

Estudo Da Formação De Poros Na Membrana Durante a Eletroporação De Células Biológicas

L. S. Pereira¹, G. B. Pintarelli¹, D. O. H. Suzuki¹

¹Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil

Abstract

Este trabalho tem como objetivo o estudo do fenômeno da eletroporação, que é a aplicação de um campo elétrico em uma célula biológica, provocando alterações transitórias na permeabilidade e condutividade das membranas plasmática e das organelas. Dessa forma, tem-se a formação de poros, que permitem a troca de elementos entre os meios interno e externo da célula. Essa técnica pode ser utilizada em inúmeras aplicações em diversas áreas, como biotecnologia e medicina. A Figura 1 mostra uma célula entre dois eletrodos, exposta a um pulso elétrico, e sugere múltiplas aplicações da eletroporação, como a fusão celular e a inserção de moléculas grandes ou pequenas, que podem ser proteínas, íons, drogas, DNA ou substâncias impermeáveis. Outra aplicação demonstrada na Figura 1 é a destruição da membrana e morte celular, que pode ser empregada para destruir um grupo celular cancerígeno. O tratamento de câncer aliando eletroporação e quimioterapia (eletroquimioterapia) é uma das principais motivações dos estudos atuais em eletroporação, devido a melhora na eficiência das drogas utilizadas e a redução dos efeitos colaterais da quimioterapia, como náuseas, fadiga e queda de cabelo.

No entanto, o sucesso das aplicações depende de uma correta configuração do pulso elétrico aplicado à célula, que pode ser controlado em termos de intensidade, duração, amplitude ou frequência. Outros fatores que podem ser controlados são o número de pulsos e a distância entre os eletrodos e a célula. Dessa forma, esse trabalho tem como objetivo o estudo da formação de poros nas membranas plasmática e nuclear, a fim de identificar previamente a influência de cada parâmetro ao longo do processo, buscando configurações que proporcionem melhores resultados. Uma vez que a abertura dos poros durante a eletroporação ocorre em ordem nanométrica e em escala de nanosegundos, torna-se fundamental o uso de modelos matemáticos e simulações como auxílio no estudo desse processo.

As simulações e estudos estão sendo realizados utilizando o software COMSOL Multiphysics®. Até o momento, está sendo utilizado apenas o Módulo AC/DC e a interface física "Electric Currents", que contém as equações relacionadas a campos elétricos e densidades de correntes. Os estudos estão sendo feitos no domínio do tempo. A geometria celular em um eixo 2D axi-simétrico foi definida como uma célula esférica isolada, na presença de um campo elétrico uniforme, aplicado por duas placas paralelas, conforme a Figura 2, com os parâmetros iniciais descritos e configurados conforme a Figura 3. Os demais parâmetros seguem um modelo matemático não-linear baseado na equação diferencial parcial de Smoluchowski. Para a composição da malha, foi definido um elemento extremamente fino para as membranas e normal

para o restante da célula e meio extra celular. Condições de contorno "Ground" e Terminal foram adicionadas na física Electric "Currents", a fim de descrever os eletrodos que aplicam o pulso elétrico. Na Figura 4, tem-se a distribuição de campo elétrico nesta configuração. Uma série de resultados já foram obtidos até o momento e fazem parte integrante do cartaz e artigo.

Reference

T. R. Gowrishankar et. al, "An approach to electrical modeling of single and multiple cells", PNAS, vol. 100, no. 6, pp. 3203 - 3208, 2003.

C. Chen et. al, "Membrane Electroporation Theories: A Review", Med Biol Eng Comput, vol. 44, pp. 5-14, 2006.

L. Chopinet et. al, "Nanosecond Electric Pulse Effects on Gene Expression", J Membrane Biol, July 2013.

G. Pucihar et. al, "A Time-Dependent Numerical Model of Transmembrane Voltage Inducement and Electroporation of Irregularly Shaped Cells", Biomedical Engineering, IEEE Transactions on, vol. 56, no. 5, pp. 1491 -1501, May 2009.

D. O. H. Suzuki, "Estudo da Condutividade Elétrica de Suspensões de Eritrócitos de Ratos Durante Aplicação de Campos Elétricos Intensos: Teoria, Modelagem e Experimentação". Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2009.

D. Miklavčič et. al, "Numerical study of the electroporation pulse shape effect on molecular uptake of biological cells," Radiology and Oncology, vol. 1, pp. 34-41, 2010.

R. P. Joshi et. al, "Simulations of Electroporation Dynamics and Shape Deformations in Biological Cells Subjected to High Voltage Pulses," IEEE TRANSACTIONS ON PLASMA SCIENCE, vol. 30, no. 4, pp. 1536 - 1546, 2002.

Figures used in the abstract

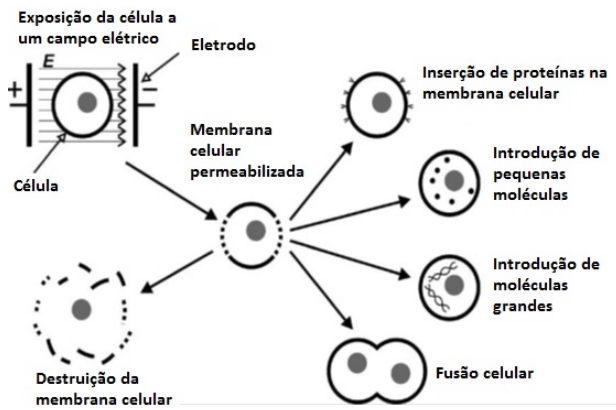


Figure 1: Exemplos de aplicações da eletroporação.

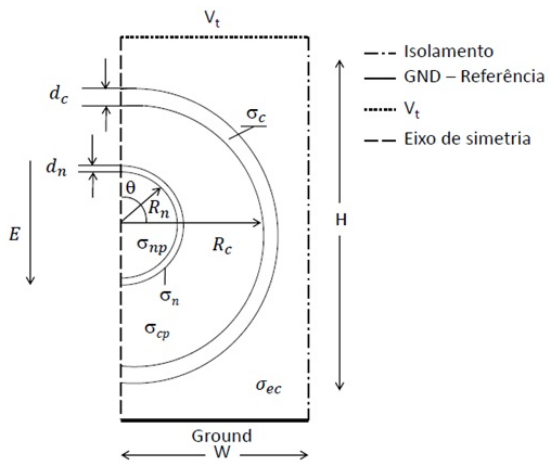


Figure 2: Modelagem da geometria celular.

TABELA DE PARÂMETROS ELÉTRICOS E GEOMÉTRICOS

Parâmetro	Símbolo	Valor
Condutividade do meio extra-celular	σ_{ec}	1.2 S/m
Raio celular	R_c	10 μm
Raio nuclear	R_n	3 μm
Espessura da membrana plasmática	d_c	5 nm
Espessura da membrana nuclear	d_n	10 nm
Condutividade do citoplasma	σ_{cp}	0.3 S/m
Condutividade do plasma nuclear	σ_{np}	1 S.m ⁻¹
Condutividade inicial da membrana plasmática	σ_{co}	9.5 $\times 10^{-9}$ S/m
Condutividade inicial da membrana nuclear	σ_{no}	1 $\times 10^{-4}$ S.m ⁻¹
Condutividade da solução dentro do poro	σ_p	1.2 S/m
Raio do poro	r_p	0.8 nm
Densidade da taxa de criação dos poros	α	1 $\times 10^4$ m ⁻² s ⁻¹
Tensão característica da eletroporação	V_{ep}	224 mV
Densidade dos poros de equilíbrio	N_0	3.3 $\times 10^6$ m ⁻²
Constante de eletroporação	q	1
Barreira de energia do poro	w_0	3.2
Relação entre o raio do poro e a espessura da membrana	η	0.15
Carga elétrica de um elétron	q_e	1.65 $\times 10^{-19}$ C
Constante de Boltzmann	k	1.38 $\times 10^{-23}$ J/K
Temperatura	T	295 K

Figure 3: Parâmetros elétricos e geométricos utilizados para modelagem matemática.

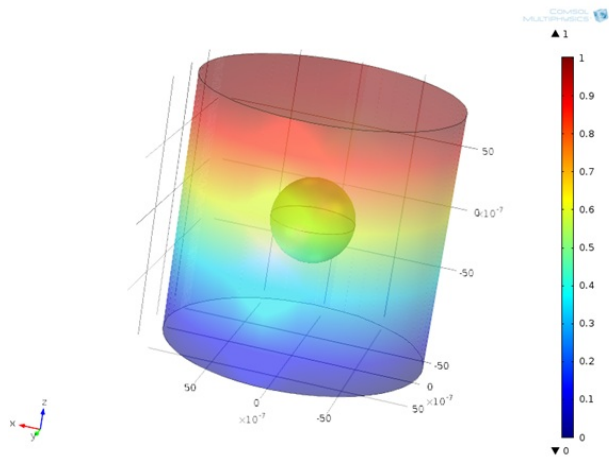


Figure 4: Distribuição do campo elétrico na geometria celular.