



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

Diseño de un sistema de micro-electroporación irreversible por pulsos de alta frecuencia

High frequency irreversible Micro-Electroporation using high frequency pulses

Autor/es

Jorge Rubio Sánchez

Director/es

Carlos Bernal Ruiz

José Ramón Beltrán Blázquez

Escuela de Ingeniería y Arquitectura
Universidad de Zaragoza

Año: 2017



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

TRABAJO DE FIN DE GRADO / FIN DE MÁSTER

D./D^a. JORGE RUBIO SÁNCHEZ

con nº de DNI 177673915-X en aplicación de lo dispuesto en el art.

14 (Derechos de autor) del Acuerdo de 11 de septiembre de 2014, del Consejo de Gobierno, por el que se aprueba el Reglamento de los TFG y TFM de la Universidad de Zaragoza,

Declaro que el presente Trabajo de Fin de (Grado/Máster)
GISIT, (Título del Trabajo)

DISEÑO DE UN SISTEMA DE
MICRO-ELECTROPORACIÓN POR PULSOS
DE ALTA FRECUENCIA.

es de mi autoría y es original, no habiéndose utilizado fuente sin ser citada debidamente.

Zaragoza, 23 de Noviembre de 2017

Fdo: _____

Resumen

El presente trabajo está enmarcado en una línea de colaboración de la Universidad de Zaragoza con un grupo multidisciplinar (formado por cirujanos, veterinarios e ingenieros) de otras Universidades y centros de investigación.

Se colaborará en la investigación mediante el diseño de un circuito atenuador de pulsos variable capaz de electroporar y atenuar la señal de entrada al mismo en función de los requisitos de la intervención.

La electroporación es una técnica que consiste en la exposición celular a campos eléctricos de alta intensidad, favoreciendo de este modo el aumento de la permeabilidad de sus membranas y permitiendo la circulación de iones y macromoléculas a través de esta. Este aumento de la permeabilidad está vinculado a la afectación de todo el contorno de la membrana celular.

Existen dos tipos de electroporación, electroporación reversible (EPR) e irreversible (EPI). En la EPI, la célula no es capaz de regenerar los poros producidos mediante la electroporación y se produce su muerte. La principal ventaja de la electroporación irreversible, es que induce la muerte celular sin producir calentamiento del tejido circundante, evitando así sus efectos adversos en el resto de tejido sano.

Se tendrá como propósito 3 objetivos principales. Se iniciará con el estudio de la electroporación, con el fin de obtener un modelo eléctrico del tejido pues será la carga del circuito atenuador. El siguiente objetivo es, una vez caracterizado el tejido, comprender como éste se comporta cuando se le aplica el campo eléctrico para alcanzar la EPI. El objetivo último, será el diseño del circuito atenuador el cual dará solución al problema detectado en el análisis del campo del eléctrico.

ÍNDICE DE CONTENIDOS DE LA MEMORIA

1.	Introducción y objetivos	4
1.1.	Contexto	4
1.2.	Motivación y ámbito del proyecto	5
1.3.	Objetivos del trabajo final de grado	7
2.	Campo eléctrico en el hígado	9
2.1.	Campo electromagnético.....	9
2.2.	Campo eléctrico entre placas finitas	10
2.3.	Parámetros físicos del tejido hepático	11
2.4.	Campo electromagnético en micro-patches	15
2.5.	Validación del campo electromagnético en micro-patches	17
2.6.	Control independiente de tensión	19
3.	Diseño del circuito multiplexador	22
3.1.	Modelado del circuito de carga	22
3.2.	Opciones topológicas	23
3.3.	Diseño del circuito atenuador de pulso	24
3.3.1.	Condiciones de análisis.....	25
3.3.2.	Diseño de parámetros	25
3.3.3.	Análisis multi-tono del sistema	28
4.	Conclusiones del Trabajo Fin de Grado	32
4.1.	Discusión de objetivos	32
4.2.	Líneas futuras	32
5.	Referencias y Bibliografía	33
	ANEXO 1. Esquemático de simulación FEMM del tejido más el electrodo	34

1. Introducción y objetivos

1.1. Contexto

La electroporación (EP) consiste en aplicar pulsos de alta tensión, con poca duración, en las células. La aplicación de esta tensión consigue romper las células haciendo permeable su membrana, este proceso se llama apoptosis [1]. La electroporación irreversible ha sido ampliamente utilizada en la preparación de muestras biológicas (como la extracción del ADN), en la esterilización anti-bacteriana o en el ámbito del procesado de alimentos. Siempre con potencias reducidas (menores de 10 kW) y con volúmenes a electroporar muy pequeños (en el rango de los mililitros).

Sin embargo, las investigaciones en el campo de la electroporación han permitido considerar la técnica de electroporación irreversible también como una alternativa de selección en cirugía, en concreto en su aplicación al tratamiento de células cancerígenas o tumorales.

El grupo de investigación de Electrónica de Potencia y Microelectrónica (GEPM) dentro del instituto de investigación I3A de la Universidad de Zaragoza, en colaboración con la Universidad Pompeu Fabra, el Hospital del Mar de Barcelona y otros socios de investigación, se encuentra desarrollando un sistema experimental para el análisis de las técnicas de EP irreversible aplicadas al tratamiento de tumores hepáticos.

La novedad objetiva radica en que para conseguir una EP efectiva de las células de un tumor es necesaria la capacidad de aplicar pulsos de RF de alta potencia (superiores a 6 MW), que están muchas décadas por encima de los mejores equipos presentados.

Este capítulo presenta una visión general de los aspectos principales de la Electroporación (EP), orientado hacia el objetivo final del trabajo, que es la construcción de un prototipo de micro-electroporación irreversible con los niveles de tensión y forma de onda requeridos. A continuación, se exponen los fundamentos científicos de la electroporación.

Una revisión de las técnicas de electroporación puede verse en [2], consiste en exponer las células a campos eléctricos de alta intensidad. Dicho campo induce el aumento de la permeabilidad de la membrana celular favoreciendo la circulación de iones y macromoléculas a través de ella. El aumento de la permeabilidad está vinculado a la generación de pasos permeables a lo largo de la membrana [3], este efecto es representado en la Figura 1.

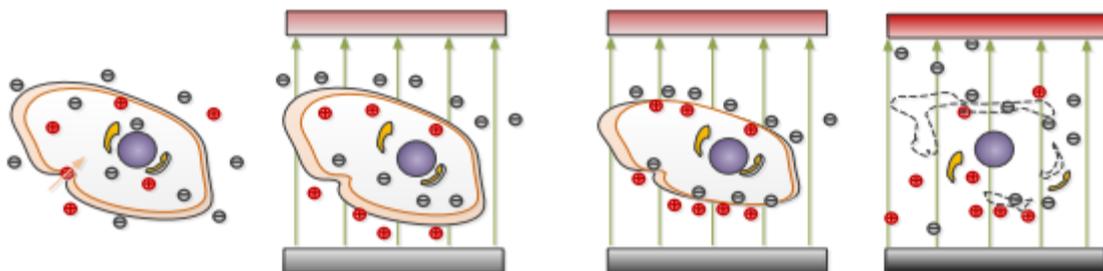


Fig. 1. Electroporación de una célula.

Una vez suspendido el campo eléctrico, los mecanismos de auto-reparación permiten restablecer los poros generados recobrándose así la permeabilidad selectiva que favorece la homeostasia (capacidad de un sistema para conservar su medio interno en equilibrio) de la célula. Si esto se produce, podemos hablar de lo que se denomina electroporación reversible (EPR). En cambio, si la estimulación de la membrana ha sido excesiva puede haber sufrido una afectación no reversible, a este efecto se le denomina electroporación irreversible (EPI). En condiciones extremas de deterioro de la membrana, la célula no es capaz de recuperar el equilibrio y se desencadena la lisis celular, es decir, la muerte de la célula de forma natural.

1.2. Motivación y ámbito del proyecto

Las características de la EPI, aplicadas a la cirugía quirúrgica, son clave en algunos tipos de intervenciones especialmente como alternativa a la resección de grandes órganos internos. Sobre todo, por su carácter no invasivo y la baja generación de secuelas post-tratamiento. Contrastan con las graves repercusiones que puede producir un tratamiento con agentes citotóxicos o ionizantes, o lo traumático de las cirugías de eliminación total o parcial de órganos como el hígado o el páncreas. Por tanto, el desarrollo y control de esta técnica puede suponer un gran hito en el tratamiento oncológico de cara a la duración y efectividad clínica.

La principal ventaja que presenta la EPI es que provoca la muerte celular instantánea sin producir el calentamiento del tejido tratado ni del circundante, evitando de este modo efectos adversos en el tejido sano adyacente y favoreciendo el tiempo de recuperación post-tratamiento.

Una desventaja es que, durante la aplicación de la EPI, sobre todo en zonas amplias, puede producirse un alto grado de contracción muscular especialmente en zonas cercanas o alejadas. Este efecto puede ser mitigado con la administración de relajantes musculares, pero debe ser evitado. Además, algunas medidas preventivas respecto a la sincronización del tratamiento con la contracción cardiovascular se deben tener en cuenta para evitar inducir contracciones involuntarias del miocardio.

Por último, cabe destacar que la fácil caracterización del tejido y del tipo de pulso permite desarrollar planificaciones de tratamiento más sencillas que las requeridas en otras técnicas, como por ejemplo la radioterapia.

Macro-electroporación frente a micro-electroporación

Dentro de la EPI se pueden diferenciar dos metodologías en función de la superficie de tejido y de la manera en la que va a ser tratado.

Por un lado, está la macro - electroporación irreversible de grandes zonas, mediante la cual todo el tejido presente entre los electrodos (figura 2) será tratado de igual manera. Esto plantea una desventaja, ya que, si entre el tejido a tratar se encuentran por ejemplo vasos sanguíneos o tejido adiposo entre otros tipos de tejidos, se les aplicará la misma potencia o número de pulsos (dosis) y puede dar como resultado que en esas zonas la electroporación no se alcance, ya que al tratarse de un tejido heterogéneo no todas sus zonas requieren la misma exposición.

Otro inconveniente del tratamiento de grandes zonas es que la potencia activa transferida P (el valor medio de la potencia instantánea $p(t)$) será alta, provocando hipertermia en el órgano

que se trata, además se trabaja con pulsos de alta potencia de pico que inducen fibrilación y contracción involuntaria de los tejidos musculares.

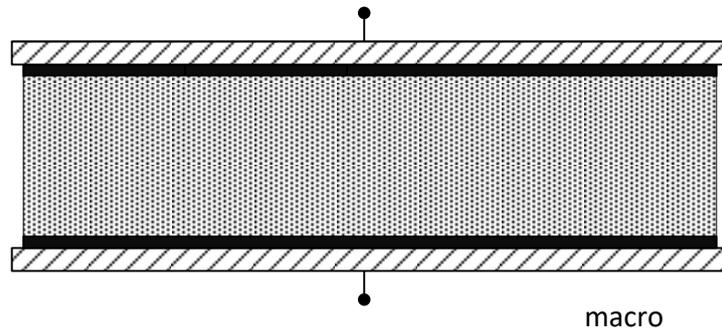


Fig. 2. Sección de electrodo de placas paralelas.

Por contraste con la macro-electroporación en el grupo de investigación se decidió reformular la metodología, definiéndose ensayos quirúrgicos en animales sanos (cerdos) sobre la macro-electroporación, mediante nuevos conceptos desarrollados en la Universidad de Zaragoza. Aparte de necesitar una gran cantidad de potencia para conseguir el objetivo (apoptosis generalizada) se han descrito graves problemas asociados a la alta intensidad de pulso (superior a 6MW), que es tan alta por la cantidad de volumen a tratar. Es por eso que se está planteando una alternativa diferente, asociada a la división del problema en un conjunto de problemas menores que, por multiplexación, control de focalización o simplemente reducción consigan minimizar los efectos no deseados en el entorno quirúrgico habitual.

Así, se está comenzando a describir, como novedad, la micro-electroporación irreversible, en la que se enfoca este proyecto. Esta metodología lo que busca es centrarse en áreas más pequeñas de tratamiento gracias a pequeñas antenas de campo cercano (*micro-placas* o *micro-patches*), los cuales se caracterizan por ser una matriz de placas planas (figuras 3 y 4), similares a las utilizadas en el concepto anterior, pero mucho más pequeñas. El objetivo de esta división del problema en sectores es reducir la potencia activa, hacer más selectivo el tratamiento ajustando la dosis en cada volumen y eliminar la contracción involuntaria, entre otras cosas.

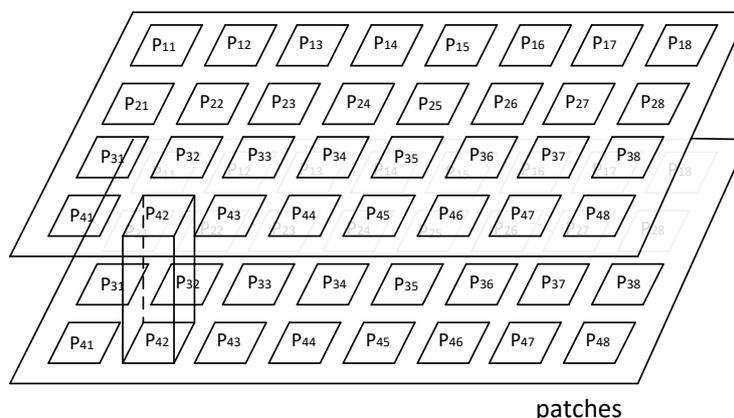


Fig. 3. Electrodo de micro-electroporación.

El problema estará definido por unos volúmenes menores de tratamiento (cm^3 frente a dm^3) y abre la puerta a un tratamiento selectivo, local y controlado. A la vez que surgen nuevas incógnitas, algunas de las cuales son objetivo (a nivel básico) de este proyecto.

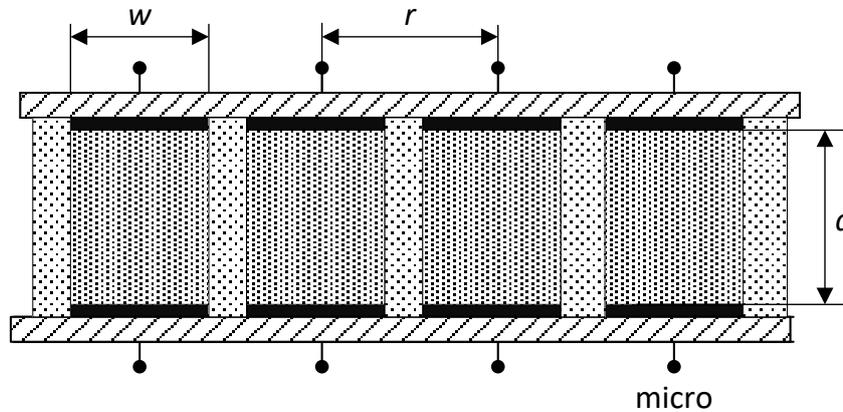


Fig. 4. Patches de micro-electroporación.

Dentro del proyecto de investigación que acoge a este trabajo se propone como mejora de futuro una serie de desarrollos: la automatización del proceso, el conformado de campo y el establecimiento de un criterio unificado para ajustar las dosis a cada patología, todo ello gracias a un modelado 3D previo del tejido a tratar.

1.3. Objetivos del trabajo final de grado.

En este trabajo final de grado se pretende estudiar el concepto básico de micro-electroporación, profundizando de forma clara, pero contenida, en algunos de sus aspectos. Se trata de analizar mediante una primera fase las diferencias en la cobertura, respecto al campo eléctrico, de la matriz de placas. En la segunda fase se estudiará una primera solución, basada en un concepto de atenuación variable de pulso, la electrónica necesaria para el control independiente del pico de tensión pico en cada placa.

Los objetivos pormenorizados son:

- Estudio de la técnica de electroporación y de micro-electroporación, en particular con el fin de comprender el contexto a partir del cual se desarrollarán el resto de objetivos a tratar.
- Estudio, a través de una revisión bibliográfica y de los ensayos realizados, de los parámetros físicos que caracterizan el tejido de un hígado conductividad (σ) y constante dieléctrica o permitividad (ϵ). A partir de estos se determinarán los rangos en los que se mueven y cuál es el valor típico para pulsos en el rango de los 10kHz a 100 kHz.
- Caracterización del campo eléctrico en los electrodos, para el caso de placas separadas, a partir de los parámetros obtenidos del tejido a tratar. Se tendrá especial atención a los bordes entre las placas (principal diferencia con el acoplador homogéneo de un macro-electroporador). Es necesaria una caracterización del campo en eléctrico en el tejido para comprobar si se obtienen los niveles de campo necesarios de manera homogénea para lograr la EPI.

- Planteamiento de las posibles soluciones para la cobertura de las zonas no tratadas mediante la aplicación de pulsos estándar.
- Estudio de posibilidades y diseño de concepto del circuito multiplexor de pulsos de EP para alta tensión. Dicho circuito se planteará solamente desde su análisis básico de topología. Se analizarán los compromisos de diseño, la metodología de diseño en su opción más simple y cómo esta podría mejorarse en trabajos futuros. Dicho circuito deberá ser capaz de multiplexar los pulsos de EP que reciba y transmitirlos a los electrodos de manera que se logre controlar el campo eléctrico en el tejido para lograr una correcta EPI.

2. Campo eléctrico en el hígado

2.1. Campo electromagnético

El campo entre dos placas cargadas es un problema electrostático bien estudiado. En este análisis vamos a aproximar el campo eléctrico por su versión estática (aproximación electrostática del problema). Como consecuencia del campo el potencial en las placas define, para cada tiempo y posición relativa en la matriz de tratamiento, la intensidad del campo eléctrico ($|\vec{E}|(x, y, z)$) en el medio a tratar. Los ejes coordenados y la posición de las placas se muestran en la figura 5. La coordenada z se toma positiva hacia abajo (interior del tejido), formando el plano y - z la vista de alzado del hígado a tratar.

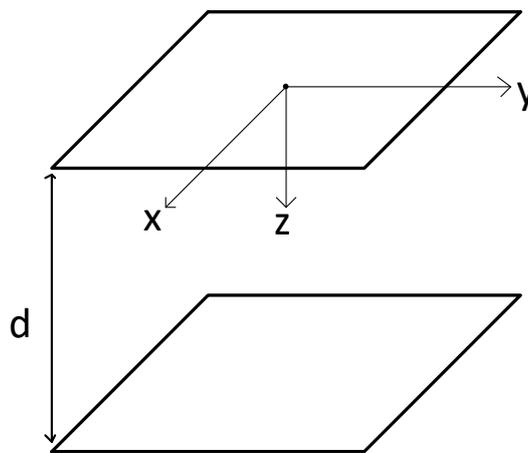


Fig. 5. Esquema de placas paralelas infinitas.

Para poder calcular el campo eléctrico \mathbf{E} , que es el parámetro que controla el tratamiento en el tejido, hay que considerar una serie de hipótesis de simplificación. La primera es que el tejido es homogéneo. Otra aproximación, para este estudio que se ha establecido y contrastado en [4], será considerar el tejido a tratar con comportamientos similares al de un dieléctrico. De esta forma se podrá hablar de polarización del medio, con un momento dipolar \vec{p} y una polarización \vec{P} , de forma que

$$\vec{P} = \frac{d\vec{p}}{dv} \quad (1)$$

Así mismo se verificará la ley de Gauss generalizada

$$\text{div}\vec{P} = \rho \quad (2)$$

Siendo ρ la densidad de carga. El campo en el interior de un condensador es conocido y constante, dado por

$$|\vec{E}|(0,0,z) = \frac{V}{d} = 4\pi\sigma k \quad (3)$$

Con σ la densidad de carga (supuesta homogénea al ser metálicas) de las placas, y k una constante que será 1 en el sistema CGS y tal que $k = \frac{1}{4\pi\epsilon_0}$ en el SI.

El campo en el exterior de las placas no es nulo, ya ha sido estudiado y recibe el nombre de efecto borde "*Edge Effect*". La idea es que las líneas de campo eléctrico nunca pueden generar lazos cerrados ($\text{rot}\vec{E} = 0$). Las líneas de campo se cierran por el exterior, debilitando enormemente su intensidad debido a una mayor distancia entre placas

$$|\vec{E}|_{out} < |\vec{E}|_{in} \quad (4)$$

2.2. Campo eléctrico entre placas finitas

Un posible abordaje para el cálculo del campo en el interior y exterior de un condensador de placas paralelas es el que se muestra a continuación en la figura 6.

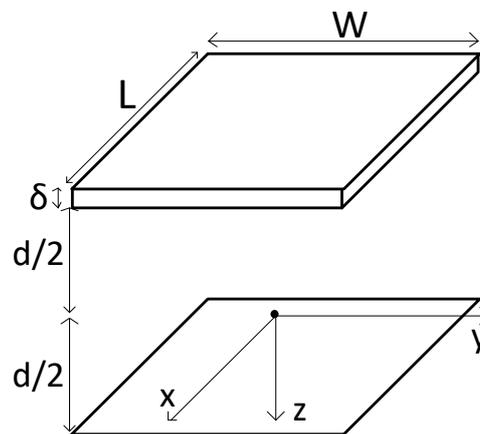


Fig. 6. Esquema de placas paralelas finitas.

Se trata de una sección y,z en 2D, donde se utiliza la propiedad de simetría para poder dividir el problema en dos, el cálculo del campo debido al plano superior y el campo inferior. El problema ha sido estudiado en el caso de condensadores y puede extraerse una conclusión analítica siguiendo, por ejemplo, la línea de análisis mostrada en [5].

Para placas rectangulares suficientemente largas (como p.e. una línea de transmisión plana) el campo está resuelto en cualquier posición del plano 2D (y,z). Si las placas están sometidas a una diferencia de potencial V la distribución de potencial ϕ será

$$\phi(y, z) = \frac{V}{2\pi} \left[\arctan\left(\frac{\frac{W}{2} + y}{z}\right) + \arctan\left(\frac{\frac{W}{2} - y}{z}\right) \right] \quad (5)$$

En esta distribución para puntos separados del eje vertical $abs(y)$ el potencial tiende a 0 para $z=0$. Las componentes del campo en ejes horizontal (y) y vertical (z) también han sido calculados de forma cerrada, en el sentido vertical por

$$E_z(y, z) = \frac{V}{2\pi} \left[\frac{\frac{W}{2} + y}{z^2 + \left(\frac{W}{2} + y\right)^2} + \frac{\frac{W}{2} - y}{z^2 + \left(\frac{W}{2} - y\right)^2} \right] \quad (6)$$

Y, para el campo en la dirección horizontal por

$$E_y(y, z) = -\frac{V}{2\pi} \left[\frac{1}{z^2 + \left(\frac{W}{2} + y\right)^2} - \frac{1}{z^2 + \left(\frac{W}{2} - y\right)^2} \right] \quad (7)$$

Siendo útiles estas expresiones entre los potenciales $\frac{+V}{2}$ y $\frac{-V}{2}$ en la región comprendida con z entre las placas, es decir $z < \frac{d}{2}$, $z > -\frac{d}{2}$.

De esta manera se pueden utilizar, para poder hacer un análisis básico, dos aproximaciones al problema, bajo las hipótesis de material homogéneo y de características dieléctricas. La primera, que considera que el punto de interés está suficientemente en el interior del volumen de tratamiento es la que se describe en la ecuación (3) y representa el campo máximo alcanzable y una distribución de potencial lineal en z .

La segunda, más general, está descrita por los efectos de borde, que se pueden evaluar por las Ecs.6,7. En estos casos el campo eléctrico se debilita en regiones cercanas al borde (*Edge Effect*) planteando un reto que se analizará, en los siguientes apartados. Las relaciones establecidas antes suponen también placas planas, de anchura δ infinitesimal. Se va a trabajar, para el análisis de detalle mediante la simulación por elementos finitos (FEM). Se planteará así un problema estático 2D con geometría real y parámetros físicos extraídos del hígado.

2.3. Parámetros físicos del tejido hepático

Una vez estudiado el campo entre placas paralelas, para poder aplicarlo al problema que nos atañe, es necesario conocer los parámetros físicos del tejido (se seleccionará el hígado, por ser uno de los objetivos principales). En la consideración de tejido con capacidad de almacenamiento de energía y algo de conductividad, típico en los modelos de bio-impedancia, se van a buscar valores máximos, mínimos y típicos para los parámetros de conductividad (σ) y constante dieléctrica (ϵ) dentro de la literatura disponible.

Con esta búsqueda y análisis se persigue determinar el rango de variabilidad, la influencia de la frecuencia y el impacto de estos valores en el modelo equivalente circuital. Resulta de utilidad disponer pues de un modelo equivalente eléctrico sobre el que extrapolarlas. Disponer de este modelo permite estimar el rango de variabilidad de la carga eléctrica equivalente durante el tratamiento y la manera en que éste puede influir en el circuito de generación de tensión.

Para la caracterización circuital se va a utilizar un modelo de tejido (carga) desarrollado por miembros del equipo de investigación y representado en la figura 7.

En primer lugar, se tiene en cuenta que cada porción infinitesimal puede modelarse como resistencias (R_e y R_i), dado que su contenido está compuesto casi en su totalidad por iones. Del mismo modo, para caracterizar la membrana, se aproxima a una serie de capacidades infinitesimales en serie y paralelo dando lugar a la capacidad equivalente de la membrana C_m .

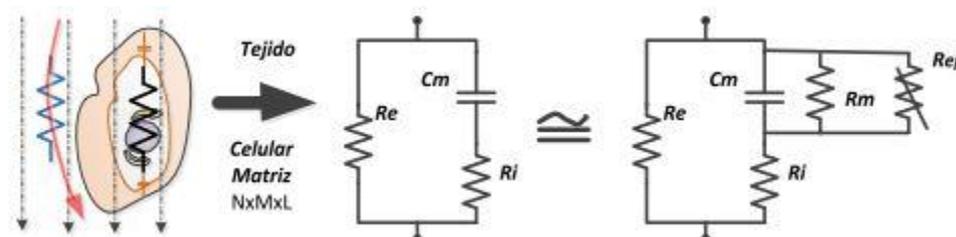


Fig. 7. Circuito eléctrico equivalente del tejido.

También es necesario caracterizar los efectos de la electroporación en el tejido debido al carácter dieléctrico de la membrana. El aumento de la conductividad que se manifiesta con la EP se representa mediante una resistencia variable (R_{ep}), la cual surge del deterioro del carácter dieléctrico de la membrana. Una vez conseguida la permeabilidad en la membrana, se puede caracterizar como una resistencia R_m , aproximable a un cortocircuito.

Además de lo anteriormente mencionado existen dos parámetros adicionales que afectan a la impedancia equivalente del sistema: la frecuencia de estimulación y el estado de EP. Para altas frecuencias (10 kHz a 1 MHz) la corriente eléctrica es capaz de atravesar la membrana de las células, reduciendo la impedancia del conjunto, como se observa en la figura 8.

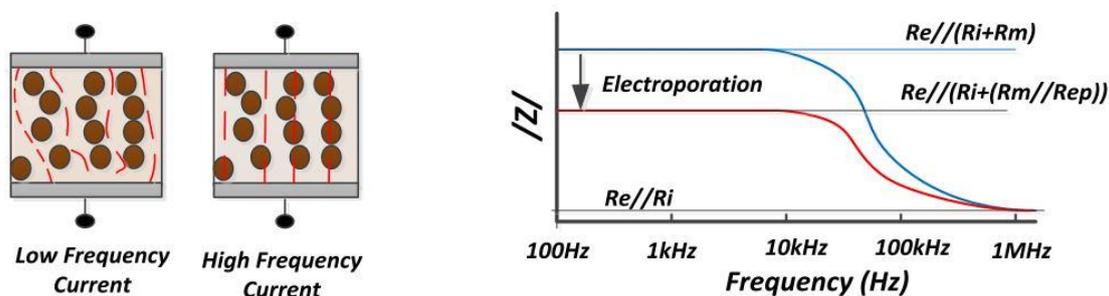


Fig. 8. Afectación de la impedancia con la frecuencia y la electroporación.

Se puede observar como la electroporación provoca una caída de la impedancia del tejido al aumentar la conducción total del mismo. Este efecto, aunque ocurre en todo el rango de frecuencias, se hace más notable a bajas frecuencias.

Un reciente ensayo in-vivo, sobre un cerno sano, realizado por el equipo en el Hospital del Mar en Barcelona ha medido la reducción de la impedancia debido a la electroporación irreversible. En dicho ensayo se expuso el tejido hepático a campos eléctricos de alta intensidad de 2 kV/cm y 100 μ s de duración, obteniendo una impedancia que varía en módulo desde los 70 Ω cuando el tejido aún no ha sido electroporado, hasta los 47 Ω presentes una vez el tejido es electroporado.

Esto supone un compromiso, ya que, aunque se logre la electroporación con niveles de tensión menores a los requeridos para la EPI debido al decaimiento de la resistencia, si se mantiene un

tiempo de exposición suficiente, puede dar lugar a la muerte necrótica o apoptótica de las células. Para el posterior análisis del tejido hepático es necesario establecer el rango de frecuencias, las cuales se sitúan entre 10 kHz y 100 kHz principalmente para evitar hipertermia en las células. Esto es necesario ya que en función de la frecuencia a la que se trabaje el comportamiento resistivo y capacitivo vistos anteriormente del tejido hepático variarán, por lo que resulta necesario conocer el comportamiento de la carga para el correcto diseño del circuito encargado de realizar la electroporación.

Además de dicha dependencia con la frecuencia, la permitividad y la conductividad del hígado también dependen del estado del tejido, ya que no posee la misma conductividad o permitividad un hígado sano que un hígado tumeroso, al estar conformado por distintas células con una irrigación mayor o menor. Por todo ello se ha realizado una búsqueda bibliográfica en artículos de investigación. Se ha combinado la información de diversas investigaciones, las cuales aportan multitud de datos, debido a que cada una de ellas ha estudiado el tejido hepático con una finalidad diferente, por lo que el rango de frecuencias y situaciones en los que se han medido la permitividad y la conductividad es muy amplio.

A continuación, en las tablas de las figuras 9 y 10 pueden observarse los diferentes valores de permitividad y conductividad recogidos en dichas investigaciones [6] [7] [8].

<i>Frecuencia (Hz)</i>	<i>Permitividad relativa tejido sano</i>	<i>Permitividad tejido tumeroso</i>
976.6	8.2×10^4	9.9×10^4
1 kHz	1×10^5	-
1.9531 kHz	6.6×10^4	8×10^4
3.9063 kHz	5.2×10^4	5.8×10^4
7.8125 kHz	3.8×10^4	3.9×10^4
9.7656 kHz	3.5×10^4	3.4×10^4
10 kHz	5×10^4	-
15.625 kHz	2.8×10^4	2.5×10^4
31.250 kHz	2×10^4	1.6×10^4
65.104 kHz	1.3×10^4	1×10^3
97.6563 kHz	1.1×10^4	8.6×10^3
100 kHz	2×10^4	-
195.312 kHz	6.5×10^3	5.1×10^3
390.625 kHz	3.4×10^3	3×10^3
1 MHz	1000	-
10 MHz	300	-
100 MHz	50	-
1 GHz	30-60	68
5 GHz	55	65
10 GHz	20-52	60
15 GHz	45	34
20 GHz	12	5

Fig. 9. Permitividad relativa a diferentes frecuencias del tejido hepático.

<i>Frecuencia (Hz)</i>	<i>Conductividad tejido sano (S/m)</i>	<i>Conductividad tejido tumeroso (S/m)</i>
976.6 kHz	0.030	0.166
1 kHz	0.1	-
1.9531 kHz	0.032	0.169
3.9063 kHz	0.035	0.173
7.8125 kHz	0.040	0.179
9.7656 kHz	0.042	0.181
10 kHz	0.2	-
15.625 kHz	0.047	0.185
31.250 kHz	0.058	0.195
65.104 kHz	0.076	0.209
97.6563 kHz	0.091	0.222
100 kHz	0.3	-
195.3125 kHz	0.124	0.246
390.625 kHz	0.164	0.272
1 MHz	0.4	-
10 MHz	0.7	-
100 MHz	0.8	-
1 GHz	1.8-2	2.5
5 GHz	5	6
10 GHz	15-30	22
15 GHz	36	47
20 GHz	50	49

Fig. 10. Conductividad a diferentes frecuencias del tejido hepático.

Los resultados de este estudio se muestran en la Fig. 11. En ésta se recoge la permitividad relativa y la conductividad para varios ensayos, con diferentes frecuencias y de diversos autores.

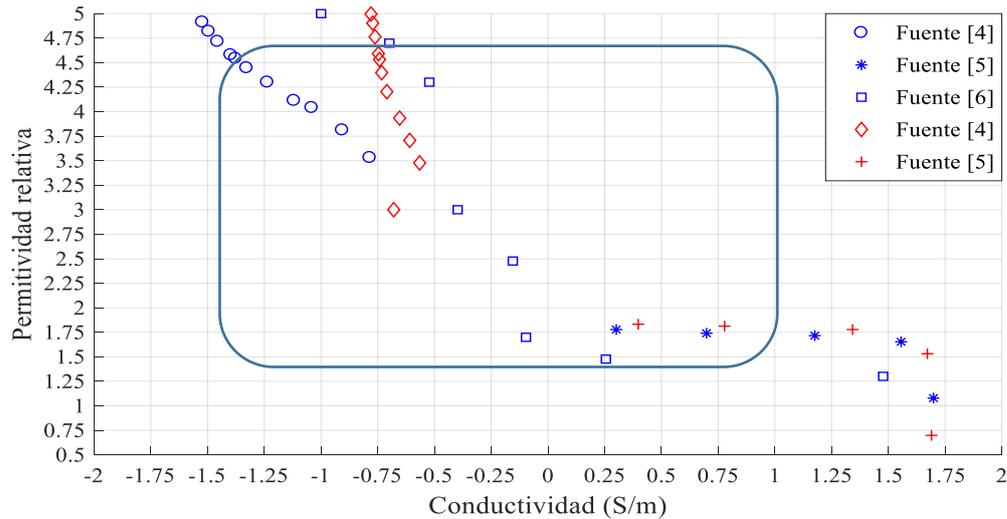


Fig. 11. Área de valores de trabajo en función de la frecuencia

En este gráfico están representadas las conductividades y permitividades en escala logarítmica para observar su tendencia. Se observa una gran dispersión de valores, pero con tendencias claras de crecimiento (alineamientos) que representan la variación de los parámetros con el incremento de frecuencia.

Para poder acotar los valores límite que han sido reportados se ha incluido (línea azul cerrada), el área del conjunto de puntos que están en la banda de frecuencias 10kHz-100kHz, tanto para tejido sano como para tejido tumoral.

Ahora que ya se conocen los parámetros físicos que afectan a las propiedades eléctricas del tejido hepático se puede proceder a al estudio del campo electromagnético, mediante elementos finitos, cuando situamos el tejido entre los electrodos.

2.4. Campo electromagnético en micro-patches

En este trabajo lo que se propone es el uso de unos electrodos formados por una matriz de micro-patches, los cuales permiten llevar a cabo el novedoso concepto de la micro-electroporación, gracias a la cual se puede reducir en gran medida la superficie de tejido tratado y con ella también se reducen los posibles efectos adversos producidos por tratar una gran área de tejido.

Se ha desarrollado una matriz de 16 placas, mediante fresado de un sustrato de material FR-4, aplicando técnicas de *scooring* (labrado de trincheras), de forma que se pueda analizar una geometría concreta y adecuada a las técnicas de fabricación disponibles. Dicha placa se muestra en la figura 12.

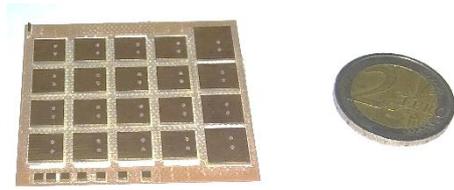


Fig. 12. Electrodo formado por matriz de patches.

Las dimensiones de cada *patch* son de 8 x 8 mm, con una altura respecto al material de base de 1mm y formado por una lámina de cobre de 35 μ m.

Efecto de reducción de potencia

Se aplicarán los conceptos de campo entre placas paralelas de un condensador vistos en el apartado 2.2, aun sabiendo que en este caso no se tratan de placas lo suficientemente grandes para considerarlas infinitas, pero se supone que es una buena aproximación para abordar el efecto global, en términos de potencia del campo eléctrico en el tejido situado bajo los micro-*patches*.

Dicho esto, se procede a realizar un cálculo de la potencia necesaria para electroporar el tejido mediante el uso de micro-electroporación. De esta manera la potencia de pulso necesaria, por unidad de superficie y separación entre electrodos será de

$$P_{pk}(W) = V_{pk}I_{pk} \quad (8)$$

Donde

$$V_{pk} = dE_{pk} \quad (9)$$

Siendo

$$I_{pk} = \frac{V_{pk}}{R} = \frac{V_{pk}\sigma(WxL)}{d} \quad (10)$$

siendo σ la conductividad del tejido. Combinando expresiones se llega a

$$P_{pk} = \sigma(E_{pk})^2(WxL)d = \sigma(E_{pk})^2\theta \quad (11)$$

siendo θ el volumen de tejido a tratar, σ dependiente del tejido y E_{pk} la intensidad de campo determinada por la necesidad de electroporar. W es la anchura de la placa y L su longitud, d es el grosor del hígado.

Para tener algo de perspectiva y comprobar las diferencias en términos de potencia entre la macro y la micro-EP del tejido hepático se procede a realizar un cálculo de la potencia necesaria para lograr la electroporación completa del tejido.

Por un lado, para la macro-EP, se han recogido datos de estudios previos en los que para obtener una EP efectiva se han descrito intensidades de campo mayores de 1kV/cm. Con profundidades de tratamiento típicas de 5 cm, surge la necesidad de aplicar tensiones entre placas mayores de 5kV. La resistividad del tejido es muy variable, pero se puede decir que un área de tratamiento $W \times L = 6 \text{ cm}^2$ necesita corrientes del orden de 180 A, se obtienen valores de densidad de potencia por volumen de 3.4 MW/l, que en la práctica debido al carácter capacitivo de la carga, en particular a la membrana de la célula, y a la falta de homogeneidad del tejido derivan en torno a 6-7 MW para cada litro de tejido a electroporar. Lo cual puede dar lugar a hipertermia y estimulación involuntaria del tejido muscular adyacente entre otros efectos secundarios.

Por otro lado, se procede a reducir el área de tratamiento en torno a 1 cm² gracias a la micro-electroporación, en nuestro caso para un par de electrodos de 8mm de lado ($W=L=8 \text{ mm}$), lo que da una superficie de $S = 0.64 \text{ cm}^2$. Considerando las especificaciones geométricas previamente mencionadas y con una separación máxima de 50 mm, el volumen de tratamiento se reduce a solamente 3.2 ml necesitando una potencia de pico mucho menor, para la hipótesis planteada, únicamente de 19 kW_{pk}. Esta reducción en la potencia de pico necesaria hará más viable el poder focalizar la dosis necesaria en un volumen de tejido concreto, evitando efectos no deseados como la estimulación involuntaria de músculos, la aparición de fibrilación en el corazón o la hipertermia en el órgano a tratar.

2.5. Validación del campo electromagnético en micro-patches

Una vez obtenidos tanto los parámetros físicos del tejido hepático como el campo eléctrico necesario para electroporar se procede a analizar el comportamiento del campo eléctrico entre los micro-patches mediante el uso de la herramienta de simulación electromagnética FEMM, la cual permitirá visualizar en 2D cómo se comporta el campo eléctrico generado por los micro-patches sobre una sección de tejido hepático. Las diferentes partes que componen la simulación puede verse con mayor claridad en el Anexo 1. En primer lugar, se simulan los electrodos, que están formados por una matriz de 4x4 micro-patches, pero debido a que se está representando una sección 2D solo se pueden ver los cuatro patches que están delante.

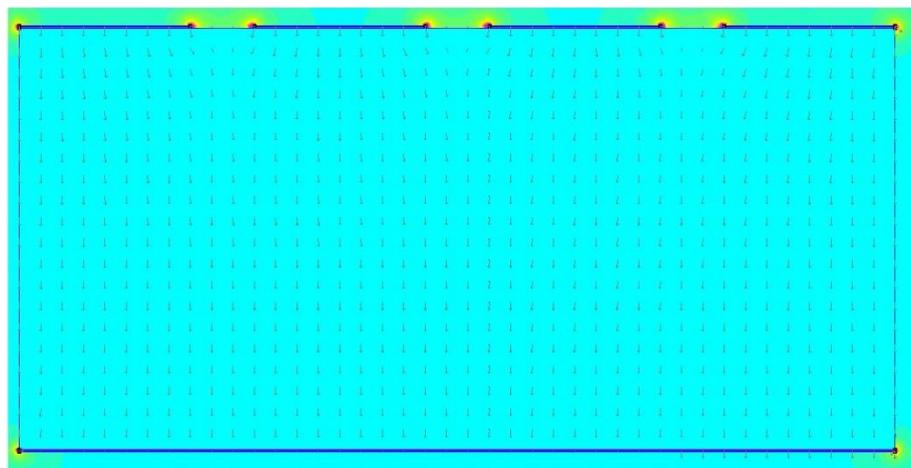


Fig. 13. Corte transversal del campo eléctrico en el tejido.

De esta manera puede observarse que el campo eléctrico (Fig. 13) ya no es homogéneo en todo el tejido como en el caso de placas paralelas infinitas, si no que aparecen depresiones en el intersticio entre placas debido al efecto borde, el cual hace que las líneas de campo eléctrico se curven de una placa hacia otra dando como resultado una zona en la que el campo eléctrico es más débil dando como resultado un tratamiento no homogéneo.

En la figura 14 puede apreciarse la evolución de la tensión aplicada al tejido conforme recorremos los micro-patches. En dicha gráfica uno de los micro-patches está centrado en la imagen y los dos adyacentes en los laterales. Se verifica lo visto en la simulación del campo electromagnético a través de FEMM, ya que en la zona entre placas debido al efecto borde anteriormente mencionado se produce una caída de la tensión aplicada al tejido lo cual si no se soluciona puede inducir a un tratamiento incorrecto en el que no se logre la electroporación irreversible y las células tumorosas sean capaces de regenerar los poros producidos en su membrana.

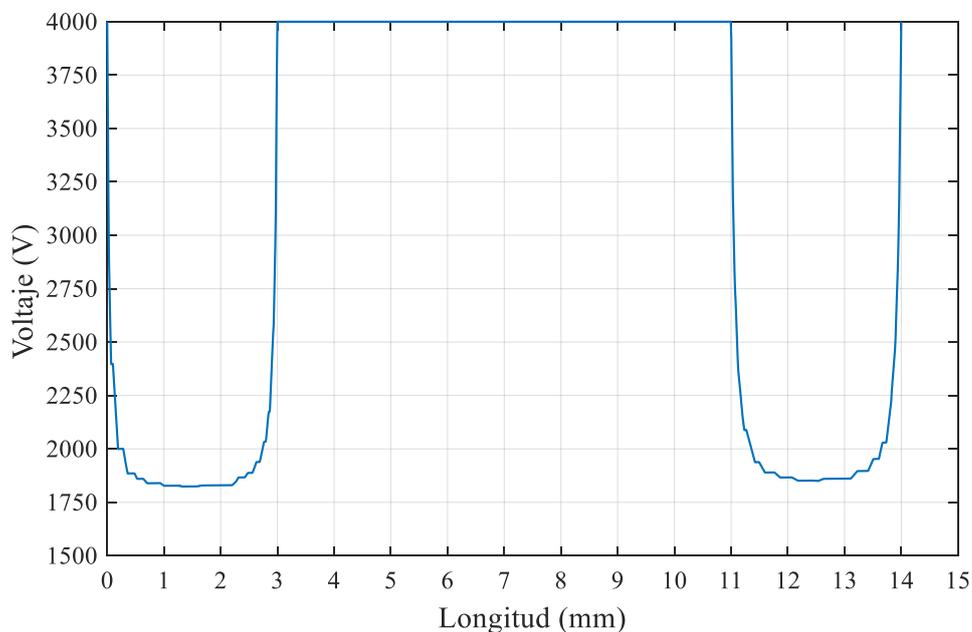


Fig. 14. Tensión aplicada al tejido a lo largo del eje y ($x = 0$, $z = d/2$).

Estos resultados adversos generan la necesidad de diseñar una solución ante tal problemática, la cual se basa en el control independiente de la tensión de cada micro-patch (figura 15), pudiendo así focalizar el campo en determinadas áreas de tratamiento. Evitando la sobre - excitación y la aplicación de un exceso de potencia al tejido que puede derivar en efectos de hipertermia.

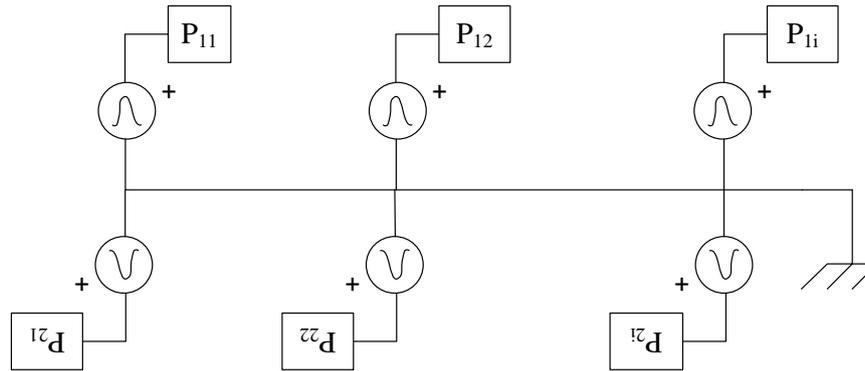


Fig. 15. Representación del control independiente de tensión.

2.6. Control independiente de tensión

Debido al efecto adverso de las depresiones de campo eléctrico previamente mencionadas es necesario buscar soluciones al efecto borde de los micro-*patches*. Por ello se proponen las siguientes soluciones, siendo una la elegida a desarrollar y las otras propuestas como soluciones a futuro.

Para reducir las depresiones de campo eléctrico previamente mencionadas se proponen diferentes soluciones.

1. **Política de "Gap-Filling"**: Esta primera solución se basa en aplicar una tensión diferencial entre placas para lograr una mayor curvatura del campo eléctrico entre ellas y reducir así las depresiones hasta ahora presentes.

La simulación de esta posible solución puede verse en la figura 16, en ella se aprecia como las líneas del campo eléctrico se curvan de una *patch* a otro con mayor intensidad que la vista en el apartado anterior. Respecto al caso con una misma alimentación se ha producido una cierta mejora, aunque es cierto que sigue habiendo una zona en la que el campo es muy débil.

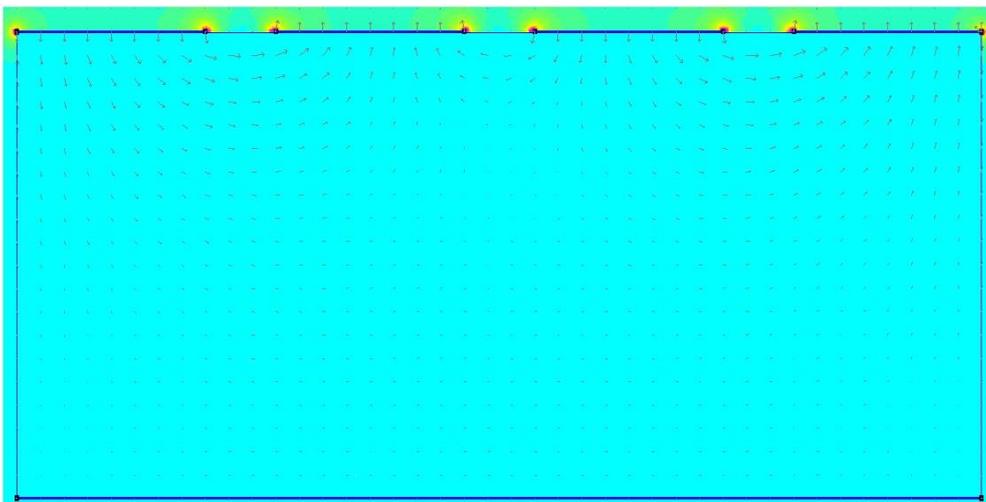


Fig. 16. Campo eléctrico en el tejido mediante técnica de Gap-Filling.

En la siguiente gráfica, figura 17, se ve el efecto de alimentar las placas a diferentes tensiones (alimentación en modo diferencial). A medida que recorremos el eje y , la sección de tejido vemos como se pasa de la alimentación positiva a la negativa sucesivamente. Si nos fijamos en la zona entre placas se ve la gran diferencia de tensión, culpable del incremento del campo eléctrico en el intersticio entre placas.

Se propone como mejora a futuro incluir variaciones en la geometría o en el contacto con el tejido de los micro-*patches* intentando minimizar en mayor medida las depresiones vistas del campo eléctrico.

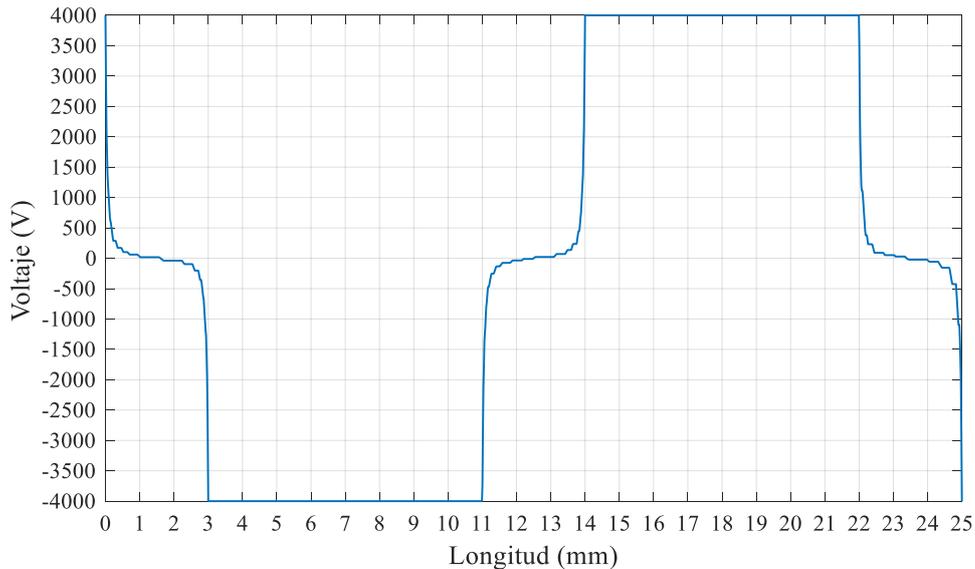


Fig. 17. Tensión aplicada al tejido a lo largo del eje y ($x=0, z=d/2$).

2. **Focalización del campo cercano:** la novedad de esta solución se basa en el tipo de antena o electrodo de transferencia. Se basa en un control basado en dos parámetros para cada elemento de ordinal n de la matriz $M(ij)$:
 - Tensión de pico de cada elemento ($V_{pk})_n$
 - Desfase del pulso α_n .

El campo eléctrico creado por una carga determinada q_i tendrá una distribución espacial esférica. Donde d_i indica la distancia entre el elemento activo a evaluar y el punto de evaluación del pulso. Se tendrá en cuenta para este análisis la hipótesis de campo estático, es decir, que el material en su respuesta tiene propiedades que permiten un análisis estático por medio de la electrostática.

Tomando en consideración que la excitación es aproximadamente senoidal se analizará cada uno de los pulsos como un elemento de un fasor espacial. Así es posible analizar un caso simple: material dieléctrico y homogéneo. La contribución de un elemento n , para cada punto del espacio, viene dada por

$$\vec{E}_i = \frac{1}{4\pi\epsilon_0 d_i^2} \vec{u}_i$$

Siendo un el vector unitario en dirección de la carga, y dependiendo de la constante dieléctrica del material (supuesta homogénea). El campo combinado por la combinación de j elementos viene dado por

$$\vec{E} = \vec{E}_1 + \vec{E}_2 + \vec{E}_3 + \dots + \vec{E}_n = \sum_{i=1}^n \vec{E}_i = \sum_{i=1}^n \frac{1}{4\pi\epsilon_0 d_i^2} \vec{u}_i$$

3. **Multiplexación temporal:** por último, se plantea esta solución, la cual es la elegida finalmente para su análisis y verificación en profundidad. Esta técnica consiste en multiplexar los pulsos procedentes del generador y que van destinados a cada uno de los diferentes micro-*patches*. De manera que se pueda controlar cuales están activos y cuales no focalizando así el área de tratamiento y reduciendo los efectos secundarios de la electroporación. Elegida la solución, se procede a hacer una estimación de la potencia media consumida por el electrodo conformado por una matriz de 4x4 *patches*. Así pues, se calcula primero el ciclo de trabajo (duty D) de los pulsos de EP, los cuales pueden verse en la figura 18. Dichos pulsos, si trabajamos a una frecuencia de 10 kHz ($T=100 \mu s$) tienen un tiempo de activación de $10 \mu s$, por lo que el Duty quedará:

$$D = \frac{t_{on}}{T} = 0.1$$

Por lo que la potencia media consumida por todos los *patches* cuando se necesita una potencia pico de 19 KW como se vio en el apartado 2.4 seguirá la expresión:

$$P_{avg} = \sum_{i=1}^{16} P_{pk_i} D_i = 30.4 \text{ kW}$$

Esta reducción en la potencia se logra gracias al Duty, ya que como no se está todo el tiempo aplicando tensión al tejido si no que se distribuye en el tiempo gracias a la multiplexación, en media, la potencia se ve reducida.

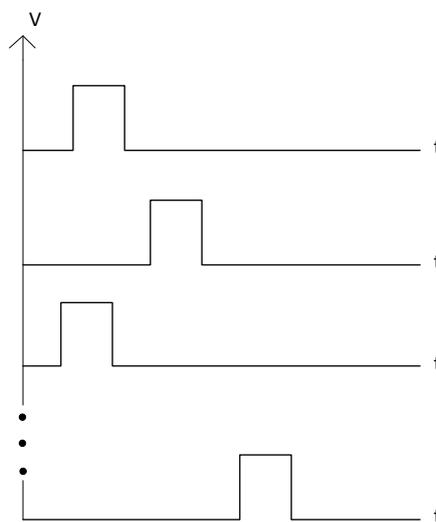


Fig. 18. Pulsos de EP multiplexados

3. Diseño del circuito multiplexador

3.1. Modelado del circuito de carga

A partir de todos los valores obtenidos de las variables eléctricas en el apartado 2.3. se procede a calcular la impedancia (resistencia y capacidad) de la carga, pues es necesaria para modelar el hígado mediante componentes electrónicos los cuales serán la carga de nuestro sistema de micro-electroporación.

Como el rango de trabajo va de los 10 kHz hasta los 100 kHz es necesario elegir el peor de los escenarios, también llamado *worst-case*, asegurándose de que bajo esas circunstancias se cumplen los requisitos para alcanzar la electroporación irreversible.

Si se puede asegurar en ese escenario, la electroporación irreversible estará asegurada en el resto de posibles frecuencias de trabajo. Por tanto, la peor de las situaciones se da cuando se trabaja a una frecuencia de 10 kHz, pues a esa frecuencia el hígado presenta la mayor de las conductividades con un valor de $\sigma=0.181$ S/m por lo que será necesario aplicar más tensión al hígado para lograr la electroporación. Además, a dicha frecuencia presenta la mayor de las permitividades con un valor de $\epsilon=3.4 \times 10^4$, que provoca un mayor efecto dieléctrico de la membrana, lo que se traduce en un aumento de tensión aplicada necesaria para lograr la permeabilidad de la membrana y por consiguiente la electroporación del tejido. Cabe destacar que los valores elegidos de permitividad y conductividad se corresponde a los de un hígado tumeroso no a uno normal, pues el tejido que se espera tratar es una zona tumerosa.

Una vez decidido el peor de los casos para lograr el tratamiento se procede a calcular los parámetros resistivos y capacitivos que modelan eléctricamente el hígado. Todos estos cálculos están destinados a un área de tratamiento de 8x8 mm que se corresponde con el tamaño de los electrodos a través de los cuales se aplicará la tensión, así como a una profundidad de hígado de 2 cm que es el grosor del hígado promedio.

Ahora que ya están decididas todas las especificaciones del diseño se calcula en primer lugar la resistencia, para ello se necesita la resistividad (ρ) del material, la cual se obtiene gracias a que es la inversa de la conductividad (σ). También se incluye la profundidad del tejido (l) a tratar así como la superficie de tratamiento (S). Así pues, la resistividad obtenida es la siguiente:

$$R_i = \rho \frac{l}{S} = \frac{l}{\sigma S} = 1.726 \text{ k}\Omega$$

Gracias al trabajo realizado en [2] sabemos que el ratio entre R_e y R_i siempre se mantiene, por lo tanto si $R_e = 75R_i$ obtenemos $R_e = 1249.45 \text{ k}\Omega$.

A continuación, se procede a calcular la capacidad C_m debida al efecto dieléctrico de la membrana, para ello hacemos uso de la siguiente ecuación la cual nos permite calcular la capacidad de un material con permitividad absoluta (ϵ) entre dos placas con un área rectangular, o en el caso de nuestros electrodos cuadrada, separadas una cierta distancia (d). Primero se calcula la permitividad absoluta gracias a la permitividad relativa presente en las tablas anteriores y la permitividad del vacío $\epsilon_0 = 8,854187817 \times 10^{-12} \text{ F/m}$.

$$C_m = \varepsilon \frac{A}{d} = \varepsilon_r \varepsilon_0 \frac{A}{d} = 963.32 \text{ pF}$$

Ahora la carga ya está completamente caracterizada pues se han calculado las tres variables necesarias (R_e , R_i y C_m) que modelan su comportamiento como carga de un circuito. Por lo que ya se puede proceder con el diseño del sistema de multiplexación de pulsos.

3.2. Opciones topológicas

Para la macro-electroporación se ha realizado un análisis previo de opciones electrónicas para su excitación, se puede ver en [9]. A la hora de diseñar el circuito encargado de multiplexar en tiempo los pulsos para micro-EP procedentes del generador se valoran diferentes opciones, las cuales son las que se muestran a continuación:

- **Varios inversores:** esta solución consta de un inversor por cada uno de los *micro-patches* presentes en electrodo. De este modo, los inversores que irían conectados a una fuente de alimentación continua producirán los pulsos necesarios para la electroporación.
- **Un solo inversor de alta potencia:** esta solución es una derivación de la anterior. Con el fin de reducir tanto el tamaño como los costes que provocaría tener que emplear un inversor por cada uno de los *patches* se propone el uso de un solo inversor de alta potencia que haga llegar los pulsos a todos los *patches*. Sin embargo, antes de llegar a éstos se acopla un circuito de interruptores los cuales se encargan de derivar la corriente haciendo que no se aplique tensión a los *patches* deseados para lograr tratar el área de tejido deseada.
- **Circuitos atenuadores variables:** esta solución es la elegida para su diseño, su funcionamiento es el siguiente. Consta de un circuito atenuador entre la fuente de alimentación alterna y los *patches* cuyo funcionamiento no es el de anular la tensión aplicada visto en las dos anteriores soluciones, si no atenuarla por debajo de los 600 V/cm ya que así no se produce electroporación irreversible ni efectos adversos como la hipertermia. Además, el no tener que llegar a los 0V de tensión aplicada al tejido facilita el diseño del circuito pues es complejo pasar de en torno a 2 Kv/cm (puede ir desde los 4 kV producto de un hígado promedio hasta los 10 kV de un hígado más grueso) a 0 V en menos de 10 o 100 μ s de tiempo de On que es lo que debe durar el pulso electroporador. El esquema de todos los atenuadores en paralelo al generador de pulso puede verse en la figura 19.

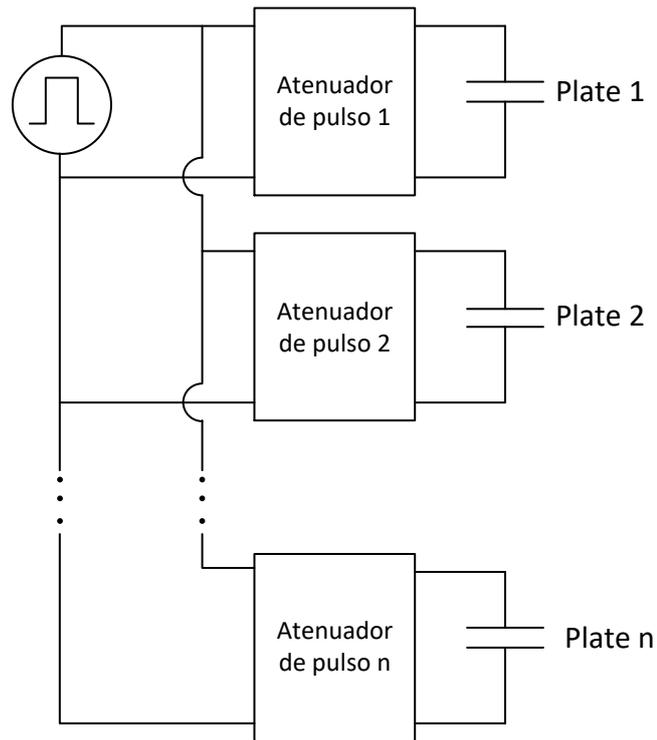


Fig. 19. Diagrama de atenuadores variables.

3.3. Diseño del circuito atenuador de pulso

Para el diseño del circuito de atenuación variable se empleará una red en L de impedancias con al menos un elemento variable, la cual nos permitirá ir desde unos valores máximo de impedancia a otros mínimos, entre los cuales se realizará tanto la electroporación irreversible como la atenuación del pulso. De esta manera el circuito equivalente junto con el modelado eléctrico de la carga calcula en apartados anteriores quedará tal como se ve en la figura 20.

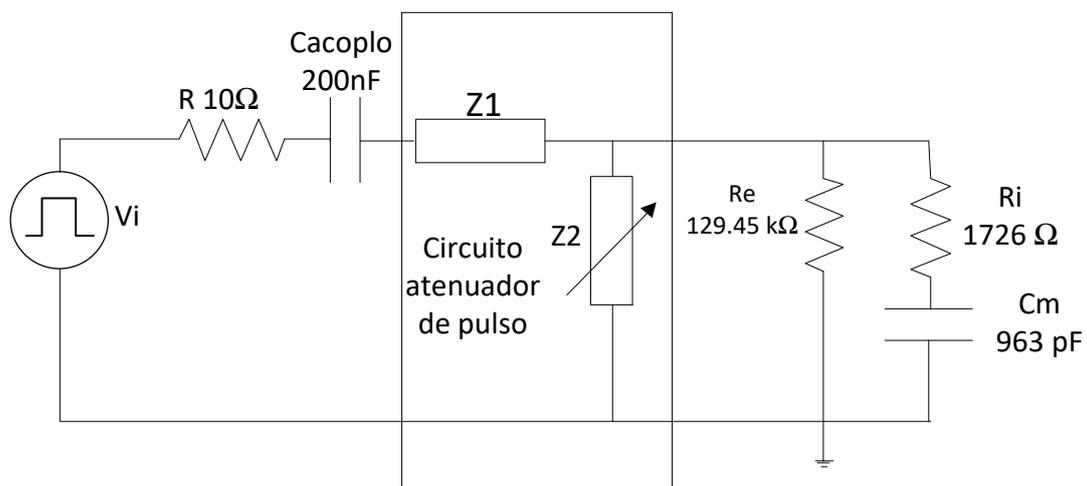


Fig. 20. Circuito equivalente.

3.3.1. Condiciones de análisis

Una vez elegida la topología que se va a usar para lograr la atenuación se plantean los dos objetivos de diseño necesarios para lograr un correcto tratamiento.

Por un lado, está el objetivo principal de lograr atenuar el pulso aplicado al tejido para no electroporar (criterio de atenuación de la tensión de pico (%)), el cual ha de reducirse por debajo del 30% del nivel de tensión entregada por el generador.

Por otro lado se encuentra el objetivo de tratamiento, ya que el circuito debe ser capaz de pasar de la situación anterior a una en la que sea capaz de entregar la máxima tensión posible entregada por el generador, de manera que en este caso si se electropore el tejido hepático. Dado que al introducir elemento entre el generador y el tejido habrá unas ciertas pérdidas de inserción, medidas en la reducción del pico de tensión, se suponen válidas unas pérdidas máximas del 10% de la tensión de entrada.

Para el abordaje de este atenuador se podrían utilizar las técnicas propias de la electrónica de radiofrecuencia, utilizando el concepto de la adaptación de impedancias en tensión. Como ocurre con las últimas etapas de una cadena de comunicaciones. Para conseguir la desadaptación se plantea un circuito sencillo, con un componente variable en paralelo y un elemento L en serie, sobre un circuito que trabaja a baja frecuencia en comparación con las frecuencias de trabajo propias de la radiofrecuencia.

El concepto sería utilizar la impedancia operacional compleja ($Z(j\omega)$) para determinar las características de atenuación en frecuencia del sistema. Sin embargo, se tendrían que dar dos hipótesis: la presencia de un único tono (la fundamental) y la operación en régimen permanente sinusoidal (no en pulso único transitorio). Se analizan a continuación.

En primer lugar, el circuito no va a trabajar a una única frecuencia como lo haría un circuito de radiofrecuencia al cual se le incluye una red en L para conseguir adaptarlo. Esto se traduce en que hay que verificar si la señal que se va a aplicar al tejido se puede aproximar mediante los primeros armónicos para así poder usar el mencionado método de adaptación de impedancias a una frecuencia de trabajo asumiendo dicha aproximación como válida.

Además, para utilizar la respuesta frecuencial como único criterio, también es necesario verificar que se trabaja en régimen permanente, pues si no es así y resulta que debido a la corta duración de los pulsos electroporador nunca se abandona el régimen transitorio, no se podrá verificar la validez de los resultados a través de la transformada de Fourier gracias a la descomposición en suma de senos. En los siguientes apartados se validará el error que se comete con estas aproximaciones (mono-tono y régimen permanente) respecto al resultado exacto por simulación.

3.3.2. Diseño de parámetros

Una vez establecida la metodología de trabajo, mediante la cual se van a obtener los valores de la red de adaptación y su posterior validación, se procede al cálculo de los parámetros.

Inicialmente hay que destacar que se ha elegido una bobina como elemento serie y fijo de la red en L, mientras que el elemento paralelo y variable estará formado por un conjunto de

transistores en circuito cascodo, como por ejemplo se muestra en [10], ya que ofrece una alta estabilidad, corrientes de unos pocos amperios, capacidad de variación de resistencia en alta tensión y aún más importante una alta ganancia, ya que en el caso extremo de un grosor de hígado de 5 o 6 cm se requerirán en torno a 10 kV de tensión pico.

Este dispositivo semiconductor de impedancia variable se modelará a través de unas resistencias en función del estado (on - off) en el que se encuentre. Por ello, para la estimación de las resistencias se ha elegido un transistor MOSFET de la nueva tecnología de Carburo de Silicio (SiC), para 1700 V, como se muestra [11]. Se especifica una corriente de fuga máxima de 100µA a 1700V, que por experiencia se puede estimar en configuración cascodo (10 dispositivos en serie) del orden de 5 veces más, resultando una R_{off} entorno a 3.4 MΩ, mientras que la resistencia cuando se busca atenuar el pulso es de $R_{on}=50 \Omega$. De tal forma que el circuito quedará de la siguiente manera:

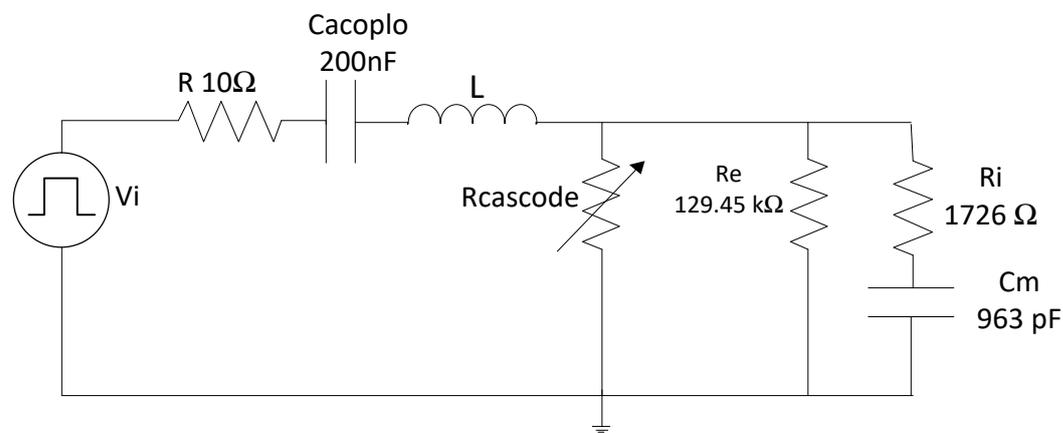


Fig. 21. Circuito con red en L atenuadora.

Resolviendo las ecuaciones que caracterizan el circuito se obtiene la siguiente ecuación

$$\frac{V_i}{V_{tej}} = 1 + (R + ZL + ZC_{acoplo}) \left(\frac{1}{R_{switch}} + \frac{1}{R_e} + \frac{1}{R_i + ZC_m} \right)$$

Dado que la única incógnita que está presente en la ecuación es la bobina se procede a calcularla bajo las dos condiciones de diseño.

Una primera, en la que para poder atenuar el pulso en el tejido por debajo del 30% de la tensión de entrada se aplica la siguiente condición $V_{tej} = 0.3V_i$ y $R_{on} = 50 \Omega$, lo que nos da como resultado $L_{min} = 2.1 \text{ mH}$. Mientras se emplee una bobina cuya inductancia se mantenga por encima de 2.1 mH, cuando se cierre el circuito que conforma el cascodo se asegura que la tensión en el tejido estará por debajo del 30% de la señal de entrada. Ahora se aplica la otra condición de diseño, la cual nos indica que para que haya electroporación la tensión recibida en el tejido ha de ser lo más parecida a la señal de entrada, es decir $V_{tej} \approx V_i$, teniendo en cuenta que habrá pérdidas debidas a la resistencia en serie con el generador y en la propia bobina se asumen unas pérdida máximas del 10%, que junto a $R_{off} = 3.4 \text{ M}\Omega$ da lugar a $L_{max} = 26.4 \text{ mH}$. Al igual que en el caso anterior, si se utiliza una bobina por debajo de 26.4 mH se asegura que siempre habrá menos de un 10% de pérdidas y que a su vez se logrará la electroporación. Por lo que ya tenemos acotado el valor de la bobina necesaria, el cual es $2.1 \text{ mH} < L < 26.4 \text{ mH}$.

Ahora se procede a verificar experimentalmente a través de la herramienta de simulación LTspice si el circuito obtenido mediante los cálculos teóricos se comporta de la manera esperada. Sin embargo, cuando se simula el circuito bajo las condiciones y valores obtenidos previamente se evidencia que no es así, ya que la simulación indica valores diferentes de bobina para lograr los objetivos anteriormente mencionados. Por lo que se procede a representar la variación de la atenuación (cuando no se desea electroporar) y las pérdidas cuando se electropora en función del valor de bobina elegido, todo ello tanto para los cálculos teóricos como para los simulados. Obteniendo de esta manera las figuras 22 y 23.

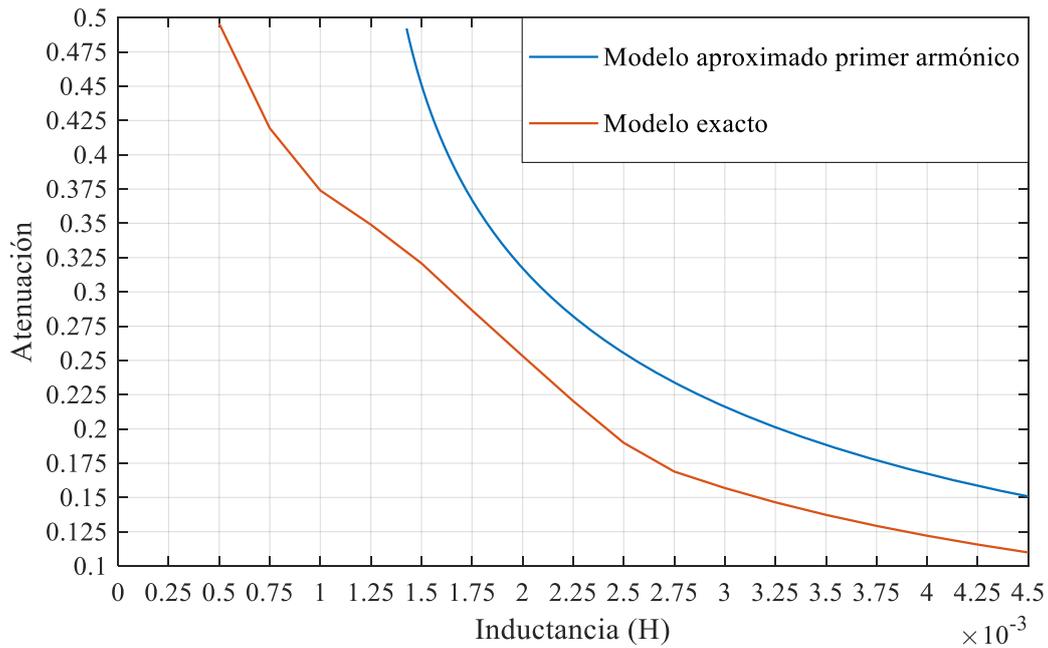


Fig. 22. Atenuación de la señal de entrada.

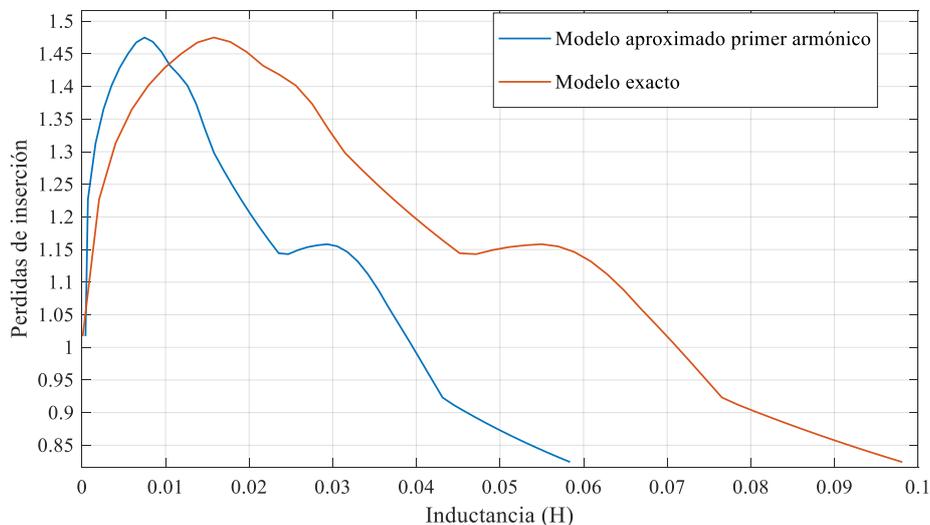


Fig. 23. Pérdidas en la señal de entrada debidas al atenuador.

En ambas gráficas se ve como los cálculos teóricos difieren de los simulados, esto es debido a que en los cálculos teóricos (línea azul en figuras 22 y 23) se asume que la tensión pico de la señal aplicada al tejido se debe a un solo armónico, lo cual no es correcto pues la señal está compuesta por varios tal y como puede verse en la mismas figuras en el caso del cálculo exacto (línea roja) en el que se utiliza tanto el armónico fundamental como el resto de ellos. Para decidir si la diferencia entre los cálculos teóricos y los simulados es lo suficientemente aproximada se requiere de un análisis del contenido armónico de la señal.

3.3.3. Análisis multi-tono del sistema

El análisis multi-tono de un sistema consiste en una medición de la contribución de los armónicos a la tensión pico de la señal, en este caso se llevará a cabo un análisis bitono de tal manera que si se puede aproximar la tensión pico mediante los dos primeros armónicos se podrán asumir como válidos los cálculos teóricos. Para obtener dichos armónicos y una posterior reconstrucción de la señal como una suma de senos se empleará la transformada de Fourier, la cual es útil para señales estacionarias pues las componentes en frecuencia que conforman dichas señales no se ven modificadas a lo largo del tiempo. Por ello es necesario en primera instancia verificar si se estará trabajando en régimen permanente.

Dicho esto, se procede a simular durante un largo periodo de tiempo (en comparación con el tiempo de on del pulso de EP) la señal aplicada al tejido con la finalidad de comprobar si se alcanza el régimen permanente. Los resultados obtenidos de la simulación son los mostrados en las siguientes figuras.

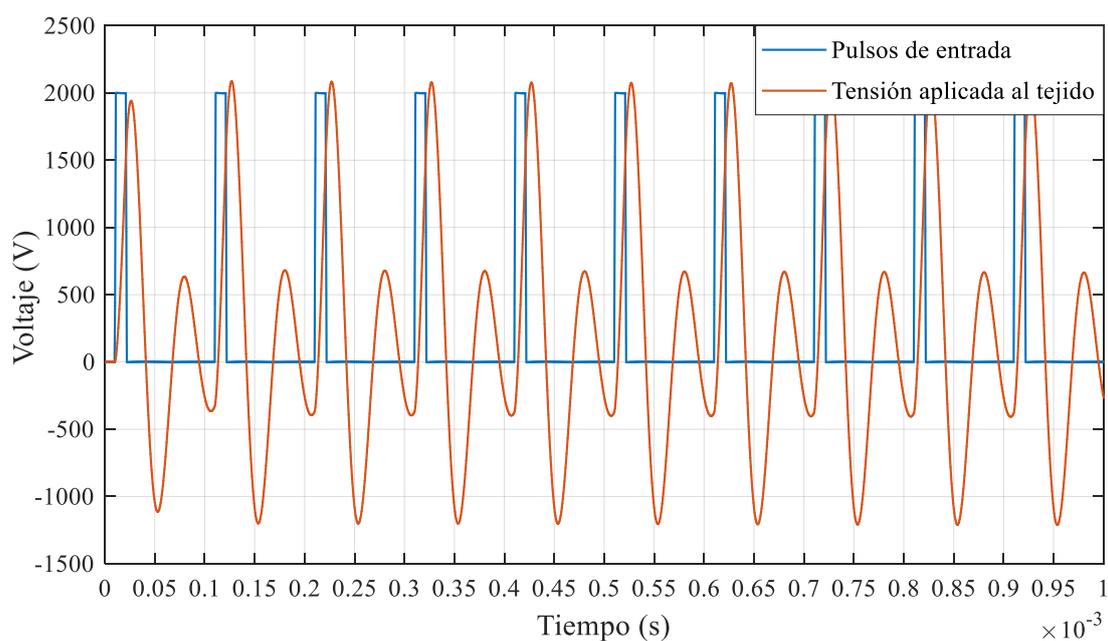


Fig. 24. Respuesta del sistema bajo condiciones de EP.

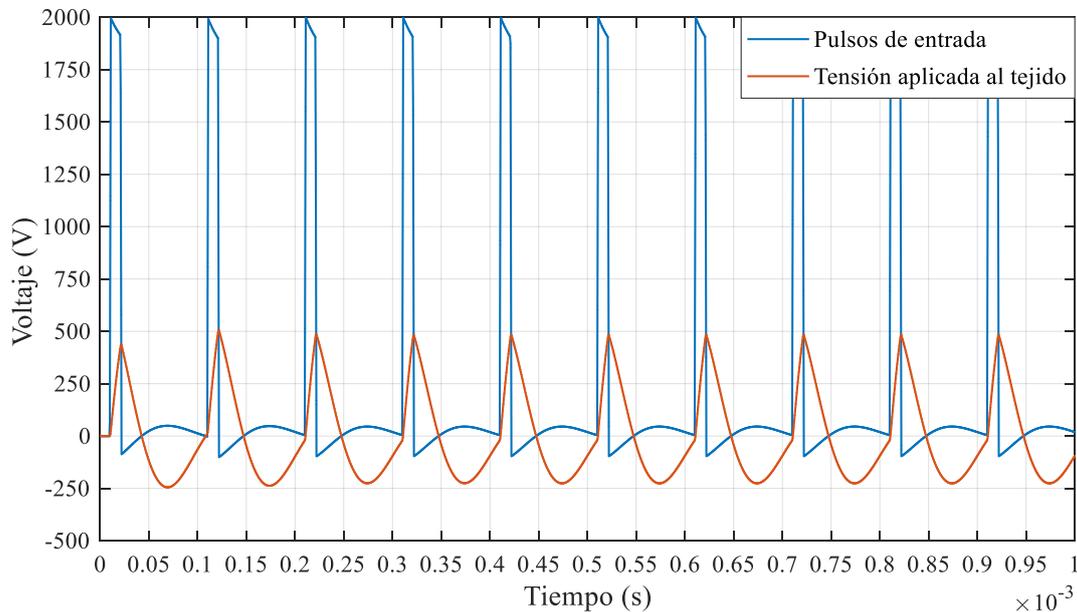


Fig. 25. Respuesta del sistema bajo condiciones de atenuación.

En las figuras 24 y 25 se verifica que, tanto cuando lo que se busca es electroporar el tejido como atenuar el pulso, el circuito trabajará en régimen permanente, pues una vez transcurrido el primer pulso el sistema se estabiliza y ofrece siempre la misma respuesta ante la señal de entrada, pudiendo así hacer uso de la transformada de Fourier para realizar un análisis del contenido armónico de la señal

Una vez verificado que el circuito trabajará en régimen estacionario, se procede con el análisis del contenido armónico de la señal aplicada al tejido, ya que como se mencionó en el apartado anterior, dicha señal no está compuesta por una sola componente frecuencial, lo que introduce un margen de error en los cálculos teóricos vistos.

En primer lugar, se procede con la condición de electroporación y gracias al cálculo previo de los coeficientes de Fourier, se calcula la distorsión armónica total (THD) para cuantificar la contribución en tensión de los armónicos secundarios de la señal respecto al armónico fundamental.

Obteniendo así

$$\text{THD} = \frac{\sqrt{V_2^2 + V_3^2 + V_4^2 + \dots}}{V_1} = 252.1106\%$$

es decir, todos los armónicos contribuyen en promedio (geométrico) un 152.1106 % más a la tensión pico de la señal que el armónico fundamental. Para asegurar que se puede suponer que la señal está conformada principalmente por el armónico fundamental y el siguiente se calcula la THD con ellos dos, de tal forma que

$$\text{THD} = \frac{\sqrt{V_2^2}}{V_1} = \frac{V_2}{V_1} = 133.4454 \%$$

por lo que se deduce que todos los armónicos desde el tercero hasta el último aportan en torno a un 118% más de tensión a la señal que el segundo armónico, lo cual no es una cantidad despreciable. De hecho, si reconstruimos la señal como la suma de senos a partir de los coeficientes de Fourier (figura 26) se aprecia la pérdida en la tensión máxima de la señal entre la señal completa con un gran número de armónicos y la señal compuesta por los dos primeros.

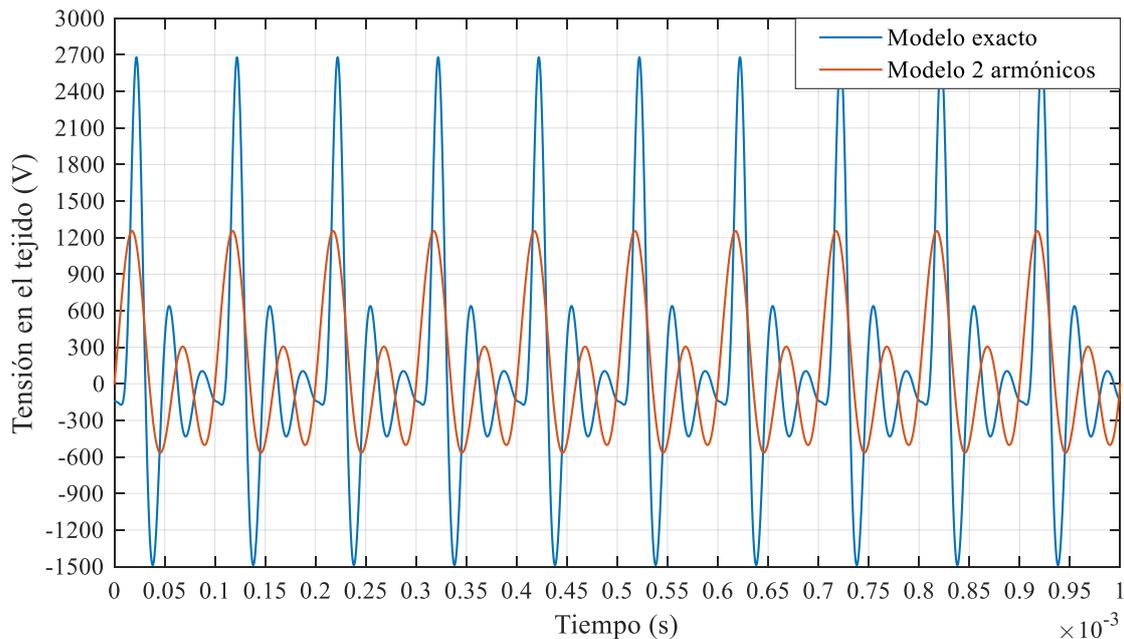


Fig. 26. Tensiones en el tejido.

Por lo tanto, si se acepta la elección de los dos primeros armónicos como los que principalmente contribuyen a la potencia de la señal se estaría perdiendo una cantidad notable de tensión pico. En este caso, el cálculo teórico no es del todo aproximado, por lo que a pesar de estar trabajando en régimen permanente habrá que modificar el valor de la bobina hacia un valor más cercano al obtenido en simulación empleando la gráfica de pérdidas de inserción (figura 23) vista en el apartado anterior.

Una vez analizada una de las situaciones se procede con la siguiente siguiendo la misma metodología. Así pues, aplicando las condiciones del escenario en el que se desea atenuar el pulso de EP, se calcula la distorsión armónica total (THD) para medir la contribución en tensión de los armónicos secundarios de la señal respecto al fundamental. Obteniendo así

$$\text{THD} = \frac{\sqrt{V_2^2 + V_3^2 + V_4^2 + \dots}}{V_1} = 39.4749\%$$

es decir, todos los armónicos contribuyen en promedio (geométrico) en torno a un 60% menos a la tensión pico de la señal que el armónico fundamental. Por lo que en un principio ya se podría dar como válido el cálculo teórico de la bobina, pero para afirmarlo con mayor seguridad se calcula la contribución del segundo armónico respecto al fundamental, de tal forma que

$$\text{THD} = \frac{\sqrt{V_2^2}}{V_1} = \frac{V_2}{V_1} = 32.1882\%$$

por lo que se deduce que si se asume que la tensión máxima de la señal depende de los dos primeros armónicos se estaría llevando a cabo una buena aproximación.

Para visualizarlo, reconstruimos la señal aproximada como la suma de senos a partir de los coeficientes de Fourier (figura 27) en la que aparece la señal reconstruida de manera exacta a partir de un gran número de armónicos y la señal reconstruida a partir de los dos primeros. En dicha figura se aprecia como el cálculo teórico es lo bastante cercano al correcto, ya que la señal construido a partir de los dos primeros armónicos apenas difiere de la señal exacta, manteniéndose siempre por debajo del límite de 600 V proveniente de la condición de diseño que exige que la tensión cuando se atenúa el pulso ha de estar por debajo del 30% de la señal de entrada. Con todo ello queda verificado que bajo estas condiciones el cálculo teórico de la bobina si es correcto.

Por lo que ya está completamente caracterizado y diseñado el circuito encargado de atenuar los pulsos, el cual se espera que en futuras implementaciones y ensayos clínicos sea capaz de funcionar como se ha descrito en este proyecto consiguiendo un avance en el tratamiento de tumores.

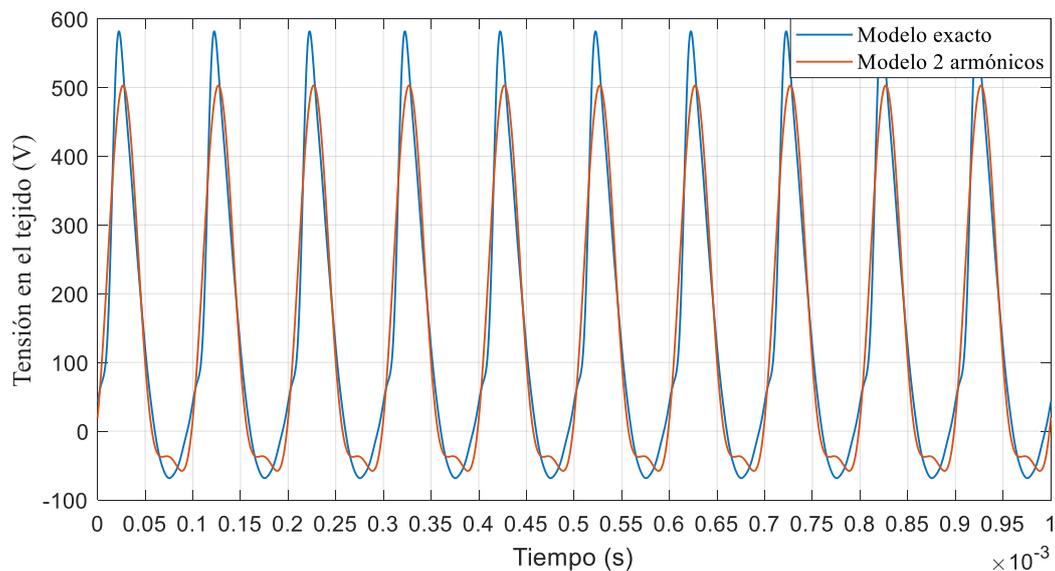


Fig. 27. Tensiones en el tejido.

4. Conclusiones del Trabajo Fin de Grado

4.1. Discusión de objetivos

- i. Se ha realizado una revisión de las técnicas de electroporación comparando la macro-EP con la micro-EP y viendo como esta novedosa técnica consigue tratar el tejido haciendo uso de una menor potencia y con menores efectos adversos. Todo ello con el fin de comprender el marco en el que se situaba el proyecto y a partir del cual se ha procedido.
- ii. Se ha realizado una revisión bibliográfica para lograr caracterizar físicamente el tejido hepático en un amplio rango de frecuencias. Y en particular, en el rango de trabajo el cual va de 10 kHz a 100 kHz, utilizando conclusiones de modelado previamente establecidas, se han obtenido los valores de los componentes que modelan el circuito equivalente eléctrico del conjunto placa - tejido.
- iii. Una vez caracterizado el tejido se ha analizado el comportamiento del campo eléctrico en el mismo a causa de la electroporación. Especialmente en el nuevo concepto de matriz de micro-placas. Como consecuencia de dicho análisis, se dedujo que había un problema de debilidad de campo eléctrico debido al efecto borde, el cual inducía a un tratamiento no homogéneo. Por lo que se han propuesto diferentes soluciones a la falta de cobertura en todas las zonas de tratamiento.
- iv. De entre todas las soluciones propuestas se eligió la multiplexación en tiempo de pulsos de EP, dentro de la cual se plantearon diferentes topologías, de entre las cuales se eligió la atenuación de pulsos que finalmente se llegó a diseñar.

4.2. Líneas futuras

Este trabajo establece un primer paso en la comprensión de las técnicas de micro-electroporación irreversible. Se trata de un ámbito del conocimiento nuevo, original y complejo. Por ello queda mucho recorrido para llegar a una aplicación concreta. Sin embargo, a la luz de las conclusiones, es posible establecer los siguientes pasos del trabajo:

- Realización de ensayos clínicos, en tejido de hígado, con el prototipo real a partir del diseño realizado en este proyecto.
- Diseño de un circuito y una teoría general, basada en el control de la fase de los pulsos para electroporar a través de la focalización del campo cercano.
- Haciendo uso de la multiplexación temporal, diseñar otras topologías diferentes basadas en el uso de múltiples inversores destinados cada uno de los *micro-patches*.
- Diseño de un procedimiento de control para estructuras cascado presentes el circuito atenuador variable diseñado en este proyecto. Incluyendo un prototipo construido para ello.
- Modelado previo en 3D de la zona del órgano a tratar con el fin de ajustar la dosis al tipo de tejido contenido en dicha zona.

5. Referencias y Bibliografía

- [1] S. L. Fink and B. T. Cookson, "Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells.," *Infect. Immun.*, vol. 73, no. 4, pp. 1907–16, Apr. 2005.
- [2] R. V. Davalos, L. M. Mir, and B. Rubinsky, "Tissue ablation with irreversible electroporation," *Ann. Biomed. Eng.*, vol. 33, no. 2, pp. 223–231, 2005.
- [3] T. Cabeza, "Sistema para el tratamiento de cáncer basado en electroporación irreversible," *TFM*, 2014.
- [4] A. Ivorra, "Tissue Electroporation as a Bioelectric Phenomenon: Basic Concepts," 2010, pp. 23–61.
- [5] G. W. Parker, "Electric field outside a parallel plate capacitor," *Am. J. Phys.*, vol. 70, no. 5, pp. 502–507, 2002.
- [6] S. Laufer, A. Ivorra, V. E. Reuter, B. Rubinsky, and S. B. Solomon, "Electrical impedance characterization of normal and cancerous human hepatic tissue," *Physiol. Meas. Physiol. Meas*, vol. 31, no. 31, pp. 995–1009, 2010.
- [7] A. P. O'Rourke *et al.*, "Dielectric properties of human normal, malignant and cirrhotic liver tissue: in vivo and ex vivo measurements from 0.5 to 20 GHz using a precision open-ended coaxial probe," *Phys. Med. Biol.*, vol. 52, no. 15, pp. 4707–4719, Aug. 2007.
- [8] S. Gabriel, R. W. Lau, and C. Gabriel, "The dielectric properties of biological tissues: II. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz," *Phys. Med. Biol.*, vol. 41, no. 11, pp. 2251–2269, 1996.
- [9] C. Bernal, O. Lucia, H. Sarnago, J. M. Burdio, A. Ivorra, and Q. Castellvi, "A review of pulse generation topologies for clinical electroporation," in *IECON 2015 - 41st Annual Conference of the IEEE Industrial Electronics Society*, 2015, pp. 625–630.
- [10] J. Biela, D. Aggeler, D. Bortis, and J. W. Kolar, "Balancing circuit for a 5-kV/50-ns pulsed-power switch based on SiC-JFET super cascode," *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 40, no. 10 PART 1, pp. 2554–2560, 2012.
- [11] N. E. Mode, "C2M1000170J Silicon Carbide Power MOSFET," no. 1, pp. 1–10, 2015.

ANEXO 1. Esquemático de simulación FEMM del tejido más el electrodo

Con el fin de visualizar con mayor claridad el aspecto del conjunto formado por los electrodos y el tejido hepático se adjuntan los esquemas del sistema simulado en FEMM.

En la figura 28 está representada la sección con $x=0$ bajo situación inicial en la que todos los patches están conectados a la misma polaridad de alimentación, vista en el apartado 2.5.

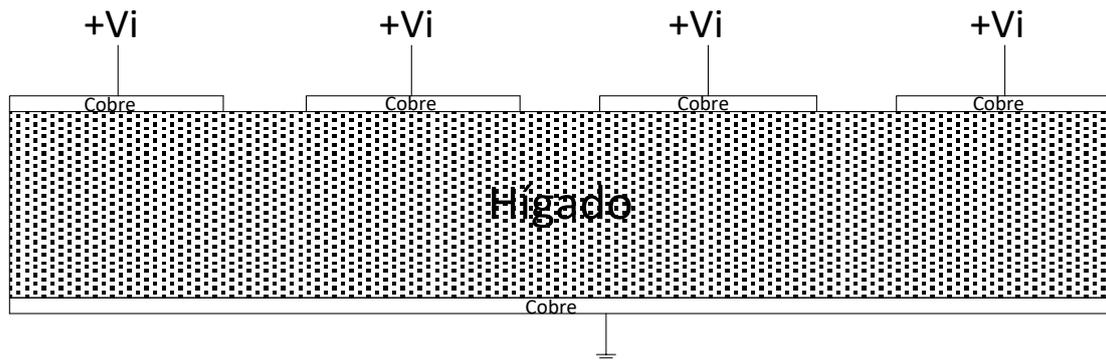


Fig. 28. Sección del esquema inicial simulado.

En la figura 29 está representada de nuevo la sección con $x=0$ de la política Gap-Filling, en la que los patches se alimentan de manera diferencial buscando una mayor curvatura del campo entre placas.

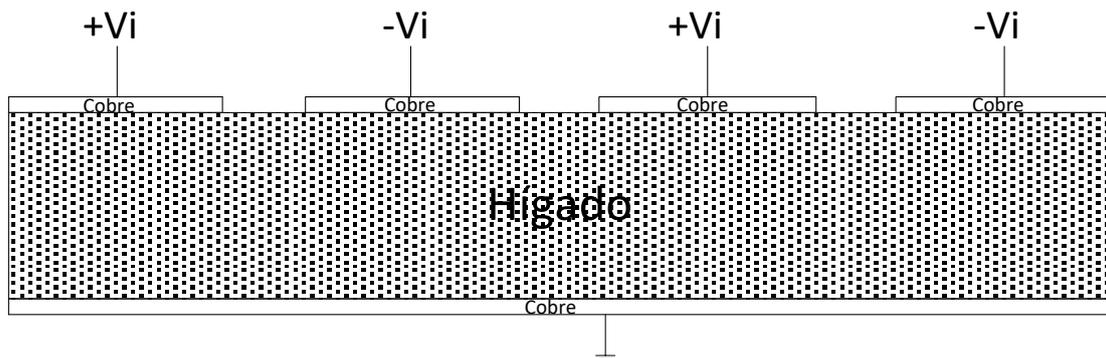


Fig. 29. Sección del esquema diferencial simulado.

La figura 30 es el esquemático empleado en el entorno de simulación.

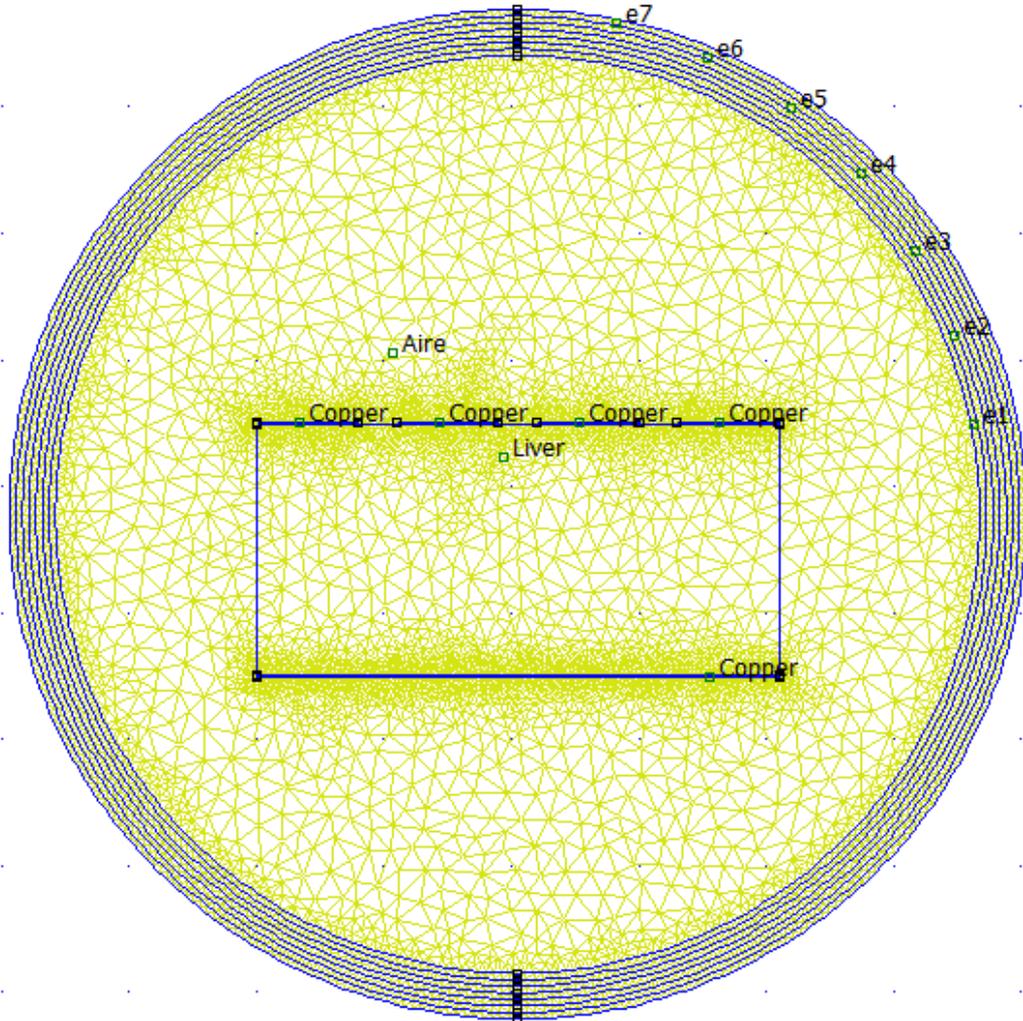


Fig. 30. Esquemático en entorno de simulación.