. Finalmente, respecto a los pulsos, se aplicarán en series de 100 llegando a un máximo de 200, y aplicando inicialmente 2 pulsos antes de comenzar para asegurar la correcta fijación y contacto del electrodo.

En lo que al electrodo se refiere, para la segunda fase se desarrollara un segundo electrodo que permita su esterilización de manera más fácil y sin peligros, como oxidaciones o roturas por sobre temperatura. También se procederá al rediseño del mismo para mejorar la medida del volumen del tejido tratado, facilitar la medida de temperatura, y sobre todo facilitar su colocación y manipulación por el equipo de especialistas de la medicina.

Para terminar en este apartado se expondrán algunos resultados de microscopía electrónica, los cuales han permitido corroborar lo encontrado en la bibliografía, y arrojan resultados muy alentadores de la experimentación. En estas imágenes se puede apreciar los distintos fenómenos que se dan dentro del hígado al aplicar el tratamiento, y cómo debido a la heterogeneidad del campo tenemos varios tipos de muerte celular.

En la Fig. 20 (a) se aprecia un hepatocito tras la aplicación del tratamiento, esta muestra fue tomada instantáneamente tras el sacrificio, y en ella podemos apreciar de

manera clara y señalado con flechas los poros que aparecen en las celulares debidos al tratamiento. Hay que destacar que estos poros no son de una magnitud elevada y apuntan a una zona poco tratada en la cual se ha dado electroporación reversible. En la Fig. 20 (b) se observa nuevamente un hepatocito tratado con poca intensidad de campo. En sus paredes, los puntos oscuros son los poros que tras tres días ya se han reparado, conservando así la célula su viabilidad, e incluso presenta interacción con su vecindad.

En la Fig. 20 queda claro que aunque se persiga la electroporación irreversible encontraremos discontinuidades en el tejido, y dado que estas se reparan, puede ser interesante como ya se refleja en la bibliografía, el uso de tratamientos farmacológicos complementarios que aprovechen la electroporación reversible distal y las discontinuidades en el tejido.

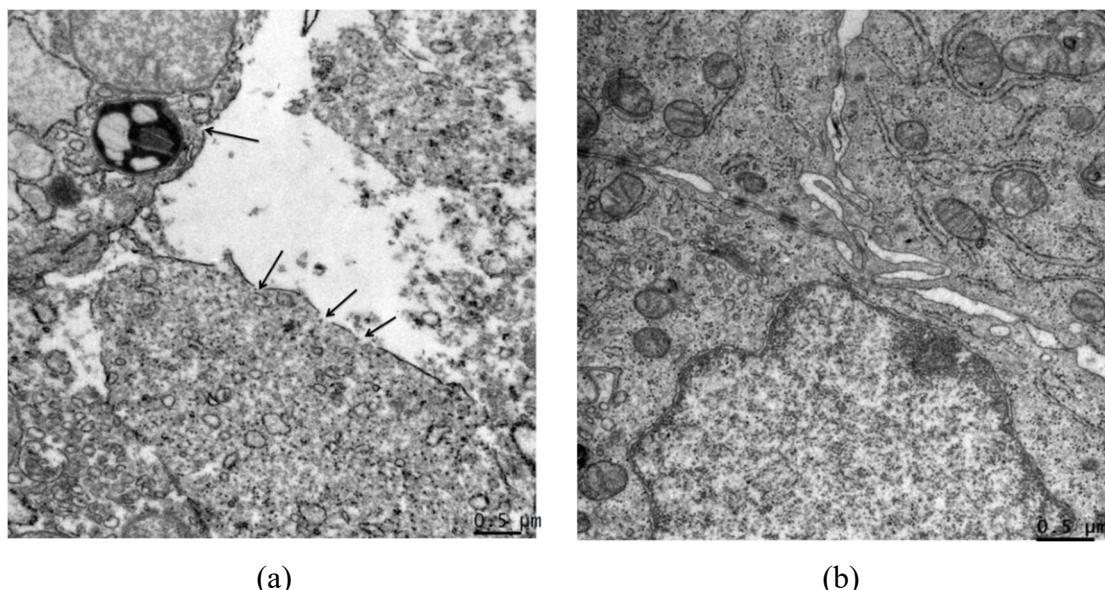


Fig. 20 Imagen de microscopio eléctrico de un hepatocito: (a) inmediatamente después del tratamiento, y (b) tres días tras la aplicación del tratamiento.

En la Fig. 21 se encuentran las imágenes tomadas en el centro de la lesión donde se asegura la muerte celular y donde, según la bibliografía [23], conviven los dos fenómenos principales de esta: necrosis y apoptosis. En la Fig. 21 (a) la imagen que se presenta es una imagen de microscopio electrónico de barrido, una imagen 3D donde se aprecia que los poros que anteriormente se presentaban insignificantes, ahora son de tal magnitud que la célula ha perdido su integridad estructural, y por tanto ha sufrido una muerte inmediata perdiendo todo su fluido intracelular y orgánulos. Este tipo de muerte, aunque efectiva, no es lo que se persigue con este tratamiento, dado que esta muerte no es natural, y puede presentar efectos secundarios más graves que los de la apoptosis. En la Fig. 21 (b) se aprecia una célula apoptótica, que en su núcleo presenta la forma de luna

menguante descrita en la bibliografía. Esta forma característica del núcleo es síntoma de que este se está fragmentando, llevando así a la célula a una muerte programada no agresiva y con efectos similares a la muerte celular natural.

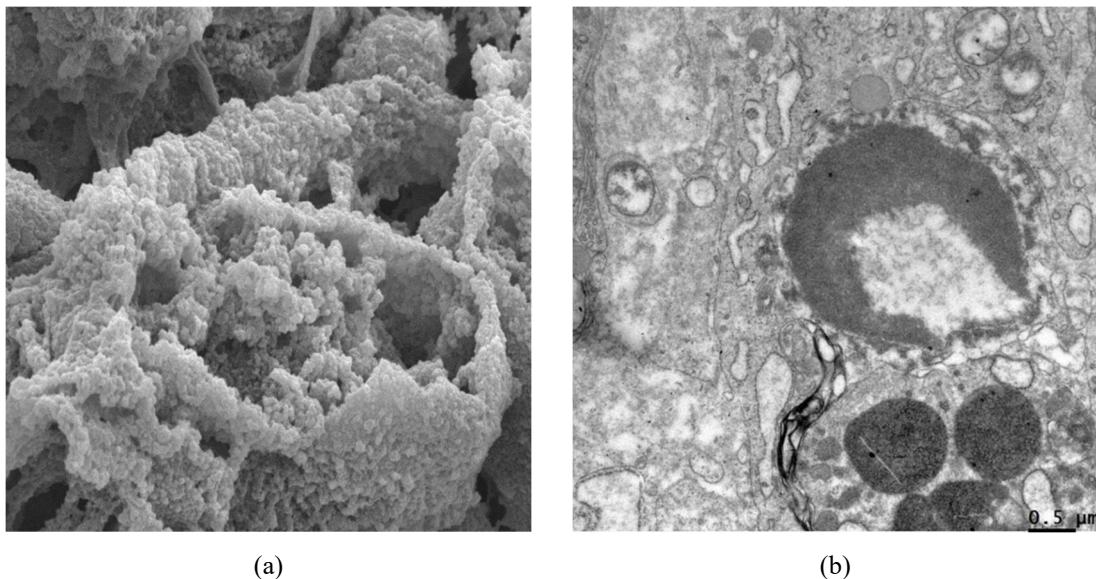
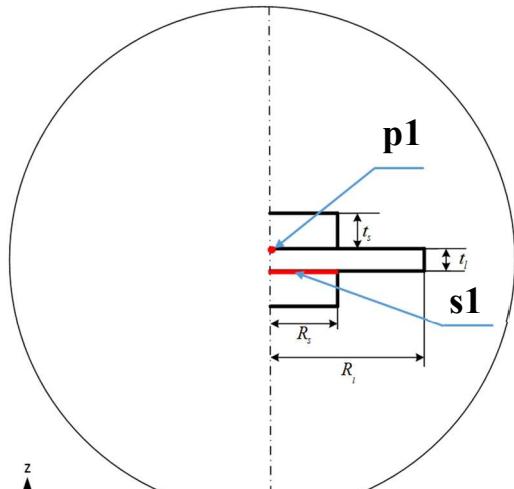


Fig. 21 Imágenes de microscopía electrónica de hepatocitos inviables: (a) imagen de barrido de célula necrótica y (b) imagen 2D de célula apoptótica.

En este apartado se han presentado los distintos datos y conclusiones. En el siguiente apartado se presentarán los datos extraídos de las experimentaciones para los modelos generados, y su integración en los mismos.

4.3.2. Validación del modelo

El ajuste del modelo se basa en lograr reproducir la evolución eléctrica y temporal de una experiencia real de electroporación irreversible. Para validar el modelo, es necesario tomar como punto de partida un experimento y una simulación con los mismos parámetros: 100 pulsos de 100 μ s separados 2 s aplicando 2000 V/cm a una sección de 1,5 cm. Esta experiencia Fig. 22 (b) ha sido llevada a cabo por un equipo médico especializado, con la presencia de un equipo de ingenieros que se han encargado de dar las instrucciones del posicionamiento de los electrodos y los sensores. En la experiencia el termopar se encontraba en el centro de uno de los electrodos y en contacto con el hígado. Para tomar las medidas en el modelo Fig. 22 (a) se ha medido la temperatura en el punto p1 e integrado la corriente que atraviesa la superficie s1. En esta experiencia el animal fue sacrificado tras la aplicación del tratamiento y la toma de muestras para microscopía.



(a)



(a)

Fig. 22 Representación de la experiencia: (a) modelo bidimensional y (b) foto real.

Para comenzar, en la figura Fig. 23 se representa, la superposición de un pulso real de corriente medido con el osciloscopio, y el mismo pulso simulado. Se puede apreciar que la forma no es exactamente igual, pero se ha conseguido reproducir el valor medio y de pico de manera adecuada. En el futuro desarrollo del modelo será necesario lograr reproducir el cambio de la impedancia dentro de cada pulso, y la relación de este cambio con las distintas variables del tratamiento.

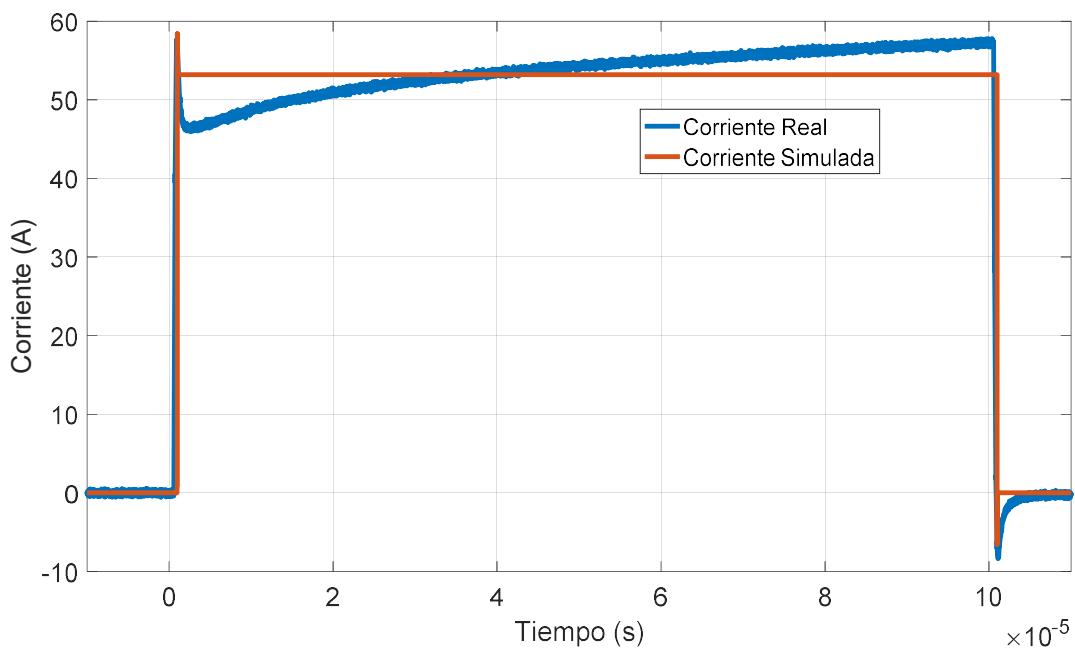


Fig. 23 Corriente real y simulada respecto al tiempo.

En la Fig. 24 se aprecian los resultados eléctricos de la simulación enfrentados a las medidas de quirófano. El ajuste conseguido es casi perfecto en cuanto a la corriente media y la impedancia, pero se puede observar que la parte capacitiva del modelo, representada por los picos de corriente, no tiene un ajuste suficientemente correcto. El comportamiento eléctrico del tejido como ya se presentó en el capítulo 2, es el de un circuito RC y el cambio de su impedancia compleja es debido a la destrucción de las membranas celulares, causantes del carácter capacitivo del tejido. El modelo solo tiene en cuenta el tiempo, pero a las membranas también les afectan los cambios de temperatura, la evaporación de los fluidos intracelular y extracelular, además de la intensidad del campo y otros efectos aún por determinar. Sin embargo, pese a utilizar un modelo simplificado, los resultados son muy alentadores. A pesar de todo lo mencionado, aún queda mucho por mejorar y muchos efectos a tener en cuenta y que serán modelados cuando se tenga más experimentación y datos.

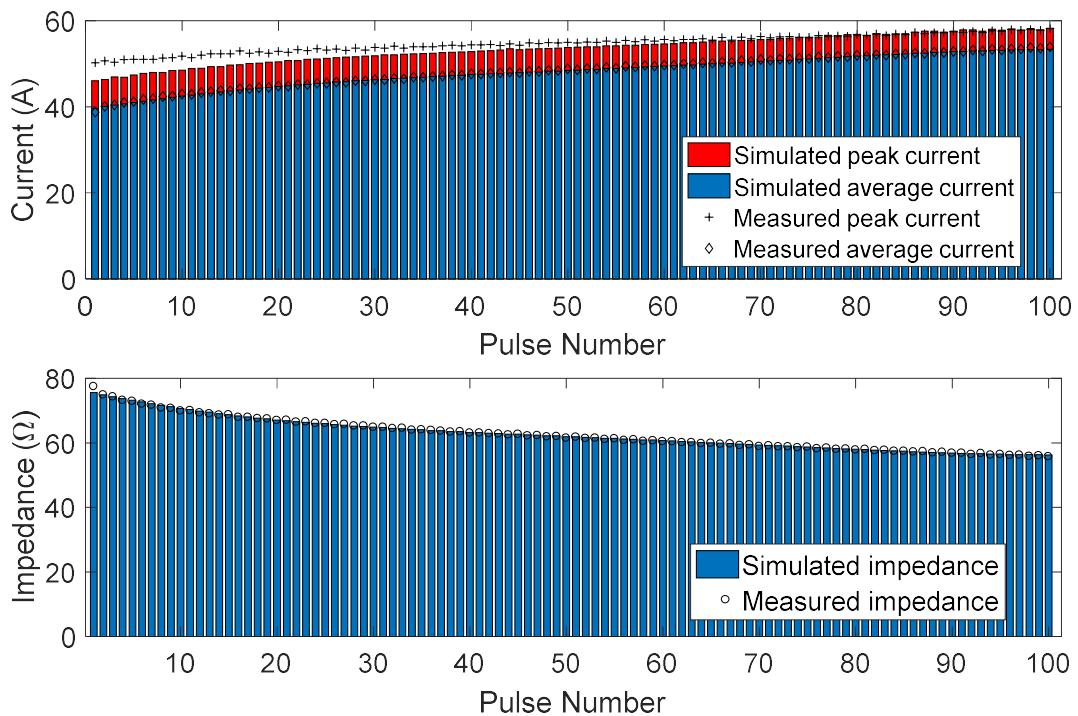


Fig. 24 Evolución de las variables eléctricas medidas y simuladas.

La ecuación (18) modela la evolución de la impedancia del tejido con el tiempo. Aunque aún es necesario tener en cuenta en el modelo los efectos de otras variables, el polinomio presentado puede suponer una buena aproximación inicial.

$$Z = 6.49 \cdot 10^{-7} t^4 - 1.59 \cdot 10^{-4} t^3 + 0.0147 t^2 - 0.6822 t + 76.06. \quad (18)$$

En la Fig. 25 se encuentra la evolución térmica simulada con respecto a las medidas de quirófano. Se puede apreciar que el ajuste es correcto, aunque presenta pequeñas desviaciones debido a efectos de segundo orden no modelados. En las simulaciones podemos estudiar el comportamiento del sistema de manera casi continua, mientras que en el quirófano, debido a los medios disponibles, la temperatura se ha medido solo tras la aplicación de cada pulso. A pesar de las limitaciones de las medidas se pueden observar los efectos de la perfusión sanguínea en la aplicación del tratamiento. Debido a la perfusión sanguínea se aprecia una amortiguación en el perfil de temperaturas, que hace pensar en el alcance de un régimen estacionario. En este caso su ajuste depende del modelado correcto de corriente, y la medida adecuada de la perfusión.

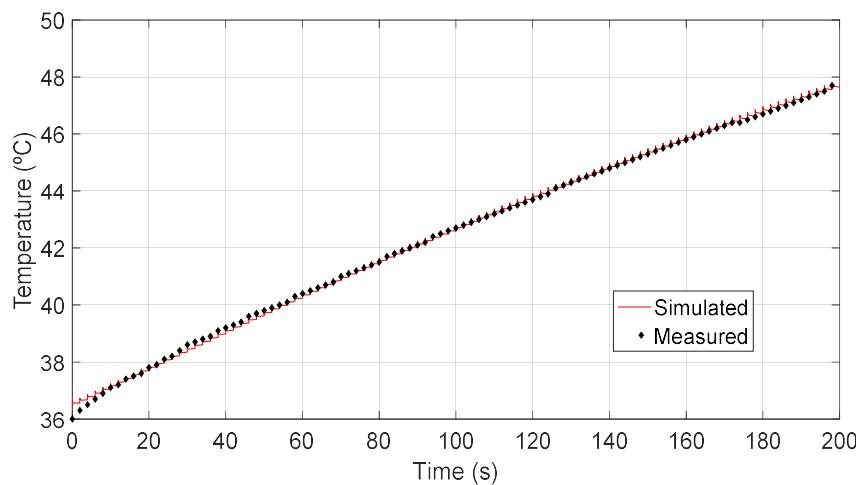


Fig. 25 Evolución de las variables térmicas medida y simulada.

El ajuste y validación inicial del modelo se considera aceptable, pero aún existen limitaciones y retos a abordar. En el siguiente punto se presentarán los retos y posibles soluciones que han de tomarse para lograr desarrollar un modelo predictivo y completo.

5. CONCLUSIONES

5.1. Conclusiones

Tras la realización del presente Trabajo de Fin de Máster se exponen las principales conclusiones. En primer lugar, los objetivos planteados inicialmente han sido cumplidos e incluso se han iniciado algunas líneas de trabajo como continuación de los mismos. Se ha creado un modelo inicial parametrizado y ajustado con los datos extraídos de las experiencias de quirófano, participando en un total de 6 experiencias en quirófano. Se han desarrollado los algoritmos pertinentes para el procesado de datos y la aceleración de las simulaciones.

Con las herramientas desarrolladas durante el trabajo será posible, con la ayuda de más experimentación, el desarrollo de un modelo robusto y predictivo que permita avanzar en la investigación sobre la aplicación de IRE en terapias oncológicas de carácter no invasivo.

Finalmente, con los datos y modelos conseguidos se han cumplido y ampliado los objetivos iniciales de este trabajo, permitiendo exponer algunas de las conclusiones en un congreso internacional [24]. Además, este trabajo ha servido como punto de partida para una tesis que se llevará a cabo con la financiación de una beca de Formación de Profesorado Universitario concedida al autor de este trabajo.

5.2. Líneas futuras

En este trabajo se han llevado a cabo una serie de estudios y experimentos que plantean nuevas líneas de investigación y desarrollo en el campo de la electroporación irreversible. Como se ha mencionado a lo largo de esta memoria el modelo desarrollado es un modelo inicial con mucho potencial pero que aún requiere un gran desarrollo. Para lograr el desarrollo y difusión de esta investigación se plantean a corto y largo plazo las siguientes líneas futuras:

En primer lugar, debe ampliarse la experimentación realizada para permitiría adquirir los datos necesarios ya mencionados con anterioridad. Para que esta toma de datos y su posterior procesado sean lo más productivas posibles, será necesario evolucionar los sistemas de adquisición de señales térmicas.

Teniendo en cuenta los problemas térmicos ya planteados en apartados anteriores y el estudio realizado con el modelo objeto de esta memoria, se desarrollarán nuevos

electrodos con la posibilidad de refrigeración que permitan aplicar más potencia, a fin de poder tratar mayores volúmenes de tejido de manera más eficiente.

En la misma línea que la refrigeración de los electrodos, también es necesario desarrollar un electrodo que no solo sea de uso experimental. En colaboración con el equipo médico se han de identificar las necesidades de los cirujanos y también se está investigando la normativa de seguridad a seguir. El objetivo es desarrollar un equipo que pueda usarse cómodamente de manera segura y que permita una aplicación óptima del tratamiento.

En lo que a la aplicación del tratamiento se refiere, una vez se dominen los modelos, será necesario estudiar las variables de las señales aplicadas, puesto que en la bibliografía esto no ha sido estudiado en profundidad, y los estudios clínicos actuales no tienen criterios claros para aplicar de manera óptima el tratamiento.

También se plantea el desarrollo de nuevo hardware con el fin de aumentar la corriente que este pueda suministrar. El objetivo de esta mejora junto con los electrodos refrigerados es posibilitar tratar volúmenes mucho mayores de tejido, u órganos con conductividades más altas que los estudiados.

Finalmente, para lograr el desarrollo adecuado de todo lo planteado y lograr la difusión en artículos y congresos, se plantea el desarrollo de una Tesis Doctoral que tome como punto de partida este Trabajo de Fin de Máster.

ANEXOS

ANEXO 1: Descripción de la experimentación

El experimento que se ha planteado tiene por objetivo principal realizar un estudio exhaustivo y metódico para determinar la eficacia de la electroporación irreversible (IRE) de grandes volúmenes de tejido empleando electrodos en forma de placas paralelas. Dadas las similitudes fisiológicas y la disponibilidad de los mismos, este estudio está centrado en la aplicación en hígado sano de cerdos de un tamaño medio (al menos 40 kg). Considerando la variabilidad de parámetros disponibles, especialmente teniendo en cuenta la versatilidad del generador disponible, este primer estudio se centrará en aplicar parámetros estándar en electroporación, en concreto, modulación unipolar (alternando polaridad entre ráfagas para evitar electrólisis) con 1 pulso de 100 μ s con una separación entre pulsos de 1 s a 2 s. De manera que las principales variables que definirán el experimento serán el nivel de campo aplicado (1-3 kV/cm) y el tiempo desde el tratamiento hasta el sacrificio de los animales.

La gran aportación de este estudio se basa en lograr grandes y homogéneas ablaciones, comparables con otras técnicas, en un solo tratamiento mediante placas paralelas de gran diámetro (entre 3 cm y 5 cm). Es importante reseñar que esto es posible debido a la disponibilidad de un generador capaz de aplicar grandes niveles de tensión (es probable tener que llegar a niveles de más de 6 kV en función del grosor del tejido) y corriente (por seguridad el generador suministrara un máximo de 200 A). Hay que destacar en este punto que este equipo presenta características únicas, posiblemente a nivel mundial, por lo que debe ser aprovechado. Adicionalmente, el uso de placas paralelas permitirá evaluar con mayor precisión los efectos de la electroporación irreversible ante un campo eléctrico constante, a diferencia de lo que ocurre con las aplicaciones actuales basadas en electrodos de aguja.

Debido a los efectos fisiológicos de la electroporación, consideramos que será necesario dejar con vida los animales tras el tratamiento y evaluar los efectos en el transcurso de un intervalo comprendido entre las 3 horas y varios días. En cuanto a la evaluación de la efectividad del tratamiento, al margen de las medidas eléctricas durante el tratamiento, resultan imprescindibles los resultados que puedan aportar las técnicas de microscopía óptica y electrónica y citometría, lo cual requerirá de una gran labor de coordinación.

Dada la variabilidad de parámetros existentes, consideramos que es necesario determinar ciertas variables mediante un animal de “test” (fase 1). En concreto se trata de evaluar el área máxima de tratamiento en función de la corriente máxima del generador, y el número máximo de pulsos para evitar daño térmico. Una vez determinados estos parámetros, se procederá a la fase de experimentación (fase 2). En la fase final también se recopilarán datos fisiológicos eléctricos y térmicos, a fin de lograr un modelado que permita caracterizar el tratamiento llevado a cabo.

El objetivo global es verificar la viabilidad de la electroporación irreversible de grandes volúmenes mediante placas paralelas, y, por tanto, sería esperable poder confirmar dicho efecto mediante las técnicas de microscopía y citometría. La principal variable de experimentación será el nivel de campo aplicado, siendo esperable obtener unas cotas de campo necesario para lograr dicho efecto. La variable de segundo orden, en este caso, el tiempo desde el tratamiento hasta el sacrificio, nos determinará la evolución temporal del tratamiento, y sentará las bases para la evaluación de la eficacia de la electroporación irreversible en futuros estudios.

En la (fase 1) el objetivo es determinar con precisión las variables de experimentación, en concreto: 1) El diámetro máximo de las placas, y por tanto, el volumen máximo alcanzable, en función de las limitaciones del generador, en este caso, la corriente máxima; 2) Determinar el número máximo de pulsos, equi-espaciados 1 s o 2 s, para evitar daños térmicos y 3) Modelar la evolución temporal de la temperatura. Esta primera fase se llevará a cabo en tres pasos:

1. Aplicando el campo eléctrico máximo considerado, $E=E_{max}=3$ kV/cm, determinar el diámetro máximo de placas en cm con la restricción de una corriente máxima, $iL_{max}<150$ A. Una vez determinado, este valor será empleado en el resto de experimentación [25].
2. Considerando el área máxima de placa obtenida, y considerando el campo máximo, $E=E_{max}=3$ kV/cm, aplicar un número elevado de pulsos, $Np=500$ y monitorizar la temperatura del electrodo. Será necesario parar el tratamiento si la temperatura excede los 80 °C.
3. Aplicar el procedimiento (2) para $E=2$ kV/cm.

En la (fase 2) el objetivo es evaluar con precisión los efectos del tratamiento con electroporación irreversible en el hígado sano, mediante la aplicación de diferentes intensidades de campo usando placas paralelas. También en esta fase se recopilarán datos de corrientes, temperaturas y valores geométricos del hígado tratado, a fin de validar y permitir mejorar el modelado electro-térmico del tratamiento.

Para el posterior análisis estadístico, se definirá el tamaño muestral y el número de grupos de estudio, en función de los tiempos desde el tratamiento hasta el sacrificio, posiblemente 3 horas, 1 día, 3 días y 7 días. Con cada animal será necesario aplicar el siguiente procedimiento:

1. Completar la información previa necesaria en el “cuaderno de experimentación”.
2. Anestesiar y practicar una laparotomía con el fin de tener accesibles los lóbulos del hígado. Introducir relajante muscular (Atracurio).
3. Aplicar en el primer lóbulo el tratamiento con $E=1$ kV/cm. Cumplimentar los datos relativos a este tratamiento y guardar los ficheros correspondientes.
4. En un segundo lóbulo aplicar el tratamiento con $E=2$ kV/cm. Cumplimentar los datos relativos a este tratamiento y guardar los ficheros correspondientes.
5. En un tercer lóbulo aplicar el tratamiento con $E=3$ kV/cm. Cumplimentar los datos relativos a este tratamiento y guardar los ficheros correspondientes.
6. En caso de animales con un tiempo de sacrificio de horas, esperar, sacrificarlo y tomar las muestras. En caso contrario, tras los cuidados necesarios se procederá a devolver el animal al estabulario hasta el momento del sacrificio y toma de muestras.

El procedimiento para el análisis de los datos será el siguiente:

1. Fotografiar el estado de cada uno de los lóbulos.
2. Realizar una medida eléctrica del tejido (LCR) antes y después del tratamiento.
3. Registrar tensiones y corrientes aplicadas durante el tratamiento (Osciloscopio con sondas especializadas).
4. Registrar evolución térmica mediante termopar, tomando un dato tras la aplicación de cada pulso.
5. Obtener muestras para análisis biológicos (microscopía y citometría).
6. Tras sacrificar el animal, obtener el hígado entero, separar cada uno de los lóbulos y proceder a su corte y fotografiado.

BIBLIOGRAFÍA:

- [1] C. Jiang, R. V. Davalos, and J. C. Bischof, "A Review of Basic to Clinical Studies of Irreversible Electroporation Therapy," *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 62, pp. 4-20, 2015.
- [2] P. Simonis, S. Kersulis, V. Stankevich, V. Kaseta, E. Lastauskiene, and A. Stirke, "Caspase dependent apoptosis induced in yeast cells by nanosecond pulsed electric fields," *Bioelectrochemistry*, vol. 115, pp. 19-25, 2017/06/01/ 2017.
- [3] C. Bernal, Ó. Lucía, H. Sarnago, J. M. Burdío, A. Ivorra, and Q. Castellví, "A review of pulse generation topologies for clinical electroporation," in *IECON 2015 - 41st Annual Conference of the IEEE Industrial Electronics Society*, 2015, pp. 000625-000630.
- [4] A. Ivorra and B. Rubinsky, "Historical Review of Irreversible Electroporation in Medicine," in *Irreversible Electroporation*, B. Rubinsky, Ed., ed Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010, pp. 1-21.
- [5] T. Kotnik, P. Kramar, G. Pucihar, D. Miklavcic, and M. Tarek, "Cell membrane electroporation- Part 1: The phenomenon," *IEEE Electrical Insulation Magazine*, vol. 28, pp. 14-23, 2012.
- [6] F. de Monte and A. Haji-Sheikh, "Bio-heat diffusion under local thermal non-equilibrium conditions using dual-phase lag-based Green's functions," *International Journal of Heat and Mass Transfer*, vol. 113, pp. 1291-1305, 2017/10/01/ 2017.
- [7] J. Li, J. Zeng, J. Chen, J. Shi, X. Luo, G. Fang, *et al.*, "Evaluation of the safety of irreversible electroporation on the stomach wall using a pig model," *Experimental and Therapeutic Medicine*, vol. 14, pp. 696-702, 2017.
- [8] P. Sanchez-Velazquez, Q. Castellvi, A. Villanueva, M. Iglesias, R. Quesada, C. Panella, *et al.*, "Long-term effectiveness of irreversible electroporation in a murine model of colorectal liver metastasis," *Sci Rep*, vol. 7, p. 44821, Mar 22 2017.
- [9] S. K. Frandsen and J. Gehl, "Effect of calcium electroporation in combination with metformin *in vivo* and correlation between viability and intracellular ATP level after calcium electroporation *in vitro*," *PLOS ONE*, vol. 12, p. e0181839, 2017.
- [10] C. Niessen, S. Thumann, L. Beyer, B. Pregler, J. Kramer, S. Lang, *et al.*, "Percutaneous Irreversible Electroporation: Long-term survival analysis of 71 patients with inoperable malignant hepatic tumors," vol. 7, p. 43687, 03/07/online 2017.
- [11] M. Mardaneh and Z. Hashemi, "A random switching method for PWM cascaded H-bridge multi-level inverter," in *2012 IEEE International Conference on Circuits and Systems (ICCAS)*, 2012, pp. 76-79.
- [12] H. Sarnago, Ó. Lucía, A. Naval, J. M. Burdío, Q. Castellví, and A. Ivorra, "A Versatile Multilevel Converter Platform for Cancer Treatment Using Irreversible Electroporation," *IEEE Journal of Emerging and Selected Topics in Power Electronics*, vol. 4, pp. 236-242, 2016.
- [13] A. Pokryvailo, C. Carp, and C. Scapellati, "A High-Power High-Voltage Power Supply for Long-Pulse Applications," *IEEE Transactions on Plasma Science*, vol. 38, pp. 2604-2610, 2010.
- [14] O. Adeyanju, H. Al-Angari, and A. Sahakian, "The optimization of needle electrode number and placement for irreversible electroporation of hepatocellular carcinoma," in *Radiology and Oncology* vol. 46, ed, 2012, p. 126.
- [15] A. Wandel, E. Ben-David, B. S. Ulusoy, R. Neal, M. Faruja, I. Nissenbaum, *et al.*, "Optimizing Irreversible Electroporation Ablation with a Bipolar Electrode," *Journal of Vascular and Interventional Radiology*, vol. 27, pp. 1441-1450.e2, 9// 2016.

- [16] J. A. Vogel, E. van Veldhuisen, P. Agnass, J. Crezee, F. Dijk, J. Verheij, *et al.*, "Time-Dependent Impact of Irreversible Electroporation on Pancreas, Liver, Blood Vessels and Nerves: A Systematic Review of Experimental Studies," *PLOS ONE*, vol. 11, p. e0166987, 2016.
- [17] R. E. Neal, 2nd, P. A. Garcia, J. L. Robertson, and R. V. Davalos, "Experimental characterization and numerical modeling of tissue electrical conductivity during pulsed electric fields for irreversible electroporation treatment planning," *IEEE Trans Biomed Eng*, vol. 59, pp. 1076-85, Apr 2012.
- [18] J. C. Weaver, "Electroporation of cells and tissues," *IEEE Transactions on Plasma Science*, vol. 28, pp. 24-33, 2000.
- [19] C. K. Sung, H. B. Kim, J. H. Jung, K. Y. Baik, K. W. Moon, H.-S. Kim, *et al.*, "Histological and Mathematical Analysis of the Irreversibly Electroporated Liver Tissue," *Technology in Cancer Research & Treatment*, vol. 16, pp. 488-496, 2017.
- [20] M. Fakoor-Pakdaman, M. Ahmadi, F. Bagheri, and M. Bahrami, "Dynamic Heat Transfer Inside Multilayered Packages with Arbitrary Heat Generations," *Journal of Thermophysics and Heat Transfer*, vol. 28, pp. 687-699, 2014/10/01 2014.
- [21] C. A. R. Martínez, A. L. V. Tizatl, C. E. V. Tizatl, P. R. H. Rodríguez, A. V. Hernández, L. L. Salas, *et al.*, "Modeling of electric field and Joule heating in breast tumor during electroporation," in *2016 13th International Conference on Electrical Engineering, Computing Science and Automatic Control (CCE)*, 2016, pp. 1-4.
- [22] R. J. Podhajsky, M. Yi, and R. L. Mahajan, "Differential and directional effects of perfusion on electrical and thermal conductivities in liver," *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, vol. 2009, pp. 4295-8, 2009.
- [23] W. Zhang, W. Wang, W. Chai, X. Luo, J. Li, J. Shi, *et al.*, "Breast tissue ablation with irreversible electroporation in rabbits: A safety and feasibility study," *PLOS ONE*, vol. 12, p. e0181555, 2017.
- [24] B. Lopez-Alonso, H. Sarnago, Ó. Lucía, N. Alejandro, A. Güemes, A. Hernández, *et al.*, "Electro-Thermal Modeling and Characterization of Irreversible Electroporation of Large Tissues for Cancer Treatment," presented at the 2nd World Congress on Electroporation, Norfolk, 2017.
- [25] J. Alba, A. González-Suárez, M. Trujillo, and E. Berjano, "Theoretical and experimental study on RF tumor ablation with internally cooled electrodes: When does the roll-off occur?," in *2011 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, 2011, pp. 314-317.