

UAB

Universitat Autònoma
de Barcelona



Germans Trias i Pujol
Hospital

Ablació òssia percutània mitjançant microones en un model animal

Treball de Final de Grau
UD: Hospital Germans Trias i Pujol
Alumne: Oriol Busquets Carrera
Tutor: Dr. Ricard Pérez Andrés

Agraïments

En primer lloc agrair al Doctor Ricard Pérez Andrés, el meu tutor del Treball de Fi de Grau, per la seva implicació i la seva feina.

En segon lloc agrair a la Doctora Eva Montané per la seva ajuda en la confecció del disseny de l'estudi.

Agrair també a la Doctora Irma Casas per l'assessorament en l'anàlisi estadística.

Agrair a l'Anna per donar-me suport als bons i, sobretot, als mals moments i per la seva enorme paciència per aguantar un tros de llamborda que sóc.

Agrair a la meva germana per les moltes estones divertides que hem tingut.

Agrair als meus pares per haver tingut la paciència d'educar-me i pel suport que he rebut al llarg dels anys.

ÍNDEX

1. Resum	3
2. Antecedents	5
3. Hipòtesi	7
4. Objectius	7
5. Material i mètodes	7
5.1. Disseny	7
5.2. Animals	8
5.3. Generador i antena de microones	8
5.4. Procediment	9
5.5. Cronograma	12
5.6. Definició de variables	12
5.7. Anàlisi estadística	14
6. Resultats que s'espera obtenir	14
7. Pla de difusió	15
8. Aplicabilitat	15
9. Bibliografia	17
ANNEXOS	19
Annex 1. Sol·licitud d'autorització d'un projecte d'experimentació amb animals	20
Annex 2. Memòria descriptiva d'un procediment d'experimentació amb animals	21
Annex 3. Memòria descriptiva d'un projecte d'experimentació amb animals	23
Annex 3. Correcta col·locació de l'antena i possibles incorreccions	24
Annex 4. Pla de treball	26
Annex 5. Pressupost	27

1. Resum

Percutaneous microwave ablation of bone in an animal model

Image-guided percutaneous ablation techniques are an emergent therapeutic option for benign and malign tumor injures in liver, kidney, lung, bone and soft tissue. Radiofrequency ablation is the best known technique for different organs. Recently, microwave ablation is starting to be applied to liver, kidney and lung but with an unknown effect on bone.

The purpose of the current study is to analyse the effect of microwave percutaneous ablation on bone in an experimental *in vivo* animal model (minipigs).

Hypotheses:

1. Microwave ablation produces a predictable bone necrosis.
2. Cortical bone prevents the necrosis extension to adjacent soft tissue.
3. Magnetic Resonance allows us to determine the extent of the bone injury and the possible effect on the adjacent soft tissue.

Objectives:

1. Calculate the volume of the bone injury produced by microwave ablation.
2. Demonstrate the homogeneity of bone lesions.
3. Describe the status of cortical bone.
4. Determine the possible effect on adjacent soft tissue.
5. Evaluate the correlation between the findings detected by Magnetic Resonance Imaging and the pathologic findings.

Methods:

40 CT-guided bone ablations will be done in 10 minipigs. Within 3 days of the ablation a MR will be realised on the treated zones and later on the animal will be slaughtered. Facts detected by MR will be compared with Anatomical Pathology findings.

Ablació òssia percutània mitjançant microones en un model animal

Les tècniques d'ablació percutània guiada per imatge constitueixen una opció terapèutica emergent en el tractament de lesions tumorals benignes i malignes en fetge, pulmó, ronyó, os i parts toves.

L'ablació mitjançant radiofreqüència és la tècnica de la que es disposa més experiència en els diferents òrgans. Recentment s'està aplicant l'ablació mitjançant microones en fetge, ronyó i pulmó però es desconeix el seu efecte en l'os.

El present projecte pretén analitzar l'efecte de l'ablació percutània mitjançant microones en l'os en un model d'experimentació animal (*minipigs*) *in vivo*.

Hipòtesis:

1. L'ablació mitjançant microones produeix una necrosi òssia previsible.
2. L'os cortical impedeix l'extensió de la necrosi als teixits tous adjacents.
3. La ressonància magnètica permet determinar l'extensió de la lesió òssia i la possible afectació dels teixits tous adjacents.

Objectius:

1. Calcular el volum de la lesió òssia produïda per l'ablació mitjançant microones.
2. Demostrar l'homogeneïtat de les lesions òssies.
3. Descriure l'estat de l'os cortical.
4. Determinar la correlació entre les troballes detectades per Ressonància Magnètica (RM) i l'Anatomia Patològica.

Metodologia:

Es practicaràn 40 ablacions òssies guiades mitjançant TC en 10 *minipigs*. Als 3 dies de l'ablació es realitzarà RM a les zones tractades i, posteriorment, es sacrificarà l'animal. Es compararan les troballes detectades en RM amb els de l'Anatomia Patològica.

2. Antecedents

Des del descobriment dels Raigs X al 1896, la Radiologia ha experimentat una constant evolució tecnològica, amb l'aparició de múltiples tècniques d'imatge, com l'ecografia, la tomografia computada (TC) o la ressonància magnètica (RM), que permeten veure i analitzar la totalitat del cos humà. Paral·lelament s'han desenvolupat tècniques de punció guiada per imatge amb les quals, a través de la pell, es pot accedir a qualsevol part de l'organisme (Radiologia Intervencionista Percutània) i obtenir mostres per analitzar els teixits o aplicar tractaments intralesionals sense necessitat d'intervenció quirúrgica. Entre aquestes darreres tècniques, l'ablació percutània guiada per imatge pretén destruir lesions mitjançant l'aplicació de procediments intralesionals físics o químics.

En l'actualitat, existeixen diverses tècniques d'ablació. Les més utilitzades són la radiofreqüència, les microones i la crioablació: (1):

1. Radiofreqüència

L'ablació per radiofreqüència (ARF) consisteix en l'aplicació en un punt d'un corrent elèctric altern que fa oscil·lar ràpidament els ions del teixit, creant una fricció que genera un gran augment de temperatura amb la conseqüent necrosi tissular (2).

2. Microones

L'energia de les microones fa girar les molècules d'aigua, creant una fricció que dona lloc a la generació de calor. En l'ablació mitjançant microones (AMO) la mort cel·lular és molt similar a l'observada a la ARF. Tanmateix, el mecanisme aporta uns avantatges. A diferència de l'ARF, basada en un corrent elèctric, que limita la seva transmissió en teixits amb alta impedància com l'os, l'AMO s'estén millor en aquests tipus de teixit (1,3,4). Tal i com constaten Caroline i cols.(5) això suposa uns avantatges de les microones respecte la resta de tecnologies entre les quals destaquen una temperatura intratumoral major, una rapidesa i un volum d'ablació superior, la possibilitat d'utilitzar múltiples aplicadors, una temperatura òptima per a la destrucció de masses quístiques i menys dolor en el procediment.

3. Crioablació

La crioablació utilitza mecanismes de congelació pràcticament instantània, cosa que genera cristalls de gel a l'interior i a l'exterior de les cèl·lules provocant la necrosi cel·lular (1,6).

L'ARF és la tècnica que presenta major evidència científica en fetge, pulmó, ronyó i os. (2,3,7-23).

La introducció de l'AMO és més recent i existeix una menor evidència científica. S'han publicat treballs de la seva aplicació en les lesions hepàtiques, renals, pulmonars, en el maneig del dolor en metàstasis òssies i com a tècniques coadjuvants a les tècniques tradicionals, per exemple en el tractament de l'hiperesplenisme (24).

Hi ha molt pocs treballs publicats que facin referència a l'efecte de l'AMO en l'os (5). Li i cols.(25) constaten que l'ús de microones abans de fer la cirurgia d'exèresi de l'osteosarcoma facilita la preservació de l'articulació, una millor recuperació, i una millor funcionalitat posterior.

La crioablació presenta un desenvolupament tècnic i una aplicació clínica menors, en part, a causa d'un temps de treball major. Existeixen poques referències d'estudis preclínic i clínic (26-29).

Així doncs podem observar que l'aplicació de les microones en l'ablació de teixit ossi és un tema amb molt poca evidència científica i que, tal i com hem explicat anteriorment, l'ús de les microones podria presentar avantatges en relació a la radiofreqüència. Per aquest motiu, esdevé important i interessant estudiar l'efecte de l'AMO en el teixit ossi i saber si és una tècnica segura, que no produeixi lesions en les parts toves adjacents.

En aquest sentit, caldria conèixer si l'os cortical impedeix el pas de l'efecte de l'ablació cap a les parts toves. Martel i cols.(10) van demostrar, en un estudi experimental en model animal *in vivo*, que l'os cortical impedeix el pas de la radiofreqüència als teixits tous adjacents. Per tant, davant l'evidència dels avantatges teòrics que pot aportar l'AMO en relació amb l'ARF en teixits d'elevada impedància com l'os (5) i l'absència de treballs preclínic, considerem d'interès realitzar un estudi de l'efecte de l'AMO en l'os en un model animal per a definir el volum de necrosi, la predictibilitat de les lesions i la seguretat de la tècnica en relació als teixits tous adjacents.

3. Hipòtesi

Per a validar la tècnica d'ablació òssia mitjançant microones és necessari demostrar la producció de necrosi òssia efectiva i reproduïble sense risc de lesionar els teixits tous adjacents. També és important validar una tècnica d'imatge que permeti avaluar, en un futur, l'efecte de l'AMO òssia, en els pacients.

Es plantegen les següents hipòtesis de treball:

1. L'ablació òssia percutània és una tècnica efectiva i reproduïble per a produir necrosi òssia.
2. L'os cortical impedeix l'extensió de la necrosi als teixits tous adjacents.
3. La RM permet determinar l'extensió de la lesió òssia i la possible afectació dels teixits tous adjacents.

4. Objectius

1. Calcular el volum de la lesió òssia produïda per l'ablació mitjançant microones.
2. Demostrar l'homogeneïtat de les lesions òssies.
3. Descriure l'estat de l'os cortical.
4. Determinar la possible afectació dels teixits tous adjacents.
5. Avaluar la correlació entre les troballes detectades per RM i Anatomia Patològica (AP).

5. Material i mètodes

5.1. Disseny

Estudi experimental *in vivo* en model animal sa, sense lesions prèvies.

Es sol·licitarà l'autorització del projecte al Comitè Ètic d'Experimentació Animal de la Fundació Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol, presentant els formularis d'autorització així com les memòries descriptives del projecte i del procediment (Annexos 1, 2, 3).

5.2. Animals

Porcs *minipig* conservats en condicions estàndard amb cicles automàtics de llum i accés lliure a alimentació estàndard i aigua. El motiu pel qual se selecciona aquesta espècie és la necessitat d'utilitzar un sistema musculoesquelètic d'una mida que permeti avaluar correctament la funció de barrera de la cortical. També la mida dels porcs permet un procediment més senzill tant per la col·locació de l'antena i l'anestèsia.

Els animals seguiran un control diari estricte des de l'inici del procediment. Un dels factors més importants serà la vigilància de l'estrès. Les possibles fonts d'estrès dels animals serien el contacte amb l'equip investigador, el trasllat a la sala d'intervenció, la intervenció en si mateixa (que requerirà analgèsia i anestèsia general). La recuperació de la intervenció requerirà d'analgèsia per evitar dolor i sofriment innecessari als animals.

5.3. Generador i antena de microones

Per a l'ablació amb temperatura s'utilitzarà una antena generadora de microones de 2.45 GHz. El motiu és que tal i com refereixen Curto i col. (30) les antenes de 2.45 GHz provoquen una zona d'ablació més gran, degut a una major deposició de potència a les proximitats de l'antena, així com una millor funció de la conducció de temperatura.

Prèviament a l'aplicació de la tècnica, és important conèixer l'efecte teòric de l'antena sobre el teixit, és a dir, es necessitarà conèixer el volum de la lesió generada en condicions ideals per a col·locar l'antena en una posició determinada.

S'utilitzarà l'antena *CA20L1 Emprint Standard Percutaneous Antenna with Thermosphere Technology Large Spherical Ablation Zone* de l'empresa Covidien®. Aquesta antena permet planificar el volum d'ablació en funció de la potència i el temps aplicats.

El generador que controla l'antena té diversos programes; un per a fetge, un altre per a ronyó i un altre per a pulmó, és a dir, que es codifica en funció de l'òrgan sobre el qual es genera la lesió.

Seguint l'explicat als antecedents, la manca d'estudis de l'activitat de microones sobre teixit ossi no ha permès desenvolupar cap programa específic; així doncs, s'utilitzarà el software d'ablació de fetge degut a que és l'òrgan del qual es disposa de més experiència.

5.4. Procediment

Els procediments es duran a terme a la sala de TC del Centre d'Experimentació Animal (CEA) de la Fundació Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol.

Inicialment es farà una anestèsia general (s'administraran de 2 a 10 mg/kg de combinació de tiletamina-zolacepam) i intubació als animals.

Es realitzarà un estudi amb un equip de TC (multidetector Lightspeed VCT 64 General Electric Medical Systems Health Care Milwaukee WI), mitjançant paràmetres estàndard, recomanats pel fabricant. Es practicarà un estudi de la zona a tractar per planificar el trajecte de l'antena de microones.

Es perforarà l'os mitjançant un trepant de 11G. Una vegada perforat l'os es col·locarà l'antena i es comprovarà la correcta posició d'aquesta mitjançant TC i es connectarà a la corrent. Per tal d'assolir el primer i segon objectius únicament cal fer una ablació simple a l'os, és a dir, que afecti exclusivament os trabecular, sense que contacti amb l'os cortical, col·locant la secció radiant de l'antena a la zona calculada prèviament. De cara al tercer i el quart objectiu, la punta de l'antena es col·locarà de tal forma que la zona d'ablació sobrepassi l'os cortical (Figura 1); així doncs, es podrà saber si la cortical actua com a barrera o no (Figura 2).

De cada una de les lesions s'estudiarà l'extensió de la necrosi, l'estat de la cortical i la integritat dels teixits tous circumdants.

És important assegurar-nos que la secció radiant de l'antena ocupa la zona d'ablació ja que si aquesta no queda correctament col·locada (Annex 4) pot provocar una menor ablació o bé, generar un camp d'acció allargat que provoqui lesions al pacient (animal en aquest cas) o a l'usuari.

Es realitzarà una reconstrucció multiplanar de les imatges de TC per a comprovar el correcte posicionament de l'antena en els tres plans de l'espai i poder fer posteriorment una millor interpretació dels resultats.

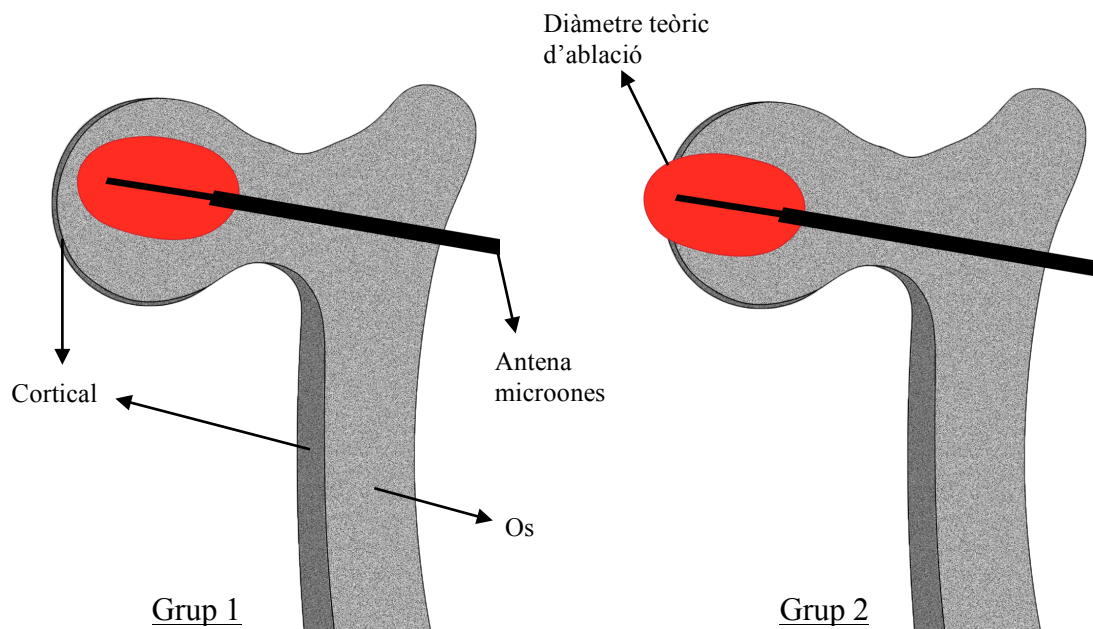


Figura 1. Aquestes dues imatges corresponen a un esquema de la col·locació de l'antena en funció de si afecten o no l'os cortical. Veiem que en la imatge del Grup 1 el diàmetre teòric d'ablació no entra en contacte amb la cortical; mentre que en la del Grup 2 aquest diàmetre sí que afectaria a la cortical.

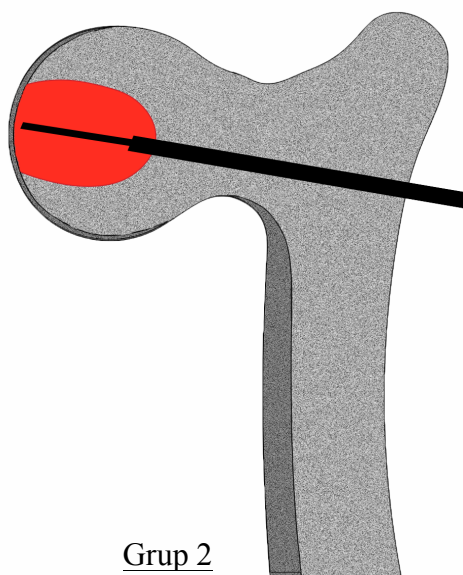


Figura 2. Partint del mateix esquema que veuríem a la Figura 1, suposant que la cortical exerceix de barrera a les microones, aquest hauria de ser l'efecte observat.

Un cop tot correctament comprovat es realitzarà l'ablació òssia mitjançant microones a 75W al llarg de 5 minuts.

A cada sessió es realitzaran 4 lesions: dues al fèmur dret (una en l'extrem proximal i l'altre en l'extrem distal que no afectaran a la cortical), i dues al fèmur esquerre (també en ambdós extrems amb lesions que teòricament sí afectaran a la cortical).

Aquest procés durarà aproximadament dues hores (trenta minuts per cada una de les lesions) sota el control d'un anestesista i de dos radiòlegs intervencionistes.

Al post-operatori, s'administrarà Buprenorfina intramuscular a raó de 0.01-0.04 mg/kg cada 6-8 hores. També s'utilitzarà Meloxicam (AINE) a raó de 0.2 mg/kg per via intramuscular cada 24 hores. La combinació d'aquests dos fàrmacs formen una associació analgèsica molt recomanable per aquest període.

Al finalitzar l'estudi s'hauran realitzat un total de 40 lesions guiades per TC als 10 *minipigs*.

Als porcs intervinguts es realitzarà una RM de la zona tractada, 3 dies després de la intervenció, per a visualitzar l'efecte de l'ablació. L'estudi per RM es farà en un aparell Magnetom Open; Siemens Medical Systems, Erlangen, Germany i s'utilitzaran les següents seqüències d'imatge: Fast SE T2, Fast SE STIR i SE T1 després de l'administració de contrast endovenós (Gadopentetat de dimeglumina 0,2 ml/kg).

Posteriorment a l'estudi amb RM se sacrificaran els animals. En l'estudi patològic macroscòpic, es prendran fotos i es fixaran les peces, per a que puguin ser preparades mitjançant hematoxilina-eosina. El patòleg no serà informat dels tipus de procediments.

Es mesuraran els diàmetres màxims d'ablació per a la seva posterior anàlisi estadística. Es valorarà l'estat de l'os cortical i s'estudiarà l'afectació del teixit circumdant a l'os cercant la presència d'inflamació o de necrosi.

Tant l'estudi anatomopatològic com l'estudi estadístic es duran a terme a l'Hospital Universitari Germans Trias i Pujol tant pel Servei d'Anatomia Patològica com pel Servei d'Epidemiologia respectivament.

Tant la recollida de dades com el posterior estudi estadístic es realitzarà mitjançant el programa informàtic *SPSS*.

5.5. Cronograma

Per tal de reduir la variabilitat interindividual resultant de l'exposició a diversos factors ambientals és necessari un període de 6 setmanes des de l'obtenció dels porcs fins a l'inici dels procediments.

Es realitzarà un procediment (4 lesions en un *minipig*) per setmana, de tal manera que el total dels procediments durarà 10 setmanes. En aquest període de temps s'hauran practicat 40 lesions a 10 *minipigs*.

5.6. Definició de variables

Tal i com s'ha comentat en l'apartat de Procediment, es realitzaran unes lesions en funció de si l'àrea d'ablació entra en contacte amb la cortical; de tal manera que les lesions es classifiquen en dos grups: (Taula 1)

Taula 1. Descripció de les variables de l'estudi					
	Grup	Definició	Variable		Tipus de variable
Aplicació Microones	Grup 1	Fèmurs drets. La teòrica àrea d'ablació no afecta l'os cortical.	Diàmetre de la lesió òssia	RM AP	Quantitativa contínua
			Lesió de la cortical	RM AP	Catègòrica
			Lesió de les parts toves	RM AP	Catègòrica
	Grup 2	Fèmurs esquerres. La teòrica àrea d'ablació afecta l'os cortical.	Diàmetre de la lesió òssia	RM AP	Quantitativa contínua
			Lesió de la cortical	RM AP	Catègòrica
			Lesió de les parts toves	RM AP	Catègòrica

Grup 1

Es defineix com a Grup 1 totes les lesions generades al fèmur dret, és aquell grup en el que hem realitzat l'ablació simple, és a dir, en que el radi d'acció de l'antena no afecta a la cortical (**Figura 1**). Com el software d'ablació del generador utilitzat és del fetge i, per tant, no és propi del teixit, s'han d'analitzar tres paràmetres:

1. Diàmetres de la lesió òssia (x, y, z).
2. Determinar l'existència de lesió de l'os cortical (avaluar si s'ha afectat o no ho ha fet).
3. Avaluar l'afectació de parts toves (determinar si hi ha alteració, canvis inflamatoris o bé necrosi).

Cada una d'elles s'estudiarà a partir de la RM i es compararà amb la prova de referència que és l'AP. Com a principal inconvenient de l'AP és la necessitat de la peça per tal de ser analitzada, suposa el sacrifici de l'animal.

En el cas de la RM s'utilitzaran 3 seqüències: T2, STIR i T1 amb contrast. El motiu pel qual s'utilitzen aquestes seqüències i no unes altres és perquè, tal i com constaten Nour i cols. (8) les lesions que s'aproximaven més a les mesurades amb AP eren les estudiades en T2, posteriorment en T1 amb contrast i finalment la seqüència STIR.

Tal i com s'ha mencionat al Procediment, degut a que és una tècnica sobre la qual no hi ha estudis, no es coneix la resistència de l'os a l'ablació per microones. Teòricament, aquesta resistència hauria de ser major, però podria ser que l'os potenciés les microones provocant una major destrucció de l'esperada. D'aquesta forma en aquest grup s'haurà d'estudiar el diàmetre de la lesió òssia, l'estat de la cortical i la lesió de parts toves, entenent lesió de parts toves inflamació o necrosi d'aquestes.

Grup 2

Es defineix com a Grup 2 el conjunt de lesions generades al fèmur esquerre sobre el qual es realitzarà una ablació que el teòric camp d'acció inclogui la cortical i les parts toves adjacents; és

aquell en el que es col·locarà la punta de l'antena en contacte amb la cortical (Figura 1). S'hi analitzarà la funció barrera de la cortical. D'aquesta manera caldrà estudiar:

1. Diàmetre de la lesió òssia (x, y, z).
2. Determinar si hi ha lesió de l'os cortical (avaluar si s'ha afectat o no ho ha fet).
3. Avaluar l'afectació de parts toves (determinar la presència d'alteracions, canvis inflamatoris o bé necrosi).

Cada una d'elles s'estudiarà també a partir de la RM i per AP.

5.7. Anàlisi estadística

En l'estudi del diàmetre d'ablació, s'obtidran variables quantitatives contínues. Es realitzaran estudis de tendència central (mitjana aritmètica, mediana i moda), juntament amb la desviació típica com a mesures de dispersió.

Per a comparar els diàmetres entre la RM i l'AP es realitzarà un anàlisi de concordança mitjançant el coeficient de correlació intraclasse (CCI).

En l'estudi de l'estat de la cortical i l'estat de les parts toves, es classificarà en percentatge la quantitat de vegades que hi ha hagut afectació d'aquestes.

Per realitzar la comparació de les variables categòriques (integritat de la cortical i estat de les parts toves) entre la RM i l'AP, s'analitzarà mitjançant l'índex Kappa.

6. Resultats que s'espera obtenir

L'equip investigador espera obtenir uns resultats molt esperançadors per a poder seguir ampliant coneixements en aquest àmbit. Entre ells s'espera poder arribar a definir el volum de necrosi que produeixen les microones en l'os.

En funció de l'evidència teòrica publicada seria esperable trobar una àrea de necrosi àmplia i predictable.

La principal incògnita serà saber si l'os cortical actua com a barrera al pas de l'AMO com ocorre en el cas de l'ARF.

Per últim la Ressonància Magnètica pot definir de forma precisa el volum de la lesió resultant de l'aplicació de microones. També seria esperable que la imatge de RM de les lesions produïdes es correlacionés amb troballes de l'Anatomia Patològica.

7. Pla de difusió

Els resultats d'aquest treball seran presentats en Congressos d'àmbit nacional i internacional i publicats en una revista especialitzada en Radiologia d'àmbit internacional.

El coneixement de l'efecte de l'AMO en l'os pot permetre l'inici d'una línia de recerca preclínica realitzant nous estudis amb modificacions dels paràmetres tècnics i en ossos d'anatomia complexa com les vèrtebres, així com la comparació de l'eficàcia de les diferents tècniques d'ablació òssia.

8. Aplicabilitat

El coneixement de l'efecte de l'AMO en l'os pot tenir diverses aplicacions clíniques:

1. Tractament pal·liatiu de metàstasis òssies

Actualment, el tractament pal·liatiu inicial per a les metàstasis òssies és la radioteràpia (8). En els casos en què aquesta no és efectiva, es plantegen altres tractaments igual que a l'ARF. L'AMO podria substituir a l'ARF, si es demostra que pot tractar lesions de major grandària en menor temps, de forma segura.

2. Tractaments de tumors ossis benignes

L'ARF és la tècnica amb més evidència clínica en el tractament dels tumors ossis benignes. La principal limitació és la mida de les lesions produïdes, que no superen el centímetre de diàmetre amb les antenes disponibles. Aquest fet fa que, per lesions d'una mida superior, es necessiti realitzar varies ablacions per poder necrosar tot el tumor. Si es demostra que l'AMO pot produir lesions més grans, en menor temps, de forma segura, podria substituir a l'ARF.

3. Tumors ossis malignes

L'AMO podria col·laborar en la cirurgia de sarcomes, necrosant la seva perifèria i, d'aquesta manera, afavorir una cirurgia preservadora de l'articulació amb marge de seguretat lliure de tumor (25).

9. Bibliografia

1. Hinshaw JL, Lubner MG, Ziemlewicz TJ, Lee Jr. FT, Brace CL. Percutaneous tumor ablation tools: microwave, radiofrequency, or cryoablation--what should you use and why? *Radiographics*. 2014;34(5):1344–62.
2. Hong K, Georgiades C. Radiofrequency ablation: mechanism of action and devices. *J Vasc Interv Radiol* [Internet]. 2010 Aug [cited 2016 Mar 21];21(8 Suppl):S179–86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20656227>
3. Wright AS, Sampson LA, Warner TF, Mahvi DM, Lee FT. Radiofrequency versus microwave ablation in a hepatic porcine model. *Radiology* [Internet]. 2005 Jul [cited 2016 Apr 13];236(1):132–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15987969>
4. Brace CL. Microwave tissue ablation: biophysics, technology, and applications. *Crit Rev Biomed Eng* [Internet]. 2010 Jan [cited 2016 Apr 13];38(1):65–78. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3058696&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
5. Simon CJ, Dupuy DE, Mayo-Smith WW. Microwave ablation: principles and applications. *Radiographics* [Internet]. 2005;25 Suppl 1:S69–83. Available from: http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/rg.25si055501?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:crossref.org&rft_dat=cr_pub=pubmed
6. Gage AA, Baust J. Mechanisms of tissue injury in cryosurgery. *Cryobiology* [Internet]. 1998 Nov [cited 2016 Apr 13];37(3):171–86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9787063>
7. Bitsch RG, Rupp R, Bernd L, Ludwig K. Osteoid osteoma in an ex vivo animal model: temperature changes in surrounding soft tissue during CT-guided radiofrequency ablation. *Radiology*. 2006;238(1):107–12.
8. Nour SG, Aschoff AJ, Mitchell ICS, Emancipator SN, Duerk JL, Lewin JS. Radiology MR Imaging – guided Radio-frequency Thermal Ablation of the Lumbar Vertebrae in Porcine Models. *Radiology*. 2002;224(2):452–62.
9. Adachi A, Kaminou T, Ogawa T, Kawai T, Takaki Y, Sugiura K, et al. Heat distribution in the spinal canal during radiofrequency ablation for vertebral lesions: study in swine. *Radiology* [Internet]. 2008;247(2):374–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18430872>
10. Martel J, Bueno A, Domínguez MP, Llorens P, Quirós J, Delgado C. Percutaneous radiofrequency ablation: Relationship between different probe types and procedure time on length and extent of osteonecrosis in dog long bones. *Skeletal Radiol*. 2008;37(2):147–52.
11. Schnapauff D, Streitparth F, Jöhrens K, Wieners G, Colletini F, Hamm B, et al. CT-guided radiofrequency ablation of osteoid osteoma using a novel battery-powered drill. *Skeletal Radiol* [Internet]. 2015 May [cited 2016 Jan 20];44(5):695–701. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25371086>
12. Dierselhuis EF, van den Eerden PJM, Hoekstra HJ, Bulstra SK, Suurmeijer AJH, Jutte PC. Radiofrequency ablation in the treatment of cartilaginous lesions in the long bones: results of a pilot study. *Bone Joint J* [Internet]. 2014 Nov [cited 2016 Jan 20];96-B(11):1540–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25371471>
13. Xie C, Jeys L, James SLJ. Radiofrequency ablation of chondroblastoma: long-term clinical and imaging outcomes. *Eur Radiol* [Internet]. 2015 Apr [cited 2016 Jan 20];25(4):1127–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25432292>
14. Zhang D, Xiao L, Tian H. [Endoscopic pleomorphic adenoma of nasal septum resection assisted by low-temperature plasma radiofrequency: a case report]. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* [Internet]. 2014 Nov [cited 2016 Jan 20];28(21):1713. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25735113>
15. Poulou LS, Botsa E, Thanou I, Ziakas PD, Thanos L. Percutaneous microwave ablation vs radiofrequency ablation in the treatment of hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol* [Internet]. 2015 May 18 [cited 2015 Dec 2];7(8):1054–63. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4450182&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
16. Toyota N, Naito A, Kakizawa H, Hieda M, Hirai N, Tachikake T, et al. Radiofrequency ablation therapy combined with cementoplasty for painful bone metastases: initial experience. *Cardiovasc Intervent Radiol* [Internet]. Jan [cited 2015 Nov 26];28(5):578–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16059766>

17. Kashima M, Yamakado K, Takaki H, Kaminou T, Tanigawa N, Nakatsuka A, et al. Radiofrequency ablation for the treatment of bone metastases from hepatocellular carcinoma. *AJR Am J Roentgenol* [Internet]. American Roentgen Ray Society; 2010 Feb 23 [cited 2015 Nov 26];194(2):536–41. Available from: <http://www.ajronline.org/doi/abs/10.2214/AJR.09.2975>
18. Link TM, de Mayo R, O'Donnell RJ. Radiofrequency ablation-an alternative for definitive treatment of solitary bone metastases. *Eur Radiol* [Internet]. 2007 Nov [cited 2015 Oct 23];17(11):3012–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17622538>
19. Gevargez A, Ditzen A, Grönemeyer DH. [Vertebral body metastasis with spinal canal invasion: radiofrequency ablation in combined therapy with dorsal spondylodesis and radiotherapy]. *Rofo* [Internet]. 2008 Jan [cited 2015 Nov 23];180(1):63–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18008198>
20. Yamakado K, Matsumine A, Nakamura T, Nakatsuka A, Takaki H, Matsubara T, et al. Radiofrequency ablation for the treatment of recurrent bone and soft-tissue sarcomas in non-surgical candidates. *Int J Clin Oncol* [Internet]. 2014 Oct [cited 2015 Nov 23];19(5):955–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24287606>
21. Cazzato RL, Bonichon F, Buy X, Godbert Y, de Figuereido BH, Pointillart V, et al. Over ten years of single-institution experience in percutaneous image-guided treatment of bone metastases from differentiated thyroid cancer. *Eur J Surg Oncol* [Internet]. 2015 Sep [cited 2016 Jan 20];41(9):1247–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26136221>
22. Hillen TJ, Anchala P, Friedman M V, Jennings JW. Treatment of metastatic posterior vertebral body osseous tumors by using a targeted bipolar radiofrequency ablation device: technical note. *Radiology* [Internet]. 2014 Oct [cited 2015 Nov 23];273(1):261–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24927327>
23. Ogura K, Miyake R, Shiina S, Shinoda Y, Okuma T, Kobayashi H, et al. Bone radiofrequency ablation combined with prophylactic internal fixation for metastatic bone tumor of the femur from hepatocellular carcinoma. *Int J Clin Oncol* [Internet]. 2012 Aug [cited 2015 Nov 23];17(4):417–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21915771>
24. Ha J, Hendrix M, Guyer AG. Microwave Ablation for the Treatment of Hypersplenism: Short Waves, Low Cost, Big Results. *Dig Dis Sci* [Internet]. 2015 Nov 5 [cited 2015 Nov 26]; Available from: <http://link.springer.com/article/10.1007/s10620-015-3928-x/fulltext.html>
25. Li J, Guo Z, Wang Z, Fan H, Fu J. Does Microwave Ablation of the Tumor Edge Allow for Joint-sparing Surgery in Patients With Osteosarcoma of the Proximal Tibia? *Clin Orthop Relat Res* [Internet]. 2015 Oct [cited 2016 Jan 20];473(10):3204–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26152783>
26. Janzen NK, Perry KT, Han K-R, Kristo B, Raman S, Said JW, et al. The effects of intentional cryoablation and radio frequency ablation of renal tissue involving the collecting system in a porcine model. *J Urol* [Internet]. Elsevier; 2005 Apr 1 [cited 2016 May 30];173(4):1368–74. Available from: <http://www.jurology.com/article/S002253470561107X/fulltext>
27. Bang HJ, Littrup PJ, Currier BP, Goodrich DJ, Aoun HD, Klein LC, et al. Percutaneous cryoablation of metastatic lesions from non-small-cell lung carcinoma: initial survival, local control, and cost observations. *J Vasc Interv Radiol* [Internet]. 2012 Jun [cited 2016 May 30];23(6):761–9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3786436&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
28. Kurup AN, Morris JM, Schmit GD, Atwell TD, Schmitz JJ, Rose PS, et al. Balloon-assisted osteoplasty of periacetabular tumors following percutaneous cryoablation. *J Vasc Interv Radiol* [Internet]. 2015 Apr [cited 2016 Jan 20];26(4):588–94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25805541>
29. Thacker PG, Callstrom MR, Curry TB, Mandrekar JN, Atwell TD, Goetz MP, et al. Palliation of painful metastatic disease involving bone with imaging-guided treatment: comparison of patients' immediate response to radiofrequency ablation and cryoablation. *AJR Am J Roentgenol* [Internet]. 2011 Aug [cited 2016 May 30];197(2):510–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21785102>
30. Curto S, Taj-Eldin M, Fairchild D, Prakash P. Microwave ablation at 915 MHz vs 2.45 GHz: A theoretical and experimental investigation. *Med Phys* [Internet]. American Association of Physicists in Medicine; 2015 Nov 7 [cited 2015 Nov 26];42(11):6152. Available from: <http://scitation.aip.org/content/aapm/journal/medphys/42/11/10.1118/1.4931959>

ANNEXOS

Annex 1. Sol·licitud d'autorització amb procediments d'experimentació amb animals

S'adjunta la primera pàgina de la Sol·licitud d'autorització d'un projecte amb procediments d'experimentació amb animals.

M0348



Sol·licitud d'autorització d'un projecte amb procediments d'experimentació amb animals o de modificació rellevant o pròrroga d'un projecte autoritzat

Dades d'identificació de l'usuari

Indiqueu el tipus de persona:

Persona física Persona jurídica

Dades d'identificació

Raó social

Fundacio Institut d'investigacio en ciencies de la salut Germans Trias i Pujol

Tipus de document d'identificació	Número d'identificació
NIF	G60805462

Adreça

Tipus de via	Nom de la via				Número
Carretera	del Canyet				S/N
Bloc	Escala	Pis	Porta	Codi postal	
				08916	
Província	Comarca				Municipi
Barcelona	Barcelonès				Badalona

Podeu cercar l'adreça en el servei de normalització d'adreces (només adreces de Catalunya)

Verifica l'adreça

Accepta

Dades del/de la representant

Nom	Primer cognom	Segon cognom
Oriol	Busquets	Carrera

Tipus de document d'identificació	Número d'identificació
DNI	530316678

És obligatori emplenar almenys un mitjà de contacte:

Telèfon fix	Telèfon mòbil	Adreça de correu electrònic
		oriol.busquetsc@e-campus.uab.ca

Si voleu rebre avisos sobre la tramitació de la vostra sol·licitud, indiqueu-ho.

Correu electrònic

Annex 2. Memòria descriptiva d'un procediment d'experimentació amb animals

S'adjunten les dues primeres pàgines de la Memòria descriptiva d'un procediment d'experimentació amb animals.



Generalitat de Catalunya
Departament de Territori i Sostenibilitat

Desar com a fitxer pla (imatge pdf)
(cal disposar d'una impressora PDF)

Memòria descriptiva d'un procediment d'experimentació amb animals

1. Dades d'identificació del projecte

Títol del projecte

Ablació òssia percutània mitjançant microones en un model animal.

Número d'autorització projecte (només per sol·licituds de modificació)

Identificació de l'usuari (Nom i cognoms o raó social)

Oriol Busquets Carrera

DNI/NIF/NIE

53031667S

Noms i cognoms del/de la responsable del projecte

Oriol Busquets Carrera

DNI/NIF/NIE

53031667S

Noms i cognoms del/de la responsable administratiu de l'usuari

Oriol Busquets Carrera

DNI/NIF/NIE

53031667S

2. Dades del procediment

Codi del procediment dins el projecte

P1

Nom del procediment

Ablació òssia percutània mitjançant microones

Durada

3

anys

▼

Nombre de vegades que es preveu realitzar cada any.

1

3. Finalitat/s del procediment

- Recerca fonamental.
- Recerca translacional o aplicada, i els mètodes científics amb qualsevol de les finalitats següents:
 - La prevenció, la profilaxi, el diagnòstic o el tractament de malalties, mala salut o altres anomalies o els seus efectes en els éssers humans, els animals o les plantes.
 - L'avaluació, la detecció, la regulació o la modificació de les condicions fisiològiques en els éssers humans, els animals o les plantes.
 - El benestar dels animals, en particular la millora de les condicions de producció dels animals criats amb fins agropecuaris.
- El desenvolupament i la fabricació de productes farmacèutics, aliments, pinsos i altres substàncies o productes, així com la realització de proves per comprovar-ne la qualitat, l'eficàcia i la seguretat, amb qualsevol de les finalitats següents:
- La protecció del medi natural en interès de la salut o el benestar dels éssers humans o els animals.
- La recerca adreçada a la conservació de les espècies.
- L'ensenyament superior o la formació per a l'adquisició o millora de les aptituds professionals.
- La medicina legal i forense.
- El manteniment o la creació d'una colònia d'animals genèticament alterats (d'acord amb l'art. 3.1f del RD 53/2013), no utilitzats en altres procediments.



4. Dades dels animals que s'utilitzaran (nombre i espècie)

Nombre estimat d'animals a utilitzar	Espècie	Especifiqueu quina
10	Altres	Sus

Soca o raça	Sexes	Pes (Kg.)	Edat	Unitat
Scrofa Domestica	<input type="radio"/> Mascles <input type="radio"/> Femelles <input checked="" type="radio"/> Ambdós	35	1	anys

Expliqueu la idoneïtat de l'espècie seleccionada per assolir l'els objectiu/s previst/os.

Degut a la necessitat d'utilitzar un sistema musculoesquelètic similar al dels humans per a poder avaluar correctament la funció barrera de la cortical.

Quines mesures heu pres per assegurar-vos que s'utilitzarà el mínim nombre d'animals possible?

Hem desenvolupat el projecte de tal manera que es puguin fer el màxim de lesions per animal que ens permeti l'estructura esquelètica sempre i quan tinguin una significació i àrea d'efecte similar.

Heu realitzat una anàlisi estadística per a determinar el nombre d'animals que cal utilitzar per a obtenir resultats científicament rellevants?

- Sí Justifiqueu la no realització de l'anàlisi estadística
- No És un estudi preclínic, sense altres estudis en aquest àmbit i no es pot calcular de forma correcta. Hem fet una recerca bibliogràfica extensa per a veure el nombre de porcs que utilitzaven altres estudis similars.

5. Procedència dels animals

Centres de cria o subministrador d'animals per a l'experimentació	Número de registre
<input checked="" type="radio"/> Sí <input type="radio"/> No	
Nom del centre Ellegaard Göttingen Minipigs	56C456

Animals salvatges capturats en la natura, animals protegits o en perill d'extinció o d'espècies amenaçades de l'Annex A del Reglament (CE) núm. 338/97¹

Animals genèticament alterats (modificats genèticament o animals mutants) per

Animals reutilitzats

Primats no humans

6. Disseny i metodologia

Descriviu, de forma seqüencial i detallada, la tècnica o tècniques previstes per a la realització del procediment

Primerament es realitzarà una Tomografia Computantzada (TC) als porcs per a calcular les dimensions dels ossos.

Es realitzarà una anestèsia general (tiletamina-zolacepam).

Es perforarà l'os a estudiar (fèmur) amb un trepant i es col·locarà, quiat per TC, posteriorment l'antena de microones al seu interior. Quan

Privareu de menjar i/o beguda als animals?

- No
- Sí, en les condicions següents:

Extraureu sang dels animals?

- No
- Sí, en les condicions següents:

Annex 3. Memòria descriptiva d'un projecte d'experimentació amb animals

S'adjunta la primera pàgina de la Memòria descriptiva d'un projecte d'experimentació amb animals.



Generalitat de Catalunya
**Departament de Territori
i Sostenibilitat**

Memòria descriptiva d'un projecte d'experimentació amb animals

1. Dades de l'usuari (persona física o jurídica que utilitza animals en procediments)

Identificació de l'usuari (Nom i cognoms o raó social) DNI/NIF/NIE
Fundació Institut d'investigació en ciències de la salut Germans Trias i Pujol G60805462

Núm. de registre del centre usuari on es portarà a terme el/s procediment/s del projecte

2. Dades del responsable administratiu de l'usuari

Noms i cognoms DNI/NIF/NIE
Oriol Busquets Carrera 53031667S

Telèfon 1 Telèfon 2 Adreça electrònica
657507359 oriol.busquetsc@e-campus.uab.cat

3. Dades del/de la responsable del projecte

Noms i cognoms DNI/NIF/NIE
Oriol Busquets Carrera 53031667S

Telèfon 1 Telèfon 2 Adreça electrònica
657507359 oriol.busquetsc@e-campus.uab.cat

4. Dades del personal que participa en el projecte

Sou un centre usuari universitari i/o un centre públic de recerca (Art. 33 c del Decret 214/1997)? Sí No

Tipus	Nom i cognom	DNI / NIF / NIE	
<input checked="" type="radio"/> Investigador <input type="radio"/> Experimentador	Oriol Busquets Carrera	53031667S	X
Afegeix			

Annex 4. Correcta col·locació de l'antena i possibles incorreccions.

Figura 1. En aquesta imatge podem observar una inserció completa de la secció radiant. Es demostra l'absorció de la radiació associada a la col·locació correcta de l'antena (profunditat d'inserció de 3,7 cm) en el teixit objectiu (quadre blau de la dreta). A mode de referència, en aquesta imatge i la següent, la *x* marca el final de la secció radiant completa (mesurada des de la punta de l'antena). Cal observar que l'interfície eix-teixit (quadre blau de l'esquerra) pot ser la pell en un procediment de laparoscòpia, un teixit adjacent en un procediment de cirurgia oberta o bé, la mà del metge.

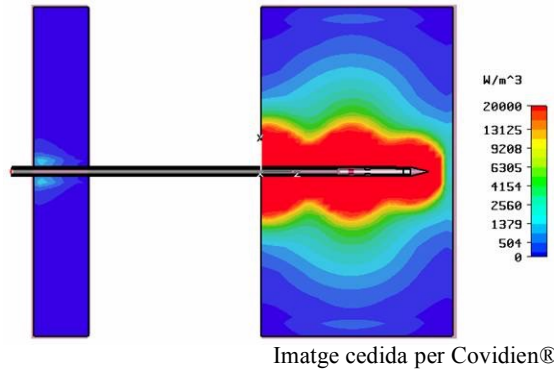


Figura 2. En aquestes tres imatges, podem veure que si la secció radiant no està completament inserida en el teixit, poden generar camps de senyal allargats, podent provocar lesions no esperades al pacient o a l'usuari.

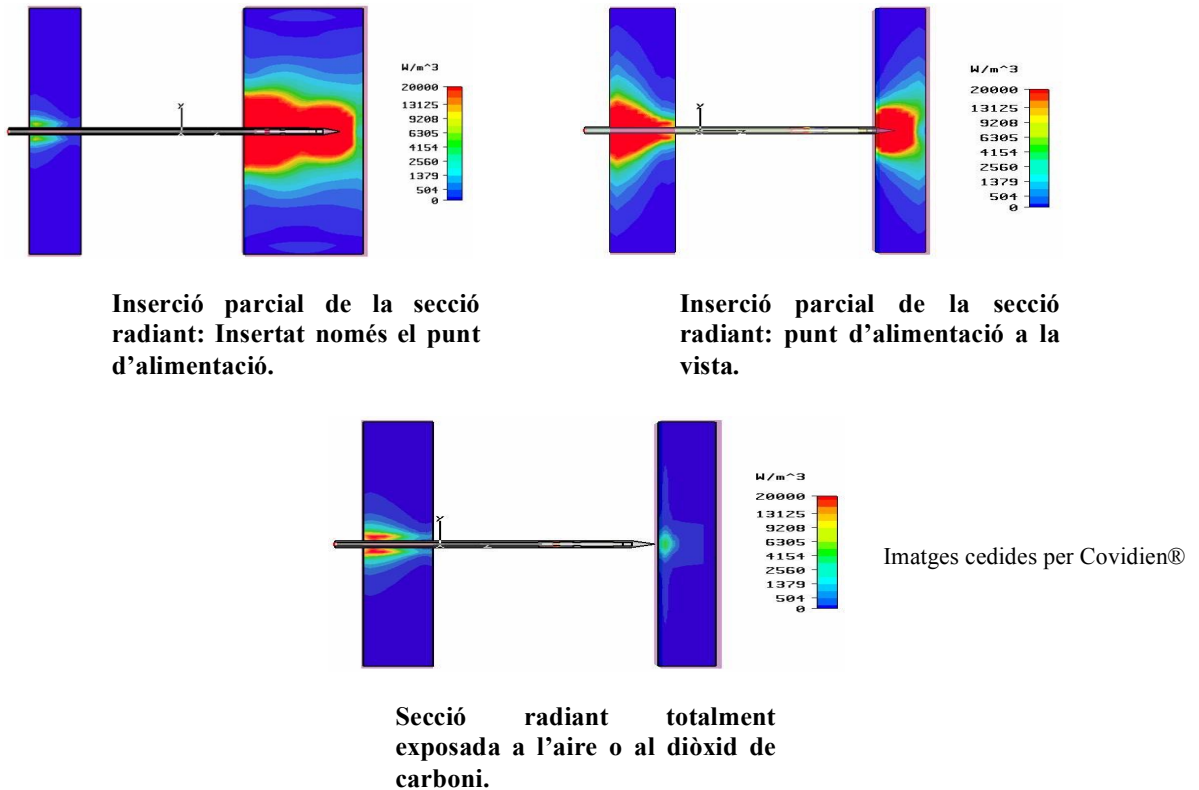
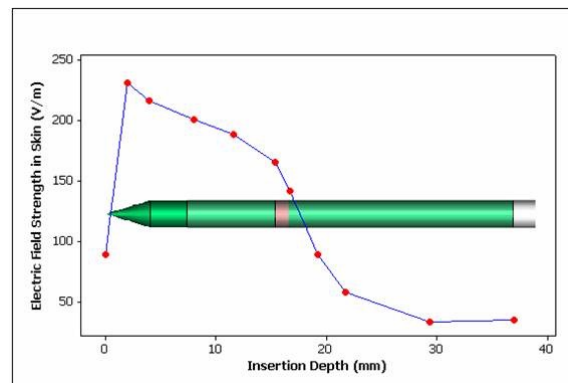


Figura 3. En aquesta imatge es pot observar la intensitat de camp elèctric no intencionada com a funció de la profunditat de la inserció de l'antena. Es mostra el canvi en la intensitat del camp elèctric no intencionat (Eix Y) en relació a la profunditat de la inserció de la secció radiant (Eix X) en el teixit objectiu.



Imatge cedida per Covidien®

Annex 5. Pla de treball

Equip investigador

L'equip investigador constarà de:

- 2 radiòlegs intervencionistes.
- 1 radiòleg (interpretació imatges de RM).
- 1 anestesista.
- 1 traumatòleg (control de la cirurgia).
- 1 anatomopatòleg.
- 1 tècnic de laboratori.
- 1 epidemiòleg.

Cronograma

Durant el primer any, un dels investigadors realitzarà un curs de capacitació per a investigació animal ofert a la Facultat de Veterinària de la Universitat Autònoma de Barcelona: *Curs en Formació per a Personal Investigador Usuari d'Animals per a Experimentació i Altres Finalitats*.

A més, es demanaran els permisos necessaris per a poder realitzar l'estudi, aconseguir el material necessari i fer una revisió bibliogràfica extensa sobre el tema.

Durant el segon any, s'obtindran els animals per a l'estudi. Es controlaran, s'homogeneïtzarà la mostra en les mateixes condicions alimentàries, higièniques i ambientals per tal de tenir uns grups el màxim similars possibles per evitar biaixos i resultats erronis. Un cop tinguem grups homogenis es realitzarà la intervenció sobre els animals. Les intervencions s'organitzaran de tal forma que es realitzaran 4 lesions a cada porc. Així doncs, després de la quarantena es duran a terme les intervencions en un total de 10 setmanes, amb una intervenció (un porc) per setmana. Una vegada sacrificats els animals (3 dies després de la intervenció) es realitzaran els diversos estudis d'anatomia patològica i, en finalitzar aquest procediment, s'introduirà la informació recollida en la base de dades i s'iniciarà l'anàlisi estadística.

Durant el tercer any s'acabarà l'anàlisi de resultats i, finalment, la redacció de l'article.

Annex 6. Pressupost

Pressupost sol·licitat	
A) Adquisició de béns i contractació de serveis	
Animals d'experimentació: Porcs (n=10) 1400€	14000€
Despesa d'establució (1.000€ cada porc)	10000€
Ús de Ressonància Magnètica Experimental HUGTiP (212€) x 10	2120€
Estudi Anatomia Patològica (22.5€/lesió x 40 lesions)	900€
Ús del TC Experimental HUGTiP (500€ x 10)	5000€
CA20L1 <i>Emprint Standard Percutaneous Antenna with Thermosphere Technology Large Spherical Ablation</i> Covidien® (1200€/porc)	12000€
Tresina (225,36€/porc x 10 porcs)	2253,6€
Despesa publicacions PLOS	2500€
Subtotal Despesa de Béns i Serveis	48773,6€
B) Despesa en viatges	
Congrés Europeu de Radiologia	2000€
Congrés Nacional de Radiologia	1500€
Subtotal Despesa de Viatges	3500€
Total de pressupost	
	52273,6€