



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE COMPUTACIÓN

Modelado bidimensional para tratamientos electroquímicos de tumores

Tesis presentada para optar al título de
Licenciado en Ciencias de la Computación

Herman Schinca

Directores: Dr. Pablo Turjanski, Dr. Nahuel Olaiz
Buenos Aires, 2015

Resumen

El cáncer representa una de las principales causas de muerte por enfermedad a nivel mundial. Frente a los tratamientos tradicionales (quimioterapia, cirugía, etc.), las Electroterapias se presentan como una alternativa más segura, eficiente y económica. En particular, en este trabajo se estudian la Ablación Electrolítica (EA) y la Electroquimioterapia (ECT) en modelos bidimensionales.

En la primera parte, se extiende a dos dimensiones un modelo unidimensional de EA preexistente permitiendo a su vez colocar en el tejido una cantidad arbitraria de electrodos. En la segunda parte, se introduce el concepto de electropermeabilización y se modifica el modelo anterior para capturar esta noción y analizar su impacto en la terapia. En la tercera parte, se presenta un modelo bidimensional con factor de permeabilización para ECT. Los resultados, además de ser contrastados con los obtenidos en trabajos previos en el área, son puestos a prueba con un modelo *in vitro* para la segunda parte y con un modelo *in vivo* para la tercera.

Se espera que los resultados de esta tesis representen un aporte significativo a la mejora en el diseño de tratamientos para la EA y la ECT permitiendo, a través de la simulación numérica, ajustar los distintos parámetros de ambas terapias (configuración de los electrodos, corriente eléctrica aplicada, tamaño del tejido, tiempo de aplicación, etc.) en la fase preclínica.

Palabras claves: Simulación Numérica, Diferencias Finitas, Electroterapia, Ablación Electrolítica, Electroquimioterapia.

Abstract

Cancer is one of the main causes of death by sickness in the world. Compared to traditional treatments (chemotherapy, surgery, etc.), Electrotherapies represent a more secure, efficient and economical alternative. In particular, in this work we study Electrolytic Ablation (EA) and Electrochemotherapy (ECT) in two-dimensional models.

In the first part, we extend to two dimensions a preexisting EA one-dimensional model allowing to place an arbitrary amount of electrodes in the tissue. In the second part, we introduce the concept of electropermeabilization and we modify the previous model to capture this notion and to analyze its impact on the therapy. In the third part, we present a two-dimensional model with permeabilization factor for ECT. Results are contrasted with those obtained in previous work in the area and they are tested with an *in vitro* model for the second part and an *in vivo* model for the third one.

It is expected that results of this thesis represent a significant contribution to improving the design of treatments for EA and ECT allowing, through numerical simulation, adjust parameters of both therapies (configuration of the electrodes, applied electric current, tissue size, time of application, etc.) in the preclinical phase.

Keywords: Numerical Simulation, Finite Difference, Electrotherapy, Electrolytic Ablation, Electrochemotherapy.

Agradecimientos

A mi mamá por haberme apoyado, acompañado, aguantado, motivado y, por sobre todas las cosas, amado incondicionalmente estos 28 años de vida.

A todas las valiosas amistades que fui cosechando a lo largo de la carrera: Facu, Manu, Lu, Pato, Sergio, Kivi, Gonza, Martín, Juan, Gabi, Nico, Lucho, Fede, Dani, Hernán, Pablo, Emi y un injusto etc. que no termina de completar esta larga lista.

A mi muy querido y gran amigo Mati por haberme incentivado y acompañado desde mis inicios como divulgador, allá por el 2008.

A todos aquellos con quienes tuve la suerte de dar una materia y de quienes tanto aprendí: Hernán, Santi, Mariano, Flor, Martín, Facu, Agustín son algunos nombres a lo largo de estos 7 años como docente.

A Guille, con quien compartí muchas jornadas de divulgación y apasionantes charlas sobre los más diversos temas. Jamás olvidaré aquel primer evento: esa aula Magna con 200 chicos y chicas esperando escuchar lo que teníamos para decir.

A todos los alumnos y alumnas de quienes tanto he aprendido y me han ayudado a crecer como docente cuatri a cuatri.

A tanta gente querida que me brindó y brinda su corazón y que me hacen ser una persona por demás afortunada: Agus, Ramón, Meli, Vackys, Char, Zeze, Belu, Gonza, Emi, Pancho, Samy, Noralí, Néstor, Oli, la gente de natación y de EnLaTecla.

A Mariana por compartirme todo su amor con alegría y con pasión.

A Diego por su inestimable ayuda en mi viaje a Francia.

A la gente querida de la Fundación Sadosky que hacen de mis días el mejor plan.

A Pablo y Nahuel por estar siempre presentes y no dejarme claudicar.

A Mercedes y Melina por sostenerme en la recta final.

A los hombres y mujeres que lucharon y luchan día a día por un país más justo e igualitario donde todos tengamos la suerte que tuve yo: poder elegir estudiar en una Universidad pública, gratuita y de calidad.

¡Gracias!

A mi mamá

Índice general

1. Introducción	1
1.1. Motivación	1
1.2. Electroterapias	2
1.2.1. EA	2
1.2.2. Electroporación	3
1.3. Trabajos previos	5
1.4. Metodología	5
1.5. Estructura del informe	6
2. Modelo en 2D para EA: seis configuraciones de electrodos	7
2.1. Modelo físico-matemático	8
2.1.1. Ecuaciones en el Dominio	10
2.1.2. Ecuaciones en los ánodos	12
2.1.3. Ecuaciones en los cátodos	13
2.1.4. Condiciones de borde	14
2.1.5. Condiciones iniciales	14
2.1.6. Disposición de los electrodos	15
2.2. Modelo computacional	16
2.2.1. Discretización de la ecuación de transporte	16
2.2.2. Discretización de la ecuación del potencial eléctrico	18
2.2.3. Discretización de las ecuaciones en los ánodos	18
2.2.4. Discretización de las ecuaciones en los cátodos	19
2.2.5. Discretización de las condiciones de borde	20
2.2.6. Criterios de convergencia	20
2.2.7. Corridas y parámetros	21
2.3. Resultados y discusión	22
2.4. Conclusiones	31
3. Modelo en 2D con factor de permeabilización para EA	33
3.1. Modelo físico-matemático	34

3.2. Modelo computacional	38
3.2.1. Discretización de la ecuación de transporte	38
3.2.2. Discretización de la ecuación del potencial eléctrico	38
3.2.3. Corridas y parámetros	39
3.3. Modelo <i>in vitro</i>	39
3.4. Resultados y discusión	40
3.5. Conclusiones	47
4. Modelo en 2D con factor de permeabilización para ECT	49
4.1. Modelo físico-matemático	50
4.1.1. Submodelo <i>ON time</i>	51
4.1.2. Submodelo <i>OFF time</i>	51
4.2. Modelo computacional	52
4.2.1. Corridas y parámetros	53
4.3. Modelo <i>in vivo</i>	53
4.4. Resultados y discusión	54
4.5. Conclusiones	60
5. Conclusiones	61
6. Trabajos Futuros	63
A. El cáncer	65
B. Material entregado	67

Capítulo 1

Introducción

1.1. Motivación

El cáncer es una enfermedad que afecta a todos los estamentos de la sociedad y se ha convertido en una de las principales causas de muerte a nivel mundial según la Organización Mundial de la Salud [1]. Solamente en el año 2012 se han contabilizado 14 millones de afectados y 8.2 millones de decesos debido a este mal, previéndose un incremento significativo para las próximas décadas [2]. Si tenemos en cuenta que la estimación sobre el total de muertes a nivel mundial durante el año 2012 ronda las 56 millones de personas [3], el cáncer representa cerca del 15 % del total. Nuestro país no es ajeno a estas estadísticas, siendo la principal causa de muerte en la franja etaria que va desde los 40 a los 64 años y la segunda en las franjas de 5 a 39 años y mayores de 64, superando la cifra de 60.000 fallecimientos durante 2012, ubicándose de este modo entre los países cuya incidencia es media-alta [4]. Para mayor información sobre el cáncer y sus causas ver el [Apéndice A](#).

A pesar de todo el trabajo y esfuerzo que se invierte en la prevención, también es de suma importancia la investigación y la mejora en el desarrollo de las técnicas que permitan tratar el cáncer cuando éste es diagnosticado. Actualmente, muchos de los tratamientos acarrearán costos sumamente elevados e importantes efectos secundarios con resultados muchas veces parciales o paliativos.

Uno de los procedimientos más antiguos es la *cirugía*, cuyo objetivo consiste en la extirpación parcial o total del tejido canceroso. También puede utilizarse como diagnóstico o para hacer un análisis exploratorio y determinar las características del mismo (zona en donde está alojado, dimensiones, si hay ramificaciones, etc.). Otra de las alternativas es la *quimioterapia* que consiste en la utilización de potentes fármacos con los cuales se busca destruir a las células tumorales con el objetivo de eliminar el cáncer, o de controlarlo o aminorar sus síntomas si no fuera posible su eliminación. Un tercer tipo de tratamiento es la *radioterapia* en donde a través de la aplicación de radiación de alta energía se pretende alterar la química de las células con el fin de eliminar las cancerosas sin afectar el tejido

sano.

Entre las distintas dificultades que se presentan al momento de llevar adelante un tratamiento antitumoral, uno de los problemas más importantes es el transporte de la droga, para el caso de tratamientos basados en la dosificación de drogas antitumorales. Teniendo en cuenta que el destino final de la droga es el interior de las células tumorales, previamente debe atravesar distintas barreras biológicas y fisicoquímicas que impactan fuertemente en la cantidad de droga a administrar para que el tratamiento surta el efecto deseado. Entre ellas podemos destacar la pared del endotelio vascular, el tejido intersticial y la membrana plasmática.

En este trabajo me propongo analizar los tratamientos que involucran la utilización de campos eléctricos, mejor conocidos como *Electroterapias*, los cuales se presentan como una alternativa más segura y económica a las metodologías descriptas previamente [5–8]. Entre ellos podemos destacar la Ablación Electrolítica (EA), la Electroquimioterapia (ECT), la Electroterapia Génica (EGT) [7, 9–11] y la Electroporación Irreversible (IRE) [12–16]. A continuación se describen los primeros dos tratamientos, objetos de estudio de la presente investigación.

1.2. Electroterapias

1.2.1. EA

EA es una terapia en la cual se insertan 2 o más electrodos en el tejido tumoral y se aplica corriente eléctrica continua durante un período largo de tiempo con el objetivo de destruir dicho tejido.

Aproximaciones a la utilización de la corriente eléctrica para el tratamiento de tumores datan desde el siglo XVIII. En particular, sobre el uso de la EA, se sabe que los primeros pasos fueron dados por Crussel a mediados del siglo XIX. A pesar de estos primeros intentos que se fueron dando a lo largo de la historia de la EA, fue en Suecia, con las investigaciones de Björn Nordenström, donde durante la década de 1980 se publicaron una serie de trabajos acerca del tratamiento en pacientes humanos, principalmente padecientes de cáncer de pulmón. Si bien sus resultados fueron sumamente positivos, obteniéndose una regresión del tumor en 12 de los 26 pacientes que trató sin observarse signos de reaparición, no tuvo mucho impacto en el mundo médico y académico occidental [17, 18].

En China, a finales de los 80' y de la mano del profesor Xin Yu-Ling, se retomó el trabajo iniciado por Nordenström, habiendo formado ya para el año de 1998 más de 2000 médicos especialistas en EA y habiéndose tratado hasta la fecha más de 20.000 pacientes. En un estudio presentado en el año 2001, Xin muestra una tasa de efectividad del tratamiento que supera el 78 % [19–21].

En consonancia con las investigaciones llevadas a cabo por Nordenström y Xin Yu-Ling, varios grupos de investigación también comenzaron a tratar el tema: Eslovenia [22–25],

Alemania [26–29], Australia y Gran Bretaña [30–32], Cuba [33–38] y en menor medida en Brasil [39], Corea [40] y EEUU [41]. Para una descripción más detallada al respecto se pueden ver las recopilaciones que hicieron Nilsson *et al.* [42] y, más recientemente, Ciria *et al.* [43].

Generalmente, la EA es utilizada en combinación con otros tratamientos como la radio y la quimioterapia, o en el caso de tumores muy voluptuosos para poder reducirlos previo a la cirugía. Además de lo simple de su administración, el bajo costo de tratamiento, su eficacia y efectos secundarios mínimos en comparación con otras terapias, la EA puede ser aplicada sucesivas veces dado que no se desarrolla una resistencia significativa en el organismo como sí ocurre en la quimioterapia, por ejemplo [42].

Algunas características distintivas del tratamiento son la aplicación de corriente continua –en contraposición a otros tratamientos con corriente pulsátil que serán abordados en la siguiente sección– a intensidad baja y constante (1-200 mA) en toda la zona tumoral.

Por último, cabe destacar que además de las experiencias médicas llevadas adelante a lo largo de los años, también existe mucho trabajo teórico realizado (ver [sección 1.3. “Trabajos previos”](#)) con el objetivo de obtener un modelo confiable que permita analizar las distintas variables involucradas en la EA: carga eléctrica a aplicar (intensidad de corriente y tiempo de aplicación), diseño de los electrodos (cantidad, forma, ubicación y disposición espacial), tipo de terapia (anódica, catódica o ambas), cantidad de días que se aplica, y posible aplicación combinada con otras terapias [5].

1.2.2. Electroporación

La Electroporación (ET) o Electroporación se basa en el uso de pulsos eléctricos de alto voltaje y corta duración que permiten la permeabilización de la membrana celular mediante la formación de poros a través de los cuales pueden introducirse distintos fármacos. En función de cómo estos pulsos sean aplicados (intensidad de corriente utilizada, duración, etc.) la electroporación puede ser temporal o permanente. Dentro del primer grupo se encuentran tratamientos tales como ECT y EGT en los cuales se utiliza la electroporación *reversible* para permitir el pasaje de un agente terapéutico poco permeable al interior de la célula en tanto que en el segundo grupo podemos mencionar la IRE, tratamiento que busca necrosar el tejido tumoral a través de la permeabilización *irreversible* de la membrana celular lo cual produce la muerte de las células.

Los orígenes de la ECT datan de finales de la década de los 80' cuando el equipo francés, a cargo de L.M. Mir, combinó dos hallazgos de suma importancia. En principio, pudieron notar que mediante el uso de un generador de pulsos de ondas cuadradas se podía electroporabilizar a las células expuestas a la corriente eléctrica sin que esto implicara la muerte de las mismas. Por otro lado, esto brindaba la posibilidad de poder introducir al interior de la célula moléculas no permeables actuando de manera más certera. Los resultados fueron muy significativos: utilizando bleomicina junto con la electroporabi-

ECT

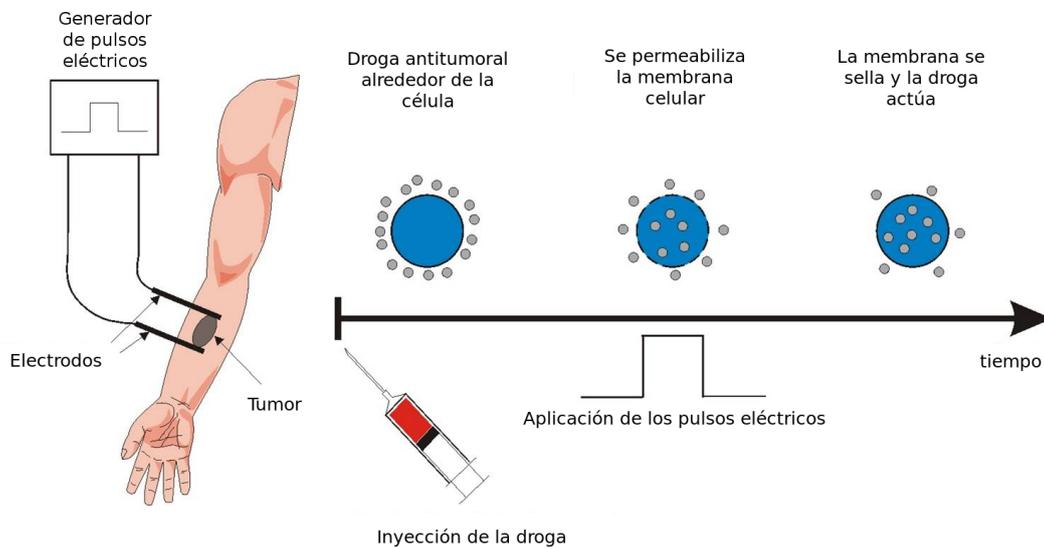


Figura 1.1: Esquema de aplicación de ECT.

lización de las células se pudo medir un incremento de miles de veces en la toxicidad de esta droga [44].

Además de su utilización con bleomicina, se han realizado investigaciones con otras drogas antitumorales de elevada toxicidad pero no permeables a la membrana celular como, por ejemplo, el cisplatino [45], atacando, de este modo, uno de los inconvenientes más importantes con el que lidia la quimioterapia: la dificultad impuesta por la membrana citoplasmática al transporte de la droga.

Una de las principales ventajas de la ECT frente a la quimioterapia es que, al aumentar en varios órdenes de magnitud el efecto de la droga antitumoral, se puede reducir la dosis necesaria para el tratamiento disminuyendo significativamente sus efectos colaterales [44]. En los últimos años ya se han llevado adelante experiencias en nódulos tumorales cutáneos y subcutáneos en seres humanos pasando de esta forma a fase clínica [46–48]. En la **Figura 1.1** se puede apreciar el esquema de aplicación de un tratamiento típico consistente en la aplicación de 8 pulsos de onda cuadrada de gran amplitud (1000 V/cm) de muy corta duración (100 μ s) con una frecuencia de 1 Hz, es decir, un pulso por segundo, previa inyección del fármaco antitumoral por vía intravenosa, peri o intratumoral [49].

1.3. Trabajos previos

La dificultad que supone la medición del campo eléctrico generado y las zonas de permeabilización, determina la necesidad de construir modelos *in silico* que permitan ver y analizar el alcance de las terapias. En este sentido, los trabajos realizados por Nilsson *et al.* [50–53] y, más tarde, por Colombo *et al.* [54] y Turjanski *et al.* [55] proponen modelos *in silico* para el estudio de la EA. En el modelo de Nilsson *et al.* se representa un solo electrodo a la vez, suponiendo el otro ubicado en el infinito. Por su parte, Turjanski *et al.* integran ambos electrodos en un único modelo unidimensional. En ambos trabajos se observa que los perfiles de pH obtenidos muestran una buena correlación con las zonas de destrucción obtenidas de manera experimental, evidenciando que al superar ciertos umbrales, el pH produce una destrucción del tejido tumoral. Por otro lado, Bergues *et al.* [38] realizan un estudio analítico y numérico en 2 dimensiones de la distribución del potencial y el campo eléctrico dentro del tejido afectado, proponiendo y comparando distintas configuraciones de electrodos (elíptica, parabólica e hiperbólica).

Por otra parte, en [56], Turjanski *et al.* abordan un nuevo modelo unidimensional *in silico* para ECT en donde se estudia el efecto obtenido a través de la aplicación de micropulsos eléctricos de alto voltaje, evidenciando buena correlación con los perfiles de pH anódico obtenidos de manera experimental en el modelo *in vitro*. Más aún, uno de los resultados sobresalientes obtenidos en este trabajo fue que la superficie acidificada es mucho mayor que en los modelos de EA, sugiriendo que, en consecuencia, la porción de tejido necrosado podría ser también superior.

1.4. Metodología

El carácter multidisciplinario y la complejidad que reviste el abordaje de este tipo de problemáticas requiere un análisis en distintos niveles. Por ello es que, además de la fase clínica, fin último de la mejor aplicación y utilización de estos tratamientos, se trabaja con distintos tipos de modelos que ayudan a comprender cuáles son sus características distintivas y cómo afectaría un cambio en el diseño de la terapia (variación en la aplicación de la corriente, redistribución de los electrodos, tamaño del tumor, etc.). Para ello contamos con 3 tipos de modelos diferentes: *in silico*, *in vitro* e *in vivo*.

El modelo *in silico* consiste en un sistema determinístico de ecuaciones de reacción-transporte que describe las leyes de la conservación y que busca capturar los aspectos característicos de los procesos físico-químicos que ocurren a nivel macroscópico durante el desarrollo de cada una de las terapias. Para su resolución se utilizan distintas estrategias computacionales derivadas del análisis numérico debido a que se tratan de sistemas no lineales de ecuaciones diferenciales, para los cuales no existen métodos exactos de resolución.

El modelo *in vitro* elegido tiene por objetivo aplicar los tratamientos a un gel de colágeno de tipo I dado que sus propiedades físico-químicas e hidrodinámicas son, en cierto punto, similares a las que se hallan en el intersticio de un tumor sólido. La literatura sugiere que es un buen modelo simplificado del transporte de las especies químicas en el tumor [57,58]. Esta clase de modelos resultan muy útiles a la hora del diseño del modelo *in silico* puesto que nos permite realizar una vasta cantidad de experimentación de manera rápida y de bajo costo tanto para comprender qué aspectos de las ecuaciones refinar como para su posterior validación.

Por último, como modelo *in vivo* se propone la aplicación del tratamiento a una rodaja de papa, modelo que ya ha sido utilizado en otros trabajos científicos en los que se estudian distintos aspectos relativos a la Electroporación [59–63] y que resultará de suma utilidad para analizar el área permeabilizada del tejido.

1.5. Estructura del informe

A continuación un breve resumen sobre la organización del trabajo:

- ☞ En el **Capítulo 2. “Modelo en 2D para EA: seis configuraciones de electrodos”** se propone una extensión a 2 dimensiones del modelo de EA propuesto por Turjanski *et al.* [55]. A su vez, se estudia cómo evoluciona dicho modelo para las distintas configuraciones de electrodos propuestas por Bergues *et al.* [38].
- ☞ En el **Capítulo 3. “Modelo en 2D con factor de permeabilización para EA”** se extiende el modelo del Capítulo 2 mediante la inclusión del factor de permeabilización y se lo coteja con experimentos *in vitro*.
- ☞ En el **Capítulo 4. “Modelo en 2D con factor de permeabilización para ECT”**, utilizando como base el desarrollo realizado en el Capítulo 3 y las ideas expuestas en [56], se presenta y analiza un modelo 2D de ECT con factor de permeabilización.
- ☞ En el **Capítulo 5. “Conclusiones”** se presentan las conclusiones obtenidas a partir del estudio y análisis de los modelos propuestos en los capítulos anteriores.
- ☞ En el **Capítulo 6. “Trabajos Futuros”** se reseñan brevemente las líneas de trabajo que surgen a partir del trabajo realizado.

Capítulo 2

Modelo en 2D para EA: seis configuraciones de electrodos

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

Mediante la aplicación de corriente galvánica, la EA induce niveles extremos de pH que resultan nocivos para el tejido tratado. Este fenómeno tiene lugar ya que al aplicar una diferencia de potencial por medio de electrodos a un tejido, se producen reacciones electroquímicas en las interfases de los electrodos. A lo largo de este proceso, algunas especies son consumidas mientras que otras son producidas, generándose, de este modo, una acidificación (valor de pH inferior a 7) en la zona del ánodo y una basificación (valor de pH superior a 7) en la zona del cátodo. Resulta de vital importancia el estudio del avance de ambos frentes de pH extremo para poder comprender cómo evoluciona la terapia.

El equipo de Nilsson *et al.* fue uno de los primeros en introducir modelos *in silico* para el estudio de la EA¹ realizando estudios sobre el transporte de iones cerca de los electrodos utilizando la ecuación de Nernst-Planck bajo la hipótesis de electroneutralidad [50–53]. En ellos, se trabajó con ánodo y cátodo de manera independiente.

Años más tarde, Colombo *et al.* y Turjanski *et al.* ampliaron dichos trabajos, integrando ánodo y cátodo en un mismo modelo, obteniéndose buena correlación entre la simulación numérica y los experimentos *in vitro* e *in vivo* que realizaron [54, 55].

Si bien en los trabajos de Nilsson *et al.* el modelo es tridimensional, posee una gran limitación: hace uso de la simetría esférica, por lo que solamente se puede representar un electrodo a la vez y suponer el otro en el infinito. Colombo *et al.* y Turjanski *et al.* resuelven dicho problema proponiendo un modelo unidimensional que considera un ánodo y un cátodo, ambos situados en los extremos de un hilo de tejido. Sin embargo, esta simplificación no tiene en cuenta cómo evolucionaría la terapia en un tejido real, el cual

¹Originalmente llamado EChT (Tratamiento Electroquímico de Tumores).

posee más de una dimensión espacial. Además, sólo permite el modelado de dos electrodos simultáneos dispuestos en los extremos del tejido, dejando fuera de consideración otras configuraciones posibles.

En esta sección se propone extender a 2 dimensiones el modelo de Turjanski *et al.*, entendiendo al tejido como una fina capa tisular. El modelo enfrenta dos grandes desafíos:

- ▣ La estabilidad de los métodos a utilizar para resolver los distintos sistemas de ecuaciones del modelo.
- ▣ El *trade-off* entre el tiempo requerido para la simulación y la precisión deseada en un modelo bidimensional.

Un punto crítico en el diseño de la terapia consiste en comprender su efectividad para distintas disposiciones de electrodos insertados en el tejido. Por ello, se realizará un estudio comparativo entre las 6 disposiciones propuestas por Bergues *et al.* [38] quienes analizan la distribución del campo eléctrico para distintas secciones cónicas.

2.1. Modelo físico-matemático

En el trabajo realizado por Turjanski *et al.* [55], basado en los trabajos previos de Nilsson *et al.*, se modela al tejido que es sometido a la terapia considerándolo como una solución acuosa de cloruro de sodio ($NaCl$) a pH 7.

En estado puro, el agua no es conductora de electricidad. Sin embargo, cuando se disuelven en ella sales como el $NaCl$, estas se disocian produciendo subproductos cargados (iones y partículas). Las reacciones debidas al paso de corriente ocurren mayormente en la zona circundante a los electrodos y, en el caso particular de los electrodos inertes – aquellos que no reaccionan con la solución, como por ejemplo los de platino– se producen principalmente las siguientes reacciones en el ánodo:



mientras que en el cátodo, solo sucede la siguiente reacción:



También se considera que en la solución ocurre la hidrólisis del agua, caracterizada por la siguiente ecuación:



En cuanto al modo de transporte de las sustancias disueltas en las soluciones, se tendrán en cuenta tanto el efecto difusivo como el migratorio. La difusión es un proceso que ocurre en toda solución y consiste en la homogeneización de la concentración del soluto. Uno de los fenómenos difusivos más conocidos es el de la ósmosis. La migración, en cambio, es un proceso que ocurre debido al pasaje de corriente eléctrica en una solución, la cual desplaza las partículas cargadas por acción del campo eléctrico generado. Existen también otros mecanismos que influyen en el transporte de los iones en solución como ser la convección pero no serán modelados en esta instancia del trabajo.

Debido a la complejidad del sistema, las siguientes simplificaciones adicionales a las previamente mencionadas, son tenidas en cuenta con motivo de facilitar su implementación [50]:

- ✓ La solución cercana al ánodo se encuentra saturada con respecto al oxígeno y al cloro, a una presión efectiva de 1 atm, en equilibrio con respecto a la superficie del electrodo de platino anódico.
- ✓ La cinética de los electrodos se basa en mecanismos de reacción propuestos en la literatura. Los parámetros cinéticos se obtienen a partir de mediciones experimentales allí presentadas.
- ✓ No se tienen en cuenta efectos osmóticos. En realidad, la electroósmosis puede ser importante, ya que causa la pérdida de agua alrededor del ánodo. Sin embargo, el efecto puede ser contrarrestado mediante el suministro periódico, en esa zona, de solución fisiológica de cloruro de sodio.

De este modo, el modelo consistirá en el análisis de la concentración de 4 especies químicas, a saber, ion hidrógeno (H^+), oxidrilo (OH^-), sodio (Na^+) y cloruro (Cl^-), afectadas por el potencial eléctrico aplicado (Φ).

A continuación se presentan las variables y las ecuaciones que componen el modelo de la presente sección. En todos los modelos realizados se trabajará utilizando las medidas definidas en el **Sistema Internacional de Unidades** o **SI**.

La concentración [mol m^{-3}] de cada una de las especies se define como:

$$C_i = \frac{M_i}{V}$$

donde M_i [mol] representa la cantidad de moles de la especie i y V [m^3] el volumen.

Sumando el aporte al flujo realizado por la difusión y por la migración, la concentración del flujo molar [$\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$] de las especies sigue la ecuación:

$$N_i = \underbrace{-D_i \nabla C_i}_{\text{flujo difusivo}} - \underbrace{\frac{z_i}{|z_i|} u_i C_i \nabla \Phi}_{\text{flujo migratorio}}$$

donde D_i [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$], z_i y u_i [$\text{m}^2 \text{V}^{-1} \text{s}^{-1}$] son el coeficiente de difusión, el número de carga y la movilidad iónica de la especie i respectivamente.

La movilidad iónica y el coeficiente de difusión están relacionados por la ecuación de Nernst-Einstein:

$$D_i = \frac{RT}{|z_i|F} u_i \quad (2.5)$$

donde T es la temperatura absoluta, R la constante universal de los gases y F la constante de Faraday.

Además, se trabajará bajo la hipótesis de electroneutralidad:

$$\sum_{i=1}^4 z_i C_i = 0 \quad (2.6)$$

La sumatoria con los rangos para i entre 1 y 4 representará, a lo largo de todo el trabajo, que i se instanciará en H^+ , OH^- , Cl^- y Na^+ .

2.1.1. Ecuaciones en el Dominio

El balance de masa para cada una de las especies se define como:

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = \underbrace{-\nabla \cdot \mathbf{N}_i}_{\text{flujo molar}} + \underbrace{R_i}_{\text{reacción}} \quad (2.7)$$

Desarrollando \mathbf{N}_i , se puede reescribir esta ecuación como:

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = \nabla(D_i \nabla C_i + \frac{z_i}{|z_i|} u_i C_i \nabla \Phi) + R_i \quad (2.8)$$

El *flujo molar* se refiere a la cantidad de materia que es transportada por los diferentes efectos de transporte mientras que el término reactivo indica las reacciones homogéneas que ocurren en la solución. En este modelo solo se considerará como término reactivo el equilibrio en la disociación del agua, presentada en la ecuación 2.4, a saber:

$$\begin{aligned} R_{H^+} &= R_{OH^-} = k_{w,b} C_{H_2O} - k_{w,f} C_{H^+} C_{OH^-} \\ R_{Cl^-} &= R_{Na^+} = 0 \end{aligned}$$

donde $k_{w,b}$ y $k_{w,f}$ son las constantes de velocidad de la reacción del agua en dirección hacia atrás (*backward*) y hacia adelante (*forward*), respectivamente.

Teniendo en cuenta que las ecuaciones a utilizar serán discretizadas para poder realizar la simulación (ver sección 2.2. “Modelo computacional”), a continuación se procederá a despejar cada una de las variables del sistema.

Extrayendo las constantes como factor común y resolviendo el operador gradiente en la ecuación 2.8 se obtiene:

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = D_i \nabla \cdot \left(\frac{\partial C_i}{\partial x}, \frac{\partial C_i}{\partial y} \right) + \frac{z_i}{|z_i|} u_i \nabla \cdot \left(C_i \frac{\partial \Phi}{\partial x}, C_i \frac{\partial \Phi}{\partial y} \right) + R_i$$

A continuación se resuelve el operador divergencia:

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = D_i \left(\frac{\partial^2 C_i}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C_i}{\partial y^2} \right) + \frac{z_i}{|z_i|} u_i \left(\frac{\partial(C_i \frac{\partial \Phi}{\partial x})}{\partial x} + \frac{\partial(C_i \frac{\partial \Phi}{\partial y})}{\partial y} \right) + R_i$$

Por último, aplicando la propiedad de la derivada del producto se obtienen, finalmente, las ecuaciones para determinar la concentración de H^+ , OH^- y Cl^- :

$$\begin{aligned} \frac{\partial C_i}{\partial t} = D_i \left(\frac{\partial^2 C_i}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C_i}{\partial y^2} \right) + \\ \frac{z_i}{|z_i|} u_i \left(\frac{\partial C_i}{\partial x} \frac{\partial \Phi}{\partial x} + C_i \frac{\partial^2 \Phi}{\partial x^2} + \frac{\partial C_i}{\partial y} \frac{\partial \Phi}{\partial y} + C_i \frac{\partial^2 \Phi}{\partial y^2} \right) + R_i \end{aligned} \quad (2.9)$$

Para calcular la concentración de Na^+ se utiliza la hipótesis de electroneutralidad expresada en la ecuación 2.6:

$$C_{Na^+} = -C_{H^+} + C_{OH^-} + C_{Cl^-} \quad (2.10)$$

Para calcular el potencial eléctrico Φ [V], se considerará la Ley de Faraday:

$$I = F \sum_{i=1}^4 z_i N_i \quad (2.11)$$

donde I [$A \cdot m^{-2}$] es la densidad de corriente aplicada.

En conjunto con la ecuación de conservación de la carga eléctrica:

$$\nabla \cdot I = 0$$

nos permite obtener la siguiente ecuación:

$$\nabla \cdot \left(\sum_{i=1}^4 |z_i| u_i C_i \nabla \Phi \right) + \nabla \cdot \left(\sum_{i=1}^4 z_i D_i \nabla C_i \right) = 0 \quad (2.12)$$

Extrayendo las constantes como factor común y resolviendo el operador gradiente se obtiene:

$$\sum_{i=1}^4 |z_i| u_i \nabla \cdot \left(C_i \frac{\partial \Phi}{\partial x}, C_i \frac{\partial \Phi}{\partial y} \right) + \sum_{i=1}^4 z_i D_i \nabla \cdot \left(\frac{\partial C_i}{\partial x}, \frac{\partial C_i}{\partial y} \right) = 0$$

Finalmente, resolviendo el operador divergencia y aplicando la propiedad de la derivada del producto, se obtiene la ecuación que será utilizada para calcular Φ :

$$\begin{aligned} & \sum_{i=1}^4 |z_i| u_i \left(\frac{\partial C_i}{\partial x} \frac{\partial \Phi}{\partial x} + C_i \frac{\partial^2 \Phi}{\partial x^2} + \frac{\partial C_i}{\partial y} \frac{\partial \Phi}{\partial y} + C_i \frac{\partial^2 \Phi}{\partial y^2} \right) + \\ & \sum_{i=1}^4 z_i D_i \left(\frac{\partial^2 C_i}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C_i}{\partial y^2} \right) = 0 \end{aligned} \quad (2.13)$$

Por último, el campo eléctrico [$V \text{ m}^{-1}$] se obtiene mediante la siguiente ecuación:

$$E = -\nabla \Phi$$

2.1.2. Ecuaciones en los ánodos

Se considerarán las ecuaciones estequiométricas 2.1 y 2.2.

El transporte de masa de las especies consideradas a lo largo de la superficie del ánodo es inexistente o igual a la transferencia de carga.

En particular, para el caso de $i=H^+$, Cl^- y $j=1, 2$ se tiene que:

$$-D_i(\nabla C_i \cdot \mathbf{n}) - \frac{z_i}{|z_i|} u_i C_i (\nabla \Phi \cdot \mathbf{n}) = \frac{\nu_{i,j} I_j}{n_j F} \quad (2.14)$$

mientras que para $i=OH^-$, Na^+ :

$$-D_i(\nabla C_i \cdot \mathbf{n}) - \frac{z_i}{|z_i|} u_i C_i (\nabla \Phi \cdot \mathbf{n}) = 0 \quad (2.15)$$

donde $j=1$ y $j=2$ representan a las reacciones correspondientes a la evolución del oxígeno (2.1) y del cloro (2.2) respectivamente, \mathbf{n} es el vector normal unitario saliente, n_j es la cantidad de electrones transferidos en la reacción electroquímica j , $\nu_{i,j}$ es el coeficiente estequiométrico de la especie i en la reacción j e I_j representa la densidad de corriente parcial contribuida por la reacción electroquímica j .

Utilizando la ecuación de Butler-Volmer [64] se calcula la densidad de corriente parcial I_1 correspondiente a la evolución del oxígeno:

$$I_1 = I_1^{eq} \left\{ \exp \left[-\frac{F(\Phi + E_1^{eq})}{2RT} \right] - \left(\frac{P_{O_2}}{P_{O_2}^{eq}} \right)^{\frac{1}{4}} \left(\frac{C_{H^+}}{C_{H^+}^0} \right) \exp \left[\frac{F(\Phi + E_1^{eq})}{2RT} \right] \right\} \quad (2.16)$$

y la densidad de corriente parcial I_2 correspondiente a la evolución del cloro:

$$I_2 = I_2^{eq} \left\{ \left(\frac{C_{Cl^-}}{C_{Cl^-}^0} \right) \exp \left[-\frac{F(\Phi + E_2^{eq})}{2RT} \right] - \left(\frac{P_{Cl_2}}{P_{Cl_2}^{eq}} \right)^{\frac{1}{2}} \exp \left[\frac{F(\Phi + E_2^{eq})}{2RT} \right] \right\} \quad (2.17)$$

I_j^{eq} representa el intercambio de densidad de corriente en la reacción electroquímica j en el equilibrio. E_j^{eq} es la diferencia de potencial entre las fases líquida y sólida en condiciones de equilibrio y relativa al potencial estándar del electrodo en la reacción j . P_i^{eq} y C_i^0 representan la presión parcial y la concentración inicial de la especie i , respectivamente. El valor de $\frac{P_{O_2}}{P_{O_2}^{eq}}$ y $\frac{P_{Cl_2}}{P_{Cl_2}^{eq}}$ se tomará igual a 1 para todas las especies.

La densidad de corriente total en el ánodo, I , es la suma de las densidades de corriente parciales correspondientes a ambas reacciones electroquímicas:

$$I = I_1 + I_2 \quad (2.18)$$

Por último, para calcular las concentraciones de H^+ , OH^- , Na^+ y Cl^- , el potencial y el campo eléctrico en el ánodo, resulta necesario resolver el sistema obtenido de las ecuaciones 2.6, 2.14, 2.15 y 2.18.

2.1.3. Ecuaciones en los cátodos

Se considerará la ecuación estequiométrica 2.3.

El transporte de masa a través de la superficie del cátodo es nulo o igual a la carga transferida.

En el caso del OH^- se tiene:

$$-D_{OH^-}(\nabla C_{OH^-} \cdot \mathbf{n}) - \frac{z_{OH^-}}{|z_{OH^-}|} u_{OH^-} C_{OH^-} (\nabla \Phi \cdot \mathbf{n}) = \frac{\nu_{OH^-,3} I_3}{n_3 F} \quad (2.19)$$

y para $i=H^+$, Cl^- y Na^+ :

$$-D_i(\nabla C_i \cdot \mathbf{n}) - \frac{z_i}{|z_i|} u_i C_i (\nabla \Phi \cdot \mathbf{n}) = 0 \quad (2.20)$$

donde el subíndice 3 representa a la reacción 2.3 correspondiente a la evolución del agua. Además, al ser la única reacción que ocurre en el cátodo, la densidad de corriente parcial equivale a la densidad de corriente total siendo $I_3 = I$.

Por último, para calcular las concentraciones del H^+ , OH^- , Na^+ , Cl^- y el potencial eléctrico en el cátodo, resulta necesario resolver el sistema obtenido de las ecuaciones 2.6, 2.19 y 2.20.

2.1.4. Condiciones de borde

En los límites de la malla, es decir, en los cuatro bordes de la misma, se considerará que el gradiente normal a la superficie del plano de la concentración de cada una de las especies y del potencial eléctrico es igual a cero:

$$\nabla C_i \cdot \mathbf{n} = \nabla \Phi \cdot \mathbf{n} = 0 \quad (2.21)$$

2.1.5. Condiciones iniciales

Al momento de comenzar la simulación, es decir, cuando $t=0$, se toma como hipótesis que ninguna de las especies presenta gradientes de concentración por lo que la distribución será homogénea en todos los puntos de la malla. El valor inicial de concentración para el cloruro y el sodio es de 160 mol/m^3 , valores cercanos a la concentración existente en el plasma y fluidos intersticiales [65]. El pH inicial fue establecido en 7 (neutro).

Se establece el valor inicial del potencial eléctrico en la superficie de cada uno de los ánodos, Φ_a^0 , a partir de la ecuación 2.18. Para el caso de los cátodos, el valor inicial del potencial eléctrico, Φ_c^0 , se obtiene de la ecuación derivada de reemplazar el vector de flujo migratorio en la Ley de Faraday (ecuación 2.11) y la ausencia de gradiente de concentración:

$$\nabla^2 \Phi = \frac{\nabla \cdot I}{F \sum_{i=1}^4 |z_i| u_i C_i}$$

En los casos en que haya más de un electrodo, se tomará, para todos ellos, el valor del potencial obtenido entre el cátodo y el ánodo más próximos.

Para el resto de la malla, primero se asigna un valor inicial igual al promedio entre el valor de los ánodos y el de los cátodos, y luego se aplica la ecuación de Laplace en toda la malla:

$$\nabla^2 \Phi = 0$$

En los bordes de la malla se considera que el gradiente será igual a cero:

$$\nabla \Phi \cdot \mathbf{n} = 0$$

Por último, el tamaño de la malla utilizada será de $25 \times 25 \text{ mm}^2$ para todas las configuraciones.

2.1.6. Disposición de los electrodos

Para la realización de los experimentos se utilizarán las disposiciones de electrodos propuestas por Bergues *et al.* [38]. En dicho trabajo se analiza la evolución del potencial y del campo eléctrico para 6 secciones cónicas distintas, a saber: un círculo, dos elipses, una parábola y dos hipérbolas. Debido a que las curvas quedan determinadas por el valor de la excentricidad e y de la distancia entre el punto focal y la directriz m , solo se modificó el primer parámetro dejando el segundo constante. En la [Tabla 2.1](#) se pueden apreciar los parámetros utilizados.

Forma de la curva	e	m (mm)
Círculo	0	-
Elipse 1	0,6	7
Elipse 2	0,45	7
Parábola	1	7
Hipérbola 1	2	7
Hipérbola 2	3	7

Tabla 2.1: Valores de la excentricidad (e) y de la distancia entre el punto focal y la directriz (m) para cada una de las 6 configuraciones.

Por razones de simetría, si se considera al punto central de la malla como el $(0,0)$, la ubicación con respecto al centro de cada uno de los electrodos para cada configuración, queda expresada en la [Tabla 2.2](#).

Forma de la curva	Ánodos		Cátodos	
	x (mm)	y (mm)	x (mm)	y (mm)
Círculo	5,0	0,0	-5,0	0,0
	-2,5	4,33	2,5	-4,33
	-2,5	-4,33	2,5	4,33
Elipse 1	6,56	0,0	-6,56	0,0
	-2,75	4,77	2,75	-4,77
	-2,75	-4,77	2,75	4,77
Elipse 2	3,95	0,0	-3,95	0,0
	-1,81	3,14	1,81	-3,14
	-1,81	-3,14	1,81	3,14
Parábola	1,83	8,08	1,83	-8,08
	-1,83	3,75	-1,83	-3,75
	0,21	-6,53	0,21	6,53
Hipérbola 1	-4,67	0,0	4,67	0,0
	5,5	5,5	-5,5	-5,5
	5,5	-5,5	-5,5	5,5
Hipérbola 2	-2,63	0,0	2,63	0,0
	2,81	2,81	-2,81	-2,81
	2,81	-2,81	-2,81	2,81

Tabla 2.2: Ubicación de los electrodos con respecto al centro de la malla para las 6 configuraciones.

2.2. Modelo computacional

Los sistemas de ecuaciones diferenciales planteados en la sección anterior no poseen métodos exactos de resolución por lo que la estrategia será valernos del análisis numérico para, a través de métodos iterativos, converger a una solución aproximada.

Otro hecho importante para notar es que las incógnitas de nuestros sistemas de ecuaciones se tratan de variables continuas, cuyo soporte es denso, en particular \mathbb{R} , mientras que las simulaciones computacionales solo pueden trabajar con una cantidad finita de elementos. Por lo tanto, se debe discretizar tanto el espacio como el tiempo. Para lo primero se trabajará con una malla uniforme, bidimensional y equiespaciada. Para referirnos a un nodo particular de la malla se utilizarán los subíndices i, j , donde i y j son números enteros que toman valores en el rango $[0, ii]$ y $[0, jj]$ respectivamente, con ii y jj valores fijos. La distancia entre 2 nodos contiguos de la malla en cualquiera de las 2 dimensiones será notado como h . Para la discretización del tiempo se trabajará con un Δt que será el incremento del tiempo de un instante al siguiente.

Para la resolución de los sistemas de ecuaciones se utilizará diferencias finitas y un método iterativo SOR con parámetro de ponderación temporal igual a 1, por lo que no se requirió subrelajar ni sobrerrelajar.

2.2.1. Discretización de la ecuación de transporte

Para la aproximación de las derivadas de primer orden, se utilizan los siguientes esquemas de discretización [66]:

$$\begin{aligned}\left.\frac{\partial C}{\partial x}\right|_{i,j} &\approx \frac{C_{i,j} - C_{i-1,j}}{h} + O(h) \\ \left.\frac{\partial C}{\partial x}\right|_{i,j} &\approx \frac{C_{i+1,j} - C_{i-1,j}}{2h} + O(h) \\ \left.\frac{\partial C}{\partial x}\right|_{i,j} &\approx \frac{-11C_{i,j} + 18C_{i+1,j} - 9C_{i+2,j} + 2C_{i+3,j}}{6h} + O(h^3) \\ \left.\frac{\partial C}{\partial x}\right|_{i,j} &\approx \frac{11C_{i,j} - 18C_{i-1,j} + 9C_{i-2,j} - 2C_{i-3,j}}{6h} + O(h^3)\end{aligned}$$

Para la aproximación de las derivadas de segundo orden, se discretizó del siguiente modo [66]:

$$\left.\frac{\partial^2 C}{\partial x^2}\right|_{i,j} \approx \frac{\left.\frac{\partial C}{\partial x}\right|_{i+\frac{1}{2},j} - \left.\frac{\partial C}{\partial x}\right|_{i-\frac{1}{2},j}}{h} + O(h^2) \approx \frac{\frac{C_{i+1,j} - C_{i,j}}{h} - \frac{C_{i,j} - C_{i-1,j}}{h}}{h} = \frac{C_{i+1,j} - 2C_{i,j} + C_{i-1,j}}{h^2}$$

En el caso ∂y y ∂y^2 se procede de manera análoga pero desplazándose utilizando el subíndice j en vez de i .

Para discretizar el operador diferencial temporal de la ecuación 2.7 de balance de masa se utiliza el método de Euler:

$$\left. \frac{\partial C}{\partial t} \right|_{i,j} \approx \frac{C_{i,j}^{m+1} - C_{i,j}^m}{\Delta t}$$

donde n es el paso temporal.

Para resolver dicha ecuación y hallar el valor de $C_{i,j}^{m+1}$ se pueden utilizar 3 métodos diferentes: explícito, implícito y de Crank-Nicolson. Dadas las características del problema y que es numéricamente más estable y su complejidad temporal menor que en el caso de los métodos mixtos, se decidió utilizar un método implícito.

Así, para poder obtener el valor de $C_{i,j}^{m+1}$ es necesario resolver un sistema de ecuaciones algebraicas. Para ello se utiliza un método iterativo, es decir, que para obtener la solución en el paso temporal $n + 1$ a partir de la solución en el paso temporal n , se deben realizar varias iteraciones internas hasta converger a un valor que se considere aceptable en relación con el error numérico establecido.

Se utilizará $C_{i,j}^{m+1,m+1}$ donde $n + 1$ y $m + 1$ son los índices temporal y de iteración interna respectivamente. Para simplificar la lectura, en los casos en que el paso temporal sea el $n + 1$, se escribirá directamente $C_{i,j}^{m+1}$, obviando el súper índice temporal $n + 1$. Por lo tanto, si discretizamos la ecuación 2.9, queda:

$$\begin{aligned} \frac{C_{i,j}^{m+1} - C_{i,j}^m}{\Delta t} = & D \left(\frac{C_{i+1,j}^m + C_{i-1,j}^{m+1} - 2C_{i,j}^{m+1}}{h^2} + \frac{C_{i,j+1}^m + C_{i,j-1}^{m+1} - 2C_{i,j}^{m+1}}{h^2} \right) \\ & + \frac{z}{|z|} u \left(\frac{(C_{i+1,j}^m - C_{i-1,j}^{m+1})(\Phi_{i+1,j}^m - \Phi_{i-1,j}^{m+1})}{2h} + C_{i,j}^{m+1} \frac{(\Phi_{i+1,j}^m - 2\Phi_{i,j}^m + \Phi_{i-1,j}^{m+1})}{h^2} \right) \\ & + \frac{(C_{i,j+1}^m - C_{i,j-1}^{m+1})(\Phi_{i,j+1}^m - \Phi_{i,j-1}^{m+1})}{2h} + C_{i,j}^{m+1} \frac{(\Phi_{i,j+1}^m - 2\Phi_{i,j}^m + \Phi_{i,j-1}^{m+1})}{h^2} \Big) \\ & + R_{i,j}^{m+1} \end{aligned}$$

donde, para el caso de H^+ y OH^- :

$$R_{i,j}^{m+1} = k_{w,b} C_{H_2O} - k_{w,f} C_{H^+,i,j}^{m+1} C_{OH^-,i,j}^m$$

y para el caso de Cl^- :

$$R_{i,j}^{m+1} = 0$$

Se supone que la concentración del H_2O permanecerá constante en toda la malla a lo

largo de toda la simulación por lo que no resulta necesario referirse al (i, j) -ésimo elemento de H_2O .

De este modo, se pudo obtener una forma de calcular la concentración en cada punto de la malla para H^+ , OH^- y Cl^- . Vale recordar que la concentración del Na^+ se obtiene de las otras especies, considerando la hipótesis de electroneutralidad (ecuación 2.6):

$$C_{Na^+,i,j} = -C_{H^+,i,j} + C_{OH^-,i,j} + C_{Cl^-,i,j}$$

2.2.2. Discretización de la ecuación del potencial eléctrico

Análogamente a como se procedió en la sección anterior, se hallará una expresión para obtener $\Phi_{i,j}^{m+1}$ partiendo de la ecuación 2.13, la cual será discretizada del siguiente modo:

$$\begin{aligned} & \sum_{s=1}^4 |z_s| u_s \left(\frac{(C_{i+1,j,s}^m - C_{i-1,j,s}^{m+1}) (\Phi_{i+1,j}^m - \Phi_{i-1,j}^{m+1})}{2h} + C_{i,j,s}^{m+1} \frac{(\Phi_{i+1,j}^m - 2\Phi_{i,j}^{m+1} + \Phi_{i-1,j}^{m+1})}{h^2} \right. \\ & \quad \left. + \frac{(C_{i,j+1,s}^m - C_{i,j-1,s}^{m+1}) (\Phi_{i,j+1}^m - \Phi_{i,j-1}^{m+1})}{2h} + C_{i,j,s}^{m+1} \frac{(\Phi_{i,j+1}^m - 2\Phi_{i,j}^{m+1} + \Phi_{i,j-1}^{m+1})}{h^2} \right) \\ & \quad + \sum_{s=1}^4 z_s D_s \left(\frac{C_{i+1,j,s}^m + C_{i-1,j,s}^{m+1} - 2C_{i,j,s}^{m+1}}{h^2} + \frac{C_{i,j+1,s}^m + C_{i,j-1,s}^{m+1} - 2C_{i,j,s}^{m+1}}{h^2} \right) = 0 \end{aligned}$$

donde el índice “s” de las sumatorias con rango entre 1 y 4 representa a cada una de las especies químicas (H^+ , OH^- , Na^+ y Cl^-).

2.2.3. Discretización de las ecuaciones en los ánodos

Considerando las ecuaciones 2.14 y 2.15, si se toma como vector normal unitario saliente $\mathbf{n} = (1, 0)$, se obtiene:

$$-D \frac{\partial C}{\partial x} - \frac{z}{|z|} u C \frac{\partial \Phi}{\partial x} = \frac{\nu_{i,j} k}{n_j F}$$

donde $k = 0$ para OH^- , Na^+ y $k = I_1, I_2$ para H^+ , Cl^- respectivamente.

Teniendo en cuenta que $\frac{\partial \Phi}{\partial x} = -E_x$, donde E_x es la componente en el eje x del campo eléctrico, se discretiza la ecuación anterior de la siguiente manera:

$$-D \frac{-11C_a + 18C_{a+1} - 9C_{a+2} + 2C_{a+3}}{6h} + \frac{z}{|z|} u C_a E_x = \frac{\nu_{i,j} k}{n_j F}$$

donde C_a es el nodo en el que está ubicado el ánodo y C_{a+i} con $i \in \mathbb{N}$ equivale a desplazarse i nodos en el eje x . El eje y no es tenido en consideración en los cálculos debido a la elección de la normal saliente.

Por electroneutralidad se tiene que:

$$C_{H^+} - C_{OH^-} - C_{Cl^-} + C_{Na^+} = 0$$

Y de la ecuación 2.18 se sabe que:

$$I = I_1 + I_2$$

Las incógnitas de este sistema de ecuaciones son C_a para cada especie, Φ y E_x .

Debido a que se trata de un sistema no lineal, el mismo es aproximado mediante el método de Newton utilizando las rutinas *Multidimensional Root-Finding Routines* de la biblioteca *GNU Scientific Library* (GSL).

2.2.4. Discretización de las ecuaciones en los cátodos

Análogamente al apartado anterior, considerando las ecuaciones 2.19 y 2.20, y tomando como vector normal unitario entrante $\mathbf{n} = (1, 0)$, se obtiene:

$$-D \frac{\partial C}{\partial x} - \frac{z}{|z|} u C \frac{\partial \Phi}{\partial x} = \frac{\nu_{i,j} k}{n_j F}$$

donde $k = 0$ para H^+ , Na^+ y Cl^- , y $k = I$ para OH^- .

Reemplazando $\frac{\partial \Phi}{\partial x}$ por $-E_x$, se discretiza la ecuación anterior de la siguiente manera:

$$-D \frac{11C_c - 18C_{c-1} + 9C_{c-2} - 2C_{c-3}}{6h} + \frac{z}{|z|} u C_c E_x = \frac{\nu_{i,j} k}{n_j F}$$

donde C_c es el nodo en el que está ubicado el cátodo y C_{c-i} con $i \in \mathbb{N}$ equivale a desplazarse i nodos en el eje x .

Junto con la hipótesis de electroneutralidad, las incógnitas de este sistema de ecuaciones son C_c para cada especie y E_x . Como en el caso anterior, debido a la no linealidad del sistema se utilizarán las rutinas *Multidimensional Root-Finding Routines* de la GSL para realizar los cálculos.

2.2.5. Discretización de las condiciones de borde

Partiendo de la ecuación 2.21, que considera que el gradiente normal a la superficie del plano de la concentración es nulo, la discretización en cada uno de los 4 bordes queda de la siguiente manera:

$$\begin{array}{l} \frac{C_{i,1,s} - C_{i,0,s}}{h} = 0 \\ \frac{C_{i,jj,s} - C_{i,jj-1,s}}{h} = 0 \\ \frac{C_{1,j,s} - C_{0,j,s}}{h} = 0 \\ \frac{C_{ii,j,s} - C_{ii-1,j,s}}{h} = 0 \end{array} \quad \begin{array}{l} \frac{\Phi_{i,1} - \Phi_{i,0}}{h} = 0 \\ \frac{\Phi_{i,jj} - \Phi_{i,jj-1}}{h} = 0 \\ \frac{\Phi_{1,j} - \Phi_{0,j}}{h} = 0 \\ \frac{\Phi_{ii,j} - \Phi_{ii-1,j}}{h} = 0 \end{array}$$

donde el subíndice “s” representa a cada una de las 4 especies químicas. Para los nodos ubicados en las esquinas de la malla se toma el promedio entre los 2 nodos vecinos.

2.2.6. Criterios de convergencia

Al utilizar, en la solución numérica, un método de diferencias finitas implícito, es necesario realizar iteraciones internas entre dos pasos de tiempo consecutivos. Así, para cada paso interno de iteración m se chequea la siguiente condición de convergencia:

$$\begin{array}{l} \max \left\{ \left| u_{i,j}^{n,m} - u_{i,j}^{n,m-1} \right| \right\} < 5 \cdot 10^{-7} \quad \text{donde } u = H^+, OH^- \\ \max \left\{ \left| u_{i,j}^{n,m} - u_{i,j}^{n,m-1} \right| \right\} < 5 \cdot 10^{-6} \quad \text{donde } u = Cl^-, Na^+ \\ \max \left\{ \left| \Phi_{i,j}^{n,m} - \Phi_{i,j}^{n,m-1} \right| \right\} < 5 \cdot 10^{-5} \end{array}$$

donde $i \in [0, ii], j \in [0, jj]$. Las magnitudes de error para las distintas incógnitas fueron elegidas teniendo en cuenta los valores máximos alcanzados a lo largo de las simulaciones.

Cumplidas estas condiciones, se avanza al siguiente paso temporal.

Si el programa no converge después de las 20.000 iteraciones, la ejecución del mismo es interrumpida. Las ejecuciones realizadas para el presente trabajo en ningún caso sobrepasaron dicha cantidad de iteraciones.

2.2.7. Corridas y parámetros

El modelo computacional fue escrito en C++ y el mismo se adjunta en el presente trabajo. Las ejecuciones se realizaron en un equipo con un procesador Intel(R) Core(TM) i7, bajo el sistema operativo Linux Ubuntu. Los parámetros utilizados para las corridas se encuentran detallados en la tabla [Tabla 2.3](#). Para todas las ejecuciones se utilizó una malla uniforme, bidimensional y equiespaciada de 250×250 nodos. La distancia entre cada nodo fue de $h = 1 \cdot 10^{-4}$ m y el $\Delta t = 5 \cdot 10^{-4}$ s. La densidad de corriente aplicada fue de 400 A/m².

Parámetro	Valor	Ref.	Parámetro	Valor	Ref.
$C_{H^+}^0$	10^{-4} M m ⁻³	[65]	$C_{OH^-}^0$	10^{-4} M m ⁻³	[65]
$C_{Na^+}^0$	160 M m ⁻³	[65]	$C_{Cl^-}^0$	160 M m ⁻³	[65]
$C_{H_2O}^0$	55500 M m ⁻³	[67]	T	298 K	
D_{H^+}	$9,31 \cdot 10^{-9}$ m ² s ⁻¹	[68]	D_{OH^-}	$5,26 \cdot 10^{-9}$ m ² s ⁻¹	[68]
D_{Na^+}	$1,33 \cdot 10^{-9}$ m ² s ⁻¹	[68]	D_{Cl^-}	$2,03 \cdot 10^{-9}$ m ² s ⁻¹	[68]
I_1^{eq}	$1 \cdot 10^{-6}$ A m ⁻²	[69]	I_2^{eq}	10 A m ⁻²	[70]
E_1^{eq}	0,816 V	[68]	E_2^{eq}	1,407 V	[68]
$k_{w,f}$	$1,5 \cdot 10^8$ m ³ M ⁻¹ s ⁻¹	[67]	$k_{w,b}$	$2,7 \cdot 10^{-5}$ s ⁻¹	[67]

Tabla 2.3: Parámetros utilizados por el modelo *in silico*.

2.3. Resultados y discusión

Los resultados de la presente sección corresponden a la simulación de una terapia EA para las 6 configuraciones de electrodos presentadas en la [sección 2.1.6. “Disposición de los electrodos”](#). La densidad de corriente aplicada fue de 400 A/m^2 y el tamaño de la malla de $25 \times 25 \text{ mm}^2$.

En la [Figura 2.1](#) se observa la distribución del potencial eléctrico para las distintas configuraciones de electrodos a igual escala de voltaje luego de 180 segundos de simulación. En la misma se representan las isolíneas que determinan valores iguales de potencial para líneas de igual color. En todos los casos se observa una buena correspondencia cualitativa con lo descrito por Bergues *et al.* [38]. Por otro lado, si bien la diferencia de potencial inicial aplicada entre ánodos y cátodos fue la misma que la indicada en el trabajo de Bergues *et al.*, en nuestro caso se observa una menor diferencia de potencial al finalizar la terapia que puede ser atribuido al efecto que produce el cambio de concentración de las especies consideradas dentro de la malla (ver [Figura 2.6](#)). Este cambio en la concentración de las especies, principalmente la generación de iones H^+ y OH^- , produce una disminución en la resistencia del medio en el transcurso del tiempo y, debido a que la corriente aplicada es constante, el voltaje también se ve disminuido. Este fenómeno es explicado por la Ley de Ohm: $V = I \times R$. En la [Figura 2.2](#) se muestran las isolíneas de la intensidad del campo eléctrico para cada una de las configuraciones de electrodos a igual escala de voltaje luego de 180 segundos de simulación con una corriente de 400 A/m^2 . La misma fue obtenida a partir de las componentes del campo eléctrico, calculadas durante la simulación, aplicando el operador norma vectorial en cada nodo de la malla. Al igual que en la figura anterior, los valores máximos del campo se obtienen donde se ubican los ánodos mientras que en los cátodos la intensidad es menor. Se observa una fuerte relación con los gráficos respectivos del trabajo realizado por Bergues *et al.* [38], cuyos resultados se reproducen en la [Figura 2.3](#), tanto en la forma de la distribución del campo como en la escala de valores obtenidos: entre 0 y 0.4 V/mm .

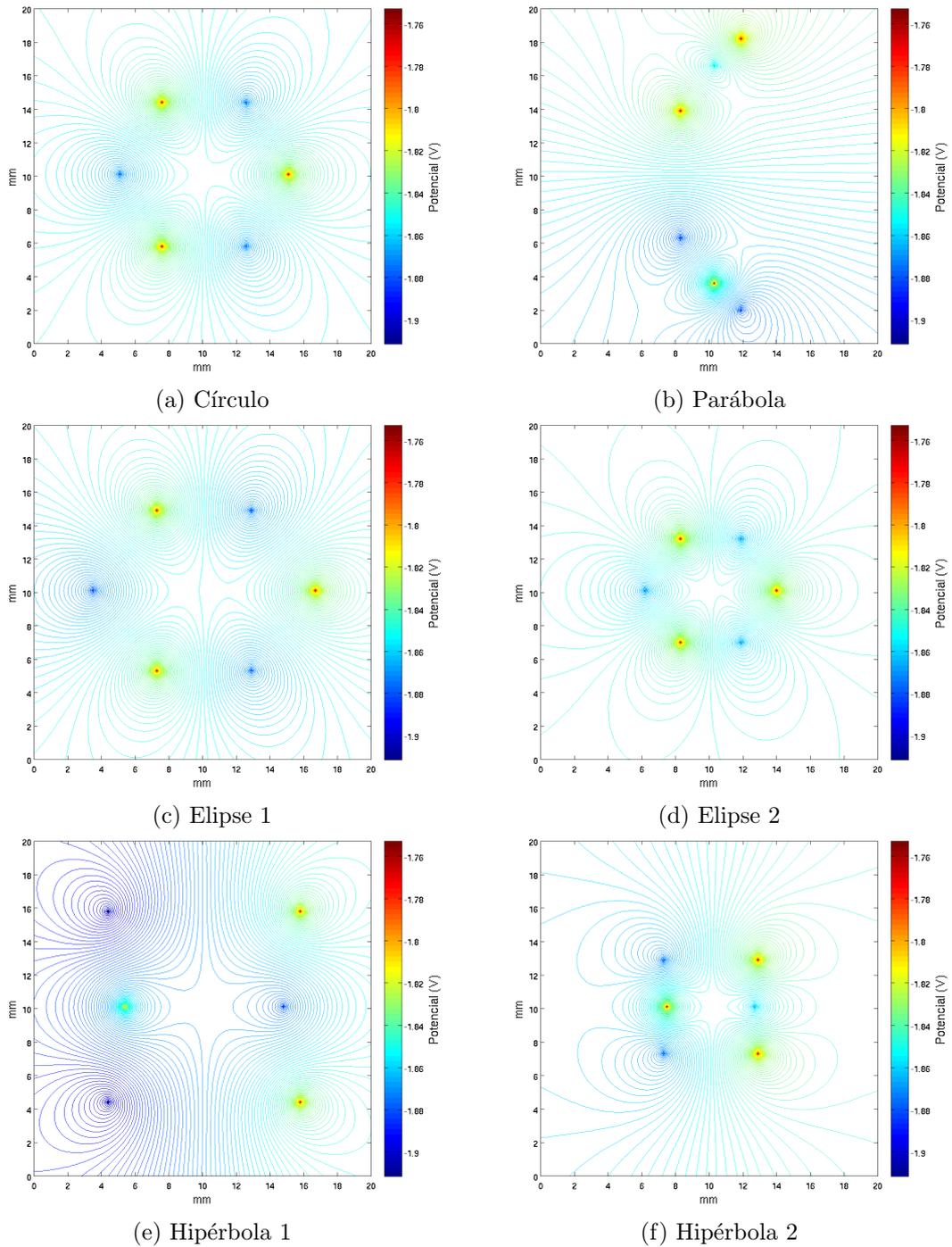


Figura 2.1: Distribución de las isolíneas del potencial eléctrico para las 6 configuraciones de electrodos, 3 ánodos y 3 cátodos dispuestos según la [Tabla 2.2](#), luego de 180 segundos de simulación para una terapia EA. La densidad de corriente aplicada fue de 400 A/m^2 y el tamaño de la malla espacial simulada de $25 \times 25 \text{ mm}^2$. En las 6 figuras se observa solo la parte central de la malla. Los puntos en donde se alcanza el mayor potencial coinciden con la ubicación de los ánodos mientras que aquellos en donde se alcanza el menor potencial coinciden con la ubicación de los cátodos.

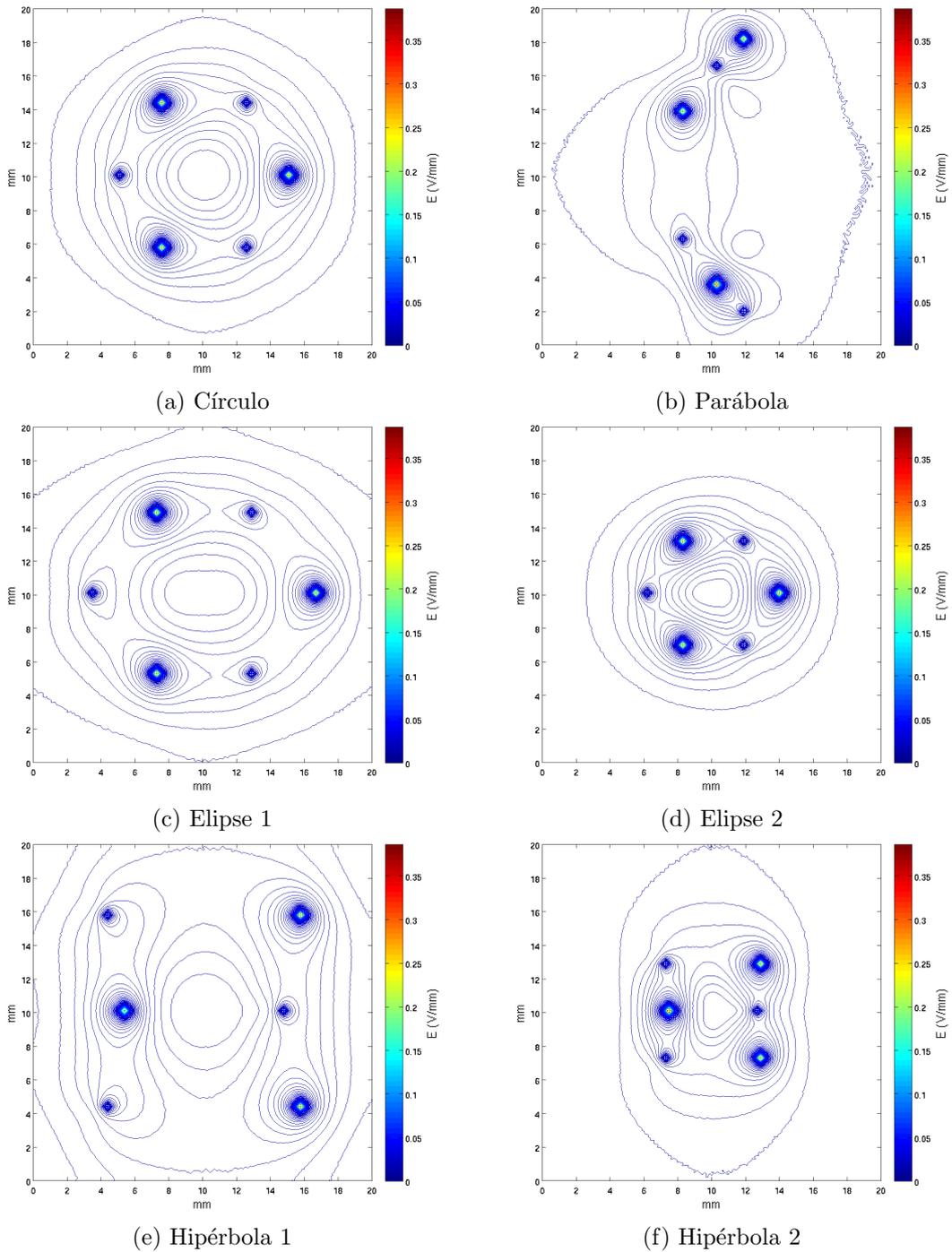


Figura 2.2: Distribución de las isolíneas de la intensidad del campo eléctrico para las 6 configuraciones de electrodos, 3 ánodos y 3 cátodos dispuestos según la [Tabla 2.2](#), luego de 180 segundos de simulación para una terapia EA. La densidad de corriente aplicada fue de 400 A/m^2 y el tamaño de la malla espacial simulada de $25 \times 25 \text{ mm}^2$. En las 6 figuras se observa solo la parte central de la malla. Los puntos de aglomeración de mayor intensidad coinciden con la ubicación de los ánodos mientras que los de menor intensidad coinciden con la ubicación de los cátodos.

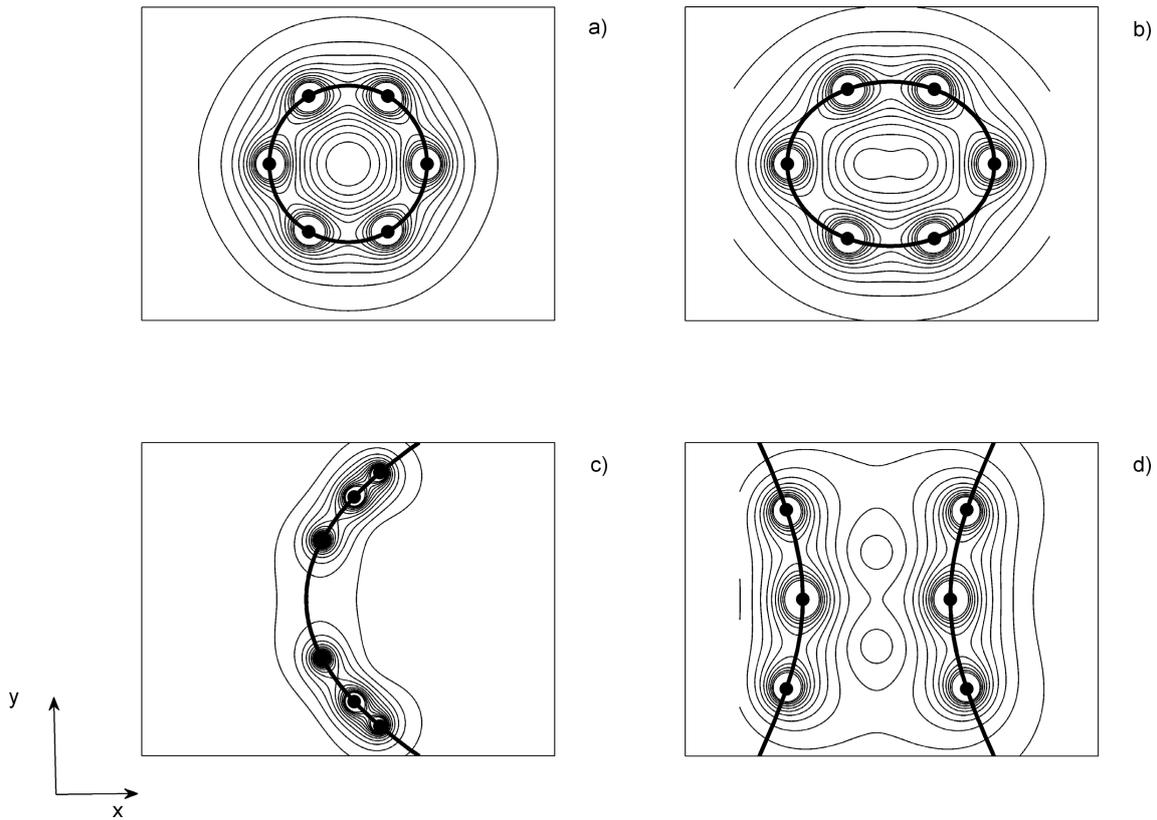


Figura 2.3: Resultado analítico de la distribución de la intensidad del campo eléctrico para: a) círculo, b) elipse, c) parábola e d) hipérbola. Imagen extraída de “Analytical and numerical solutions of the potential and electric field generated by different electrode arrays in a tumor tissue under electrotherapy” [38].

En las Figuras 2.4, 2.5 y 2.6 se considera una de las 6 configuraciones, la circular, y se analizan los nuevos aspectos introducidos por el modelo bidimensional para EA presentado en este capítulo: pH y concentración de las 4 especies químicas modeladas. Estas características no fueron consideradas por el modelo de Bergues *et al.* [38].

En la Figura 2.4 se observa la evolución temporal de los frentes de pH en conjunto con las líneas direccionales normalizadas del campo eléctrico para distintos instantes de tiempo, desde el comienzo hasta el final de la terapia (180 segundos). En los ánodos se observa la generación de los frentes ácidos mientras que en los cátodos se observa el origen de los frentes básicos, como bien señala la literatura [51,55]. Además, es preciso notar que los valores máximos y mínimos de pH obtenidos a través de la simulación son similares a las predicciones en 1D realizadas en Turjanski *et al.* [55]. Por último, resulta importante observar que una vez que los frentes chocan, se mantiene la posición de choque, como ocurre en la experimentación *in vitro* e *in vivo*.

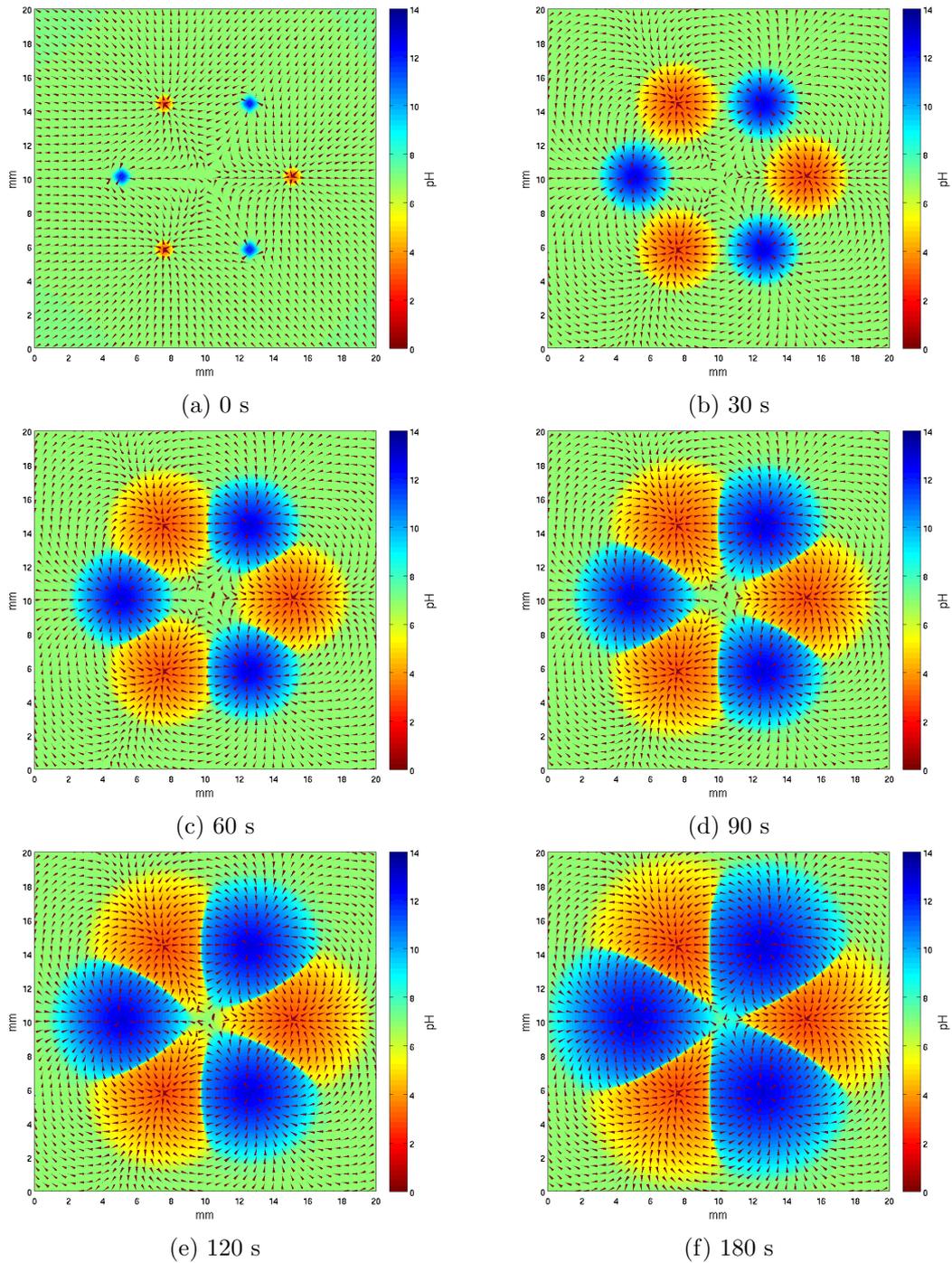
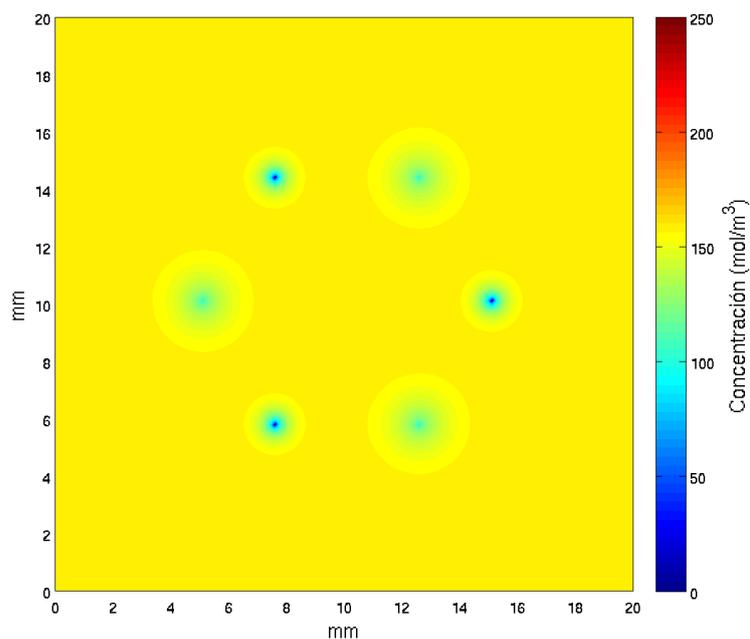
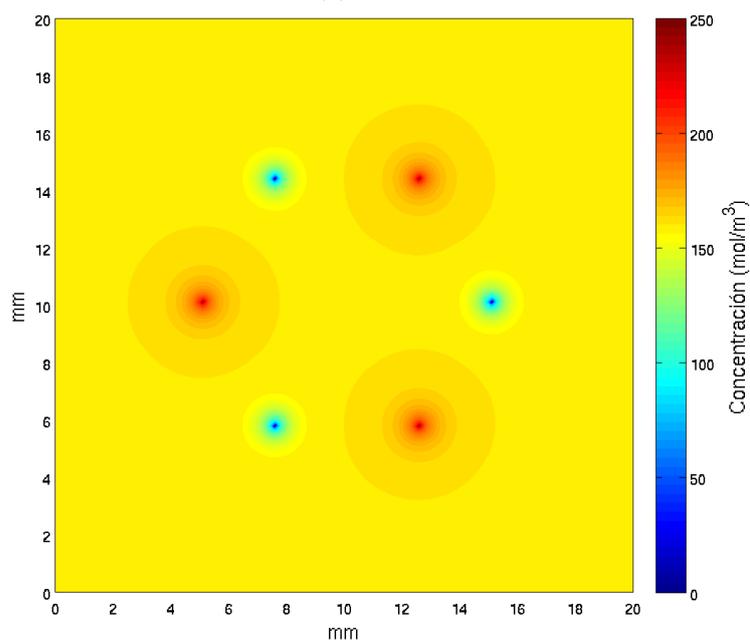


Figura 2.4: Predicción de la evolución temporal de los frentes de pH y de la distribución del campo eléctrico a través del tiempo para una terapia EA con una distribución circular de 6 electrodos, 3 ánodos y 3 cátodos dispuestos alternadamente con radio de 5 mm. La densidad de corriente aplicada fue de 400 A/m^2 y el tamaño de la malla espacial simulada de $25 \times 25 \text{ mm}^2$. En las 6 figuras se observa solo la parte central de la malla. Los puntos de mayor pH coinciden con la ubicación de los cátodos mientras que los de menor pH coinciden con la ubicación de los ánodos.



(a) Cl^-



(b) Na^+

Figura 2.5: Predicción de la distribución espacial de las concentraciones de Cl^- y Na^+ para una terapia EA con una distribución circular de 6 electrodos, 3 ánodos y 3 cátodos dispuestos alternadamente con radio de 5 mm. La densidad de corriente aplicada fue de 400 A/m^2 y el tamaño de la malla espacial simulada de $25 \times 25 \text{ mm}^2$. En ambas figuras se observa solo la parte central de la malla. Los puntos donde se alcanza la máxima concentración de Na^+ coinciden con la ubicación de los cátodos mientras que donde se alcanza la mínima concentración de Na^+ coincide con la ubicación de los ánodos.

En la **Figura 2.5** se muestra la predicción de la distribución espacial de la concentración molar para Na^+ y Cl^- luego de 180 segundos de aplicada la terapia. Inicialmente en un valor constante, la concentración de cada una de las especies modeladas fue evolucionando a lo largo de la terapia debido al efecto del campo eléctrico y del movimiento iónico.

En la **Figura 2.6** se aprecia un corte unidimensional de la concentración de las 4 especies tomado entre uno de los 3 pares ánodo-cátodo más distantes. En este gráfico se puede apreciar de manera clara la similitud existente con los perfiles obtenidos en Turjanski *et al.* [55]. Los protones (H^+) son producidos en la reacción electroquímica 2.1 en el ánodo. Luego, fluyen hacia el cátodo por vías migratorias y difusivas. Los cloruros (Cl^-) son consumidos en la reacción electroquímica 2.2 en el ánodo y al mismo tiempo fluyen hacia allí atraídos por fuerzas eléctricas de signo contrario a la vez que se desplazan desde el cátodo debido a la repulsión por su carga negativa. Los oxidrilos (OH^-) se producen en la reacción electroquímica 2.3 en el cátodo y fluyen por vías migratorias y difusivas hacia el ánodo. Por último, los sodios (Na^+) fluyen hacia el cátodo básicamente por el hecho de que debe mantenerse la condición de electroneutralidad y por ser de signo contrario. Con respecto al H^+ se observa una menor producción de iones en el ánodo que lo referido en Turjanski *et al.* puesto que los cloruros no llegan a consumirse por completo. Esto se debe a la cantidad de energía aplicada. Si la corriente es mayor, se consumen todos los iones Cl^- y se comienza a producir más H^+ (no se muestra es los resultados).

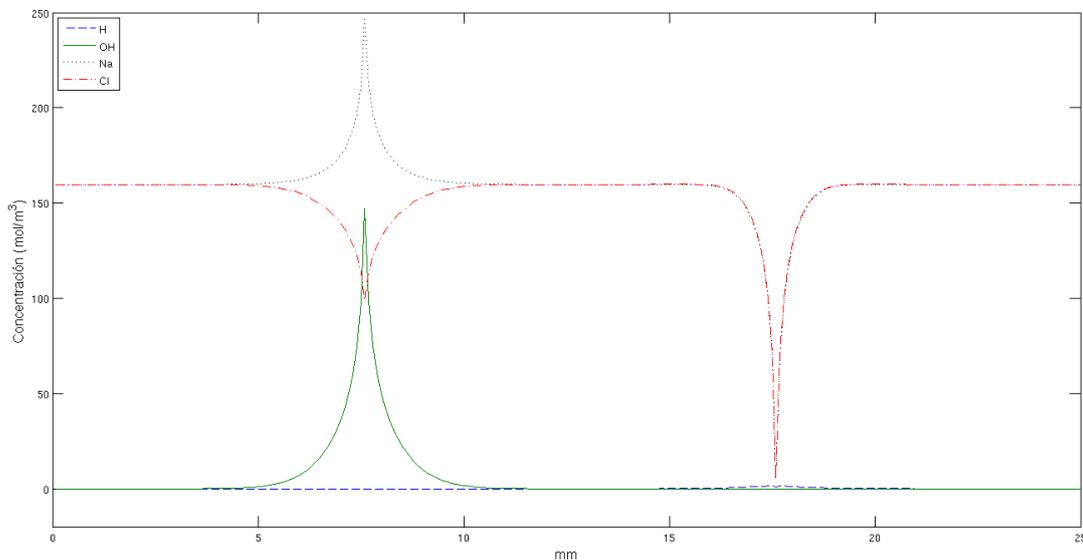


Figura 2.6: Corte unidimensional de la predicción de las concentraciones de Cl^- , Na^+ , OH^- y H^+ para una terapia EA con una distribución circular de 6 electrodos, 3 ánodos y 3 cátodos dispuestos alternadamente con radio de 5 mm. La densidad de corriente aplicada fue de 400 A/m^2 y el tamaño de la malla espacial simulada de $25 \times 25 \text{ mm}^2$. El corte fue tomado por la línea que atraviesa un cátodo y un ánodo ubicados de manera enfrentada, es decir, por el par ánodo-cátodo que maximiza la distancia entre ambos (es equivalente para cualquiera de las 3 elecciones posibles de pares ánodo-cátodo). El cátodo se encuentra ubicado a 7.5 mm del comienzo de la malla mientras que el ánodo se encuentra a los 17.5 mm.

En la [Figura 2.7](#) se muestra el porcentaje de ablación, con respecto a la malla de $25 \times 25 \text{ mm}^2$ utilizada, de la terapia en función del tiempo para cada una de las 6 distribuciones de electrodos. Los umbrales considerados como pH extremo, y que por ende producen la ablación del tejido, fueron 5.5 para el caso del ácido y 8.5 para el del básico. En todas las configuraciones se observa un rápido crecimiento inicial que luego se ve disminuido a medida que los frentes ácidos y básicos chocan y comienzan a competir entre sí. También se aprecia una mayor cobertura de tejido necrosado para aquellas configuraciones en donde la separación entre los electrodos es mayor ya que los frentes tienen que cubrir más superficie hasta colisionar.

Por último, con respecto a los tiempos de simulación, cada minuto simulado tomó aproximadamente 2 horas, independientemente de la configuración de electrodos, para la malla utilizada de 62500 nodos (250×250). La convergencia de un paso temporal al siguiente ocurre en pocas iteraciones –entre 2 y 3 iteraciones internas por cada paso temporal– luego de estabilizarse en los primeros pasos.

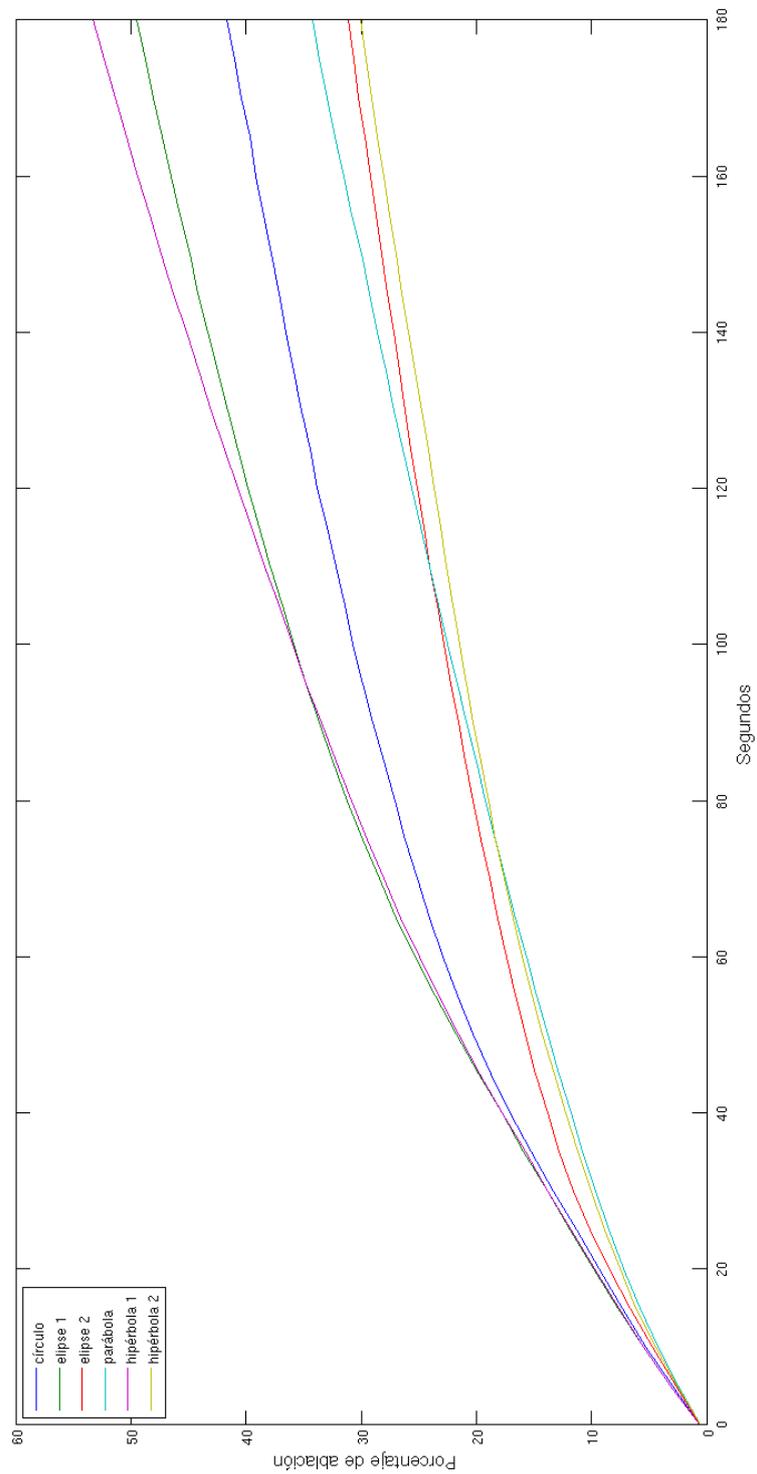


Figura 2.7: Comparación de la predicción del área de ablación entre las 6 configuraciones de electrodos, 3 ánodos y 3 cátodos dispuestos según la [Tabla 2.2](#), luego de 180 segundos de simulación para una terapia EA. La densidad de corriente aplicada fue de 400 A/m^2 y el tamaño de la malla espacial simulada de $25 \times 25 \text{ mm}^2$. Se consideró que un rango de pH inferior a 5.5 y mayor a 8.5 produce la ablación del tejido expuesto a dicho pH extremo. El porcentaje de ablación fue calculado con respecto al área total de la malla: 625 mm^2 .

2.4. Conclusiones

En el presente capítulo se propuso una extensión a 2D del modelo de EA presentado en Turjanski *et al.* [55] y se estudió la evolución de la terapia simulada para las distintas configuraciones de electrodos propuestas por Bergues *et al.* [38]. Las predicciones teóricas realizadas por este nuevo modelo 2D muestran una muy buena relación cualitativa y cuantitativa con los trabajos tomados de base.

En este sentido, el modelo *in silico* predice la evolución del potencial eléctrico, y por consiguiente del campo eléctrico, a nivel cualitativo del mismo modo que el trabajo realizado por Bergues *et al.* La disminución observada respecto a los valores del potencial eléctrico al finalizar la simulación puede ser atribuida a que, al considerarse las reacciones electroquímicas, se produce un cambio en la resistencia del tejido debido a la producción de H^+ y OH^- que impacta en la diferencia de potencial ya que la terapia ocurre a corriente constante. De todos modos, tanto la forma del potencial como del campo no ven alteradas en ninguna de las 6 configuraciones asemejándose a lo expuesto en Bergues *et al.* Esta etapa del análisis fue de suma importancia ya que se pudo poner a prueba una de las facetas del modelo en relación al trabajo científico publicado por uno de los grupos del área. Por otra parte, cabe aclarar la complejidad que reviste el modelo *in silico* presentado en este capítulo puesto que las variables consideradas son dependientes entre sí: Φ , H^+ , OH^- , Na^+ y Cl^- , mientras que Bergues *et al.* trabajaron solamente con el campo eléctrico. Este nivel de complejidad permite ampliar el estudio a los efectos que tienen sobre el tejido los frentes de pH extremo generados por los electrodos y la evolución de las especies durante la terapia para distintos valores de corriente para configuraciones arbitrarias de electrodos.

En este sentido, el otro aspecto del modelo a considerar fue la evolución de los frentes de pH y de la concentración de las especies químicas. Aquí también se observa una muy buena relación cualitativa y cuantitativa con el trabajo presentado por Turjanski *et al.*, en el cual no solo se presentó un modelo *in silico* unidimensional sino que también se lo contrastó con experimentación *in vitro*. Esto tiene implicancias clínicas importantes dado que la exposición a valores de pH extremo es un factor esencial para la destrucción de los tejidos en la EA. Por lo tanto, el seguimiento de los frentes de pH se puede utilizar para predecir la magnitud de la destrucción del tumor y, así, la evaluación de la eficacia de la EA.

Habiendo contrastado el modelo aquí presentado con diversos trabajos científicos anteriores, se concluye que:

- ✓ El modelo bidimensional para EA presentado supone un avance significativo en el estudio de las electroterapias ya que, hasta el momento, no habían sido propuestos modelos de esta complejidad. Una de las características más importantes introducidas por este modelo es que, a diferencia de los modelos previos [51, 53, 55], permite disponer una cantidad arbitraria de electrodos sobre cualquier punto del tejido. De este modo, no solo se espera que resulte en un aporte a la comprensión de los procesos subyacentes en la EA sino que sirva a nivel preclínico para analizar distintas propuestas de distribuciones de electrodos previo a la aplicación de la terapia.
- ✓ Del análisis de las distintas distribuciones de electrodos propuestas y el porcentaje de tejido necrosado que se alcanzó en cada uno de los casos, se evidencia que el área final de ablación no depende de la geometría en la que se dispongan los electrodos sino de la mayor distancia de separación entre ellos, lo cual maximiza el área de tejido cubierta por los frentes de pH extremo previo a colisionar entre sí. Este resultado es sumamente significativo ya que permite, para cada caso particular, realizar simulaciones para distintas propuestas de distribuciones de electrodos buscando optimizar la cobertura de tejido necrosado en función de la separación de los electrodos y no en función de la regularidad de su disposición.

Capítulo 3

Modelo en 2D con factor de permeabilización para EA

En el capítulo anterior se presentó un modelo computacional para la simulación de la EA. El modelo resuelve las ecuaciones de Nernst-Planck para el transporte de iones, bajo condiciones de electroneutralidad, en un dominio bidimensional utilizando el método de diferencias finitas en una malla uniforme y equiespaciada. Además, se realizó un estudio para distintas distribuciones de electrodos en el que se estimó para cada una de ellas la distribución del potencial y del campo eléctrico, el avance de los frentes de pH, el porcentaje de tejido necrosado a lo largo de la terapia, entre otros aspectos de interés.

A pesar de la buena concordancia obtenida respecto a trabajos científicos previos, el modelo no permitía observar de manera directa el área permeabilizada. El factor de permeabilización μ_P de la membrana celular es la facilidad con que las moléculas pueden atravesarla y depende principalmente de la carga eléctrica y, en menor medida, del tamaño de la molécula. Resulta de sumo interés comprender el cambio en la permeabilización del tejido por los siguientes motivos:

- Algunos autores han sugerido que la necrosis del tejido en la EA se debe al cambio en la permeabilización en lugar de a los valores de pH extremo generados [21, 71].
- Juega un papel central en las terapias que utilizan la ET puesto que es por los poros abiertos en la membrana celular por donde atravesará la mayor parte de droga antitumoral.
- Incorporar este nuevo fenómeno probará la robustez del modelo que se extenderá.

Debido a las características particulares de la EA y la ECT se ha mostrado que se puede aproximar la permeabilización en función del coeficiente de difusión [72]. De este modo, la variación en el coeficiente difusivo implica un cambio en el área permeabilizada. Nos proponemos entonces, analizar cómo varía la permeabilización del tejido a lo largo de la terapia.

Para ello, el nuevo modelo *in silico* extenderá el del capítulo anterior introduciendo nuevas ecuaciones que permitan simular el cambio en el coeficiente de difusión de las especies, lo que supone un cambio en la permeabilización de la membrana celular. Los resultados obtenidos serán comparados con los del modelo precedente a la vez que se cotejarán con un modelo *in vitro* de yema de huevo debido a que sus características son similares a las de un tejido real [73].

3.1. Modelo físico-matemático

En el modelo *in silico* presentado en el capítulo anterior se podía apreciar tanto el avance de los frentes de pH como la concentración de las 4 especies químicas consideradas y la evolución del potencial y el campo eléctrico. Sin embargo, no permitía observar el área de tejido que había sido permeabilizada durante la terapia.

Para poder incluir esta nueva característica al modelo se debe primero comprender cómo se relaciona la permeabilización con los parámetros ya modelados. De aquí en adelante entenderemos a la permeabilización como un coeficiente P que indica, para cada punto del tejido, el grado de permeabilización que posee. Debido a que estamos trabajando con moléculas muy pequeñas y poros de gran tamaño, es posible aproximar P al coeficiente de difusión D [72]:

$$P = D \tag{3.1}$$

De este modo, el cambio de P denota cuál es el grado de permeabilización del tejido tratado. Sin embargo, en el modelo anterior trabajamos con coeficientes constantes por lo que no se podía observar el área permeabilizada. Por lo tanto, resulta necesario comprender cómo se debería alterar P en cada instante de tiempo para cada punto de la malla. En resultados experimentales para campos de baja intensidad aún no publicados ¹ se observó que, debido a la poca influencia del campo eléctrico aplicado, el pH es el factor predominante en la variación del factor de permeabilización μ_P :

$$\mu_P = 0,01 + \frac{1}{1 + e^{(pH-5,4)/0,5}} \tag{3.2}$$

¹Datos aportados por el Laboratorio de Sistemas Complejos (LSC) de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA.

Esta ecuación nos muestra claramente que a valores de pH más ácidos el factor de permeabilización es cercano a 1 (máxima permeabilización) mientras que cuanto más básico es el pH, μ_P se vuelve casi nulo (no se permeabiliza), como muestra la [Figura 3.1](#).

Teniendo en cuenta las ecuaciones [3.1](#) y [3.2](#), se obtiene que el valor del coeficiente de permeabilización P para cada instante de tiempo y para cada una de las especies es

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

donde $P_{efectivo}$ es el valor del coeficiente de permeabilización a pH neutro y P_{max} es la diferencia entre el valor del coeficiente de permeabilización en solución acuosa y a pH neutro. Para cada una de las especies, P_{max} determina la máxima variabilidad posible del coeficiente de permeabilización, siendo $P_{efectivo}$ el valor mínimo. Los valores de P en solución acuosa son los mismos que los valores de D referenciados en [Tabla 2.3](#). El valor de $P_{efectivo}$ se puede obtener multiplicando el valor de P en solución acuosa por 0.83.

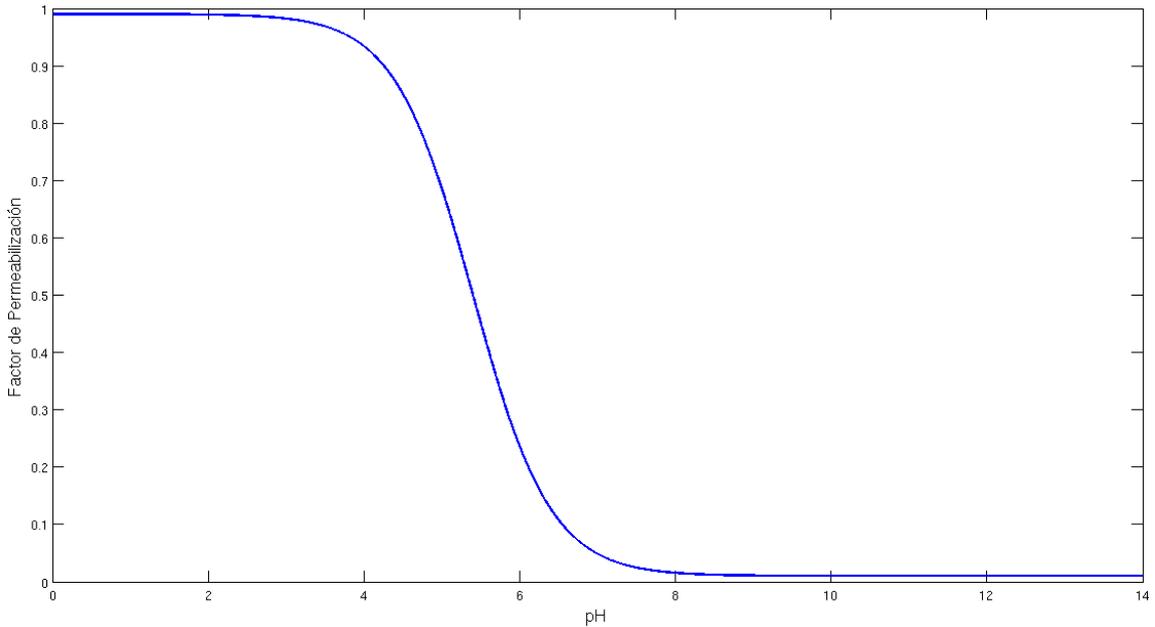


Figura 3.1: Relación entre el pH y el factor de permeabilización del tejido según la ecuación [3.2](#), inferida a partir del análisis de datos experimentales (no se muestran en la figura).

La incorporación de la variabilidad del coeficiente de permeabilización al sistema de ecuaciones descrito en el capítulo anterior, determina que aquellas ecuaciones en donde P esté alcanzado por un diferencial deban ser rediscretizadas. Esto se debe a que, como P varía de un punto de la malla a otro, ya no puede ser sacado como factor común en la discretización de los diferenciales [74]. Lo mismo ocurre con la movilidad iónica u_i , cuyo valor se calcula en función de P según la ecuación de Nernst-Einstein 2.5. Las ecuaciones que se ven afectadas son las de transporte 2.8 y la correspondiente al cálculo del potencial eléctrico 2.12. Teniendo esto en cuenta, se procederá a despejar cada una de las variables del sistema que serán discretizadas para realizar la simulación (ver sección 3.2. “Modelo computacional”).

Extrayendo las constantes como factor común y resolviendo el operador gradiente en la ecuación 2.8 se obtiene:

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = \nabla \left(P_i \frac{\partial C_i}{\partial x}, P_i \frac{\partial C_i}{\partial y} \right) + \frac{z_i}{|z_i|} \nabla \left(u_i C_i \frac{\partial \Phi}{\partial x}, u_i C_i \frac{\partial \Phi}{\partial y} \right) + R_i$$

A continuación se resuelve el operador divergencia:

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = \frac{\partial \left(P_i \frac{\partial C_i}{\partial x} \right)}{\partial x} + \frac{\partial \left(P_i \frac{\partial C_i}{\partial y} \right)}{\partial y} + \frac{z_i}{|z_i|} \left(\frac{\partial (u_i C_i \frac{\partial \Phi}{\partial x})}{\partial x} + \frac{\partial (u_i C_i \frac{\partial \Phi}{\partial y})}{\partial y} \right) + R_i$$

Aplicando la propiedad de la derivada del producto se tiene que:

$$\begin{aligned} \frac{\partial C_i}{\partial t} &= \frac{\partial P_i}{\partial x} \frac{\partial C_i}{\partial x} + P_i \frac{\partial^2 C_i}{\partial x^2} + \frac{\partial P_i}{\partial y} \frac{\partial C_i}{\partial y} + P_i \frac{\partial^2 C_i}{\partial y^2} + \\ &\frac{z_i}{|z_i|} \left(\frac{\partial (u_i C_i)}{\partial x} \frac{\partial \Phi}{\partial x} + u_i C_i \frac{\partial^2 \Phi}{\partial x^2} + \frac{\partial (u_i C_i)}{\partial y} \frac{\partial \Phi}{\partial y} + u_i C_i \frac{\partial^2 \Phi}{\partial y^2} \right) + R_i \end{aligned}$$

Se aplica nuevamente la propiedad de la derivada del producto para obtener:

$$\begin{aligned} \frac{\partial C_i}{\partial t} &= \frac{\partial P_i}{\partial x} \frac{\partial C_i}{\partial x} + P_i \frac{\partial^2 C_i}{\partial x^2} + \frac{\partial P_i}{\partial y} \frac{\partial C_i}{\partial y} + P_i \frac{\partial^2 C_i}{\partial y^2} + \\ &\frac{z_i}{|z_i|} \left[\left(C_i \frac{\partial u_i}{\partial x} + u_i \frac{\partial C_i}{\partial x} \right) \frac{\partial \Phi}{\partial x} + u_i C_i \frac{\partial^2 \Phi}{\partial x^2} + \left(C_i \frac{\partial u_i}{\partial y} + u_i \frac{\partial C_i}{\partial y} \right) \frac{\partial \Phi}{\partial y} + u_i C_i \frac{\partial^2 \Phi}{\partial y^2} \right] + R_i \end{aligned}$$

Finalmente, se agrupan algunos términos para facilitar luego la discretización de las ecuaciones para determinar la concentración de H^+ , OH^- y Cl^- :

$$\begin{aligned} \frac{\partial C_i}{\partial t} = & \frac{\partial P_i}{\partial x} \frac{\partial C_i}{\partial x} + \frac{\partial P_i}{\partial y} \frac{\partial C_i}{\partial y} + P_i \left(\frac{\partial^2 C_i}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C_i}{\partial y^2} \right) + \\ & \frac{z_i}{|z_i|} \left[\left(C_i \frac{\partial u_i}{\partial x} + u_i \frac{\partial C_i}{\partial x} \right) \frac{\partial \Phi}{\partial x} + \left(C_i \frac{\partial u_i}{\partial y} + u_i \frac{\partial C_i}{\partial y} \right) \frac{\partial \Phi}{\partial y} + u_i C_i \left(\frac{\partial^2 \Phi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \Phi}{\partial y^2} \right) \right] + R_i \end{aligned} \quad (3.3)$$

Al igual que en el capítulo anterior, para calcular la concentración de Na^+ se utiliza la hipótesis de electroneutralidad expresada en la ecuación 2.10.

Para calcular el potencial eléctrico se parte de la ecuación 2.12 extrayendo las constantes como factor común y resolviendo el operador gradiente:

$$\sum_{i=1}^4 |z_i| \nabla \left(u_i C_i \frac{\partial \Phi}{\partial x}, u_i C_i \frac{\partial \Phi}{\partial y} \right) + \sum_{i=1}^4 z_i \nabla \left(P_i \frac{\partial C_i}{\partial x}, P_i \frac{\partial C_i}{\partial y} \right) = 0$$

Resolviendo el operador divergencia y aplicando la propiedad de la derivada del producto se obtiene:

$$\begin{aligned} \sum_{i=1}^4 |z_i| \left(\frac{\partial(u_i C_i)}{\partial x} \frac{\partial \Phi}{\partial x} + u_i C_i \frac{\partial^2 \Phi}{\partial x^2} + \frac{\partial(u_i C_i)}{\partial y} \frac{\partial \Phi}{\partial y} + u_i C_i \frac{\partial^2 \Phi}{\partial y^2} \right) + \\ \sum_{i=1}^4 z_i \left(\frac{\partial P_i}{\partial x} \frac{\partial C_i}{\partial x} + P_i \frac{\partial^2 C_i}{\partial x^2} + \frac{\partial P_i}{\partial y} \frac{\partial C_i}{\partial y} + P_i \frac{\partial^2 C_i}{\partial y^2} \right) = 0 \end{aligned}$$

Aplicando nuevamente la propiedad de la derivada del producto y agrupando algunos términos, se obtiene la ecuación que será utilizada para calcular Φ :

$$\begin{aligned} \sum_{i=1}^4 |z_i| \left[\left(C_i \frac{\partial u_i}{\partial x} + u_i \frac{\partial C_i}{\partial x} \right) \frac{\partial \Phi}{\partial x} + \left(C_i \frac{\partial u_i}{\partial y} + u_i \frac{\partial C_i}{\partial y} \right) \frac{\partial \Phi}{\partial y} + u_i C_i \left(\frac{\partial^2 \Phi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \Phi}{\partial y^2} \right) \right] + \\ \sum_{i=1}^4 z_i \left[\frac{\partial P_i}{\partial x} \frac{\partial C_i}{\partial x} + \frac{\partial P_i}{\partial y} \frac{\partial C_i}{\partial y} + P_i \left(\frac{\partial^2 C_i}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C_i}{\partial y^2} \right) \right] = 0 \end{aligned} \quad (3.4)$$

3.2. Modelo computacional

Para la discretización de las ecuaciones de este nuevo modelo se utilizará la misma metodología y notación que la descripta en el capítulo anterior.

3.2.1. Discretización de la ecuación de transporte

A continuación se despeja la variable de la concentración para el caso del H^+ teniendo en cuenta la nueva discretización de la ecuación 3.3. Para el resto de las especies es análogo, utilizando el término reactivo apropiado:

$$\begin{aligned} \frac{C_{i,j}^{m+1} - C_{i,j}^m}{\Delta t} &= \frac{(P_{i+1,j}^m - P_{i-1,j}^{m+1}) (C_{i+1,j}^m - C_{i-1,j}^{m+1})}{2h} + \frac{(P_{i,j+1}^m - P_{i,j-1}^{m+1}) (C_{i,j+1}^m - C_{i,j-1}^{m+1})}{2h} + \\ &P_{i,j}^m \left(\frac{C_{i+1,j}^m + C_{i-1,j}^{m+1} - 2C_{i,j}^{m+1}}{h^2} + \frac{C_{i,j+1}^m + C_{i,j-1}^{m+1} - 2C_{i,j}^{m+1}}{h^2} \right) + \\ &\frac{z}{|z|} \left[\left(C_{i,j}^{m+1} \frac{(u_{i+1,j}^m - u_{i-1,j}^{m+1})}{2h} + u_{i,j}^{m+1} \frac{(C_{i+1,j}^m - C_{i-1,j}^{m+1})}{2h} \right) \frac{(\Phi_{i+1,j}^m - \Phi_{i-1,j}^{m+1})}{2h} + \right. \\ &\left. \left(C_{i,j}^{m+1} \frac{(u_{i,j+1}^m - u_{i,j-1}^{m+1})}{2h} + u_{i,j}^{m+1} \frac{(C_{i,j+1}^m - C_{i,j-1}^{m+1})}{2h} \right) \frac{(\Phi_{i,j+1}^m - \Phi_{i,j-1}^{m+1})}{2h} + \right. \\ &\left. u_{i,j}^{m+1} C_{i,j}^{m+1} \left(\frac{(\Phi_{i+1,j}^m - 2\Phi_{i,j}^{m+1} + \Phi_{i-1,j}^{m+1})}{h^2} + \frac{(\Phi_{i,j+1}^m - 2\Phi_{i,j}^{m+1} + \Phi_{i,j-1}^{m+1})}{h^2} \right) \right] \\ &+ k_{wb} C_{H_2O} - k_{wf} C_{i,j}^{m+1} C_{i,j,OH}^{m+1} \end{aligned}$$

3.2.2. Discretización de la ecuación del potencial eléctrico

Análogamente, se procederá a hallar una expresión para obtener $\Phi_{i,j}^{m+1}$ partiendo de la ecuación 3.4:

$$\begin{aligned} \sum_{s=1}^4 |z_s| \left[\left(C_{i,j,s}^{m+1} \frac{(u_{i+1,j,s}^m - u_{i-1,j,s}^{m+1})}{2h} + u_{i,j,s}^{m+1} \frac{(C_{i+1,j,s}^m - C_{i-1,j,s}^{m+1})}{2h} \right) \frac{(\Phi_{i+1,j}^m - \Phi_{i-1,j}^{m+1})}{2h} + \right. \\ \left. \left(C_{i,j,s}^{m+1} \frac{(u_{i,j+1,s}^m - u_{i,j-1,s}^{m+1})}{2h} + u_{i,j,s}^{m+1} \frac{(C_{i,j+1,s}^m - C_{i,j-1,s}^{m+1})}{2h} \right) \frac{(\Phi_{i,j+1}^m - \Phi_{i,j-1}^{m+1})}{2h} + \right. \\ \left. \frac{u_{i,j,s}^{m+1} C_{i,j,s}^{m+1}}{h^2} \left(\Phi_{i+1,j}^m + \Phi_{i-1,j}^{m+1} + \Phi_{i,j+1}^m + \Phi_{i,j-1}^{m+1} - 4\Phi_{i,j}^{m+1} \right) \right] + \\ \sum_{s=1}^4 z_s \left[\frac{(P_{i+1,j,s}^m - P_{i-1,j,s}^{m+1}) (C_{i+1,j,s}^m - C_{i-1,j,s}^{m+1})}{2h} + \frac{(P_{i,j+1,s}^m - P_{i,j-1,s}^{m+1}) (C_{i,j+1,s}^m - C_{i,j-1,s}^{m+1})}{2h} + \right. \\ \left. \frac{P_{i,j,s}^{m+1}}{h^2} \left(C_{i+1,j,s}^m + C_{i-1,j,s}^{m+1} + C_{i,j+1,s}^m + C_{i,j-1,s}^{m+1} - 4C_{i,j,s}^{m+1} \right) \right] = 0 \end{aligned}$$

3.2.3. Corridas y parámetros

Las condiciones iniciales para la realización de los experimentos fueron las mismas que las presentadas en la [sección 2.2.7. “Corridas y parámetros”](#).

Además de las seis disposiciones de electrodos del Capítulo 2, se realizó un séptimo experimento con un único ánodo y un único cátodo. Para esta nueva corrida se utilizó una malla uniforme, bidimensional y equiespaciada de 250×250 nodos con separación entre cada nodo de $h = 4 \cdot 10^{-4}$ m, es decir, una malla de 10×10 cm². El $\Delta t = 5 \cdot 10^{-4}$ s. La corriente constante aplicada fue de 10 mA. Considerando el punto central de la malla como el (0,0), el ánodo fue ubicado a -1.9 cm del centro respecto del eje de abscisas mientras que el cátodo fue ubicado a 1.9 cm, es decir, con una separación de 3.8 cm. La elección de esta nueva configuración tiene por objetivo poder comparar los resultados de la simulación con los obtenidos en el trabajo realizado por Olaiz *et al.* [73]. Más aún, la separación entre los electrodos se debe a que esa fue la longitud de los tubos capilares utilizados en el trabajo previo de Turjanski *et al.* [55].

3.3. Modelo *in vitro*

Para poder contrastar el nuevo modelo *in silico* presentado se utilizó el modelo *in vitro* “Gel de colágeno y macronutrientes (CMG)” propuesto por Olaiz *et al.* [73]. En dicho trabajo se describe un modelo compuesto por una matriz de colágeno a la cual se le añade cloruro de sodio, $NaHCO_3$ y yema de huevo. El aporte realizado por la yema de huevo consiste básicamente en su naturaleza proteica, aproximando de mejor modo la composición natural de un tejido.

El modelo CMG se basa en una solución de colágeno I (30 g/L) con yema de huevo fresca a 5% v/v, $NaCl$ a 0.16 mol/dm³ y $NaHCO_3$ a 27 mmol/dm³. La solución se colocó en una placa de Petri de 9 cm de diámetro permitiendo que se gelifique. Luego, se insertaron dos electrodos de platino a una profundidad de 0.4 cm y con una separación de 3.8 cm entre ambos. El área expuesta de cada uno de los electrodos fue de 0.060 cm². Todos los experimentos fueron realizados a 25 °C sin observarse cambios significativos entre ellos. Las imágenes se obtuvieron con una cámara digital Canon Power-Shot SD1000 de 7.5 megapíxeles. Para la captura y el procesamiento se utilizó Image J [75]. Para la aplicación de la corriente eléctrica continua y constante se utilizó Consort E835, Belgium. Tanto la corriente eléctrica como el voltaje fueron monitoreados continuamente con un multímetro estándar a una frecuencia de 20 segundos.

3.4. Resultados y discusión

En esta sección se presentarán los resultados obtenidos para distintas simulaciones de una terapia EA con factor de permeabilización, según lo descrito en la sección 3.2. “Modelo computacional”. Primero se trabajará con las simulaciones correspondientes a las 6 configuraciones de electrodos del Capítulo 2 y se las comparará con lo observado en dicho apartado. Luego, se presentarán y contrastarán los resultados de la simulación correspondiente al experimento de la sección 3.3. “Modelo *in vitro*”.

En la Figura 3.2 se observan las isolíneas del potencial eléctrico para las 6 configuraciones de electrodos del Capítulo 2 a igual escala de voltaje luego de 180 segundos de simulación. En relación con la Figura 2.1, se aprecia un ligero aumento del potencial eléctrico en toda la malla mientras que la forma de los gráficos resulta análoga.

En la Figura 3.3 se observa la evolución de los frentes de pH en conjunto con las líneas direccionales normalizadas del campo eléctrico para distintos instantes de tiempo, desde el comienzo hasta el final de la terapia, para la configuración circular descrita en el Capítulo 2. Con respecto a la Figura 2.4 se aprecia una mayor velocidad en el avance de los frentes ácidos producto de la permeabilización anódica (ver Figura 3.4).

En la Figura 3.4 se muestra la sección central de mallas de 10×10 cm² luego de 1550 segundos de aplicación de una terapia EA a corriente constante de 10 mA para un ánodo (izquierda) y un cátodo (derecha) dispuestos a 3.8 cm de distancia. Esta figura tiene por objetivo contrastar la incorporación de la variabilidad del coeficiente de permeabilización con el trabajo científico llevado a cabo por Olaiz *et al.* en [73]. El trabajo de Olaiz *et al.* (a) muestra los frentes de desnaturalización anódico y catódico para el modelo *in vitro* CMG, los cuales son una buena forma de medir el área de tejido necrosado. En (b) se observan los frentes de pH que, al igual que en las otras configuraciones, una vez que colisionan, mantienen estable la posición de choque. A su vez, se aprecia de manera clara la forma del campo eléctrico, con las líneas en dirección ánodo-cátodo. En (c) se muestran los valores del factor de permeabilización, el cual es igual para todas las especies. Cabe destacar la estrecha relación que guardan las imágenes (a) y (b), lo cual indicaría que la simulación se ajusta de modo preciso a lo observado en el modelo *in vitro* presentado por Olaiz *et al.* Por otra parte, en (c) se observa que la permeabilización solamente tiene lugar alrededor del ánodo, donde los valores de pH son más ácidos, observándose, a su vez, una menor permeabilización en el área circundante al cátodo, donde el pH resulta en valores extremadamente básicos. En conjunto, estas tres imágenes indicarían que el proceso de ablación tendría lugar, efectivamente, por los valores extremos de pH, tanto ácidos como básicos, y no así por la permeabilización del tejido, que solo tiene lugar en la zona anódica, como sugerían algunos autores [21, 71].

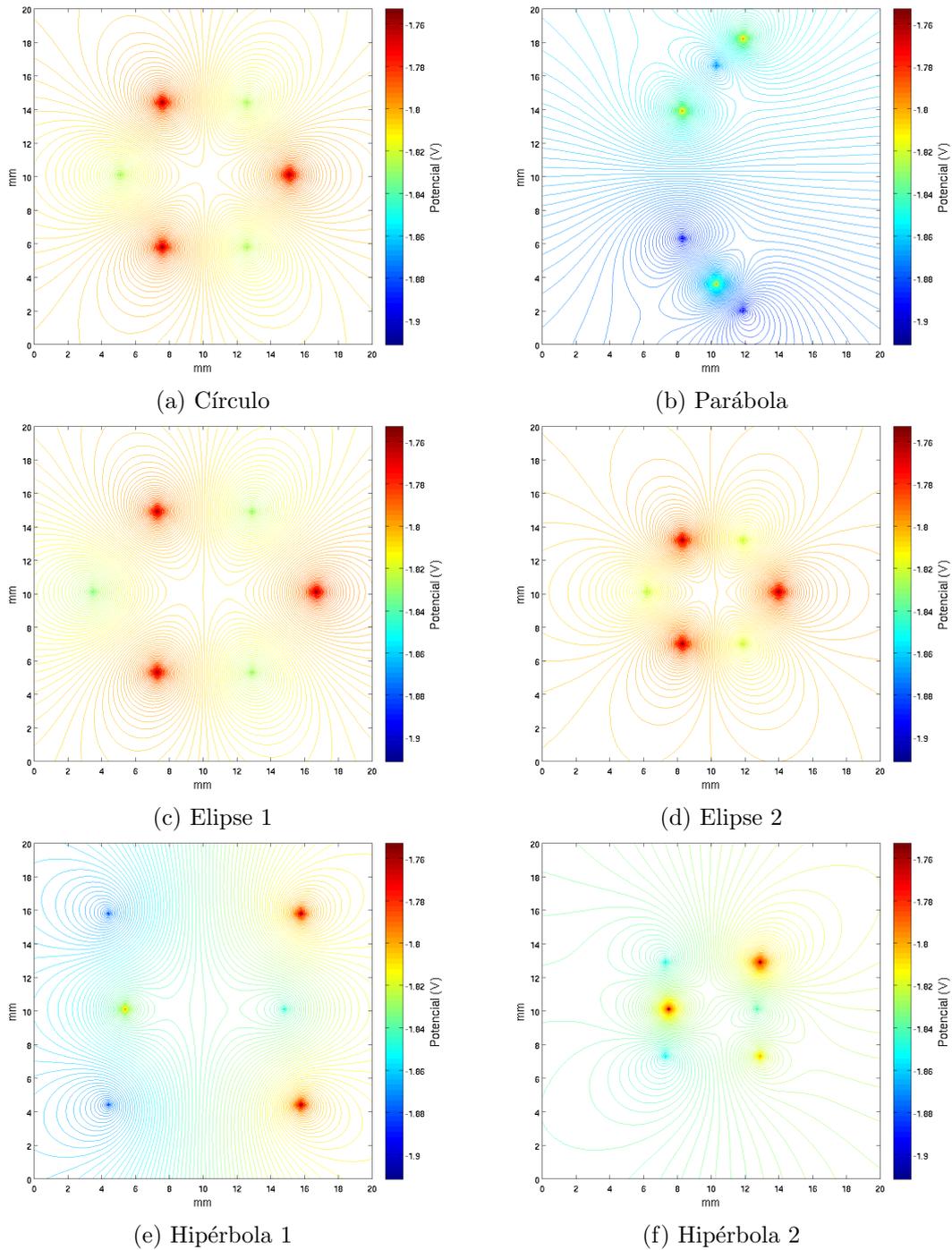


Figura 3.2: Distribución de las isolíneas del potencial eléctrico para las 6 configuraciones de electrodos desarrolladas en el Capítulo 2 luego de 180 segundos de simulación para una terapia EA. La densidad de corriente aplicada fue de 400 A/m^2 y el tamaño de la malla espacial simulada de $25 \times 25 \text{ mm}^2$. En las 6 figuras se observa solo la parte central de la malla. Los puntos en donde se alcanza el mayor potencial coinciden con la ubicación de los ánodos mientras que aquellos en donde se alcanza el menor potencial coinciden con la ubicación de los cátodos. La comparación con la [Figura 2.1](#) muestra una similitud cualitativa para todas las figuras.

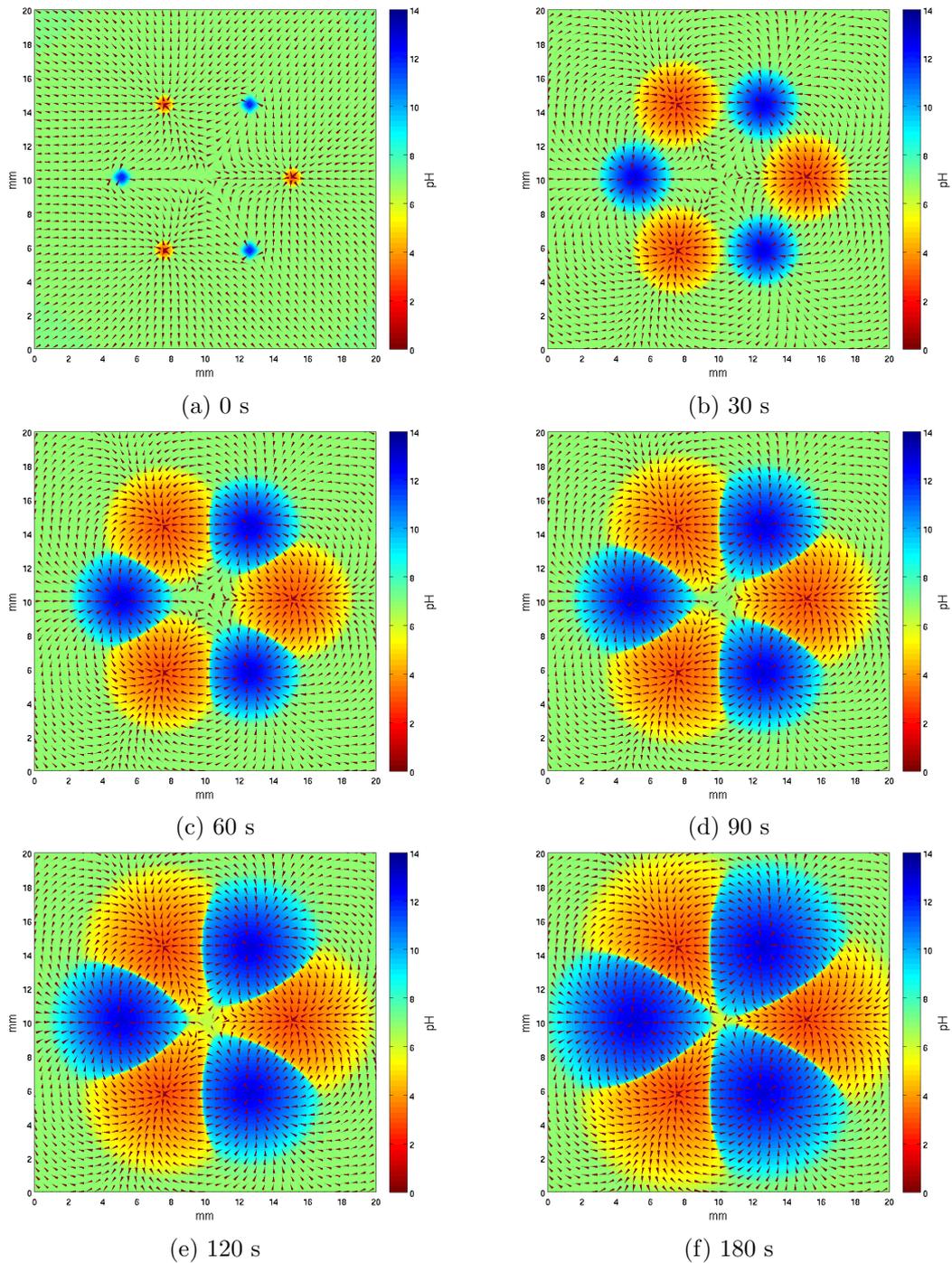
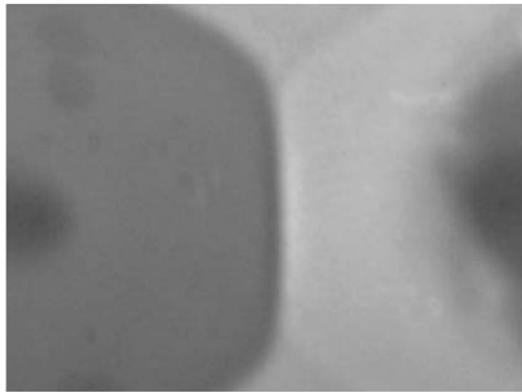
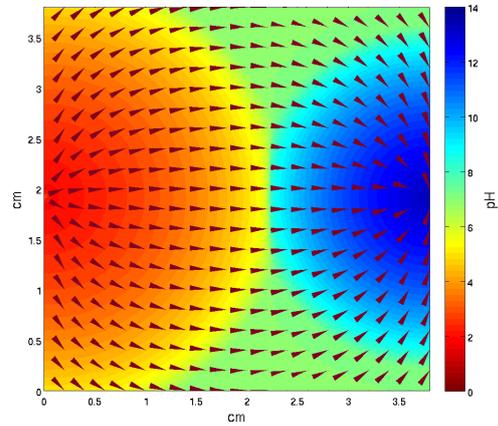


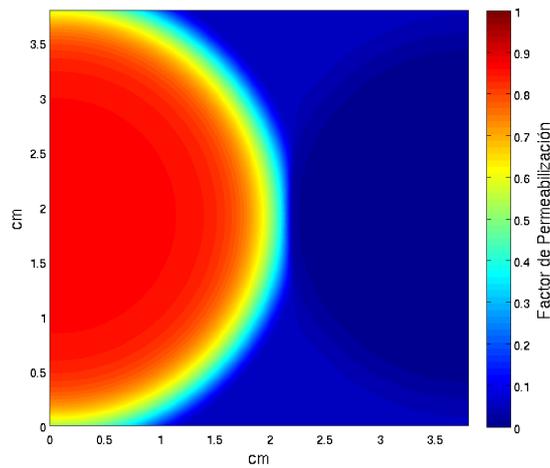
Figura 3.3: Predicción del avance de los frentes de pH y de la distribución del campo eléctrico a través del tiempo para una terapia EA para la distribución circular presentada en el Capítulo 2. La densidad de corriente aplicada fue de 400 A/m^2 y el tamaño de la malla espacial simulada de $25 \times 25 \text{ mm}^2$. En las 6 figuras se observa solo la parte central de la malla. Los puntos de mayor pH coinciden con la ubicación de los cátodos mientras que los de menor pH coinciden con la ubicación de los ánodos. En relación con la Figura 2.4 se aprecia que los frentes ácidos avanzan más rápido.



(a) Frentes de desnaturalización.



(b) Frentes de pH.



(c) Factor de permeabilización.

Figura 3.4: Las 3 imágenes corresponden a una terapia EA de 2 electrodos a corriente constante de 10 mA luego de 1550 segundos de aplicación. El ánodo se encuentra ubicado a izquierda mientras que el cátodo se encuentra a derecha, con una separación entre ambos de 3.8 cm. En (a) se observan los frentes de electrodesnaturalización para el modelo *in vitro* CMG (tomada de “Tracking protein electrodenaturation fronts in the electrochemical treatment of tumors” [73]). En (b) se muestran en conjunto los frentes de pH y la distribución del campo eléctrico, resultado de la simulación computacional. En (c) se observan los valores del factor de permeabilización μ_P , también obtenidos mediante la simulación.

Por otro lado, en la [Figura 3.5](#) se muestra un corte unidimensional de la predicción de la concentración de las 4 especies modeladas luego de 1550 segundos de aplicación de una terapia EA para la configuración de un ánodo y un cátodo separados por 3.8 cm. En relación con la [Figura 2.6](#), correspondiente a la distribución circular de electrodos del capítulo anterior, se observa mayor concentración de Na^+ y OH^- en el cátodo, menor concentración de Cl^- en ambos electrodos y mayor concentración de H^+ en el ánodo, todos estos cambios pueden ser atribuidos a la mayor intensidad de corriente aplicada. Además, en este caso se logra apreciar con mayor claridad el incremento en la concentración de los cloruros en torno al ánodo como consecuencia de la atracción que éste produce por su carga eléctrica contraria.

En la [Figura 3.6](#) se realiza una comparación cualitativa y cuantitativa del avance del frente anódico de electrodesnaturalización para el modelo *in vitro* CMG y del frente de pH anódico obtenido mediante simulación en una escala log-log. La primera imagen fue tomada del trabajo realizado por Olaiz *et al.* [73] y muestra que el avance del frente anódico está gobernado principalmente por acción de la difusión ($t^{0,5}$). La segunda imagen es el resultado del seguimiento del frente de pH anódico calculado durante la simulación y muestra una fuerte correspondencia con el gráfico anterior, evidenciando el carácter difusivo del proceso ($t^{0,4}$). En este sentido, la evolución de los frentes de pH del modelo *in silico* se asemejaría a lo que realmente ocurre al aplicar la terapia al modelo *in vitro*.

Por último, cabe aclarar que los tiempos de procesamiento de la simulación fueron similares a los indicados en el Capítulo 2, evidenciando que el cálculo del factor de permeabilización no impacta significativamente en el tiempo total de procesamiento. Este resultado era esperable ya que si se considera el total de operaciones aritméticas básicas (suma, resta, multiplicación, etc.) realizadas en cada iteración, las correspondientes a determinar μ_P representan un porcentaje muy bajo de ese total.

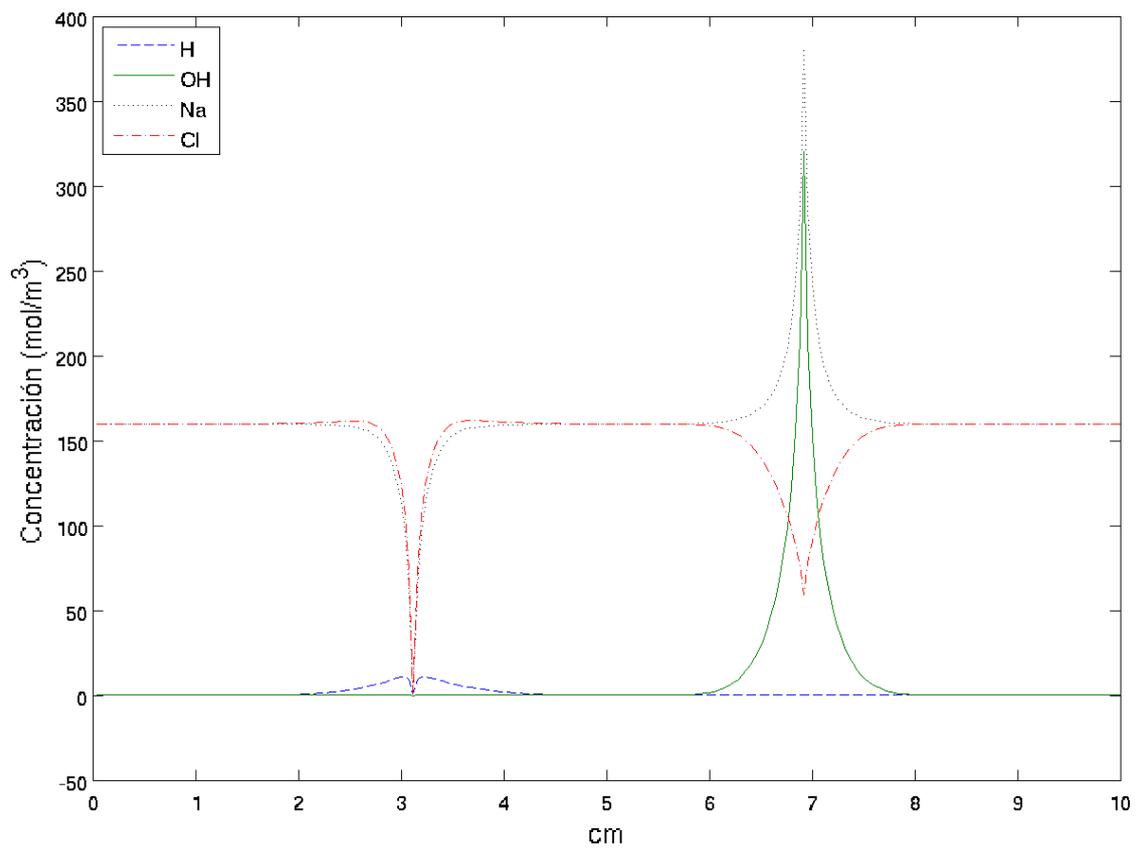


Figura 3.5: Corte unidimensional de la predicción de las concentraciones de Cl^- , Na^+ , OH^- y H^+ luego de 1550 segundos de aplicación de una terapia EA a corriente constante de 10 mA para una configuración de un ánodo y un cátodo. El ánodo se encuentra ubicado a los 3.1 cm mientras que el cátodo se encuentra a los 6.9 cm, siendo la separación entre ambos de 3.8 cm.

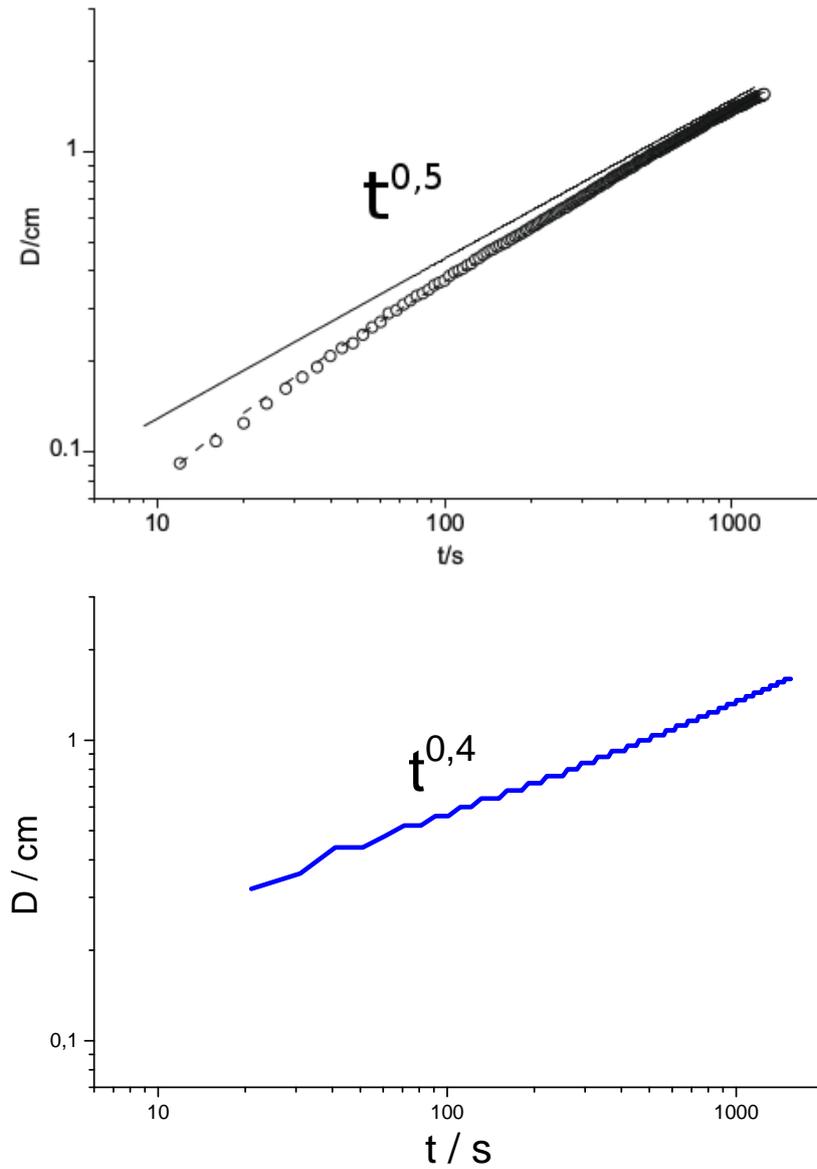


Figura 3.6: Seguimiento del frente anódico de electrodesnaturalización para el modelo *in vitro* CMG (imagen superior, tomada de “Tracking protein electrodenaturation fronts in the electrochemical treatment of tumors” [73]) y del frente de pH anódico obtenido mediante simulación (imagen inferior) luego de 1550 segundos de aplicación de una terapia EA a corriente constante de 10 mA para una configuración de un ánodo y un cátodo separados por 3.8 cm. Los valores representan el radio de cada frente con centro en el ánodo para cada instante de tiempo, en una escala log-log.

3.5. Conclusiones

En este capítulo se propuso una extensión al modelo bidimensional de EA presentado en el Capítulo 2, la cual permite capturar la noción de permeabilización del tejido tratado. A su vez, los resultados obtenidos fueron contrastados con el modelo *in silico* anterior y con el modelo *in vitro* CMG presentado por Olaiz *et al.* en [73].

En primer lugar, se utilizaron las mismas configuraciones de electrodos trabajadas en el Capítulo 2 para verificar que la inclusión de la nueva ecuación que modela la permeabilización no altera significativamente los resultados de las simulaciones. En este sentido no se reportaron diferencias sustanciales entre ambos modelos, sugiriendo que la permeabilización y, por consiguiente, la modificación del coeficiente de permeabilización de cada una de las especies, no tiene un impacto notorio en la evolución de la terapia, ya sea tanto en el avance de los frentes de pH, causantes de la necrosis del tejido, como del potencial eléctrico y la concentración del resto de las especies (datos no mostrados dada la similitud con la Figura 2.6).

En segundo lugar, se utilizó el modelo *in vitro* CMG con un doble objetivo: por un lado sirvió para contrastar los resultados de la simulación con un modelo de mayor complejidad y cuya composición química se asemejara cada vez más a la de un tejido real. Por el otro, se puso en evidencia que la permeabilización no juega un rol preponderante en la ablación para esta terapia ya que solamente se da en la región circundante al ánodo, mientras que el tejido necrosado ocupa las regiones tanto del ánodo como del cátodo. Este resultado es muy significativo ya que descarta la hipótesis sugerida por algunos autores de que la ablación se debe a la electropermeabilización [21, 71], reforzando aún más la hipótesis acerca de que, en realidad, son los frentes de pH extremo los causales de la destrucción del tejido.

En tercer lugar, se observó que la evolución del frente de pH anódico del modelo *in silico* sigue un comportamiento gobernado principalmente por la difusión, al igual que lo observado en el modelo *in vitro* CMG.

Por último, cabe destacar la robustez del modelo presentado, el cual permitió la incorporación de una nueva ecuación al sistema que, teniendo impacto en el cálculo del resto de las variables, no afectó su estabilidad numérica ni modificó significativamente el tiempo de las corridas.

Capítulo 4

Modelo en 2D con factor de permeabilización para ECT

En los dos capítulos anteriores se introdujeron modelos teóricos para el estudio de la EA. Los modelos resuelven las ecuaciones de Nernst-Planck para el transporte de iones, bajo condiciones de electroneutralidad, en un dominio bidimensional utilizando el método de diferencias finitas en una malla fija. Se analizó el desarrollo de la terapia para distintas distribuciones de electrodos y se compararon las predicciones obtenidas con un modelo *in vitro*, obteniendo una buena descripción cuantitativa de la concentración de iones y los perfiles de pH producidos. Como ya se ha mencionado, los perfiles de pH obtenidos a partir de los modelos *in silico* han demostrado la existencia de una muy buena relación con las zonas de destrucción del tejido, medidas experimentalmente. De este modo, el modelo puede ser de utilidad en la predicción de la destrucción del tumor que se produce con la aplicación de la EA.

En [56], Turjanski *et al.*, bajo la hipótesis de que un proceso de acidificación anódica podría estar ocurriendo en otro tipo de terapias, abordan el estudio de la ECT y proponen un modelo teórico unidimensional. Los resultados obtenidos fueron contrastados con un modelo *in vitro*, mostrando que dicha acidificación resultó ser todavía mayor que en EA y, en consecuencia, la necrosis del tejido a tratar.

La ECT es una técnica mínimamente invasiva que emplea pulsos eléctricos con el propósito de permeabilizar local y temporalmente la membrana celular y así permitir entrar en la célula, que en condiciones normales sería impermeable, pequeñas cantidades de drogas anticancerígenas como es el caso de la *bleomicina*. Esta droga produce roturas en las hebras del ADN, eliminando de forma selectiva a las células que se encuentran en proceso de división celular, excluyendo al resto [76].

Un aplicación típica de la terapia consiste en un tren de 8 pulsos de onda cuadrada de $100 \mu\text{s}$ y aproximadamente 1000 V/cm aplicados a 1 Hz . El voltaje aplicado depende esencialmente del tipo de electrodos y la distancia entre ellos [44]. Es importante notar que, a diferencia de EA en donde se busca necrosar al tejido mediante la aplicación de corriente eléctrica, en ECT el uso de ondas cuadradas de pulso eléctrico de una duración y amplitud apropiadas preserva la viabilidad de las células, permitiendo el restablecimiento de la membrana celular unos pocos minutos después de aplicado el pulso eléctrico [77–79].

En este capítulo presentaremos un modelo computacional bidimensional con coeficiente de permeabilización para el estudio de ECT. Para la fase de la terapia en donde se aplica corriente eléctrica se reutilizará el submodelo presentado en el capítulo 3. Los resultados obtenidos mediante la simulación computacional serán contrastados con un modelo *in vivo*.

4.1. Modelo físico-matemático

A continuación se presenta un modelo *in silico* para un tratamiento estándar de ECT: 8 pulsos de onda cuadrada a 1000 V/cm por el lapso de $100 \mu\text{s}$ aplicados con una frecuencia de 1 Hz a un tejido tumoral. El modelo consta de dos submodelos, como muestra la Figura 4.1, a saber:

- a) *ON time*: representa la fase del pulso donde el campo eléctrico es aplicado.
- b) *OFF time*: fase en la que no se aplica corriente eléctrica al tejido.

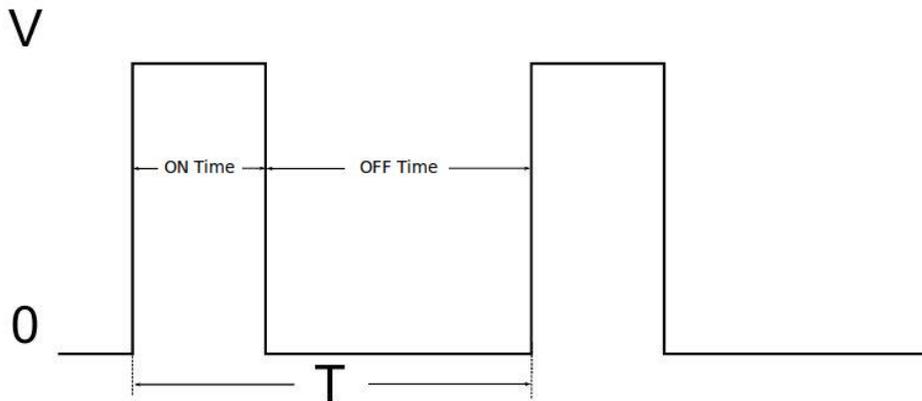


Figura 4.1: Esquema de aplicación de pulsos. *ON time*: se aplica corriente eléctrica. *OFF time*: no se aplica corriente eléctrica. *T*: tiempo de duración de ambos submodelos. *V*: amplitud del pulso. La duración de las fases *ON time* y *OFF time* no se encuentran graficadas a escala.

4.1.1. Submodelo *ON time*

A pesar de las similitudes entre el modelo propuesto para EA en la [sección 3.1. “Modelo físico-matemático”](#) y el que presentaremos a continuación para ECT *ON time*, y que supondrá las mismas simplificaciones, existen dos diferencias importantes a tener en cuenta:

1. En EA se aplica corriente constante mientras que en ECT lo constante es la tensión, por lo que la corriente puede variar (esto ocurre si cambia la resistencia del medio). La estrategia que se utilizará para resolver esta diferencia será ir corrigiendo en cada instante de tiempo el valor requerido de intensidad de corriente para que la tensión se mantenga constante durante toda la fase *ON time*.
2. A diferencia de EA, en ECT se trabaja con campos eléctricos de alta intensidad. En este caso, la variación del coeficiente de permeabilización depende principalmente de la intensidad del campo ¹:

$$P = \left(\|E\| * \left(1 - e^{\frac{-\Delta t}{12000}} \right) \right)^2$$

Teniendo en cuenta estas pequeñas diferencias, se puede adaptar sencillamente el modelo del capítulo anterior para esta fase de la terapia.

4.1.2. Submodelo *OFF time*

Durante esta fase de la terapia no se aplica corriente eléctrica por lo que solo predominarán los procesos difusivo y reactivo. De este modo, se pueden tomar las ecuaciones diferenciales del período *ON time*, eliminando los términos asociados a la aplicación de campo eléctrico puesto que será considerado nulo. El flujo molar queda representado de la siguiente manera:

$$N_i = -D_i \nabla C_i \tag{4.1}$$

El transporte de masa de la especie i a través de ambas superficies de los electrodos se asume inexistente. Por lo tanto, para $i = H^+$, OH^- , Cl^- y Na^+ :

$$-D_i (\nabla C_i \cdot \mathbf{n}) = 0 \tag{4.2}$$

El campo eléctrico sobre los electrodos se considera nulo.

En cuanto a las condiciones de borde, se resolverá del mismo modo que en la fase *ON time* considerando que no es necesario calcular el potencial ni el campo eléctrico.

¹Ecuación proveniente de datos aún no publicados aportados por el Laboratorio de Sistemas Complejos (LSC) de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA.

4.2. Modelo computacional

A pesar de que el modo en que se resolverán los sistemas de ecuaciones será análogo a lo descrito en la [sección 2.2. “Modelo computacional”](#), es necesario indagar en algunos aspectos particulares que se presentan al momento de simular esta terapia. Uno de esos aspectos es el aumento repentino de voltaje entre una fase y otra del pulso. Teniendo en cuenta la Ley de Ohm, alcanzaría solamente con aumentar la corriente aplicada I entre un instante de tiempo y el siguiente. Sin embargo, esto impactaría fuertemente en la concentración de las especies produciendo una desestabilización numérica del sistema. Por otro lado, no se estaría modelando correctamente el proceso puesto que en el mundo físico el cambio de voltaje, si bien ocurre rápidamente, no es instantáneo, es decir, hay un aumento continuo de la corriente aplicada durante un lapso breve de tiempo hasta llegar al valor del voltaje objetivo. De manera análoga, al cortar el suministro de corriente, ocurre una curva decreciente del voltaje hasta llegar a cero. Por lo tanto, el esquema que se utilizará para implementar las fases del pulso eléctrico será como sigue:

1. Se incrementa sostenidamente I en intervalos de tiempo Δt muy pequeños hasta llegar al voltaje objetivo.
2. Se mantiene constante el voltaje objetivo.
3. Se decreta sostenidamente I en intervalos de tiempo Δt muy pequeños hasta llegar a $V=0$.
4. No se aplica corriente.

De este modo, en las fases 1, 2 y 3 se utiliza el modelo *ON time* mientras que en la fase 4 se utiliza el modelo *OFF time*. El Δt de las fases 1 y 3 es del orden de $1e^{-12}$ s.

Por último, para mantener constante el voltaje en la fase 2, se corrige el valor de I en cada iteración debido al cambio en la resistencia del medio producido por el cambio en la concentración de H^+ y OH^- . De esta manera, si el voltaje entre t y $t+1$ disminuye entonces se aumenta el valor de I mientras que si aumenta, se decreta I . La diferencia de voltaje entre un instante de tiempo y el siguiente durante las simulaciones es menor que el error de los instrumentos de medición utilizados en laboratorio.

4.2.1. Corridas y parámetros

Las condiciones iniciales y el entorno para la realización de la experimentación computacional fueron los mismos que los presentadas en la [sección 2.2.7. “Corridas y parámetros”](#).

Para la única simulación que se presenta en este capítulo se utilizó una malla uniforme, bidimensional y equiespaciada de 100×100 nodos. La distancia entre cada nodo fue de $h = 1 \cdot 10^{-4}$ m y la densidad de corriente inicial fue de 1000 A/m^2 . El Δt para las fases 1 y 3 fue de $1 \cdot 10^{-12}$ s, para la fase 2 de $1 \cdot 10^{-8}$ s y para la fase 4 de $1 \cdot 10^{-5}$ s. Se dispondrá un único ánodo ubicado a los 2.5 mm y un único cátodo a los 7.5 mm, siendo la separación entre ambos de 5 mm.

4.3. Modelo *in vivo*

Para poder contrastar el modelo computacional propuesto con modelos que revistan cada vez mayor complejidad, se decidió experimentar con un modelo de papa (*Solanum tuberosum sp.*). En este tubérculo, el daño en el tejido se debe al proceso de oxidación ocasionado por la liberación de enzimas intracelulares –principalmente polifenol oxidasa– y se evidencia por áreas de color más oscuro en la papa [60]. Dado que la liberación de estas enzimas implica la permeabilización de la membrana celular, las regiones oscuras, resultantes de la aplicación de los pulsos eléctricos, será considerada como electroacido-permeabilizada.

Se trabajó con una rodaja de papa de $4 \times 5 \text{ cm}^2$ y 2 cm de espesor en la cual se dispusieron de manera enfrentada un ánodo y un cátodo de acero inoxidable de 2 cm de longitud y 1 mm de diámetro, con una separación de 5 mm y a una profundidad de 1 cm. Se aplicaron 8 pulsos de onda cuadrada de $100 \mu\text{s}$ a 1000 V/cm con una frecuencia de 1 Hz. La corriente fue aplicada utilizando un electroporador BTX ECM 830, Harvard Apparatus Inc, MA, USA. Las imágenes se obtuvieron con una cámara digital Canon Power-Shot SD1000 de 7.5 megapíxeles. Para la captura y el procesamiento se utilizó Image J [75].

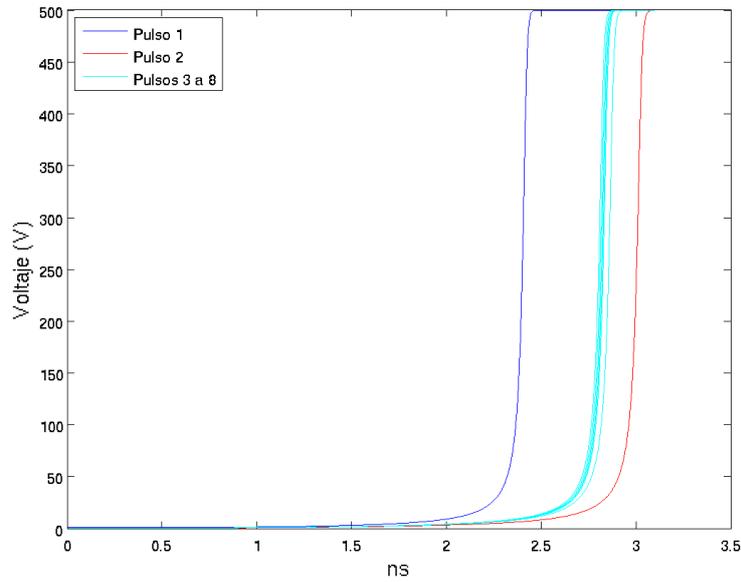
4.4. Resultados y discusión

Los resultados que se presentarán y analizarán en esta sección corresponden a la simulación de una terapia ECT con factor de permeabilización y a la aplicación de la misma a un modelo *in vivo* de papa. La terapia consiste en la aplicación de una tanda de 8 pulsos de onda cuadrada de $100 \mu\text{s}$ y aproximadamente 1000 V/cm aplicados con frecuencia de 1 Hz (un pulso por segundo). Se trabajó con un ánodo y un cátodo dispuestos con una separación de 5 mm .

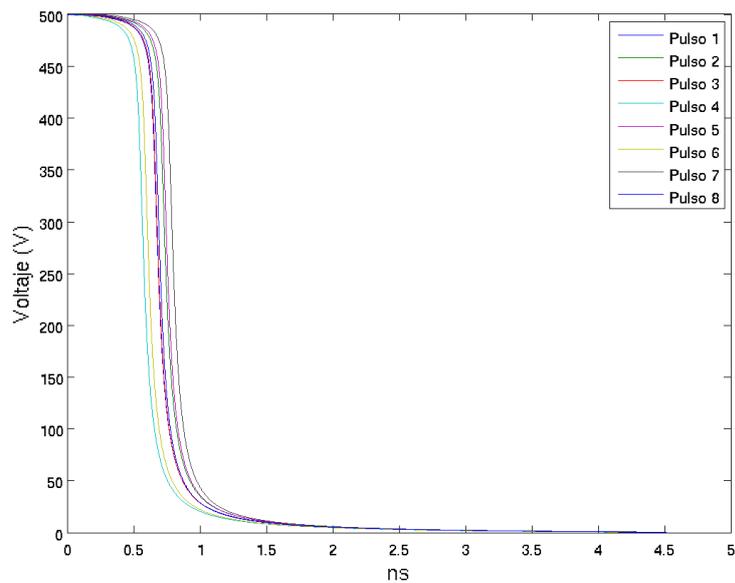
En la [Figura 4.2](#) se muestra la relación entre la diferencia de potencial entre ambos electrodos y el tiempo en las fases 1 y 3 de la simulación para los 8 pulsos de la terapia. Ambas fases resultan necesarias por cuestiones de estabilidad numérica para aumentar y decrementar respectivamente la corriente aplicada y llegar al voltaje objetivo, 500 V (1000 V/cm) en un caso y 0 V en el otro. En las 2 imágenes se aprecia que el tiempo de simulación utilizado para pasar de 0 V a 500 V y viceversa es del orden de unos pocos nanosegundos, resultando despreciable con respecto al tiempo que duran las otras 2 fases: 0.1 ms y 0.9999 s respectivamente, cumpliendo así con el objetivo de que tanto la fase 1 como la fase 3 ocurran en un Δt muy pequeño. También es notorio el carácter exponencial que presentan todas las curvas, fenómeno que también se observa en la experimentación y que puede ser explicado debido al cambio de conductividad del medio ocasionado por la variación en el coeficiente de permeabilización. Por último, la rápida velocidad a la que ocurren los cambios de fase (de fase 1 a fase 2 y de fase 3 a fase 4) en la simulación captura la noción de instantaneidad al aplicar o dejar de aplicar corriente con el electroporador, permitiendo simular de esta manera a una onda cuadrada.

En la [Figura 4.3](#) se observa la variación de la diferencia de potencial entre ánodo y cátodo a través del tiempo durante la aplicación de la corriente eléctrica, es decir, la segunda fase del algoritmo, para el primer pulso de la simulación. Gracias al chequeo que se realiza en cada iteración sobre cuál es la corrección que debería aplicarse a la intensidad de corriente para mantener el voltaje constante en 500 V , se aprecia que el error máximo alcanzado en este primer pulso es menor a 0.5 V . El pico observado entre los $60 \mu\text{s}$ y los $70 \mu\text{s}$ se debe a que todo el Cl^- es consumido en el cátodo por lo que el sistema debe volver a estabilizarse. El máximo voltaje se obtuvo en el segundo pulso con un valor de 500.682 V mientras que el mínimo voltaje se alcanzó en el sexto pulso con un valor de 499.306 V . De este modo, el error absoluto de la simulación es menor a 0.7 V , es decir, alrededor del 0.1% , valor más que aceptable.

De la descripción y análisis de los tres gráficos anteriores se concluye que la simulación respeta el proceso de aplicación de un pulso de alta corriente ya que tanto el aumento de voltaje como la disminución de voltaje se realizan en un intervalo de tiempo muy corto con respecto a la duración del pulso y el máximo error de voltaje en fase 2 es inferior al error instrumental.



(a) Fases 1.



(b) Fases 3.

Figura 4.2: En ambas figuras se analizan distintos aspectos de las fases 1 y 3 de la simulación de una terapia ECT a 1000 V/cm con 2 electrodos enfrentados dispuestos a 5 mm de distancia entre sí. En la figura (a) se muestra la fase 1 de la simulación en donde se aumenta la corriente aplicada hasta alcanzar la diferencia de potencial objetivo (500 V) entre ánodo y cátodo mientras que en la figura (b) se observa la fase 3 de la simulación en la que se corta el suministro de corriente eléctrica paulatinamente por lo que el voltaje es llevado nuevamente a 0 V. En ambos casos se observa que el tiempo requerido para los cambios de fases, y para todos los pulsos, es despreciable en relación al tiempo que dura la aplicación del pulso, simulando el comportamiento de una onda cuadrada.

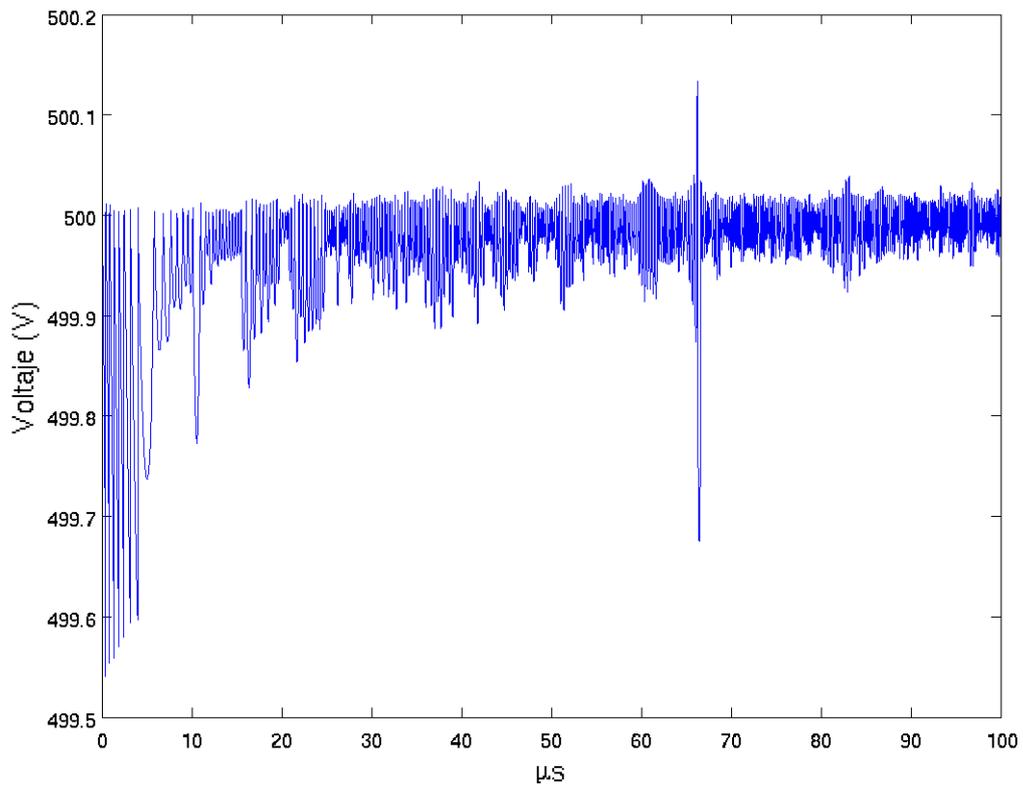


Figura 4.3: Variación de la diferencia de potencial entre ánodo y cátodo a lo largo del tiempo en la aplicación de corriente para el primer pulso de la simulación de una terapia ECT a 1000 V/cm con 2 electrodos enfrentados dispuestos a 5 mm de distancia entre sí. Los valores se mantienen dentro del rango de los 500 ± 0.5 V durante $100 \mu\text{s}$, tiempo que dura el pasaje de corriente durante la fase 2.

En la [Figura 4.4](#) se aprecia la evolución de las 4 especies químicas simuladas y el pH a lo largo de los 8 pulsos de la terapia. En todos los casos se observa una intensificación de la tendencia inicial, acentuándose paulatinamente a medida que avanza el tiempo. La extrema acidificación en el ánodo y la extrema basificación en el cátodo –imagen e– es consecuencia del incremento de protones y oxidrilos en el ánodo y el cátodo respectivamente –imágenes c y d– al igual que lo referido en Turjanski *et al.* [56]. Al igual que en EA, se observa el avance los frentes de pH extremo a través del tiempo hasta colisionar entre si luego del octavo pulso, coincidiendo con el momento en que la terapia finaliza.

En la [Figura 4.5](#) se contrasta la predicción del factor de permeabilización con el perfil de modelo de papa luego de finalizada la terapia. En ambas imágenes, el ánodo se encuentra ubicado en la parte superior mientras que el cátodo se encuentra en la parte inferior (la imagen de la malla simulada fue rotada para permitir comparar ambas imágenes de manera más sencilla). Se evidencia una región continua de permeabilización entre ánodo y cátodo (áreas de color rojo y negra respectivamente) debido al efecto del campo eléctrico, obteniéndose una muy buena correspondencia entre la predicción y la experimentación *in vivo*. En contraposición con la terapia EA se observa que la permeabilización ocurre alrededor de ambos electrodos y no solamente en la región del ánodo. Este hecho se debe a que en ECT el cambio en la permeabilización está gobernado por la intensidad del campo eléctrico que resulta ser órdenes de magnitud mayor que en EA.

Por último, con respecto a los tiempos de simulación, cada pulso simulado tomó aproximadamente 1 hora para la malla utilizada de 10000 nodos (100×100).

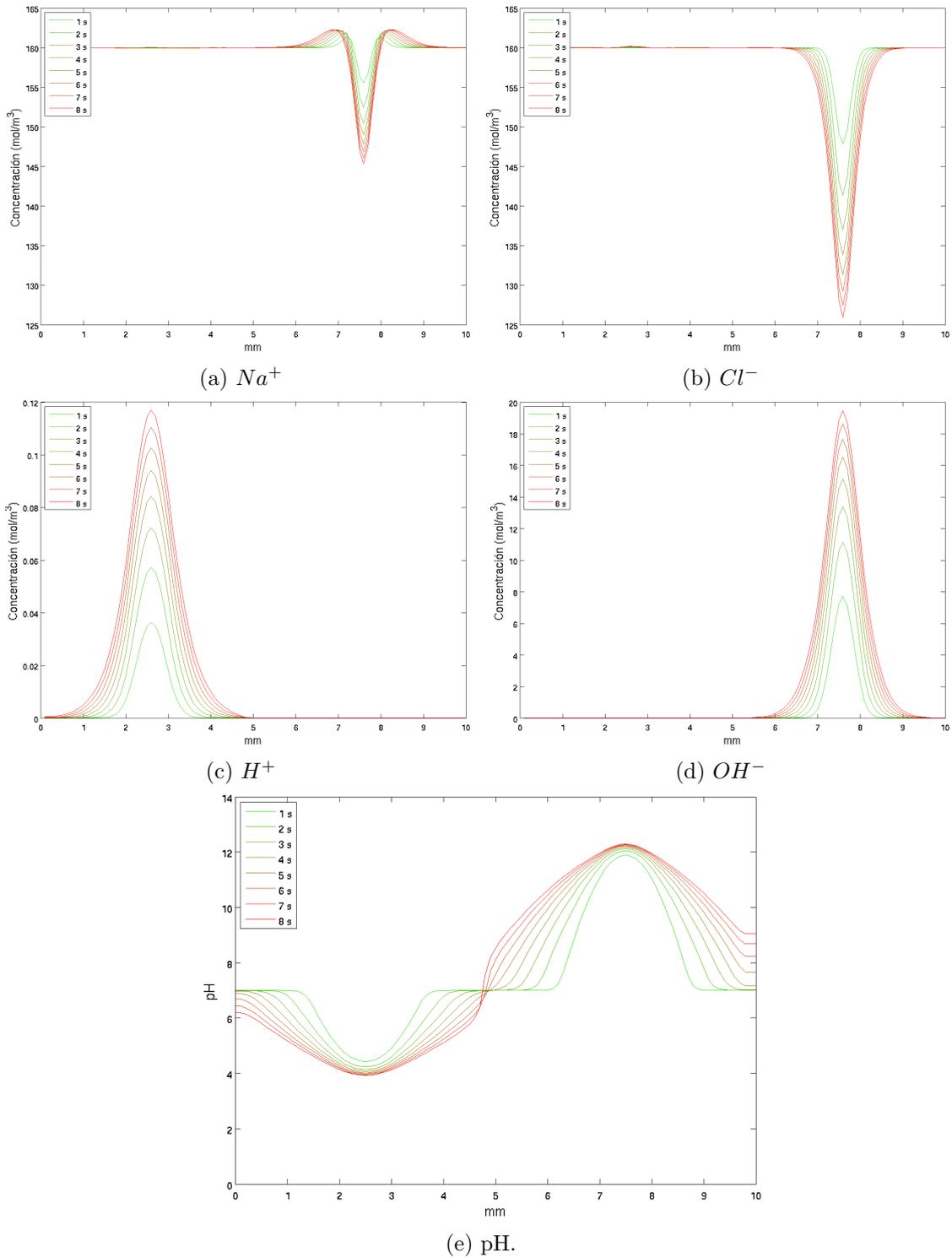


Figura 4.4: Corte unidimensional de la predicción de las concentraciones de las 4 especies químicas modeladas H^+ , OH^- , Cl^- y Na^+ , y del avance de los frentes de pH luego de la aplicación de cada uno de los 8 pulsos de una terapia ECT a 1000 V/cm con 2 electrodos enfrentados dispuestos a 5 mm de distancia entre sí. El ánodo se encuentra ubicado a los 2.5 mm mientras que el cátodo se encuentra a los 7.5 mm, siendo la separación entre ambos de 5 mm.

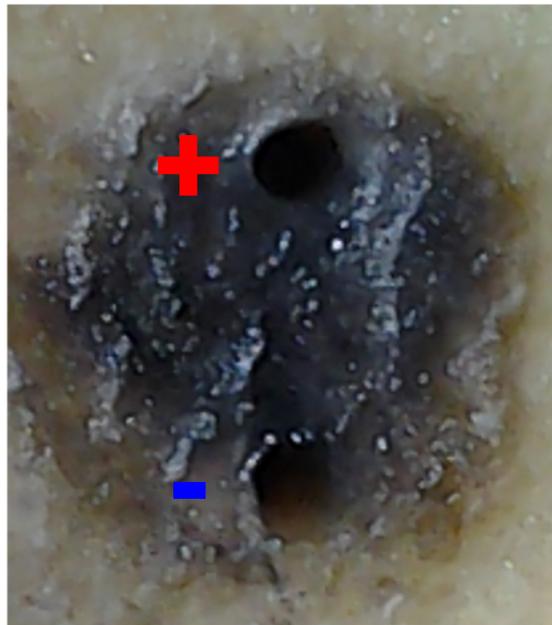
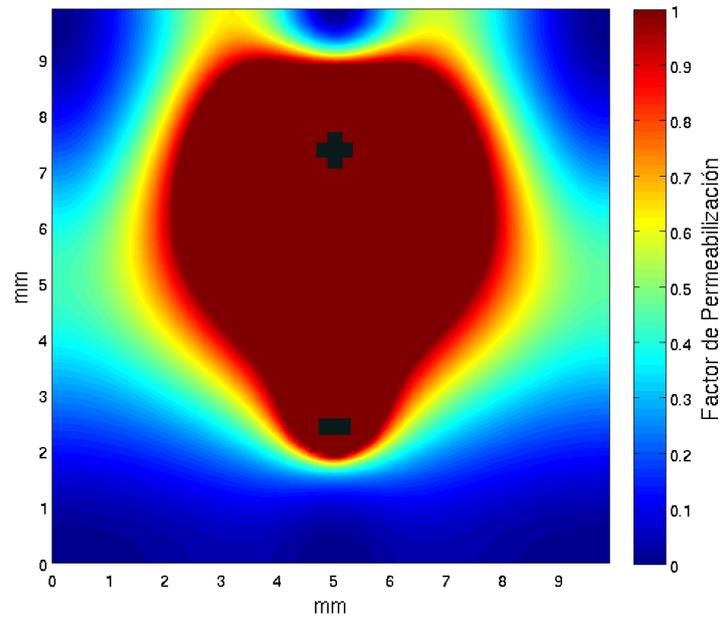


Figura 4.5: La imagen superior muestra la predicción de los valores del factor de permeabilización una vez finalizada la simulación de una terapia ECT a 1000 V/cm con 2 electrodos enfrentados dispuestos a 5 mm de distancia entre sí. La imagen inferior muestra el modelo vegetal *in vivo* (rodaja de papa) para la misma terapia. En ambas figuras, los signos positivo y negativo indican las posiciones del ánodo y del cátodo respectivamente.

4.5. Conclusiones

En este capítulo se propuso y se analizó un modelo bidimensional con factor de permeabilización para ECT, utilizando como base los modelos para EA presentados en los capítulos anteriores. Además, se contrastaron los resultados obtenidos mediante simulación computacional con los obtenidos en un experimento realizado en un modelo *in vivo* de papa.

El estudio del modelo se basó en 3 ejes:

- ✓ Respetar y simular de manera consistente con la realidad el comportamiento de la corriente eléctrica a lo largo de toda la terapia, es decir, aumentar y decrementar de manera casi instantánea la corriente y mantener constante el voltaje objetivo durante la aplicación del pulso eléctrico.
- ✓ Que la evolución de las especies químicas fuera consistente con la teoría y los trabajos previos realizados en 1D.
- ✓ El área permeabilizada resultante de la simulación fuera similar a la obtenida mediante experimentación *in vivo*.

En este sentido, el modelo, como fue discutido en la sección anterior, logró cumplir con los 3 propósitos y mostrar la robustez e importancia no sólo de este modelo sino de los trabajados en los capítulos anteriores, los cuales brindaron la base necesaria sobre la cual construir nuevo conocimiento.

Se espera que este modelo pueda servir para comprender mejor los distintos aspectos vinculados a la ECT y pueda ser utilizado para predecir el área de tejido que se permeabilizará durante la terapia y optimizar de este modo la dosis de droga anticancerígena aplicada.

Capítulo 5

Conclusiones

El estudio sobre el tratamiento del cáncer abarca un mundo diverso, interdisciplinario y multifocal. En particular, existen un tipo de tratamientos denominados *Electroterapias* que involucran la utilización de campos eléctricos y que resultan más seguros, efectivos y accesibles económicamente que otras terapias como la cirugía tradicional, la quimioterapia, etc. Entre ellos se pueden mencionar la EA, la ECT, la EGT y la IRE. En esta investigación se trabajó con la EA y la ECT utilizando modelos *in silico*, *in vitro* e *in vivo* que permitieron tener una visión integral y analizar las distintas aristas de la problemática.

Tomando como base la literatura previa existente sobre el tema que postula como hipótesis que los niveles extremos de pH son los causantes de la necrosis en EA, se decidió comenzar estudiando y comprendiendo dichos modelos. En todos los casos en donde se proponían sistemas de ecuaciones que buscaban caracterizar el comportamiento de la terapia, los mismos simplificaban el problema reduciéndolo a una única dimensión espacial o dejaban fuera de consideración algunas de las variables más relevantes. En el caso de la ECT no solo ocurría lo mismo sino que tampoco se tenía en cuenta uno de los factores más significativos en esta terapia: la electropermeabilización.

En el capítulo 2 se propuso una extensión a 2D del modelo de EA presentado en Turjanski *et al.* [55] trabajando con las diversas disposiciones de electrodos estudiadas en Bergues *et al.* [38]. Los resultados de las simulaciones no solo mostraron una muy buena concordancia cualitativa y cuantitativa con respecto a los trabajos previos en 1D sino que también permitieron observar de un modo más realista la evolución de los frentes de pH en un tejido. Este nuevo modelo le brinda robustez al conjunto de ecuaciones utilizado para caracterizar la evolución de las principales especies químicas intervinientes en la terapia además de que permite realizar análisis más realistas a nivel preclínico.

En el capítulo 3, se extendió el modelo propuesto en el capítulo anterior introduciendo una nueva característica: la permeabilización del tejido, es decir, la facilidad de las moléculas para atravesar la membrana celular. Esta incorporación tuvo un doble objetivo. Por un lado, se contraargumentó la hipótesis sugerida por algunos autores acerca de que es la

permeabilización la causante de la necrosis en la EA [21, 71] a la vez que se fortaleció la que sugiere que es, en realidad, el nivel extremo de pH que se genera alrededor de los electrodos el que la produce. Por el otro, se buscó introducir un factor de vital importancia en el análisis de aquellas electroterapias en las que conocer el grado de permeabilización del tejido es crucial para conocer con mayor precisión la dosis de droga necesaria.

En el capítulo 4, y en base a lo trabajado en los capítulos anteriores, se abordó una terapia diferente: la ECT. Al igual que en el caso de la EA, la literatura existente que abordaba la problemática desde un punto de vista matemático-computacional, lo hacía sin tener en cuenta la permeabilización de la membrana tisular. Tomando como base el modelo presentado en el capítulo 3 y realizando los ajustes pertinentes a la forma en cómo calcular la permeabilización del tejido a lo largo del tiempo en función de los resultados obtenidos en laboratorio, se pudo observar una muy buena concordancia a nivel cualitativo con la experimentación realizada *in vivo* en un modelo de papa. Además, resultó ser consistente con los trabajos previos en la materia. Este doble logro no solo le otorga robustez al conjunto de ecuaciones elegido para modelar la problemática sino que también brinda una nueva dimensión de análisis tanto a nivel teórico como preclínico en la investigación de la ECT.

Se espera que los aportes realizados en esta investigación sirvan como un aporte significativo a la comprensión, análisis y profundización del trabajo realizado en pos de buscar alternativas más seguras, efectivas y accesibles en el tratamiento contra el cáncer como lo son las electroterapias, además de sugerir un nuevo horizonte de investigación en el campo de la Electroporación con la introducción del factor de permeabilización como elemento imprescindible en el análisis.

Capítulo 6

Trabajos Futuros

En este apartado se detallarán posibles líneas de investigación que continúen el camino realizado en el presente trabajo:

1. Profundizar el estudio acerca de la relación entre el pH, el campo eléctrico y la permeabilización del tejido con el objetivo de construir un único conjunto de ecuaciones que permitan explicar su interacción ya sea tanto en contextos de campos eléctricos altos –en la ECT– como en aquellos contextos donde el campo es relativamente pequeño –en la EA–.
2. Incorporar nuevas especies químicas a los modelos *in silico* que capturen de modo más realista lo que ocurre en un tejido. Esto incluye, por ejemplo, la modelización del HCO_3^- que actúa como *buffer*, entre otros iones y moléculas presentes en el intersticio celular.
3. Extender los modelos propuestos a tres dimensiones espaciales y paralelizar los cálculos debido al impacto que esto supondrá en los tiempos de cómputo.
4. Extender los modelos *in silico* para simular otro tipo de electroterapias como ser la IRE y la EGT, entre otras.
5. Comparar los resultados computacionales obtenidos en este trabajo con modelos *in vivo* de mayor complejidad, ya sea en ratones o en fase clínica.
6. Explorar técnicas experimentales que permitan conocer la evolución de la concentración de todas las especies químicas consideradas para poder contrastar con mayor precisión los modelos teóricos presentados.

Apéndice A

El cáncer

El cáncer, popularmente conocido como *tumor maligno* –si bien no todos los cánceres se desarrollan en tumores, como es el caso de la leucemia–, se trata de un conjunto de enfermedades que se originan en las células y pueden afectar a cualquier parte del organismo, conociéndose actualmente más de 100 tipos diferentes de cáncer. En condiciones normales, las células se dividen de manera controlada para reemplazar a las células que van muriendo y mantener así el equilibrio y poder satisfacer las necesidades del cuerpo. El problema ocurre cuando este proceso se ve alterado y se producen mutaciones que impactan en la replicación debido a la alteración del ADN de una o más células. Esto implica que habrá una mayor cantidad de células que el cuerpo no necesita, las cuales formarán, en general, una masa de tejido al que se lo denomina *tumor*. La diferenciación entre *tumores malignos* y *tumores benignos* surge de la habilidad de invadir otras partes del cuerpo o no. Cuando esto ocurre estamos en presencia del cáncer [80].

Las causas que originan la alteración del contenido genético de una célula son múltiples, tratándose tanto de factores genéticos intrínsecos al paciente como de agentes externos: carcinógenos físicos (radiación ionizante y ultravioleta), químicos (humo de tabaco, arsénico, etc.) o biológicos (HPV, hepatitis B, etc.). Otro factor de importancia es la vejez. Dado que muchos de estos factores son evitables, una de las mejores medidas contra el cáncer es la prevención y la detección temprana. A modo de ejemplo, el 22 % de las muertes totales son debidas al tabaquismo. Por lo tanto, una toma de conciencia acerca de los riesgos que implica el consumo de tabaco, el sedentarismo, las enfermedades de transmisión sexual, las dietas desbalanceadas, la exposición a la contaminación y a la radiación solar, etc. incidirá drásticamente en la reducción de pacientes que enfrentan esta extendida enfermedad. Por otro lado, la realización de estudios periódicos para poder detectar los cánceres más comunes (mama, cuello uterino, bucal) en un estadio temprano ayuda a mejorar la expectativa y la calidad de vida en aquellas personas que padecen esta enfermedad [1].

Apéndice B

Material entregado

Contenido

El material entregado consta de esta tesis en formato digital (pdf) y una carpeta de nombre *Codigo*. En ella se encuentran tres subcarpetas:

- *Capitulo2_EA_sin_permeabilizacion*
- *Capitulo3_EA_con_permeabilizacion*
- *Capitulo4_ECT_con_permeabilizacion*

En estos 3 directorios están todos los archivos necesarios para la compilación y ejecución de los programas y configuraciones desarrollados para los capítulos 2, 3 y 4.

Requisitos

- Sistema Operativo Linux
- Compilador g++ versión ≥ 4.4
- Programa *make*
- GNU Scientific Library (GSL)

En particular, el código fuente presentado fue probado en Linux Ubuntu 14.04 LTS, con g++ 4.8.2, GSL 1.16 y GNU Make 3.81.

Compilación y ejecución

Para facilitar la reproducción de las ejecuciones presentadas en cada capítulo, se pre-configuraron archivos con los parámetros descritos en las secciones 2.1.6. “Disposición de los electrodos” y 2.2.7. “Corridas y parámetros” para el capítulo 2, la sección 3.2.3. “Corridas y parámetros” para el capítulo 3 y la sección 4.2.1. “Corridas y parámetros” para el capítulo 4.

Para compilar y enlazar los programas correspondientes a los capítulos 2 y 3 se debe ejecutar en una terminal:

```
$ make <configuracion>
```

Para el capítulo 2, el parámetro *<configuracion>* puede tomar el valor de: **circulo**, **elipse1**, **elipse2**, **parabola**, **hiperbola1** e **hiperbola2**. Para el capítulo 3 puede tomar los valores anteriores y además el valor **enfrentados**.

Para el capítulo 4 basta con ejecutar en una terminal:

```
$ make
```

Una vez compilado y enlazado, se ejecuta en la terminal el siguiente comando que permite correr el programa:

```
$ ./main
```

Archivos de salida

Tanto las concentraciones de las especies –en los capítulos 2, 3 y 4– como los coeficientes de permeabilización –en los capítulos 3 y 4– se escriben en disco cada cierta cantidad (configurable en Entorno.cpp) de iteraciones en el directorio “data/”. Los nombres de los archivos seguirán el siguiente patrón: *2D_foto_N_S.dat*, donde *N* es el contador de tandas de escrituras en disco y *S* el nombre de la especie que se instancia en los valores: **H**, **OH**, **Na**, **Cl**, **Phi**, **Ex** y **Ey** para los capítulos 2, 3 y 4, y además en **P_H**, **P_OH**, **P_Na** y **P_Cl** para los capítulos 3 y 4. Cada archivo *2D_foto_N_S.dat* contiene los valores de cada nodo de la matriz de la especie *S* en la foto *N*, donde la línea *i* del archivo son los valores de la fila *i* de la matriz.

Para el capítulo 4 también se guardaron en cada iteración temporal los valores del voltaje **V**, la densidad de corriente **I**, el tiempo **t** y el **Δt** correspondientes en el directorio “data/extra/”. En este caso, los datos fueron guardados linealmente. Para mayor comodidad al trabajar con los datos de estos archivos, se implementó el programa *partidor_archivos.cpp* que los particiona de forma tal de obtener los valores de **V**, **I**, **t** y **Δt** para cada fase de cada pulso. El nombre de los archivos particionados sigue el formato: *S_PulsoN_FaseK.dat*, donde *S* toma los valores **voltaje**, **deltaT**, **corriente** y **tiempo**, *N*

se encuentra en el rango $[1, 8]$ y K en el rango $[1, 4]$. Para compilar y enlazar el partidor de archivos se debe ejecutar en una terminal:

```
$ make partidor
```

Para ejecutar el programa, escribir en una terminal:

```
$ ./partir
```


Acrónimos

ET Electroporación

EA Ablación Electrolítica

ECT Electroquimioterapia

EGT Electroterapia Génica

IRE Electroporación Irreversible

Bibliografía

- [1] World Health Organization. Fact sheet No. 297, Febrero 2014.
- [2] Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, and Bray F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2013. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed on 18/07/2014.
- [3] World Health Organization. Fact sheet No. 310, Mayo 2014.
- [4] Instituto Nacional Del Cáncer, Ministerio de Salud. Estadísticas, 2014.
- [5] Luis Bergues Cabrales and Liliana Gómez Luna. La electroterapia: una alternativa terapéutica para el tratamiento de tumores. *Revista Cubana de Medicina*, 42(6), 2003.
- [6] Héctor Camué Ciria and Demetrio Segura López. La electroquimioterapia: una nueva alternativa terapéutica en la oncología. *Revista Cubana de Oncología*, 17(3):188–194, 2001.
- [7] L Mir. Nucleic acids electrotransfer-based gene therapy (electrogenetherapy): past, current, and future. *Mol Biotechnol*, 43(2):167–176, 2009.
- [8] J de Vry, P Martinez-Martinez, M Losen, G Bode, Y Temel, T Steckler, H Steinbusch, M De Baets, and J Prickaerts. Low current-driven micro-electroporation allows efficient in vivo delivery of nonviral dna into the adult mouse brain. *Molecular Therapy*, 18(6):1183–1191, 2010.
- [9] P. Hojman, H. Gissel, F. M. Andre, C. Cournil-Henrionnet, J. Eriksen, J. Gehl, and L. M. Mir. Physiological effects of high and low voltage pulse combinations for gene electrotransfer in muscle. *Human gene therapy*, 19(11):1249–1260, 2008.
- [10] F. Andre, J. Gehl, G. Sersa, V. Preat, P. Hojman, and J. Eriksen. Efficiency of high and low voltage pulse combinations for gene electrotransfer in muscle, liver, tumor and skin. *Human Gene Therapy*, 19:1261–1271, 2008.

- [11] J. Gehl. Electroporation for drug and gene delivery in the clinic: doctors go electric. *Methods Mol Biol.*, 423:351–9, 2008.
- [12] R. Davalos, L. Mir, and B. Rubinsky. Tissue ablation with irreversible electroporation. *Ann Biomed Eng*, 33(2):223–231, 2005.
- [13] E. W. Lee, Susan Thai, and S.T. Kee. Irreversible electroporation: A novel image-guided cancer therapy. *Gut Liver*, 4(Suppl. 1):S99–104, 2010.
- [14] C. Ball, K. R. Thomson, and H. Kavnoudias. Irreversible electroporation: a new challenge in “out of operating theater” anesthesia. *Anesth. Analg.*, 110:1305–1309, 2010.
- [15] K. Thomson and S.T. Kee. *Clinical Aspects of Electroporation*, chapter Clinical Research on Irreversible Electroporation of the Liver, pages 237–246. Springer, 2011.
- [16] M. Pech, A. Janitzky, J. Wendler, C. Strang, S. Blaschke, O. Dudeck, J. Ricke, and U.B. Liehr. Irreversible electroporation of renal cell carcinoma: a first-in-man phase I clinical study. *CardioVascular and Interventional Radiology*, 34(1):132–8, 2011.
- [17] Björn Nordenström. *Biologically Closed Electrical Circuits: Clinical, Experimental and Theoretical Evidence for an Additional Circulatory System*. Nordic Medical Publications, Stockholm, Sweeden, 1983.
- [18] Björn Nordenström. Electrochemical treatment of cancer I: variable response to anodic and cathodic fields. *Am J Clin Oncol: Cancer Clinical Trials*, 12(6):530–536, 1989.
- [19] Y.L. Xin. The clinical advance in application of EChT within the past ten years. In *Preprints from the 2nd International Symposium on Electrochemical Treatment of Cancer*, pages 81–92, Beijing, 27-30 Sept. 1998.
- [20] Y.L. Xin, D.R. Liu, and X. Meng. Clinical observation on effect of electroacupuncture therapy in treating superficial tumor. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, 21(3):174–176, 2001.
- [21] Li Jing-Hong and Xin Yu Ling. Electrochemical therapy of tumors. In *Conference Papers in Science*, volume 2013. Hindawi Publishing Corporation, 2013.
- [22] D. Miklavčič, G. Serša, S. Novakovič, and S. Rebersek. Tumor bioelectric potential and its possible exploitation for tumor growth retardation. *J Bioelectricity*, 9(2):133–149, 1990.
- [23] D. Miklavčič, G. Serša, M. Kryžanowski, S. Novakovič, F. Bobanovič, R. Golouh, and L. Vodovnik. Tumor treatment by direct electric current: tumor temperature and pH, electrode material and configuration. *Bioelectrochem Bioenerg*, 30:209–220, 1993.

- [24] G. Serša and D. Miklavčič. The feasibility of low level direct current electrotherapy for regional cancer treatment. *Regional Cancer Treatment*, 6(1):31–35, 1993.
- [25] D Miklavčič, A Fajgelj, and G Serša. Tumour treatment by direct electric current: electrode material deposition. *Bioelectrochem Bioenerg*, 35(1-2):93–97, November 1994.
- [26] Maria Wartenberg, Nina Wirtz, Alexander Grob, Wilhelm Niedermeier, Jürgen Hescheler, Saskia C. Peters, and Heinrich Sauer. Direct current electrical fields induce apoptosis in oral mucosa cancer cells by nadph oxidase-derived reactive oxygen species. *Bioelectromagnetics*, 29(1):47–54, 2008.
- [27] Nico Schaefer, Hartmut Schafer, David Maintz, Mathias Wagner, Marcus Overhaus, Arnulf H. Hoelscher, and Andreas Turler. Efficacy of direct electrical current therapy and laser-induced interstitial thermotherapy in local treatment of hepatic colorectal metastases: An experimental model in the rat. *Journal of Surgical Research*, 146(2):230 – 240, 2008.
- [28] Arsov C, Winter C, and Albers P. Value of galvanotherapy for localised prostate cancer. *Urologe A*, 48(7):748–754, 2009.
- [29] Ralf Czymek, Jan Nassrallah, Maximilian Gebhard, Andreas Schmidt, Stefan Limmer, Markus Kleemann, Hans-Peter Bruch, and Philipp Hildebrand. Intrahepatic radiofrequency ablation versus electrochemical treatment in vivo. *Surgical Oncology*, In Press, Corrected Proof:–, 2010.
- [30] Gianpiero Gravante, Seok Ling Ong, Matthew S. Metcalfe, Roberto Sorge, John Overton, David M. Lloyd, Guy J. Maddern, and Ashley R. Dennison. Cytokine response of electrolytic ablation in an ex vivo perfused liver model. *ANZ Journal of Surgery*, 80(7-8):537–541, 2010.
- [31] G. Gravante, S.L. Ong, M.S. Metcalfe, R. Sorge, A.J. Fox, D.M. Lloyd, G.J. Maddern, and A.R. Dennison. Changes in acid-base balance during electrolytic ablation in an ex vivo perfused liver model. *The American Journal of Surgery*, In Press, Corrected Proof:–, 2010.
- [32] G. Gravante, S.L. Ong, M.S. Metcalfe, N. Bhardwaj, G.J. Maddern, D.M. Lloyd, and A.R. Dennison. Experimental application of electrolysis in the treatment of liver and pancreatic tumours: Principles, preclinical and clinical observations and future perspectives. *Surgical Oncology*, 20:106–120, 2011.
- [33] MV Jarque, MO Mateus, LJ Hong, LB Cabrales, FS Palencia, HC Siria, SA Books, and MF Salas. Primeras experiencias clínicas en cuba sobre el uso de la electroterapia en cuatro pacientes con tumores sólidos malignos superficiales. *Medisan*, 11(1), 2007.

- [34] L Cabrales, A Aguilera, R Jiménez, M Jarque, H Ciria, J Reyes, MA Mateus, F Palencia, and M Ávila. Mathematical modeling of tumor growth in mice following low-level direct electric current. *Mathematics and Computers in Simulation*, 78:112–120, 2008.
- [35] Ramírez Aguilera A, Bergues Cabrales LE, Camué Ciria HM, Soler Pérez Y, Roca Oria E, Acosta Brooks S, and Rubio González T. Distributions of the potential and electric field of an electrode elliptic array used in tumor electrotherapy: Analytical and numerical solutions. *Mathematics and Computers in Simulation*, 79(7):2091 – 2105, 2009.
- [36] Ramirez Aguilera A, Bergues Cabrales LE, Camué Ciria HM, Soler Pérez Y, Gilart González F, Morales González M, Ortíz Zamora L, Suárez Palencia F, Fariñas Salas M, Real Bestard N, Sierra González G, and Bergues Cabrales I. Electric current density distribution in planar solid tumor and its surrounding healthy tissue generated by an electrode elliptic array used in electrotherapy. *Mathematics and Computers in Simulation*, 80(9):1886 – 1902, 2010.
- [37] Luis Bergues Cabrales, Juan Godina Nava, Andres Ramirez Aguilera, Javier Gonzalez Joa, Hector Camue Ciria, Maraelys Morales Gonzalez, Miriam Farinas Salas, Manuel Verdecia Jarque, Tamara Rubio Gonzalez, Miguel O’Farril Mateus, Soraida Acosta Brooks, Fabiola Suarez Palencia, Lisset Zamora Ortiz, Maria Cespedes Quevedo, Sarah Edward Seringe, Vladimir Crombet Cuitie, Idelisa Bergues Cabrales, and Gustavo Sierra Gonzalez. Modified gompertz equation for electrotherapy murine tumor growth kinetics: Predictions and new hypotheses. *BMC Cancer*, 10(1):589, 2010.
- [38] Bergues Pupo AE, Bory Reyes J, Bergues Cabrales LE, and Bergues Cabrales JM. Analytical and numerical solutions of the potential and electric field generated by different electrode arrays in a tumor tissue under electrotherapy. *BioMedical Engineering OnLine*, 10:85, 2011.
- [39] M Telló, L Oliveira, O Parise, AC Buzaid, RT Oliveira, R Zanella, and A Cardona. Electrochemical therapy to treat cancer (in vivo treatment). *Proceedings of the 29th Annual International Conference of the IEEE EMBS*, pages 3524–3527, 2007.
- [40] Hong Bae Kim, Saeyoung Ahn, Hee Jin Jang, Sung Bo Sim, and Ki Woo Kim. Evaluation of corrosion behaviors and surface profiles of platinum-coated electrodes by electrochemistry and complementary microscopy: Biomedical implications for anti-cancer therapy. *Micron*, 38(7):747 – 753, 2007.
- [41] E.A. Schroepfel, K. Kroll, M.C. Damon, and A.A.H. Kroll. Direct current ablation destroys multi-stage fibrosarcomas in rats. In *Engineering in Medicine and Biology Society, 2009. EMBC 2009. Annual International Conference of the IEEE*, pages 3099–3104, 2009.

- [42] E Nilsson, H von Euler, J Berendson, A Thörne, P Wersäll, I Näslund, A Lagerstedt, K Narfström, and J Olsson. Electrochemical treatment of tumours. *Bioelectrochemistry*, 51:1–11, 2000.
- [43] Héctor Manuel Camué Ciria, Maraelys Morales González, Lisset Ortíz Zamora, Luis Enrique Bergues Cabrales, Gustavo Victoriano Sierra González, Luciana Oliveira de Oliveira, Rodrigo Zanella, Antonio Carlos Buzaid, Orlando Parise, Luciana Macedo Brito, et al. Antitumor effects of electrochemical treatment. *Chinese Journal of Cancer Research*, 25(2):223, 2013.
- [44] Luis Mir. Bases and rationale of the electrochemotherapy. *European Journal of Cancer*, Supp 4(11):38–44, 2006.
- [45] G Serša, B Stabuc, M Čemažar, D Miklavčič, and Z Rudolf. Electrochemotherapy with cisplatin: clinical experience in malignant melanoma patients. *Clin. Cancer Res.*, 6(3):863–867, 2000.
- [46] M Marty, D Serša, J Garbay, J Gehl, C Collins, M Snoj, V Billard, P Geertsen, J Larkin, D Miklavčič, I Pavlovic, S Paulin-Kosir, M Čemažar, N Morsli, D Soden, Z Rudolf, C Robert, G O’Sullivan, and L Mir. Electrochemotherapy, an easy, highly effective and safe treatment of cutaneous and subcutaneous metastases: Results of esope (european standard operating procedures of electrochemotherapy) study. *Eur. J. Cancer*, Supp 4:3–13, 2006.
- [47] L Campana, S Mocellin, M Basso, O Puccetti, G De Salvo, V Chiarion-Sileni, A Vecchiato, L Corti, C Rossi, and D Nitti. Bleomycin-based electrochemotherapy: clinical outcome from a single institution’s experience with 52 patients. *Ann Surg Oncol*, 16(1):191–199, 2009.
- [48] B Mali, T Jarm, M Snoj, G Sersa, and D Miklavcic. Antitumor effectiveness of electrochemotherapy: A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Surgical Oncology*, 39:4–16, 2013.
- [49] G Serša and D Miklavčič. Electrochemotherapy of tumours. *Journal of Visualized Experiments*, 22, 2008.
- [50] E Nilsson, J Berendson, and E Fontes. Development of a dosage method for electrochemical treatment of tumours: a simplified mathematical model. *Bioelectrochem Bioenerg*, 47:11–18, 1998.
- [51] E Nilsson, J Berendson, and E Fontes. Electrochemical treatment of tumours: a simplified mathematical model. *J Electroanal Chem*, 460:88–99, 1999.

- [52] E Nilsson, J Berendson, and E Fontes. Impact of chlorine and acidification in the electrochemical treatment of tumours. *Journal of Applied Electrochemistry*, 30(12):1321–1333, 2000.
- [53] E Nilsson and E Fontes. Mathematical modelling of physicochemical reactions and transport processes occurring around a platinum cathode during the electrochemical treatment of tumours. *Bioelectrochemistry*, 53:213–224, 2001.
- [54] L. Colombo, G. González, G. Marshall, F. Molina, A. Soba, C. Suárez, and P. Turjanski. Ion transport in tumors under electrochemical treatment: in vivo, in vitro and in silico modeling. *Bioelectrochemistry*, 71(2):223–232, July 2007.
- [55] P Turjanski, N Olaiz, P Abou-Adal, C Suárez, M Risk, and G Marshall. pH front tracking in the electrochemical treatment (EChT) of tumors: experiments and simulations. *Electrochimica Acta*, 54:6199–6206, 2009.
- [56] Pablo Turjanski, Nahuel Olaiz, Felipe Maglietti, Sebastian Michinski, and Guillermo Marshall. The role of pH fronts in reversible electroporation. *PLoS ONE*, 6(4):e17303, 04 2011.
- [57] PA Netti, DA Berk, MA Swartz, AJ Grodzinsky, and RK Jain. Role of extracellular matrix assembly in interstitial transport in solid tumors. 60:2497–2503, 2000.
- [58] Saroja Ramanujan, Alain Pluen, Trevor D. Mckee, Edward B. Brown, Yves Boucher, and Rakesh K. Jain. Diffusion and convection in collagen gels: implications for transport in the tumor interstitium. *Biophysics Journal*, 83(3):1650–1660, 2002.
- [59] A Ivorra, L Mir, and B Rubinsky. Electric field redistribution due to conductivity changes during tissue electroporation: experiments with a simple vegetal model. *IFM-BE Proceedings*, 25(13):59–62, 2009.
- [60] F Galindo, P Dejmek, K Lundgren, A Rasmusson, A Vicente, and T Moritz. Metabolomic evaluation of pulsed electric field-induced stress on potatoe tissue. *Planta*, 230(3):469–479, 2009.
- [61] M Hjouj and B Rubinsky. Magnetic resonance imaging characteristics of nonthermal irreversible electroporation in vegetable tissue. *Journal of Membrane Biology*, 236(1):137–146, 2010.
- [62] J Ben Ammar, J Lanoiselle, N Lebovka, E Van Hecke, and E Vorobiev. Impact of a pulsed electric field on damage of plant tissues: effects of cell size and tissue electrical conductivity. *Journal of Food Science*, 76(1):E90–97, 2011.

- [63] Cecilia Suárez, Alejandro Soba, Felipe Maglietti, Nahuel Olaiz, and Guillermo Marshall. The role of additional pulses in electroporation protocols. *PLoS one*, 9(12):e113413, 2014.
- [64] John O'M Bockris and Amulya KN Reddy. *Electroquímica moderna*, volume 2. Reverté, 1980.
- [65] John West. *Physiological Basis of Medical Practice*. Lippincott, William & Wilkins, Baltimore, 11th edition, 1985.
- [66] Bengt Fornberg. Generation of finite difference formulas on arbitrarily spaced grids. *Mathematics of computation*, 51(184):699–706, 1988.
- [67] WJ Moore. *Basic Physical Chemistry*. Prentice-Hall Int Ed, London, 1983.
- [68] J Newman and K Thomas-Alyea. *Electrochemical Systems*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 3rd edition, 2004.
- [69] A Damjanovic, V Birss, and D Boudreaux. Electron transfer through thin anodic oxide films during the oxygen evolution reactions at Pt electrodes. *Journal of The Electrochemical Society*, 138:2549, 1991.
- [70] AJ Bard. *Encyclopedia of Electrochemistry of the Elements*. Marcel Dekker, New York, 1973.
- [71] M. Shawki, M. Elblbesy, T. Shalaby, M. Qotb, and Y. Youssef. Comparative study on the efficiency of using pulsed and direct current electrochemotherapy in treating ehrlich tumor. *International Journal of Biomedical Science*, 8(1):16–21, 2012.
- [72] Kambiz Vafai. *Porous media: applications in biological systems and biotechnology*. CRC Press, 2010.
- [73] N Olaiz, C Suárez, M Risk, F Molina, and G Marshall. Tracking protein electrodenaturation fronts in the electrochemical treatment of tumors. *Electrochemistry Communications*, 12:1388–2481, 2010.
- [74] John Crank et al. *The mathematics of diffusion*, volume 2. Clarendon press Oxford, 1975.
- [75] M Abramoff, P Magelhaes, and S Ram. Image processing with ImageJ. *Biophotonics Int*, 11(7):36–42, 2004.
- [76] B Al-Sakere, F André, C Bernat, E Connault, P Opolon, R Davalos, B Rubinsky, and L Mir. Tumor ablation with irreversible electroporation. *PLoS One*, 2(11):e1135, 2007.

- [77] Miklavcic D, Corovic S, Pucihar G, and Pavselj N. Importance of tumour coverage by sufficiently high local electric field for effective electrochemotherapy. *European Journal of Cancer Supplements*, 4(11):45 – 51, 2006. Electrochemotherapy.
- [78] Damijan Miklavčič, Dejan Šemrov, Halima Mekid, and Lluís M. Mir. A validated model of in vivo electric field distribution in tissues for electrochemotherapy and for dna electrotransfer for gene therapy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1523(1):73–83, September 2000.
- [79] G Pucihar, T Kotnik, B Valic, and D Miklavčič. Numerical determination of transmembrane voltage induced on irregularly shaped cells. *Annals of Biomedical Engineering*, 34(4):642–652, April 2006.
- [80] National Cancer Institute. What is cancer?, Febrero 2015.

Índice de figuras

1.1. Esquema de aplicación de ECT.	4
2.1. Distribución de las isolíneas del potencial eléctrico para las 6 configuraciones de electrodos, 3 ánodos y 3 cátodos dispuestos según la Tabla 2.2, luego de 180 segundos de simulación para una terapia EA. La densidad de corriente aplicada fue de 400 A/m^2 y el tamaño de la malla espacial simulada de $25 \times 25 \text{ mm}^2$. En las 6 figuras se observa solo la parte central de la malla. Los puntos en donde se alcanza el mayor potencial coinciden con la ubicación de los ánodos mientras que aquellos en donde se alcanza el menor potencial coinciden con la ubicación de los cátodos.	23
2.2. Distribución de las isolíneas de la intensidad del campo eléctrico para las 6 configuraciones de electrodos, 3 ánodos y 3 cátodos dispuestos según la Tabla 2.2, luego de 180 segundos de simulación para una terapia EA. La densidad de corriente aplicada fue de 400 A/m^2 y el tamaño de la malla espacial simulada de $25 \times 25 \text{ mm}^2$. En las 6 figuras se observa solo la parte central de la malla. Los puntos de aglomeración de mayor intensidad coinciden con la ubicación de los ánodos mientras que los de menor intensidad coinciden con la ubicación de los cátodos.	24
2.3. Resultado analítico de la distribución de la intensidad del campo eléctrico para: a) círculo, b) elipse, c) parábola e d) hipérbola. Imagen extraída de “Analytical and numerical solutions of the potential and electric field generated by different electrode arrays in a tumor tissue under electrotherapy” [38].	25
2.4. Predicción de la evolución temporal de los frentes de pH y de la distribución del campo eléctrico a través del tiempo para una terapia EA con una distribución circular de 6 electrodos, 3 ánodos y 3 cátodos dispuestos alternadamente con radio de 5 mm. La densidad de corriente aplicada fue de 400 A/m^2 y el tamaño de la malla espacial simulada de $25 \times 25 \text{ mm}^2$. En las 6 figuras se observa solo la parte central de la malla. Los puntos de mayor pH coinciden con la ubicación de los cátodos mientras que los de menor pH coinciden con la ubicación de los ánodos.	26

2.5. Predicción de la distribución espacial de las concentraciones de Cl^- y Na^+ para una terapia EA con una distribución circular de 6 electrodos, 3 ánodos y 3 cátodos dispuestos alternadamente con radio de 5 mm. La densidad de corriente aplicada fue de 400 A/m^2 y el tamaño de la malla espacial simulada de $25 \times 25 \text{ mm}^2$. En ambas figuras se observa solo la parte central de la malla. Los puntos donde se alcanza la máxima concentración de Na^+ coinciden con la ubicación de los cátodos mientras que donde se alcanza la mínima concentración de Na^+ coincide con la ubicación de los ánodos.	27
2.6. Corte unidimensional de la predicción de las concentraciones de Cl^- , Na^+ , OH^- y H^+ para una terapia EA con una distribución circular de 6 electrodos, 3 ánodos y 3 cátodos dispuestos alternadamente con radio de 5 mm. La densidad de corriente aplicada fue de 400 A/m^2 y el tamaño de la malla espacial simulada de $25 \times 25 \text{ mm}^2$. El corte fue tomado por la línea que atraviesa un cátodo y un ánodo ubicados de manera enfrentada, es decir, por el par ánodo-cátodo que maximiza la distancia entre ambos (es equivalente para cualquiera de las 3 elecciones posibles de pares ánodo-cátodo). El cátodo se encuentra ubicado a 7.5 mm del comienzo de la malla mientras que el ánodo se encuentra a los 17.5 mm.	28
2.7. Comparación de la predicción del área de ablación entre las 6 configuraciones de electrodos, 3 ánodos y 3 cátodos dispuestos según la Tabla 2.2, luego de 180 segundos de simulación para una terapia EA. La densidad de corriente aplicada fue de 400 A/m^2 y el tamaño de la malla espacial simulada de $25 \times 25 \text{ mm}^2$. Se consideró que un rango de pH inferior a 5.5 y mayor a 8.5 produce la ablación del tejido expuesto a dicho pH extremo. El porcentaje de ablación fue calculado con respecto al área total de la malla: 625 mm^2	30
3.1. Relación entre el pH y el factor de permeabilización del tejido según la ecuación 3.2, inferida a partir del análisis de datos experimentales (no se muestran en la figura).	35
3.2. Distribución de las isolíneas del potencial eléctrico para las 6 configuraciones de electrodos desarrolladas en el Capítulo 2 luego de 180 segundos de simulación para una terapia EA. La densidad de corriente aplicada fue de 400 A/m^2 y el tamaño de la malla espacial simulada de $25 \times 25 \text{ mm}^2$. En las 6 figuras se observa solo la parte central de la malla. Los puntos en donde se alcanza el mayor potencial coinciden con la ubicación de los ánodos mientras que aquellos en donde se alcanza el menor potencial coinciden con la ubicación de los cátodos. La comparación con la Figura 2.1 muestra una similitud cualitativa para todas las figuras.	41

3.3. Predicción del avance de los frentes de pH y de la distribución del campo eléctrico a través del tiempo para una terapia EA para la distribución circular presentada en el Capítulo 2. La densidad de corriente aplicada fue de 400 A/m^2 y el tamaño de la malla espacial simulada de $25 \times 25 \text{ mm}^2$. En las 6 figuras se observa solo la parte central de la malla. Los puntos de mayor pH coinciden con la ubicación de los cátodos mientras que los de menor pH coinciden con la ubicación de los ánodos. En relación con la Figura 2.4 se aprecia que los frentes ácidos avanzan más rápido.	42
3.4. Las 3 imágenes corresponden a una terapia EA de 2 electrodos a corriente constante de 10 mA luego de 1550 segundos de aplicación. El ánodo se encuentra ubicado a izquierda mientras que el cátodo se encuentra a derecha, con una separación entre ambos de 3.8 cm. En (a) se observan los frentes de electrodesnaturalización para el modelo <i>in vitro</i> CMG (tomada de “Tracking protein electrodenaturation fronts in the electrochemical treatment of tumors” [73]). En (b) se muestran en conjunto los frentes de pH y la distribución del campo eléctrico, resultado de la simulación computacional. En (c) se observan los valores del factor de permeabilización μ_P , también obtenidos mediante la simulación.	43
3.5. Corte unidimensional de la predicción de las concentraciones de Cl^- , Na^+ , OH^- y H^+ luego de 1550 segundos de aplicación de una terapia EA a corriente constante de 10 mA para una configuración de un ánodo y un cátodo. El ánodo se encuentra ubicado a los 3.1 cm mientras que el cátodo se encuentra a los 6.9 cm, siendo la separación entre ambos de 3.8 cm.	45
3.6. Seguimiento del frente anódico de electrodesnaturalización para el modelo <i>in vitro</i> CMG (imagen superior, tomada de “Tracking protein electrodenaturation fronts in the electrochemical treatment of tumors” [73]) y del frente de pH anódico obtenido mediante simulación (imagen inferior) luego de 1550 segundos de aplicación de una terapia EA a corriente constante de 10 mA para una configuración de un ánodo y un cátodo separados por 3.8 cm. Los valores representan el radio de cada frente con centro en el ánodo para cada instante de tiempo, en una escala log-log.	46
4.1. Esquema de aplicación de pulsos. <i>ON time</i> : se aplica corriente eléctrica. <i>OFF time</i> : no se aplica corriente eléctrica. <i>T</i> : tiempo de duración de ambos submodelos. <i>V</i> : amplitud del pulso. La duración de las fases <i>ON time</i> y <i>OFF time</i> no se encuentran graficadas a escala.	50

4.2.	En ambas figuras se analizan distintos aspectos de las fases 1 y 3 de la simulación de una terapia ECT a 1000 V/cm con 2 electrodos enfrentados dispuestos a 5 mm de distancia entre sí. En la figura (a) se muestra la fase 1 de la simulación en donde se aumenta la corriente aplicada hasta alcanzar la diferencia de potencial objetivo (500 V) entre ánodo y cátodo mientras que en la figura (b) se observa la fase 3 de la simulación en la que se corta el suministro de corriente eléctrica paulatinamente por lo que el voltaje es llevado nuevamente a 0 V. En ambos casos se observa que el tiempo requerido para los cambios de fases, y para todos los pulsos, es despreciable en relación al tiempo que dura la aplicación del pulso, simulando el comportamiento de una onda cuadrada.	55
4.3.	Variación de la diferencia de potencial entre ánodo y cátodo a lo largo del tiempo en la aplicación de corriente para el primer pulso de la simulación de una terapia ECT a 1000 V/cm con 2 electrodos enfrentados dispuestos a 5 mm de distancia entre sí. Los valores se mantienen dentro del rango de los 500 ± 0.5 V durante 100 μ s, tiempo que dura el pasaje de corriente durante la fase 2.	56
4.4.	Corte unidimensional de la predicción de las concentraciones de las 4 especies químicas modeladas H^+ , OH^- , Cl^- y Na^+ , y del avance de los frentes de pH luego de la aplicación de cada uno de los 8 pulsos de una terapia ECT a 1000 V/cm con 2 electrodos enfrentados dispuestos a 5 mm de distancia entre sí. El ánodo se encuentra ubicado a los 2.5 mm mientras que el cátodo se encuentra a los 7.5 mm, siendo la separación entre ambos de 5 mm.	58
4.5.	La imagen superior muestra la predicción de los valores del factor de permeabilización una vez finalizada la simulación de una terapia ECT a 1000 V/cm con 2 electrodos enfrentados dispuestos a 5 mm de distancia entre sí. La imagen inferior muestra el modelo vegetal <i>in vivo</i> (rodaja de papa) para la misma terapia. En ambas figuras, los signos positivo y negativo indican las posiciones del ánodo y del cátodo respectivamente.	59

Índice de tablas

2.1. Valores de la excentricidad (e) y de la distancia entre el punto focal y la directriz (m) para cada una de las 6 configuraciones.	15
2.2. Ubicación de los electrodos con respecto al centro de la malla para las 6 configuraciones.	15
2.3. Parámetros utilizados por el modelo <i>in silico</i>	21