

ESTUDO NUMÉRICO DA ELETROQUIMIOTERAPIA EM TUMOR CUTÂNEO COM ELETRODOS DE PLACAS E AGULHAS

G. G. Neves*, J. A. Berkenbrock*, M. M. M. Rangel** e D. O. H. Suzuki*

*Instituto de Engenharia Biomédica (IEB), Departamento de Engenharia Elétrica e Eletrônica, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis-SC, Brasil

** Vet Cancer Oncologia Veterinária, São Paulo-SP, Brasil

e-mail: gabriel.g.neves@hotmail.com

Resumo: A eletroquimioterapia é um tratamento para o câncer que associa a aplicação de drogas quimioterápicas (bleomicina ou cisplatina) ao efeito de intensos campos elétricos. O procedimento de operação padrão da eletroquimioterapia (ESOPE) propõe a utilização de placas paralelas em tumores superficiais, independente do tamanho ou da quantidade dos mesmos. Neste trabalho é apresentada uma análise *in silico* da efetividade da eletroquimioterapia utilizando eletrodos de agulha em tumores superficiais. O modelo numérico de tumor foi previamente validado numa aplicação veterinária com uso de eletrodos de placas. A utilização de eletrodos de agulhas apresenta efetividade similar aos eletrodos de placas no tratamento de tumores. Entretanto, quando se utiliza estes últimos eletrodos, o potencial elétrico deve ser ajustado para a distância entre as placas. Sendo assim, a utilização de agulhas aparenta ser mais conveniente quando há grande quantidade de pequenos tumores (*e.g.*, maior que 5).

Palavras-chave: eletroporação, eletropermeabilização, eletroquimioterapia, tumor cutâneo, campos elétricos.

Abstract: *Electrochemotherapy is a cancer treatment that uses chemotherapy drugs (bleomycin or cisplatin) in combination with intense electric fields. The Standard operating procedures of the electrochemotherapy (ESOPE) suggests the utilization of plate electrodes on superficial tumors independent of their number or size. This study presents an in silico analysis of the electrochemotherapy effectiveness of using needle electrodes on superficial tumors. The numerical model of the tumor was previously validated in an experimental study using with plate electrodes. The use of needle electrodes showed similar effectiveness than plate electrodes in tumor treatment. However, when using the latter electrode, the electrical potential must be adjusted according to the distance between the plates. Thus, the use of needles seems to be more convenient for a large number of small tumors (eg, greater than 5).*

Keywords: *electroporation, electropermeabilization, electrochemotherapy, cutaneous tumor, electric fields.*

Introdução

A eletroquimioterapia é um tratamento de câncer que utiliza a combinação de drogas quimioterápicas (cisplatina ou bleomicina) e campos elétricos intensos. Além da eletroquimioterapia, o mesmo fenômeno é

utilizado na transferência genética, vacina de DNA, entre outras aplicações [1]. A base teórica por trás destas aplicações é a eletroporação. Este fenômeno permite o aumento da permeabilidade da membrana das células, uma vez que, a aplicação de campos elétricos provoca um aumento da diferença de potencial transmembrana. Quando este ultrapassa 200 mV [2], a abertura de poros permite a entrada de moléculas e plasmídeos para o interior da célula.

A efetividade da eletroquimioterapia em humanos vem sendo apresentada nos tratamentos com tipos diferentes de tumores (*e.g.*, mastocitomas, sarcomas, entre outros) [3]. Como os tumores apresentam formatos diferentes e estão localizados em profundidades diversas, soluções numéricas para verificar esta distribuição de campo elétrico são importantes para a eficiência e segurança do tratamento.

Trabalhos anteriores [4], [5] demonstram que utilizar valores constantes de condutividade elétrica dos tecidos não reflete os resultados experimentais. Tais trabalhos demonstram um aumento da condutividade dos tecidos dependente do campo elétrico local, este efeito ocorre devido à eletroporação.

No Brasil, a eletroquimioterapia está sendo aplicada na área veterinária [6]. Os pacientes (em geral, cães) apresentam grandes variações de espessura da epiderme e derme. Desta forma, pode haver alterações na efetividade do tratamento. A fim de estudar a robustez da eletroquimioterapia, Suzuki *et al.* [6] analisa a variação deste parâmetro em um tumor isolado, superficial, com diâmetro de 5 mm utilizando placas paralelas (conforme recomendado no *European Standard Operating Procedures of Electrochemotherapy*, ESOPE [7]). O presente estudo propõe um comparativo qualitativo entre a utilização de placas paralelas e agulhas no tratamento de tumores cutâneos com eletroquimioterapia.

Materiais e métodos

A geometria, mostrada na Figura 1a, modela a aplicação da eletroquimioterapia com placas em um tumor [6]. A distância entre as placas e também entre as fileiras de agulhas é de $d=5\text{ mm}$. A geometria dos eletrodos de agulhas, Figura 1b, foi baseada nas disponíveis comercialmente. Foi aplicado um potencial elétrico constante entre as fileiras de agulhas de $V=650\text{ V}$. A Figura 1 apresenta um mastocitoma com um

diâmetro de 5 mm. A epiderme+*stratum corneum* (SC) possui uma espessura de 0,05 mm de profundidade, a derme com 1 mm, o músculo com 10 mm.

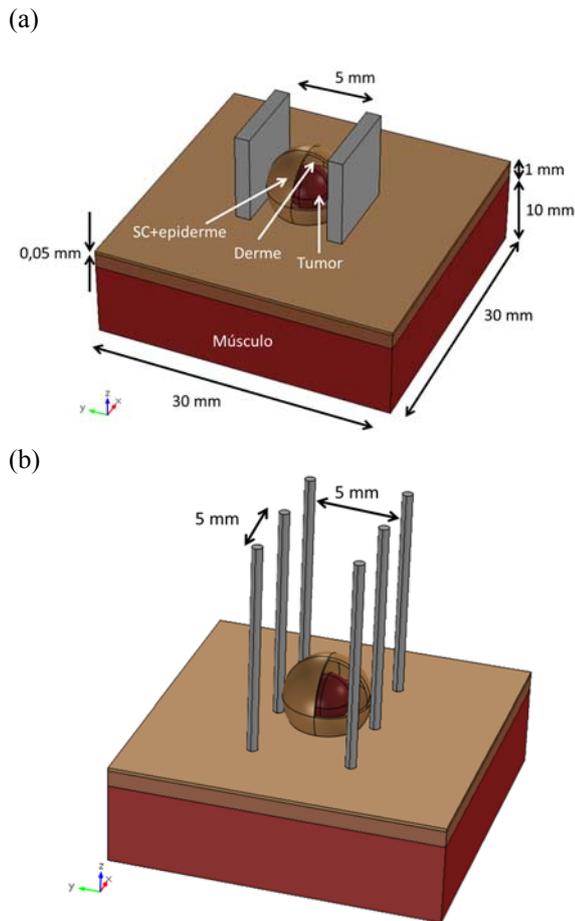


Figura 1: Geometria tridimensional do tumor cutâneo com aplicação dos campos elétricos com (a) placas paralelas e (b) eletrodo com três pares de agulhas. Este modelo apresenta quatro tipos de tecidos: epiderme+*stratum corneum* (SC), derme, músculo e tumor.

A distribuição do campo elétrico nos tecidos causada pela aplicação dos pulsos elétricos (1300 V/cm, 8 pulsos de 100 μ s e 1 Hz segundo ESOPÉ [7]) foi determinada pela resolução da equação de Laplace (1). A simulação foi feita utilizando o COMSOL Multiphysics® software package, e mesh com elementos tetraédricos. O modelo foi simulado num computador pessoal (Intel Core i5-2500, 3.3 GHz CPU, 4 GB RAM) com sistema operacional Windows 7.

$$-\nabla \cdot (\sigma \nabla V) = 0 \quad (1)$$

onde σ e V são a condutividade elétrica do tecido [S/m] e o potencial elétrico [V], respectivamente.

Quando o potencial elétrico aplicado não é suficiente para produzir um campo elétrico local (E) maior que o limiar de eletroporação reversível (E_{rev}), podemos considerar o tecido com uma condutividade constante (σ_0). Se o campo elétrico local exceder o valor de E_{rev} , a

condutividade do tecido aumenta devido à eletroporação. Então, σ é dependente do campo elétrico, $\sigma(E)$, e é expresso segundo [8]:

$$\sigma(E) = \sigma_0 + \frac{\sigma_{max} - \sigma_0}{1 + D \cdot e^{-\left(\frac{E-A}{B}\right)}} \quad (2)$$

$$A = \frac{E_{irrev} + E_{rev}}{2}$$

$$B = \frac{E_{irrev} - E_{rev}}{C}$$

onde σ_{max} é a máxima condutividade do tecido permeabilizado, E_{rev} e E_{irrev} são os limiares de campo elétrico para eletroporação reversível e irreversível, respectivamente. $C = 8$ e $D = 10$ [8] são parâmetros da função sigmoide. Os valores de σ_0 , σ_{max} , E_{rev} e E_{irrev} para cada tecido são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros elétricos dos tecidos [8].

	σ_0 (S/m)	σ_{max} (S/m)	E_{rev} (kV/m)	E_{irrev} (kV/m)
SC+Epiderme	0,008	0,800	40	120
Derme	0,250	1,000	30	120
Músculo	0,135	0,340	20	80
Tumor	0,300	0,750	40	80

Resultados

A Figura 2 apresenta vistas da simulação com placas paralelas com campo elétrico aplicado de 1300 V/cm, com modelo de condutividade de tecido dependente do campo elétrico local (Equação 2). A área com cores diferentes de branco e preto representam áreas onde haverá uma efetividade do tratamento. Nas áreas de cor preta não existem campos elétricos suficientes para que a eletroporação ocorra. Para as áreas brancas os campos elétricos locais são maiores que E_{irrev} .

A distribuição de campo elétrico local depende da geometria dos eletrodos, e a Figura 3 apresenta o resultado desta distribuição com seis agulhas tocando o tumor e a pele.

Discussão

A eletroquimioterapia é uma técnica que está sendo utilizada em todo o mundo, com sucesso, para o tratamento de tumores cutâneos e subcutâneos tanto em animais não humanos [6] quanto em humanos [3]. Atualmente, esta técnica é empregada na eliminação de tumores internos [9]. Contudo, os modelos para a dependência da condutividade do tecido com o campo elétrico ainda não estão completamente definidos. O modelo apresentado [8] comparado com resultados experimentais [4], [5], [6] e [8] tem significativa efetividade na determinação da área que será atingida pelo tratamento. No entanto, o limiar de campo elétrico local para a eletroporação irreversível é questionável, pois não há estudos que tenham clinicamente observado áreas de necrose equivalentes aos sugeridos por

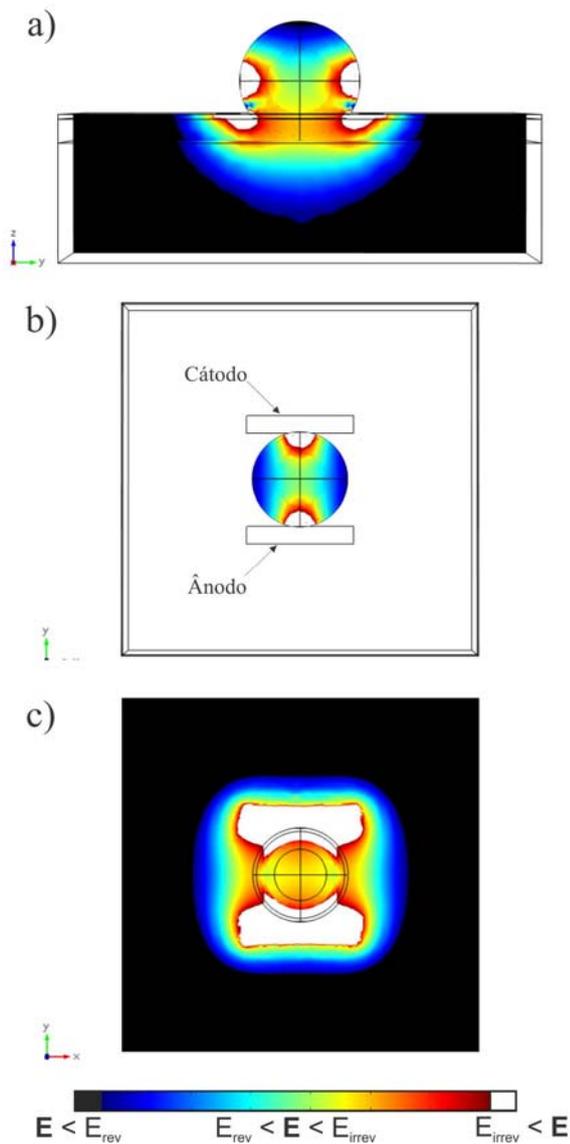


Figura 2: Distribuição de campo elétrico local na aplicação de campo elétrico com placas de 1300 V/cm com tumor subcutâneo. Os campos elétricos locais para campos menores que E_{rev} e maiores que E_{irrev} são representados pelas cores pretas e brancas, respectivamente. (a) Vista em corte frontal entre as barras e o tumor, (b) vista superior com corte na altura onde o eletrodo encosta na pele sob o tumor e (c) vista superior com corte na altura da epiderme.

resultados de simulações. Os modelos numéricos da eletroquimioterapia de tumores internos são essenciais para a análise pré-operatória. Desta forma, pode-se determinar, antes da cirurgia, parâmetros como intensidade do campo elétrico a ser aplicado, tipo de eletrodo adequado, distribuição de campos que podem afetar órgãos importantes, dependendo da posição, e tamanho do tumor.

Um dos pontos fortes da eletroquimioterapia está na sua seletividade. Isto é, apenas as células tumorais tendem a serem eliminadas e o tecido sadio é pouco afetado. A bleomicina é aplicada, geralmente,

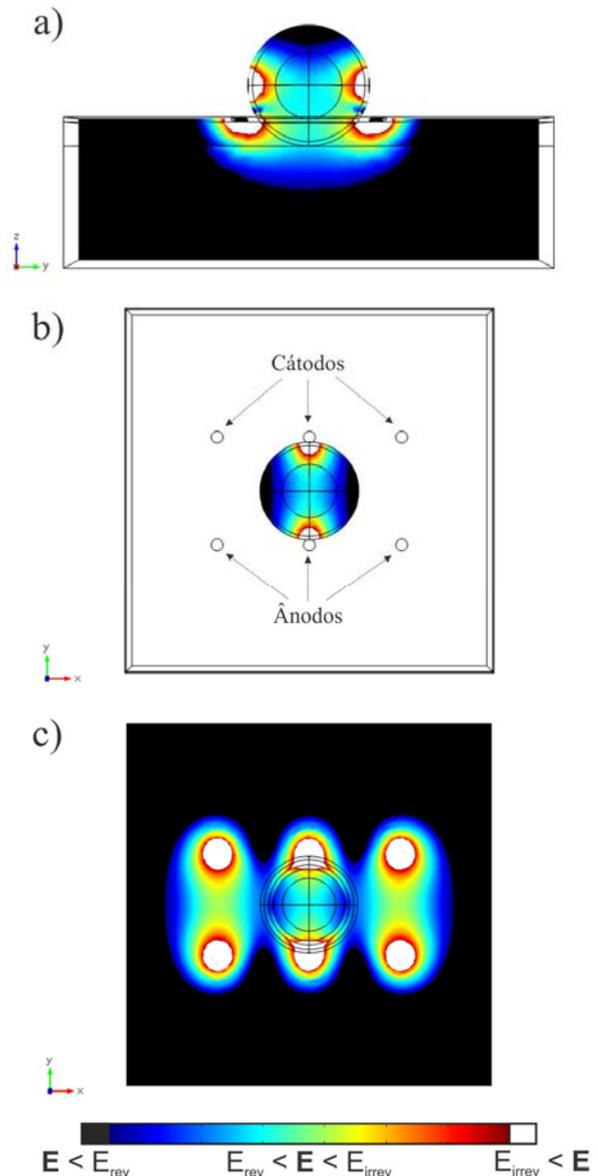


Figura 3: Distribuição de campo elétrico local na aplicação de campo elétrico com seis agulhas de 1300 V/cm com tumor subcutâneo. (a) Vista em corte frontal entre as agulhas e o tumor, (b) vista superior com corte na altura onde o eletrodo encosta na pele sob o tumor e (c) vista superior com corte na altura da epiderme.

intravenosa, em uma pequena quantidade. O campo elétrico permite a entrada da droga tanto em células sadias quanto tumorais. No entanto, as células tumorais irão sofrer uma morte mitótica que elimina as células em divisão e preserva as células normais sem divisão [10].

Os resultados experimentais [6] e numéricos da aplicação da eletroquimioterapia com placas, Figura 2, permitem concluir que o modelo tumoral utilizado neste estudo é satisfatório. Todavia, na aplicação prática, a utilização das placas pode ser desconfortável para médicos e veterinários, uma vez que, variações na

distância entre placas implicam na necessidade de alterar a intensidade de potencial elétrico aplicado. As Figuras 2 e 3 demonstram que a utilização de agulhas no lugar de placas é possível, pela observação das regiões de campo elétrico serem adequadas ($E_{rev} > E > E_{irrev}$) ao redor de todo o nódulo tumoral, assim, o tumor possivelmente será eliminado com esta técnica. Utilizando o mesmo eletrodo de agulhas, o potencial aplicado será sempre o mesmo (650 V). Normalmente, o paciente está anestesiado. Se existe um grande número de tumores (mais que 5 [7]), a utilização de placas torna o procedimento demorado, já que para cada tumor seria necessário ajustar a intensidade do potencial elétrico (para obtenção de campos elétricos de 1300 V/cm [8]).

Deve-se fazer algumas ressalvas para ambos os casos. Tanto para agulhas quanto para placas, os eletrodos devem ter contato com a epiderme que envolve o tumor. Caso isso não ocorra, o tratamento não é efetivo. Ivorra *et al.* [5] aplica gel condutor sobre o tumor para melhorar este contato elétrico, Corovic *et al.* [11] propõe que sejam usadas apenas placas e que estas devam pressionar o tumor.

Para ambos os casos, o campo elétrico local alcança profundidades além dos limites dos eletrodos (Fig. 2a e 3a). Este efeito é mais visível com placas, mostrando que o tratamento pode eliminar possíveis células tumorais que tenham se espalhado na vizinhança do tumor.

Conclusão

Verificou-se neste estudo, que tanto eletrodos com placas paralelas quanto de agulhas são adequadamente representados em simulação e os resultados demonstram áreas de eletropoção similar à prática do tratamento da eletroquimioterapia de tumores cutâneos. Este tratamento vem demonstrando sua efetividade em vários tipos tumorais e tem sido aplicado no Brasil na oncologia veterinária.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer ao CNPq e Capes pelo apoio financeiro.

Referências

- [1] Kee ST, Gehl J, Lee EW. Clinical Aspects of Electroporation. New York, NY: Springer New York, 2011.
- [2] Teissie J, Rols M-P. An experimental evaluation of the critical potential difference inducing cell membrane electropermeabilization. Biophysical journal. 1993. 65(1); p. 409-13.
- [3] Mali B, Jarm T, Snoj M, Sersa G, Miklavcic D. Antitumor effectiveness of electrochemotherapy: a systematic review and meta-analysis. European journal of surgical oncology: the journal of the European Society of Surgical Oncology and the

- British Association of Surgical Oncology. 2013. 39(1); p. 4–16.
- [4] Corovic S, Lackovic I, Sustaric P, Sustar T, Rodic T, Miklavcic D. Modeling of electric field distribution in tissues during electroporation. Biomedical Engineering Online. 2013. 12(1); p. 16.
- [5] Ivorra A, Al-Sakere B, Rubinsky B, Mir LM, Use of conductive gels for electric field homogenization increases the antitumor efficacy of electroporation therapies. Physics in Medicine and Biology. 2008 53(22); p. 6605–18.
- [6] Suzuki DOH, Anselmo J, Oliveira KDde, Freytag J O, Rangel MMM, Marques JLB, Ramos A. Numerical Model of Dog Mast Cell Tumor Treated by Electrochemotherapy. Artificial Organs, in press, Aug. 2014.
- [7] Mir LM, Gehl J, Sersa G, Collins CG, Garbay J-R, Billard V, Geertsen PF, Rudolf Z, O'Sullivan GC, Marty M. Standard operating procedures of the electrochemotherapy: Instructions for the use of bleomycin or cisplatin administered either systemically or locally and electric pulses delivered by the Cliniporator™ by means of invasive or non-invasive electrodes. European Journal of Cancer Supplements. 2006. 4(11); p. 14–25.
- [8] Miklavcic D, Sel D, Cukjati D, Batiuskaite D, Slivnik T, Mir L. Sequential finite element model of tissue electropermeabilisation. IEEE Transactions on Biomedical Engineering. 2005. 52(5); p. 816–27.
- [9] Miklavcic D, Snoj M, Zupanic A, Kos B, Cemazar M, Kropivnik M, Bracko M, Pecnik T, Gadzijevec E, Sersa G. Towards treatment planning and treatment of deep-seated solid tumors by electrochemotherapy. Biomedical Engineering Online. 2010. 9; p. 10.
- [10] Mir LM, Bases and rationale of the electrochemotherapy. European Journal of Cancer Supplements. vol. 4, no. 11. 2006. p. 38–44.
- [11] Corovic S, Al-Sakere B, Haddad V, Miklavcic D, Mir LM. Importance of contact surface between electrodes and treated tissue in electrochemotherapy. Technology in Cancer Research & Treatment. 2008. 7(5); p. 393–400.