



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CAMPUS FLORIANÓPOLIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA

Israel Santana Vieira

**Análise *in silico* de efeito Joule em eletroporação irreversível e reversível**

Florianópolis  
2023

Israel Santana Vieira

**Análise *in silico* de efeito Joule em eletroporação irreversível e reversível**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de mestre em Engenharia Biomédica.

Orientadora: Daniela Ota Hisayasu Suzuki, Dra.

Florianópolis  
2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Santana Vieira, Israel

Análise in silico de efeito Joule em eletroporação  
irreversível e reversível / Israel Santana Vieira ;  
orientadora, Daniela Ota Hisayasu Suzuki, 2023.

54 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em  
Engenharia Elétrica, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Engenharia Elétrica. 2. Eletroporação. 3. Efeito  
Joule. 4. Elementos finitos. I. Ota Hisayasu Suzuki,  
Daniela. II. Universidade Federal de Santa Catarina.  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica. III. Título.

Israel Santana Vieira

**Análise *in silico* de efeito Joule em eletroporação irreversível e reversível**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Daniela Ota Hisayasu Suzuki, Dra.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Roddy Alexander Romero Antayhua, Dr.  
Instituto Federal de Santa Catarina

Prof. Guilherme Brasil Pintarelli, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Engenharia Biomédica.

---

Coordenação do Programa de  
Pós-Graduação

---

Daniela Ota Hisayasu Suzuki, Dra.  
Orientadora

Florianópolis, 2023.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha família pelo apoio, incentivo e confiança. Sem ela, nada disso seria possível.

*“Eu tenho pé e o amor e a fé  
No século XXI  
Onde as conquistas científicas, espaciais, medicinais  
E a confraternização dos povos  
E a humildade de um rei  
Serão as armas da vitória  
Para a paz universal”  
(Jorge Ben, 1970)*

## RESUMO

A eletroporação é um fenômeno que ocorre quando células são expostas a um campo elétrico, podendo se dar de forma reversível, em que a célula sobrevive, ou irreversível, em que a célula morre. Possui papel importante na saúde, como no tratamento de câncer e na aplicação de vacinas de DNA, e as pesquisas são realizadas com simulações computacionais através de *software* que utilize método dos elementos finitos. Como toda passagem de corrente elétrica, o campo elétrico aplicado para a eletroporação pode provocar elevação da temperatura por efeito Joule. Tendo isso em vista, este trabalho analisou parâmetros elétricos e térmicos pelo *software* COMSOL Multiphysics para uma aplicação de eletroporação irreversível em fígado com tensões de 1000 V e 1500 V por 100  $\mu$ s e 200  $\mu$ s, que se mostraram seguras termicamente, e eletroporação reversível para músculo esquelético com 100 V por 100 ms, 200 V por 50 ms e 250 V por 40 ms, sendo o primeiro caso ineficiente, o segundo provocou desnaturação das proteínas e o último caso provocou desnaturação das proteínas, danos ao DNA e queimadura ao tecido. Aplicando só um pulso foi possível ver claramente o efeito da duração do pulso, que elevou bastante a temperatura mesmo com tensões baixas no músculo.

**Palavras-chave:** Eletroporação. Efeito Joule. Método dos elementos finitos.

## ABSTRACT

Electroporation is a phenomenon that occurs when cells are exposed to an electric field. It can happen as reversible, when the cell survives, or irreversible, when it dies. Electroporation has an important role in health, such as cancer treatment and DNA vaccines application, and researches are done as computer simulations through finite element method software. As any passage of electric current, the applied electric field can increase temperature due to Joule heating. Keeping this in mind, this work analysed electric and thermal parameters through the COMSOL Multiphysics software for an irreversible electroporation in liver with voltages of 1000 V e 1500 V for 100  $\mu$ s and 200  $\mu$ s, that proved to be safe, and reversible electroporation for skeletal muscle with 100 V for 100 ms, 200 V for 50 ms and 250 V for 40 ms, in which the first case was inefficient, the second case caused proteins denaturation and the last case provoked proteins denaturation, DNA damage and tissue burn. Applying one pulse made clear the effect of pulse duration, that raised the temperature considerably even with low voltages in the muscle.

**Keywords:** Electroporation. Joule heating. Finite element method.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Partes típicas de uma molécula de fosfolípídeo. . . . .	18
Figura 2 – Arranjo do agrupamento de moléculas anfífilas em ambiente aquoso.	19
Figura 3 – Representação genérica dos limiares de eletroporação segundo intensidade de campo elétrico e duração do pulso em escala logarítmica.	22
Figura 4 – Função sigmoide que rege a condutividade elétrica do fígado. . . .	25
Figura 5 – Distribuição de campo elétrico (V/cm) para o fígado. A área branca representa a região que não sofreu eletroporação, na região colorida ocorreu eletroporação reversível e na região preta, irreversível. . . .	29
Figura 6 – Distribuição de campo elétrico (V/cm) para o fígado. As linhas pretas representam o centro dos eletrodos, a linha laranja representa o limiar de RE e a linha vermelha, o de IRE. . . . .	30
Figura 7 – Variação da condutividade elétrica (S/m) para o fígado. As linhas pretas representam o centro dos eletrodos. . . . .	31
Figura 8 – Distribuição de temperatura (°C) para o fígado. As linhas pretas representam os eletrodos. . . . .	32
Figura 9 – Dano térmico abaixo dos eletrodos para o fígado. . . . .	33
Figura 10 – Distribuição de campo elétrico (V/cm) para o músculo. A área branca representa a região que não sofreu eletroporação, na região colorida ocorreu eletroporação reversível e na região preta, irreversível. . . .	33
Figura 11 – Distribuição de campo elétrico (V/cm) para o músculo. As linhas pretas representam os eletrodos, a linha laranja representa o limiar de RE e a linha vermelha, o de IRE. . . . .	34
Figura 12 – Variação da condutividade elétrica (S/m) para o músculo. As linhas pretas representam os eletrodos. . . . .	35
Figura 13 – Distribuição de temperatura (°C) para o músculo. As linhas pretas representam os eletrodos. . . . .	36
Figura 14 – Dano térmico abaixo dos eletrodos para o músculo. . . . .	37
Figura 15 – Corte XY mostrando a temperatura (°C) 1mm abaixo da superfície para o fígado. . . . .	50
Figura 16 – Corte XY mostrando a temperatura (°C) 1mm abaixo dos eletrodos para o fígado. . . . .	51
Figura 17 – Corte YZ mostrando a temperatura (°C) entre eletrodos para o fígado.	52
Figura 18 – Corte XY mostrando a temperatura (°C) 1mm abaixo da superfície para o músculo. . . . .	53
Figura 19 – Corte XY mostrando a temperatura (°C) 1mm abaixo dos eletrodos para o músculo. . . . .	54
Figura 20 – Corte YZ mostrando a temperatura (°C) entre eletrodos para o músculo.	55

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades dos eletrodos utilizadas na análise. . . . .	26
Tabela 2 – Propriedades biofísicas do fígado utilizadas na análise. . . . .	26
Tabela 3 – Propriedades biofísicas do músculo utilizadas na análise. . . . .	27

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ECT	eletroquimioterapia
FDM	método das diferenças finitas
FEM	método dos elementos finitos
IDH	índice de desenvolvimento humano
IRE	eletroporação irreversível
OMS	Organização Mundial da Saúde
RE	eletroporação reversível

## LISTA DE SÍMBOLOS

<b>E</b>	Magnitude de campo elétrico [V/m]
$E_p$	Valor crítico de campo elétrico para ocorrer permeabilização [V/m]
$E_{rev}$	Limiar de eletroporação irreversível [V/m]
$E_{irrev}$	Limiar de eletroporação irreversível [V/m]
$E_{therm}$	Limiar de dano térmico [V/m]
$\rho$	Densidade [kg/m <sup>3</sup> ]
$c$	Capacidade térmica mássica [J/kg.K]
$T$	Temperatura [K]
$t$	Tempo [s]
$\nabla$	Operador gradiente
$k$	Condutividade térmica [W/m.K]
$Q_{perf}$	Calor de perfusão [W/m <sup>3</sup> ]
$Q_e$	Calor de efeito Joule [W/m <sup>3</sup> ]
$Q_{met}$	Calor metabólico [W/m <sup>3</sup> ]
$\omega$	Taxa de perfusão [s <sup>-1</sup> ]
$\sigma$	Condutividade elétrica [S/m]
$\phi$	Potencial elétrico [V]
<b>J</b>	Magnitude de densidade de corrente elétrica [A/m <sup>2</sup> ]
$\sigma_0$	Condutividade elétrica inicial [S/m]
$D$	Coeficiente da função sigmoide
$A_1$	Coeficiente dependente dos limites de eletroporação
$B_1$	Coeficiente dependente dos limites de eletroporação
$C$	Coeficiente da função sigmoide
$\alpha$	Coeficiente de temperatura [%K <sup>-1</sup> ]
$T_0$	Temperatura inicial [K]
$\Omega$	Dano térmico
$A$	Fator de frequência [s <sup>-1</sup> ]
$\Delta E$	Energia de ativação [J/mol]
$R$	Constante dos gases [J/mol.K]

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> . . . . .	<b>13</b>
1.1	JUSTIFICATIVA . . . . .	15
1.2	OBJETIVOS . . . . .	15
<b>1.2.1</b>	<b>Objetivo Geral</b> . . . . .	<b>16</b>
<b>1.2.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b> . . . . .	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> . . . . .	<b>17</b>
2.1	MEMBRANA PLASMÁTICA . . . . .	17
2.2	CÂNCER . . . . .	18
2.3	IMUNIZAÇÃO DE DNA . . . . .	20
2.4	ELETROPORAÇÃO . . . . .	20
2.5	EFEITO JOULE . . . . .	21
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b> . . . . .	<b>23</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> . . . . .	<b>29</b>
4.1	ESTUDO DE IRE NO FÍGADO . . . . .	29
4.2	ESTUDO DE RE NO MÚSCULO ESQUELÉTICO . . . . .	31
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> . . . . .	<b>38</b>
5.1	ESTUDO DE IRE NO FÍGADO . . . . .	38
5.2	ESTUDO DE RE NO MÚSCULO ESQUELÉTICO . . . . .	39
5.3	VALIDAÇÃO . . . . .	39
5.4	TRABALHOS FUTUROS . . . . .	40
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> . . . . .	<b>41</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> . . . . .	<b>42</b>
	<b>APÊNDICE A – CORTES ADICIONAIS PARA O FÍGADO EVIDEN- CIANDO TEMPERATURA</b> . . . . .	<b>50</b>
	<b>APÊNDICE B – CORTES ADICIONAIS PARA O MÚSCULO EVI- DENCIANDO TEMPERATURA</b> . . . . .	<b>53</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As estimativas mais recentes da Organização Mundial da Saúde (OMS) sobre câncer apontam a doença como primeira ou segunda principal causa de morte prematura (antes dos 70 anos) em 134 de 183 países, e terceira ou quarta causa em outros 45 países. É a primeira causa principalmente em países de alto índice de desenvolvimento humano (IDH), como Canadá, Estados Unidos, Alemanha e França. No Brasil e na China, é a segunda causa, ficando atrás apenas de doenças cardiovasculares. Na maioria dos países da África subsaariana, é a terceira ou quarta causa (WILD *et al.*, 2020). Estimou-se 19,3 milhões de novos casos pelo mundo e 10 milhões de mortes por câncer para 2020. O continente de maior incidência é a Ásia, onde 59,5% da população global reside, porém, o segundo é a Europa (22,8% dos casos), que conta com apenas 9,7% da população global, visto que há uma relação direta entre hábitos urbanos e ocorrência da doença (SUNG *et al.*, 2021).

No Brasil, entre os anos 2023 e 2025, estima-se que ocorrerão 704 mil novos casos de câncer, sendo o de pele não melanoma o mais comum (31,3% dos casos), seguido por câncer de mama (10,5%) e próstata (10,2%). Concentram-se cerca de 50% dos casos na região Sudeste e 20% no Sul. As taxas nacionais são condizentes com as de outros países em desenvolvimento (INCA, 2022).

O diagnóstico e o tratamento de câncer foram afetados em 2020 e 2021 pela pandemia de COVID-19, já que o funcionamento de clínicas e hospitais mudou drasticamente nesses dois anos. Porém desde meados dos anos 1970, vê-se um avanço no tratamento dos tipos mais comuns de câncer. A taxa de sucesso é maior para casos detectados em estágio inicial. Por exemplo, nos Estados Unidos, entre as décadas de 1990 e 2000 houve uma queda média de 4% por ano na morte por câncer de próstata por conta dos avanços de tratamento e diagnóstico precoce através do teste PSA (SIEGEL *et al.*, 2021).

Atualmente, se dispõe de uma gama de tratamentos que inclui remoção cirúrgica, terapia radioativa e tratamentos sistêmicos como quimioterapia, terapia-alvo, imunoterapia e hormonioterapia (MILLER *et al.*, 2019). Mais recentemente, em 2005, Davalos *et al.* introduziram uma nova modalidade: a eletroporação irreversível, que se utiliza da formação de poros na membrana plasmática das células e consequente perda da homeostase para eliminá-las.

A membrana plasmática das células é uma bicamada contínua fluida formada por lipídios, principalmente fosfolipídios, e é responsável por controlar a entrada para o meio intracelular e saída para o extracelular de íons e moléculas. Ela é dificilmente permeável por soluções hidrofílicas (solúveis em água), contudo, interações não covalentes entre moléculas de lipídios permitem a formação de um poro aquoso. Esse fenômeno é raro de ocorrer espontaneamente, mas pode ser forçado através de alguns

peptídeos e tensoativos, ou por forças externas como estresse mecânico e campo elétrico (REMS, 2017). Quando ocorre por campo elétrico, é chamado de eletroporação e pode ser evidenciado pela medição de corrente elétrica (iônica) através da membrana e pelo transporte de moléculas para dentro ou para fora das células sujeitas a campo elétrico (WEAVER; CHIZMADZHEV, 1996). A diferença de potencial elétrico na membrana necessária para isso é estimada entre 0,7 e 1 V (DEV *et al.*, 2000).

A eletroporação pode ocorrer em dois formatos: eletroporação reversível (RE) ou eletroporação irreversível (IRE), a depender dos valores dos parâmetros. Na RE, a permeabilização da membrana é temporária, durando minutos. É utilizada para introduzir genes e drogas dentro de células. É o caso da eletroquimioterapia (ECT), em que quimioterápicos são aplicados em células cancerígenas (JOURABCHI *et al.*, 2014; MILLER, L. *et al.*, 2005) e das vacinas de DNA. Transferência *in vivo* de DNA (vacinação de DNA) torna o tecido alvo capaz de produzir uma proteína específica (antígeno). Entretanto, pela configuração da membrana plasmática, hidrofílica no exterior e hidrofóbica no interior, qualquer molécula polar, como DNA, é impedida de atravessar a membrana. A eletroporação permite essa passagem abrindo poros na membrana (LAMBRICHT *et al.*, 2016). Já na IRE, a membrana plasmática não se recupera, o que leva à morte celular (apoptose) (RUARUS *et al.*, 2018).

A eletroporação tem várias aplicações em biologia molecular, bioquímica e medicina. Alguns exemplos são apresentados na sequência.

A eletrotransformação consiste em inserir DNA externo na célula através de eletroporação reversível. A célula irá se dividir e passar o gene para as células-filhas. Processo inverso ocorre na eletroextração, as células são estimuladas para liberarem moléculas. Na inativação, microrganismos são expostos a um campo elétrico de pulsos altos e longos o suficiente para inibir sua atividade (crescimento, divisão e síntese de patógenos). Esse método é bastante interessante para preservação de alimentos. A eletroporação também é recorrida para facilitar a liberação de água dos tecidos. Isso é usado para acelerar a secagem de biomassa, reduzindo ou eliminando o aquecimento (KOTNIK *et al.*, 2015).

Para a área da saúde, recorre-se à eletroporação para terapia genética, técnica em que genes são inseridos para atenuar doenças, principalmente hereditárias. Também é usada em vacinas de DNA: as vacinas tradicionais consistem em patógenos mortos, subunidades de patógenos e microrganismos vivos atenuados; os dois primeiros tipos não são capazes de proteger contra patógenos intracelulares (que se reproduzem dentro das células do paciente), como a maioria dos vírus, ou então não garantem uma proteção que dure a vida toda; para esses casos, hoje existe a imunização por DNA, ou vacinas de DNA, em que genes estruturais do patógeno são selecionados e inseridos no hospedeiro para que haja a produção de antígenos; isso pode ser feito por injeção direta no paciente, mas exige muito material, porém, se a

eletroporação for utilizada, torna-se mais viável, já que a absorção das células será maior (DEV *et al.*, 2000). Pode-se utilizar também para o transporte de moléculas, como vitamina C, para a pele. No tratamento de câncer, a eletroporação reversível é adotada para o procedimento de eletroquimioterapia, para se reduzir a dosagem total de drogas, como cisplatina e bleomicina, por paciente (devido a uma maior absorção) (SUZUKI, 2009), enquanto que a eletroporação irreversível é adotada para a ablação de células tumorais.

Estudos na área são conduzidos primeiramente com simulações computacionais e depois em organismos. Dentre os vários métodos numéricos, os mais comuns para materiais biológicos são o método das diferenças finitas (FDM) e o método dos elementos finitos (FEM), sendo o primeiro mais recorrido para rádio frequências e o segundo para eletroporação. No FEM, a geometria é discretizada por elementos triangulares e tetraédricos, o que favorece a modelagem de geometrias mais complexas do que o FDM, que utiliza elementos cúbicos (RAMOS; SUZUKI, 2017).

Todavia, há um fator, foco deste trabalho, que precisa ser verificado: todo campo elétrico gera um efeito térmico devido à resistência natural dos materiais. Esse fenômeno é chamado de efeito Joule e é inevitável, porém, previsível.

## 1.1 JUSTIFICATIVA

É de importância clínica estudar o efeito da eletroporação, como apresentado anteriormente. O tratamento do câncer e a vacinação de DNA são as motivações maiores para este trabalho. O primeiro elimina os efeitos colaterais dos tratamentos convencionais, como náusea e fadiga, enquanto o segundo promete uma imunização mais eficiente contra doenças.

Embora já apresente resultados satisfatórios, a IRE ainda está sendo implementada lentamente em seres humanos no Brasil justamente por existirem poucos estudos na área. O primeiro tratamento foi feito em março de 2021 em um câncer de pâncreas em São Paulo (SANTOS, 2021), enquanto que em países com pesquisas mais avançadas, como EUA, Canadá, China, Austrália e na União Europeia (EURO-TREATMED, 2022; LEI *et al.*, 2020), já é aplicado em rim, fígado, próstata e pulmão, além de pâncreas (VALERIO *et al.*, 2014; ROSSMEISL *et al.*, 2015). Apesar de ser utilizada há mais tempo, a RE voltada para vacinação ainda está em fase inicial, sendo preciso criação de protocolos com valores tabelados para sua difusão (WIDERA *et al.*, 2000).

## 1.2 OBJETIVOS

O presente trabalho tem os seguintes objetivos:

### 1.2.1 Objetivo Geral

O objetivo principal deste trabalho é avaliar o impacto do efeito Joule em tecidos submetidos à RE e IRE com um único pulso elétrico.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

Para atingir o objetivo geral, foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- Realizar simulações numéricas no *software* COMSOL pelo método FEM em fígado humano e músculo esquelético;
- Avaliar o impacto de diferentes valores de campos elétricos;
- Avaliar o impacto de diferentes durações de pulso;
- Determinar se os protocolos são seguros termicamente (sem desnaturação das proteínas, danos ao DNA nem dano térmico).

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo, apresentam-se conceitos e dados essenciais para se compreender o tema. Primeiramente, trata-se da membrana plasmática, meio pelo qual ocorre o fenômeno foco do trabalho, seguido de informações acerca de câncer e imunização de DNA, passando por uma explanação sobre a eletroporação e terminando com a definição de efeito Joule e sua implicação.

### 2.1 MEMBRANA PLASMÁTICA

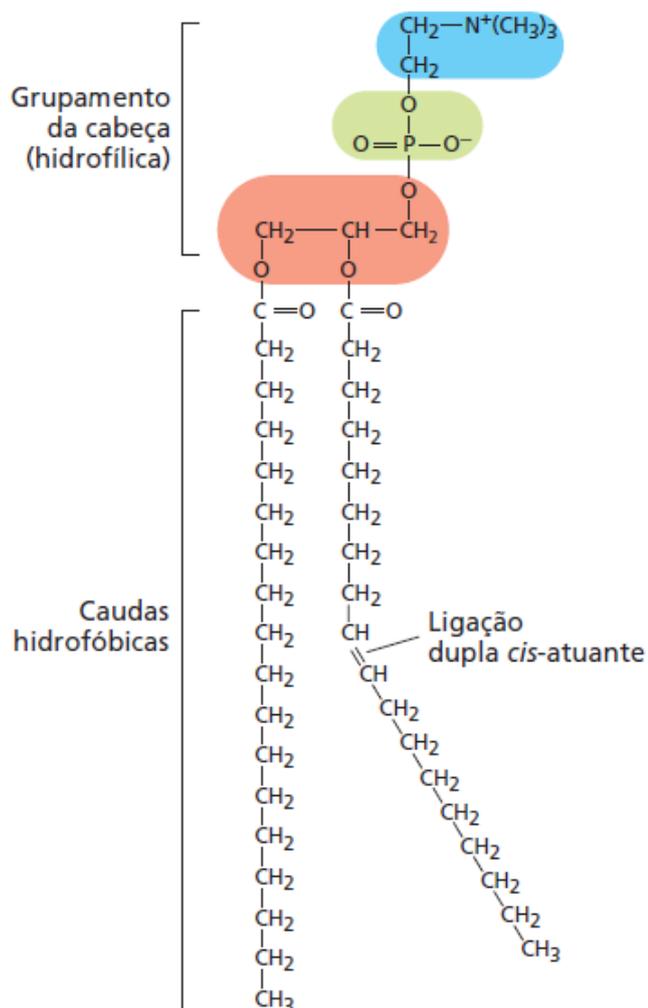
Cerca de 50% da membrana plasmática é formada por lipídios e quase todo o restante é composto por proteínas. Todas as moléculas lipídicas da membrana são anfifílicas, ou seja, com uma extremidade hidrofílica, ou polar, e outra hidrofóbica, ou apolar. Os fosfolipídios são o tipo mais presente de lipídios, formados por uma cabeça polar contendo fosfato e duas caudas hidrocarbonadas hidrofóbicas, geralmente de ácidos graxos (Figura 1). Uma cauda faz ligações cis-atuantes (insaturada), enquanto a outra não (saturada).

Moléculas hidrofílicas são facilmente dissolvidas em água por conterem grupos polares capazes de formarem interações eletrostáticas favoráveis ou ligações de hidrogênio com as moléculas de água. Por outro lado, as moléculas hidrofóbicas são insolúveis em água por todos ou quase todos seus átomos serem apolares, incapazes de interações favoráveis com água.

Quando expostas em ambiente aquoso, moléculas anfifílicas se agregam espontaneamente, protegendo da água as caudas hidrofóbicas no interior e expondo a cabeça hidrofílica para a água. Isso pode ocorrer na forma de micelas esféricas ou de folhas de camadas duplas, ou bicamadas (Figura 2), sendo que, na bicamada, os lipídeos se fecham em si espontaneamente para evitar borda livre em contato com a água (ALBERTS *et al.*, 2017). Devido a isso, diz-se que a membrana plasmática é composta por uma bicamada lipídica.

Pode-se comparar a membrana celular a um capacitor, pois sua condutividade elétrica é praticamente negligenciável e possui baixa permissividade dielétrica. Por isso, expor uma célula a um campo elétrico provoca uma tensão através da membrana (também chamada de potencial transmembrana). Um potencial transmembrana alto provoca um aumento na corrente elétrica (ou seja, na passagem de íons) da membrana devido a defeitos aquosos que podem crescer para poros aquosos ou se unirem a outros defeitos, tendo mesmo resultado. O tempo para o surgimento desses poros cai com o aumento da magnitude do potencial transmembrana (REMS, 2017).

Figura 1 – Partes típicas de uma molécula de fosfolípídeo.



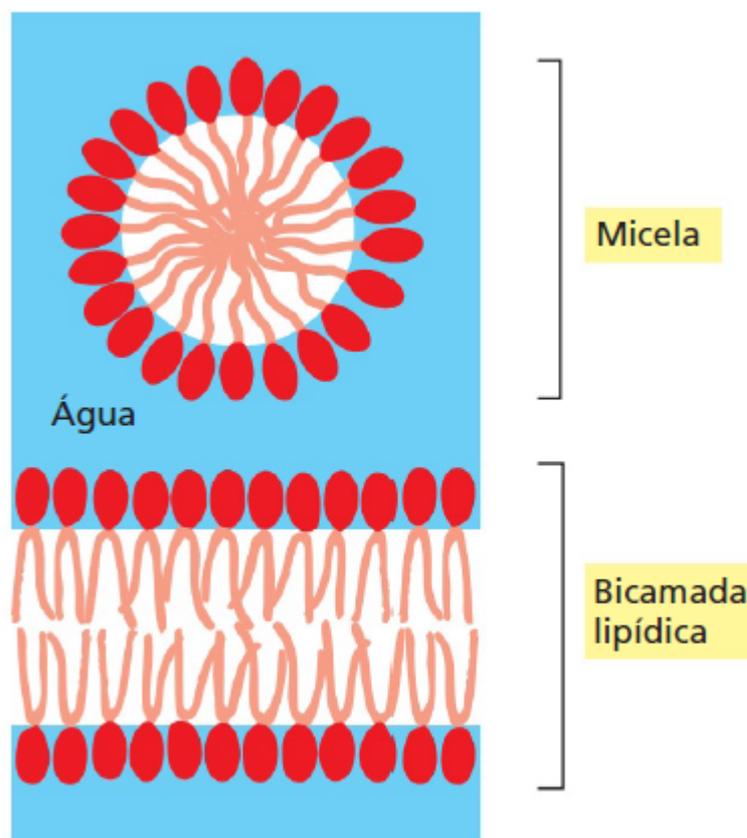
Fonte: Adaptado de Alberts *et al.*, 2017.

## 2.2 CÂNCER

O câncer está entre as quatro maiores causas de morte prematura (antes de se completar 70 anos) na maior parte do globo e sua incidência e mortalidade têm aumentado devido em parte ao envelhecimento e crescimento da população, mas também pelas mudanças socioeconômicas, como sedentarismo e alimentação inadequada, de modo que as taxas são de duas a três vezes maiores em países desenvolvidos (INCA, 2019).

O câncer consiste em mutação celular, podendo danificar um ou mais genes, que resulta em diferenciação celular e sobrevivência anormais (SPORN, 1996). Com o tempo, essas células anormais vão se empilhando e formando tumores. Com o avançar do caso, podem se espalhar para outras partes do corpo, o que é chamado de metástase. Em 2001, um grupo de Harvard liderado por Goodarz Danaei estimou que

Figura 2 – Arranjo do agrupamento de moléculas anfifílicas em ambiente aquoso.



Fonte: Alberts *et al.*, 2017.

35% mortes por câncer podem ser atribuídas aos seguintes fatores: dieta e inatividade física, substâncias aditivas (álcool, tabaco), infecções sexualmente transmissíveis, riscos ambientais (poluição do ar, tabagismo passivo, combustíveis sólidos) e hepatite B e C (INCA, 2006). De modo geral, ocorre um período latente de vinte anos antes da metástase, já que o carcinoma não surge de uma única célula, mas sim de uma série de falhas (SPORN, 1996). Algumas das mutações que podem ocorrer para provocar um câncer são: alteração em genes que codificam proteínas (ativando a oncogênese ou desativando supressores de tumor), rearranjo de cromossomos ou fusão de genes, e eliminação ou inserção de cromossomos (CHAKRAVARTHI *et al.*, 2016).

O tratamento adequado depende do tipo de câncer e em que estágio se encontra. Alguns dos métodos são: criocirurgia, uma técnica minimamente invasiva em que o tecido indesejado é congelado; ablação (tratamento que destrói o tumor sem removê-lo) química não seletiva, em que agentes químicos são injetados no tecido indesejado; ultrassom focalizado e ablação por radiofrequência, ambos em que o tumor é aquecido (DAVALOS *et al.*, 2005); e quimioterapia, em que drogas citotóxicas capazes de matar células cancerígenas são administradas (porém, afetam também células saudáveis de

órgãos como coração, pulmão, cérebro, trato gastrointestinal e rins) (SPORN, 1996). Uma técnica mais recente é a eletroporação, que será discutida com mais detalhes na sequência.

### 2.3 IMUNIZAÇÃO DE DNA

Vacinas de DNA são estudadas desde o século passado e apresentam uma série de vantagens com relação às vacinas comuns: são o único meio de não gerar imunidade anti-vetor (ocorre quando uma pessoa foi infectada previamente e o corpo destrói a versão do vírus contida na vacina antes dela surtir efeito (GEDDES, 2020)), tornando-as adequadas tanto para primeira dose quanto reforço; DNA é consideravelmente estável em temperatura ambiente, então o armazenamento é mais simples; é possível facilmente combinar vários plasmídeos em uma única fórmula sem perda do efeito para em uma única vacina atingir vários patógenos; e por fim, a produção é mais fácil, rápida e segura (SARDESAI; WEINER, 2011). Porém, a simples injeção do DNA no corpo humano não tem apresentado bons resultados. Uma forma descoberta de se aumentar o efeito em até mil vezes é a eletroporação, discutida a seguir.

### 2.4 ELETROPORAÇÃO

Eletroporação é o aumento transitório da permeabilização e condutividade da membrana plasmática quando a célula é exposta a um campo elétrico (**E**) induzido por pulsos de alta tensão. A sua eficiência depende dos parâmetros do pulso: intensidade do campo elétrico, duração do pulso elétrico, repetição do pulso, atraso entre pulsos (frequência) e orientação do pulso (COROVIC *et al.*, 2013; DEV *et al.*, 2000). Há uma relação direta entre permeabilização e campo elétrico, bastando ultrapassar um valor crítico  $E_p$  para que a permeabilização ocorra. A permeabilização aumenta com o aumento da duração do pulso e o valor  $E_p$  cai com o aumento da duração do pulso. Defeitos na membrana permanecem presentes após cada pulso e observa-se um efeito acumulativo com mais pulsos aplicados. Para a frequência dos pulsos, nota-se que a permeabilização aumenta com baixas frequências. Por fim, como o campo elétrico é uma grandeza vetorial, a posição dos eletrodos influencia na distribuição volumétrica do campo (TEISSIE, 2017).

A temperatura também influencia o comportamento celular: baixas temperaturas reduzem a dinâmica da membrana plasmática, tornando-a menos sensível para eletropermeabilização (menor chance de rompimento) (TEISSIE, 2017). Por outro lado, temperaturas muito altas, acima de 43 °C para períodos longos (minutos) ou 50 °C para poucos segundos (AGNASS *et al.*, 2020), podem causar danos celulares. Isso pode ser provocado por pulsos longos, alta intensidade de campo elétrico, tratamento longo e/ou altas taxas de repetições (BEEBE, 2017).

A eletroporação se inicia com o aumento do potencial transmembrana (diferença de potencial entre os meios interno e externo da célula que, para a situação de repouso, vale aproximadamente -70 mV) para valores entre 200 mV e 1 V. Após isso, há um fluxo de íons e carregamento da membrana, seguido por um rearranjo das estruturas moleculares da membrana (CHEN *et al.*, 2006). Na sequência, forma-se um defeito aquoso na membrana que, após algum tempo de aplicado o campo elétrico, evolui para um poro. Os poros já foram visualizados, em um estudo não replicado, por microscópio eletrônico de varredura com aumento de 5000 vezes (LEE *et al.*, 2012). Esse tempo reduz com a magnitude do campo elétrico aplicado.

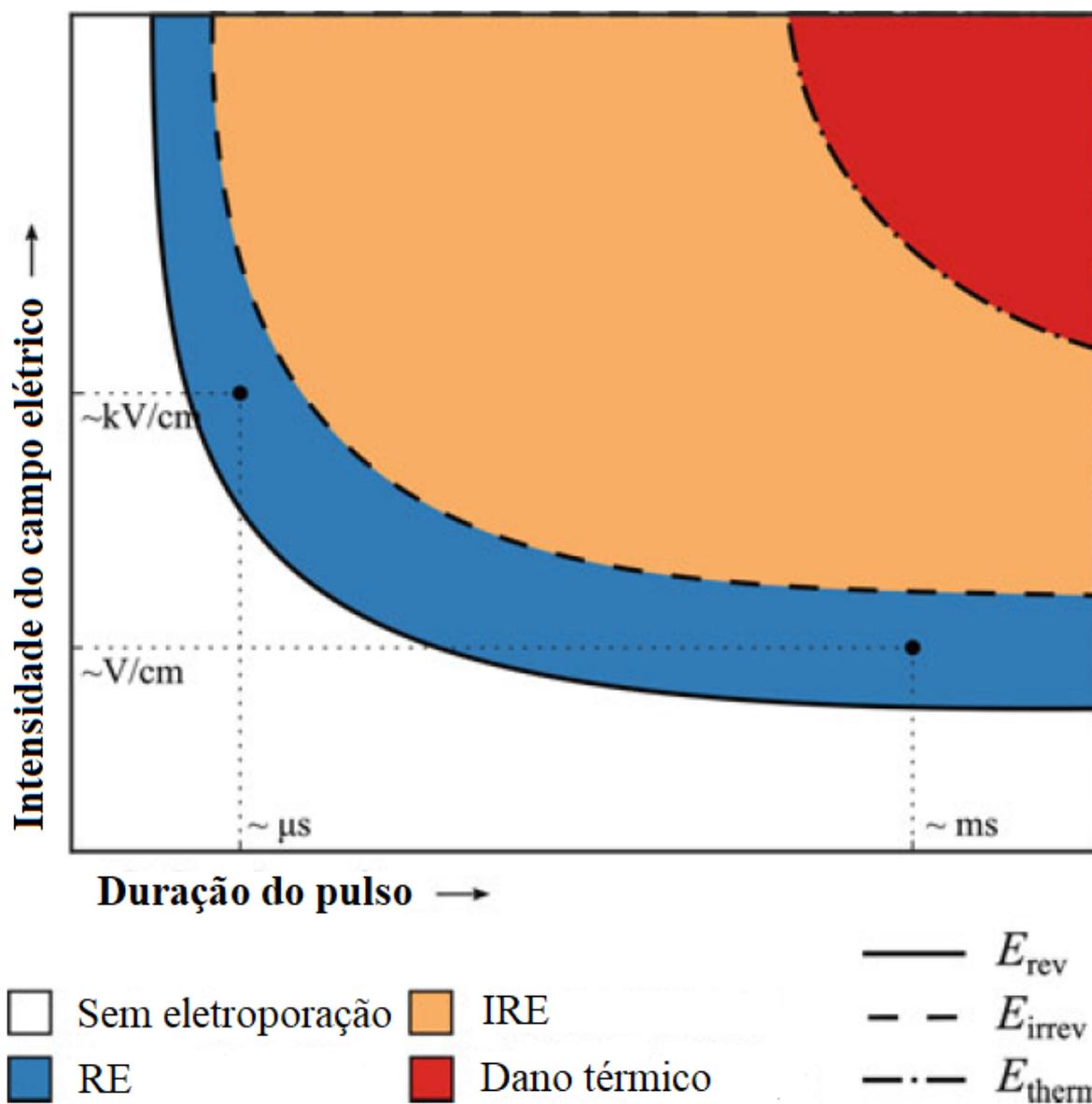
Após a remoção do campo externo, pode ou não haver a recuperação da membrana. Isso depende da intensidade do campo elétrico e do tempo de exposição (Figura 3): se ele for menor que o limiar de eletroporação reversível ( $E_{rev}$ ), nada acontece com a membrana; se ficar entre este limiar e o de eletroporação irreversível ( $E_{irrev}$ ), ocorre a recuperação da membrana; e se ultrapassar  $E_{irrev}$ , há ruptura da membrana e morte celular (LEE *et al.*, 2012). Há ainda a possibilidade de ultrapassar o limiar de dano térmico ( $E_{therm}$ ), causado pelo efeito Joule (KRANJC; MIKLAVČIČ, 2017; KOTNIK *et al.*, 2015). Por exemplo: para a pele, a exposição de 60 °C por 1,11 segundo é suficiente para provocar uma queimadura de primeiro grau (DILLER, 1992).

## 2.5 EFEITO JOULE

Efeito Joule é o fenômeno físico em que a passagem de corrente elétrica gera energia térmica, evidenciado pelo aumento de temperatura do material. Seguindo o princípio de conservação de energia, o processo consiste em transformar parte da energia elétrica em térmica. Está diretamente relacionado à resistência elétrica do material e ao quadrado da corrente. Como corrente elétrica é a passagem de elétrons, quanto maior for a resistência do material, maior o trabalho necessário para o movimento e esse trabalho é convertido em calor (COMSOL, 2017).

Temperaturas excessivas podem causar desnaturação (modificação ou destruição da estrutura física) das proteínas acima de 50 °C e dano do DNA acima de 70 °C (KOTNIK *et al.*, 2015).

Figura 3 – Representação genérica dos limiares de eletroporação segundo intensidade de campo elétrico e duração do pulso em escala logarítmica.



Fonte: Adaptado de KRANJC; MIKLAVCIC, 2017.

### 3 METODOLOGIA

Um modelo de elementos finitos foi criado utilizando o *software* COMSOL Multiphysics v.5.5 (Estocolmo, Suécia) para demonstrar a mudança de temperatura e a distribuição do campo elétrico em um computador Windows 10 com processador Intel i7 e memória RAM de 16 GB. Consistiu em fígado humano e tecido muscular esquelético representados por um bloco de 32x32x17 mm, como em SEL *et al.*, 2005, com dois eletrodos de cobre para fins de simplificação.

O arranjo dos eletrodos consistiu em dois eletrodos de agulha de 12 mm de comprimento, com 7 mm dentro do tecido, 1 mm de diâmetro separados por 1 cm entre si, como feito em outros estudos (COROVIC *et al.*, 2013; DAVALOS *et al.*, 2005; ROSSMEISL *et al.*, 2015; MIKLOVIC *et al.*, 2017). Aplicou-se um único pulso elétrico para se ter melhor compreensão do impacto da tensão e da duração do pulso na elevação de temperatura, como feito por outros autores também (BECKER; KUZNETSOV, 2006; NEAL II *et al.*, 2012; MILLER *et al.*, 2005; DANIELS; RUBINSKY, 2009; SHAFIEE *et al.*, 2009).

A equação mais recorrida para solucionar problemas de transferência de calor no corpo é a equação de biocalor de Pennes (CHARNY, 1992; DAVALOS *et al.*, 2003), apresentada a seguir:

$$\rho c \frac{\partial T}{\partial t} - \nabla \cdot (k \nabla T) = Q_{perf} + Q_e + Q_{met} \quad (1)$$

onde  $\rho$  é a densidade do tecido ( $\text{kg}/\text{m}^3$ ) assumido como um meio sólido,  $c$  é a capacidade térmica mássica ( $\text{J}/\text{kg}\cdot\text{K}$ ),  $T$  é a temperatura (K),  $k$  é a condutividade térmica ( $\text{W}/\text{m}\cdot\text{K}$ ),  $t$  é o tempo (s),  $Q_{perf}$  representa o arrefecimento pela perfusão do sangue (troca de calor por convecção entre tecido e sangue) ( $\text{W}/\text{m}^3$ ),  $Q_e$  representa a fonte de calor do efeito Joule ( $\text{W}/\text{m}^3$ ) e  $Q_{met}$  representa o calor gerado pelo metabolismo ( $\text{W}/\text{m}^3$ ). O termo mais à esquerda representa o armazenamento de energia no tecido, seguido pela condução de calor no tecido pelo gradiente de temperatura interna. (DILLER, 1992; BERGMAN *et al.*, 2014).

A troca de calor por convecção entre tecido e sangue é dada pela equação:

$$Q_{perf} = \rho_b c_b \omega_b (T_b - T) \quad (2)$$

em que  $\rho_b$  é a densidade do sangue ( $\text{kg}/\text{m}^3$ ),  $c_b$  é a capacidade térmica mássica do sangue ( $\text{J}/\text{kg}\cdot\text{K}$ ),  $T_b$  é sua temperatura (K) e  $\omega_b$  é a taxa de perfusão sanguínea ( $\text{s}^{-1}$ ). O sangue transporta energia térmica para dentro e fora do volume de controle pela perfusão.

A equação de Laplace para distribuição de potencial serve de partida para o cálculo do calor do efeito Joule  $Q_e$ :

$$\nabla \cdot (\sigma \nabla \phi) = 0 \quad (3)$$

onde  $\sigma$  é a condutividade elétrica (S/m) e  $\phi$ , o potencial elétrico (V). Para o tecido em contato com o eletrodo carregado,  $\phi = V_o$  (em que  $V_o$  é a tensão aplicada) e para o tecido em nível de referência,  $\phi = 0$ . Para as demais regiões sem contato,  $\frac{\partial \phi}{\partial n} = 0$  (isolamento elétrico).

A equação do efeito Joule é derivada da definição de efeito Joule: taxa de calor gerado pela passagem de corrente elétrica por um condutor. O calor gerado por unidade de volume é proporcional à condutividade do material e ao quadrado da magnitude do campo elétrico. A densidade de corrente elétrica ( $\mathbf{J}$ ) é dada por  $\mathbf{J} = \sigma \mathbf{E}$  e o campo elétrico ( $\mathbf{E}$ ) é calculado por  $\mathbf{E} = -\nabla \phi$ . Assim,  $\mathbf{J} = -\sigma \nabla \phi$ . Resolvendo a Equação 3 (AGNASS *et al.*, 2020; MAOR; RUBINSKY, 2010; BECKER; KUZNETSOV, 2006):

$$Q_e = \sigma |\nabla \phi|^2 \quad (4)$$

A condutividade  $\sigma$  varia a depender da temperatura e do campo elétrico. A equação para condutividade dependente do campo elétrico consiste em uma função sigmoide (Figura 4) (SEL *et al.*, 2005; SUZUKI *et al.*, 2015).

$$\sigma(E) = \sigma_0 + \frac{\sigma_{max} - \sigma_0}{1 + D \cdot \exp\left(-\frac{E - A_1}{B_1}\right)} \quad (5)$$

nessa equação,  $\sigma_0$  é a condutividade inicial (temperatura ambiente),  $D$  é um parâmetro da função sigmoide e  $A_1$  e  $B_1$  são parâmetros dependentes dos limiares de campo elétrico representativos da eletroporação reversível ( $E_{rev}$ ) e irreversível ( $E_{irrev}$ ):

$$A_1 = \frac{E_{rev} + E_{irrev}}{2} \quad (6)$$

$$B_1 = \frac{E_{irrev} - E_{rev}}{C} \quad (7)$$

onde  $C$  é um parâmetro sigmoide.

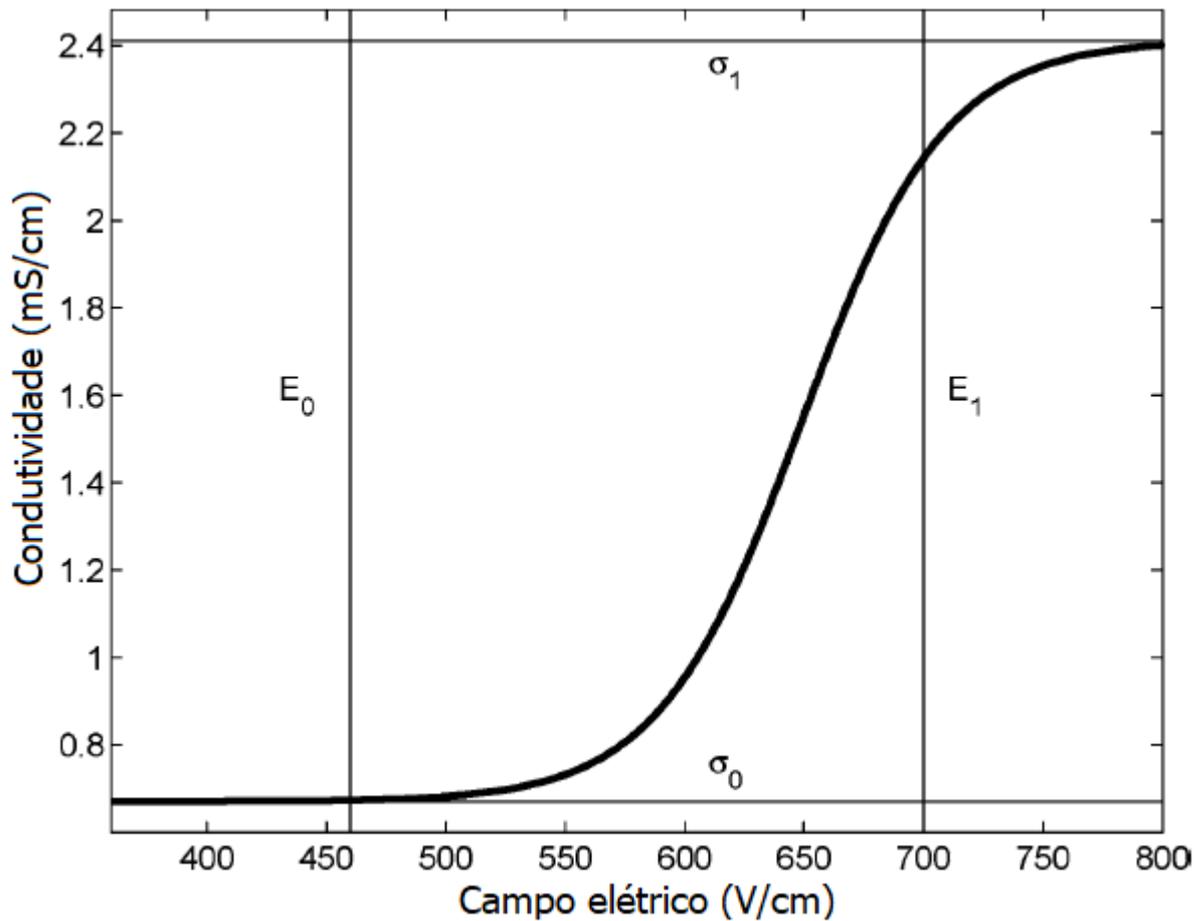
Para a temperatura, tem-se (NEAL II *et al.*, 2012):

$$\sigma(T) = \sigma(E)[1 + \alpha(T - T_0)] \quad (8)$$

em que  $\alpha$  é o coeficiente de temperatura (%K<sup>-1</sup>),  $\sigma(E)$  é a condutividade dependente do campo elétrico,  $T$  é a temperatura no momento e  $T_0$  é a temperatura inicial.

O dano térmico é calculado a partir da formulação de Arrhenius pela integral de dano térmico de Henriques e Moritz (MAOR; RUBINSKY, 2010; DAVALOS *et al.*, 2005):

Figura 4 – Função sigmoide que rege a condutividade elétrica do fígado.



Fonte: Adaptado de Sel *et al.*, 2005.

$$\Omega(t) = \int_0^t A e^{-(\Delta E/RT)} dt \quad (9)$$

em que  $\Omega$  é o dano térmico (adimensional, varia de 0 a 1, sendo 0 sem dano e 1, dano máximo),  $A$  é o fator de frequência (medida da frequência de colisões moleculares) ( $s^{-1}$ ),  $\Delta E$  é a energia de ativação (barreira que as moléculas precisam superar para desnaturar) (J/mol),  $R$  é a constante dos gases (J/mol.K) e  $t$  é o tempo (s). Um  $\Omega = 0,53$  corresponde a queimadura de primeiro grau (DAVALOS *et al.*, 2005), sendo esse o limite adotado neste trabalho como termicamente seguro. Também se adotou como temperatura limite de segurança térmica  $50^\circ\text{C}$ .

As condições de contorno aplicadas foram as mesmas utilizadas por Agnass *et al.*, 2020: sem fluxo de calor entre tecido e eletrodo e sem fluxo de calor entre superfícies externas e tecido (condições de contorno de Neumann).

Todos os valores utilizados podem ser vistos nas Tabelas 1, 2 e 3. A condutividade térmica foi adotada como constante.

Tabela 1 – Propriedades dos eletrodos utilizadas na análise.

Propriedade	Símbolo	Unidade	Valor	Referência
Condutividade elétrica cobre	$\sigma$	S/m	$5,998 \times 10^7$	Biblioteca do COMSOL
Energia de ativação cobre	$\Delta E$	J/mol	$39 \times 10^3$	MIMURA <i>et al.</i> , 2006
Fator de frequência cobre	$A$	$s^{-1}$	$1,13 \times 10^{14}$	LALIA-KANTOURI; HARTOPHYLLES, 1993

Fonte: O autor.

Tabela 2 – Propriedades biofísicas do fígado utilizadas na análise.

Propriedade	Símbolo	Unidade	Valor	Referência
Condutividade elétrica inicial	$\sigma_0$	S/m	0,067	SEL <i>et al.</i> , 2005
Condutividade elétrica máxima	$\sigma_{max}$	S/m	0,241	SEL <i>et al.</i> , 2005
Permissividade relativa	$\epsilon$	–	42672	ZHAO <i>et al.</i> , 2017
Limiar de eletroporação reversível	$E_{rev}$	V/cm	460	SEL <i>et al.</i> , 2005
Limiar de eletroporação irreversível	$E_{irrev}$	V/cm	700	SEL <i>et al.</i> , 2005
Condutividade térmica	$k$	W/m.K	0,497	DUCK, 1990
Capacidade térmica mássica	$c$	J/kg.K	3600	DUCK, 1990
Densidade	$\rho$	kg/m <sup>3</sup>	1060	DUCK, 1990
Energia de ativação	$\Delta E$	J/mol	$2,577 \times 10^5$	Biblioteca do COMSOL
Fator de frequência	$A$	$s^{-1}$	$7,39 \times 10^{39}$	Biblioteca do COMSOL

Fonte: O autor.

A variação da condutividade se dá maior parte pela variação do campo elétrico, sendo a temperatura responsável por uma alteração de 1 a 3% (NEAL II *et al.*, 2012). O coeficiente de temperatura adotado foi de  $1,5\% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$  (DUCK, 1990), a temperatura corpórea inicial foi de  $37 \text{ } ^\circ\text{C}$  (DAVALOS *et al.*, 2005; DAVALOS; RUBINSKY, 2008; EDD *et al.*, 2006) e os parâmetros  $C = 8$  e  $D = 10$  (SEL *et al.*, 2005; SUZUKI *et al.*, 2015).

Fizeram-se dois estudos: um com fígado e outro com músculo esquelético. Em ambos, considerou-se o pior caso, ou seja, sem vaso sanguíneo para dissipar calor. Como não contiveram vaso sanguíneo, não foi preciso acrescentar propriedades do

Tabela 3 – Propriedades biofísicas do músculo utilizadas na análise.

Propriedade	Símbolo	Unidade	Valor	Referência
Condutividade elétrica inicial	$\sigma_0$	S/m	0,135	COROVIC <i>et al.</i> , 2012
Condutividade elétrica máxima	$\sigma_{max}$	S/m	0,4725	COROVIC <i>et al.</i> , 2012
Permissividade relativa	$\epsilon$	–	$1,3 \times 10^5$	DUCK, 1990
Limiar de eletroporação reversível	$E_{rev}$	V/cm	80	COROVIC <i>et al.</i> , 2010
Limiar de eletroporação irreversível	$E_{irrev}$	V/cm	240	SCUDERI <i>et al.</i> , 2023
Condutividade térmica	$k$	W/m.K	0,49	DUCK, 1990
Capacidade térmica mássica	$c$	J/kg.K	3430	DUCK, 1990
Densidade	$\rho$	kg/m <sup>3</sup>	1041	DUCK, 1990
Energia de ativação	$\Delta E$	J/mol	$243,927 \times 10^3$	MCRAE; ESRICK, 1993
Fator de frequência	$A$	s <sup>-1</sup>	$1,6 \times 10^{37}$	GAYLOR, 1989

Fonte: O autor.

sangue ( $Q_{perf}$ ) nem  $Q_{met}$ .

Foram feitas quatro simulações para fígado: duas com tensão de 1000 V e 1500 V para 100  $\mu$ s de aplicação do campo elétrico e outras duas de 1000 V e 1500 V para 200  $\mu$ s (DAVALOS, R. V.; RUBINSKY, B., 2008; MIKLOVIC *et al.*, 2017; EDD *et al.*, 2006; NEAL II *et al.*, 2012). O material foi adotado como sólido e a malha foi gerada automaticamente como mais fina, consistindo em 94851 elementos de domínio, 8184 elementos de contorno e 740 elementos de borda e 226554 graus de liberdade. Todas as simulações levaram uma média de 5 min para serem concluídas com tolerância de erro de 0,001. Foram feitos dois estudos, um estacionário com a física de corrente elétrica e outro dependente do tempo para transferência de biocalor (com passo de 10  $\mu$ s para as duas simulações de 100  $\mu$ s e de 20  $\mu$ s para 200  $\mu$ s). Essas duas físicas foram conectadas pela multifísica de aquecimento eletromagnético.

No estudo do músculo, foram realizadas três simulações: uma com tensão de 250 V e pulso de 40 ms (VASAN *et al.*, 2011), outra com tensão de 200 V e pulso de 50 ms (WIDERA *et al.*, 2000) e uma de 100 V por 100 ms para comparação. O material foi adotado como sólido e a malha foi gerada automaticamente como mais fina, consistindo em 95129 elementos de domínio, 8196 elementos de contorno e 740

elementos de borda e 227253 graus de liberdade. Todas as simulações levaram em torno de 5 min para serem concluídas com a mesma tolerância de erro de 0,001. As mesmas físicas foram aplicadas (idem para multifísica), mas agora com passo de 10 ms para todas as três simulações.

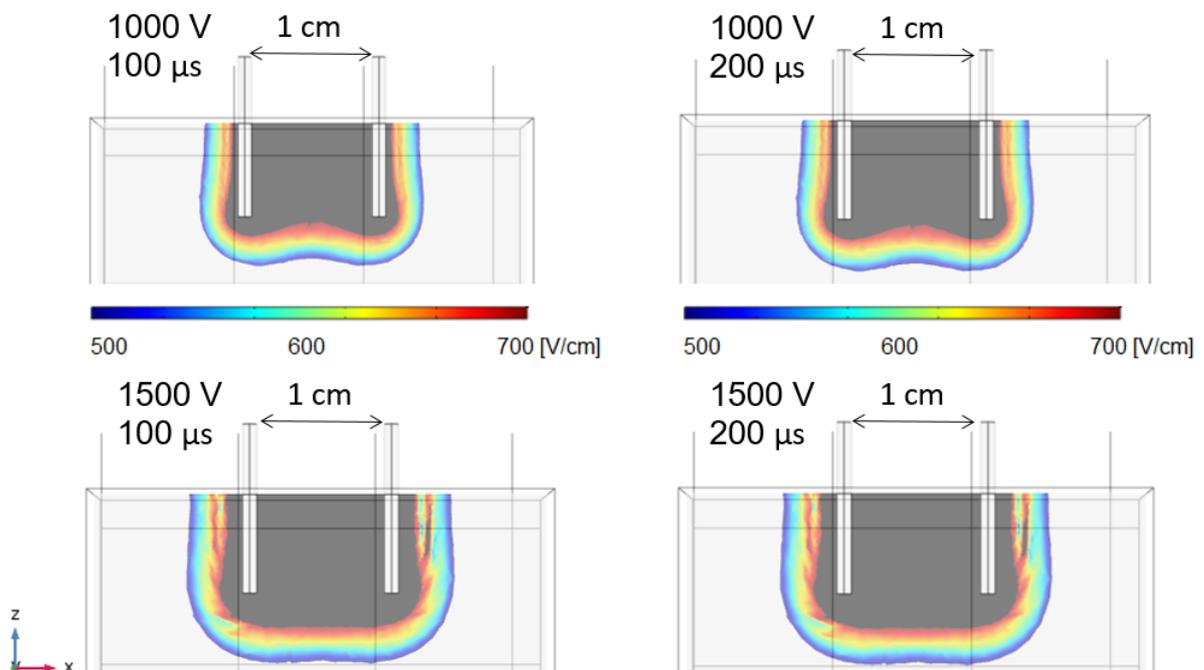
## 4 RESULTADOS

Neste capítulo, apresentam-se os resultados elétricos e térmicos para fígado e músculo esquelético, nessa sequência.

### 4.1 ESTUDO DE IRE NO FÍGADO

Apresenta-se nas Figuras 5 e 6 a distribuição de campo elétrico para a tensão de 1000 V e 1500 V. A Figura 6 mostra o resultado para uma linha traçada no contato com os eletrodos. Além do crescimento de  $E$  na região dos eletrodos, há também um aumento de campo elétrico entre eletrodos, como visto no gráfico de linha, garantindo um resultado mais consistente para 1500 V, visto que, em um tratamento, o tumor estaria localizado também nessa região. A profundidade alcançada é maior para 1500 V, mantendo-se constante entre eletrodos, o que não ocorre para 1000 V.

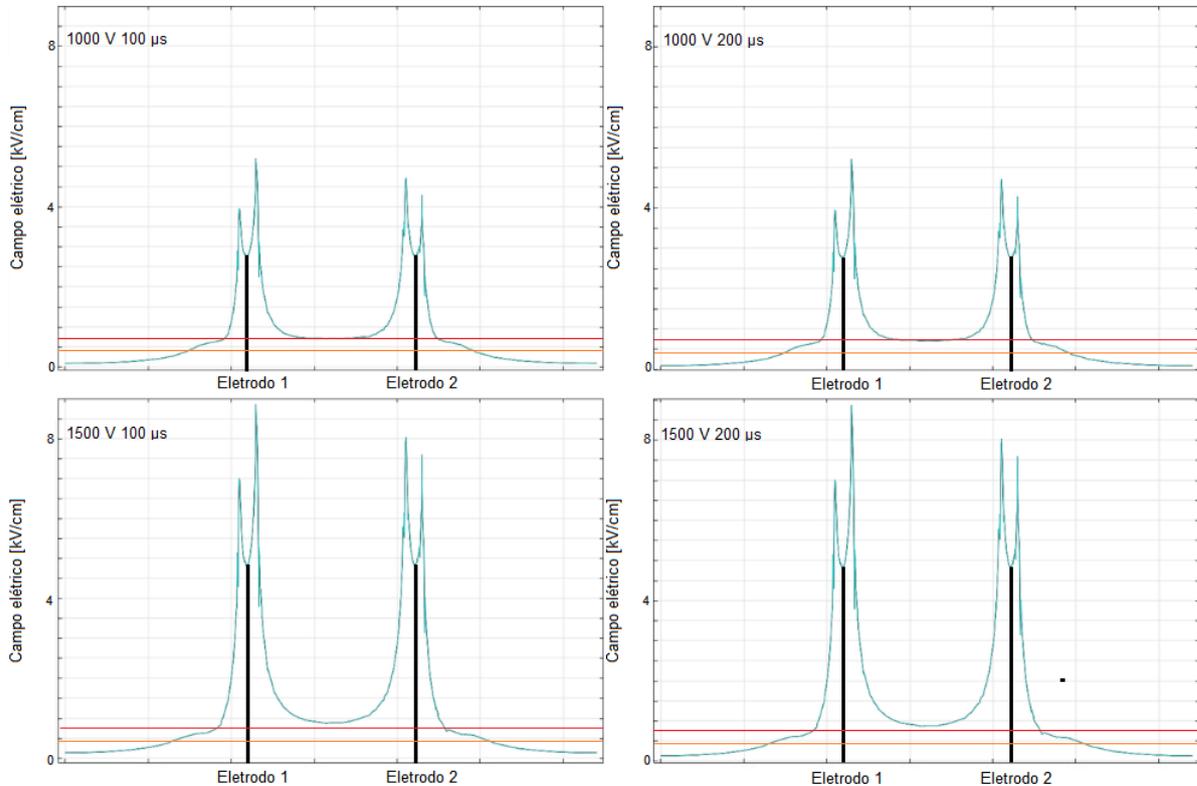
Figura 5 – Distribuição de campo elétrico (V/cm) para o fígado. A área branca representa a região que não sofreu eletroporação, na região colorida ocorreu eletroporação reversível e na região preta, irreversível.



Fonte: O autor.

A variação de condutividade elétrica em uma linha traçada no contato com os eletrodos é apresentada na Figura 7. Como visto anteriormente, a temperatura impacta nessa propriedade, então a duração do pulso acaba influenciando no valor de  $\sigma$ . Assim como na distribuição de campo elétrico, a condutividade sofre uma queda na região entre eletrodos para a tensão de 1000 V (atingindo o valor máximo no contato com

Figura 6 – Distribuição de campo elétrico (V/cm) para o fígado. As linhas pretas representam o centro dos eletrodos, a linha laranja representa o limiar de RE e a linha vermelha, o de IRE.



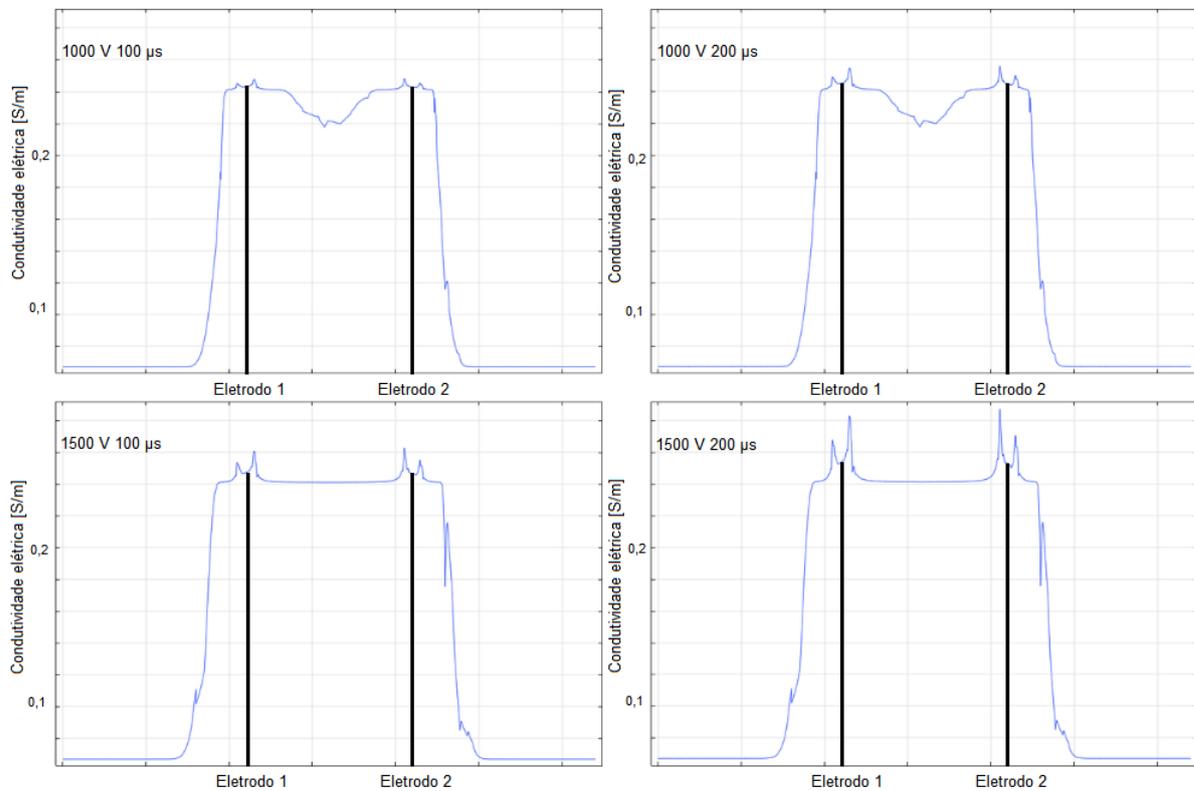
Fonte: O autor.

os eletrodos) e se mantém constante no valor máximo para 1500 V. A variação de condutividade se dá pela permeabilização da membrana plasmática causada pelo campo elétrico e em um experimento com tecido real não ultrapassaria o valor de  $\sigma_{max}$ , mas como aqui foi feita uma simulação computacional, o maior valor atingido está acima.

Apresenta-se na Figura 8 a distribuição de temperatura para os quatro casos ao final da aplicação em uma linha traçada no contato com os eletrodos. A temperatura máxima atingida em todos os casos se encontra logo abaixo dos eletrodos. A variação de temperatura por condução térmica, com  $Q$  em W, é calculada por  $\Delta T = Q\Delta x/(kA)$ , sendo  $A$  a área da seção transversal do material e  $\Delta x$  o comprimento (BERGMAN *et al.*, 2014), e, como visto na Equação 4, o calor  $Q_e$  depende do quadrado da tensão. Sendo assim, era esperado um crescimento tanto com aumento de tensão quanto com aumento da exposição do campo elétrico, devido ao efeito Joule (todo calor aumenta proporcional ao tempo de aplicação).

A Figura 9 apresenta o dano térmico causado no tecido pela corrente elétrica em um ponto em contato com o eletrodo. Pela Equação 9, vê-se que o dano térmico

Figura 7 – Variação da condutividade elétrica (S/m) para o fígado. As linhas pretas representam o centro dos eletrodos.



Fonte: O autor.

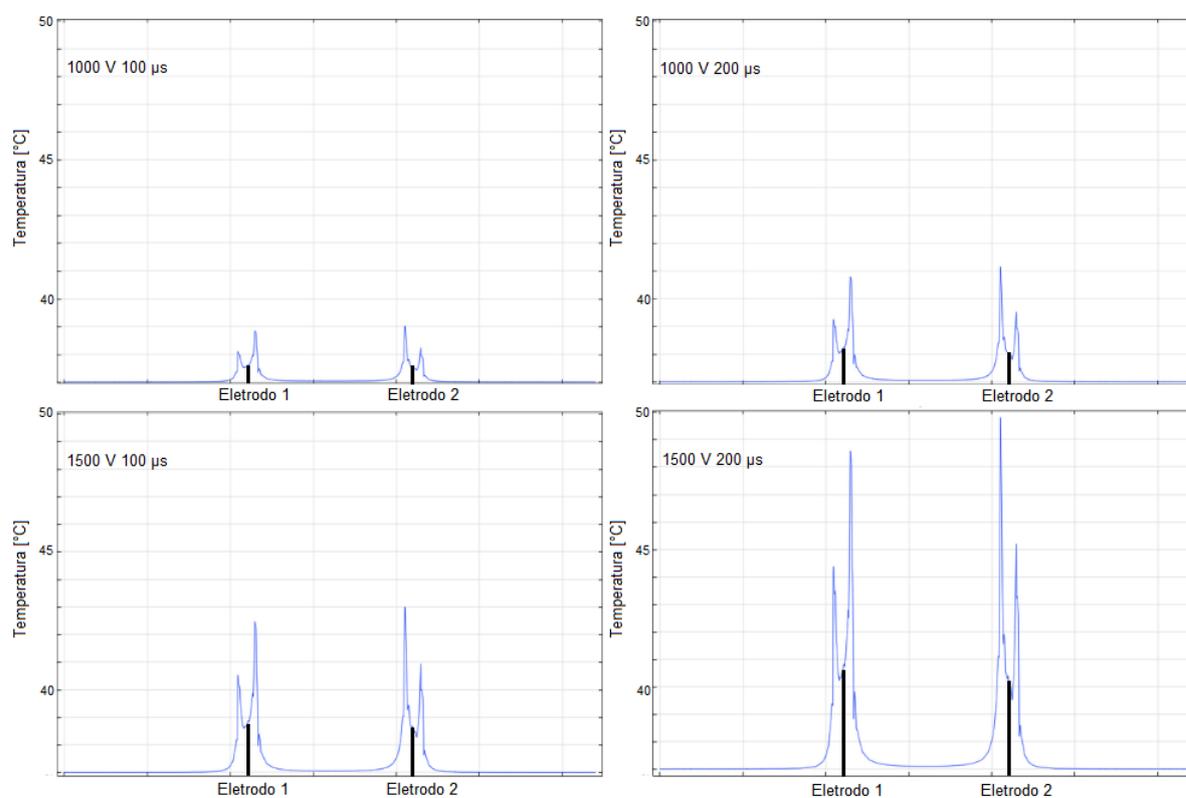
crece exponencialmente com o aumento da temperatura. Sendo assim, é um resultado complementar ao anterior, aumentando onde as temperaturas foram maiores. A viabilidade da aplicação, analisando o efeito Joule, depende da temperatura máxima atingida e do dano provocado a células saudáveis.

#### 4.2 ESTUDO DE RE NO MÚSCULO ESQUELÉTICO

Apresenta-se nas Figuras 10 e 11 a distribuição de campo elétrico para os três casos, sendo a segunda em uma linha traçada no contato com os eletrodos. A aplicação de 100 V não foi capaz de eletroporar toda a região entre eletrodos, enquanto que 200 V e 250 V provocaram IRE ao redor dos eletrodos.

A variação de condutividade elétrica é apresentada na Figura 12 para uma linha traçada no contato com os eletrodos. A aplicação de 100 V não chegou a atingir  $\sigma_{max}$  e as outras duas o fizeram só ao redor dos eletrodos, ficando pouco permeabilizado na região entre os eles. Novamente, em um estudo com tecido real, o valor máximo de condutividade obtido seria igual a  $\sigma_{max}$  tabelado, se ultrapassando aqui somente por se tratar de estudo *in silico*.

Figura 8 – Distribuição de temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) para o fígado. As linhas pretas representam os eletrodos.

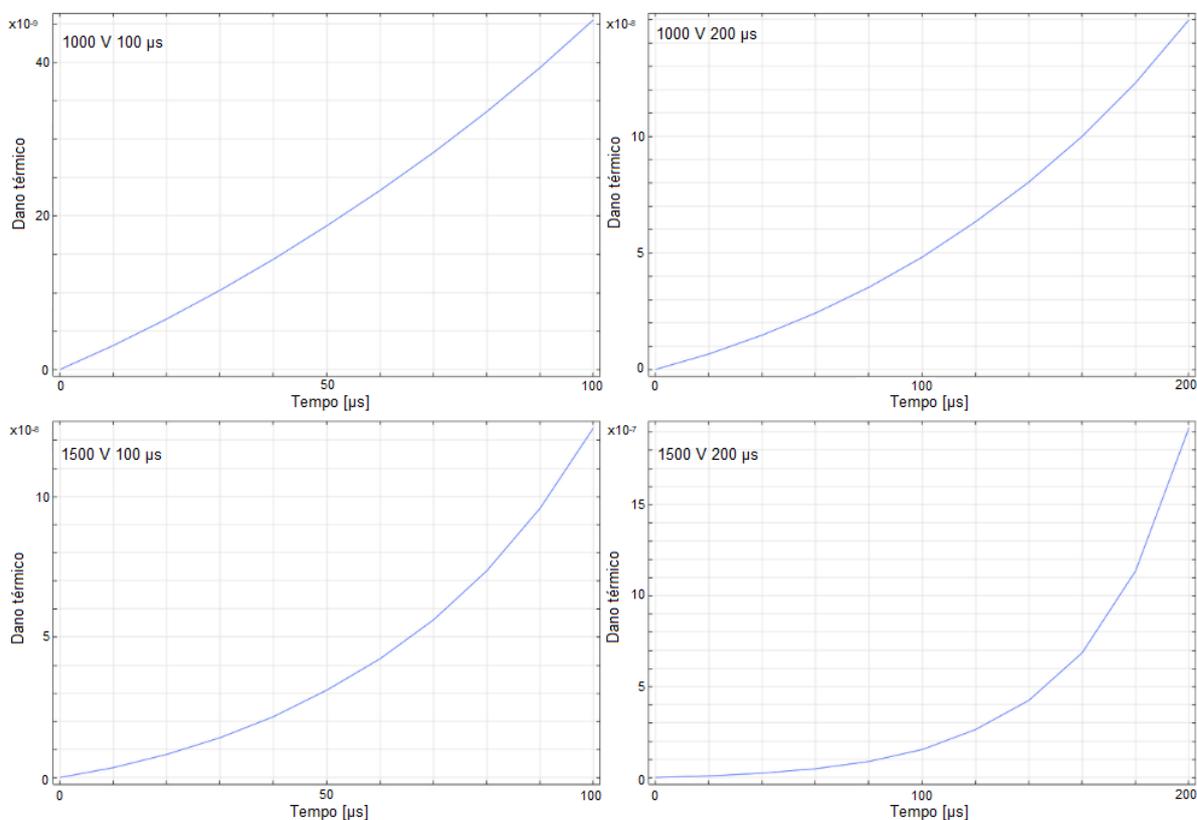


Fonte: O autor.

A Figura 13 apresenta a distribuição de temperatura em uma linha traçada no contato com os eletrodos. O estudo com 100 V atingiu um valor máximo de  $45^{\circ}\text{C}$ , considerada termicamente segura, mas os outros dois ultrapassaram o valor limite de  $50^{\circ}\text{C}$ , mesmo o tempo de aplicação sendo menor.

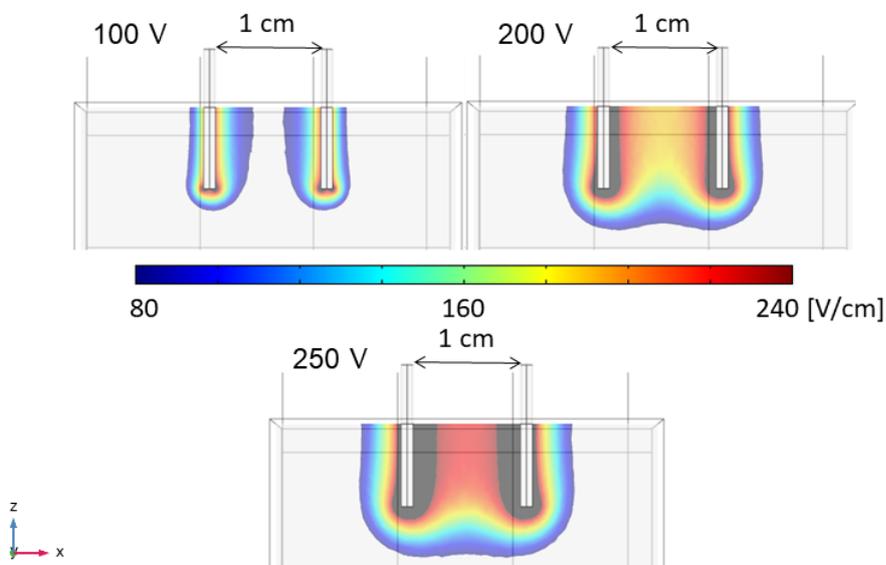
Por fim, a Figura 14 mostra o dano térmico dos três casos. Os dois primeiros estudos foram termicamente seguros, mas a aplicação de 250 V ultrapassou o limite de 0,53. O resultado é condizendo com o gráfico anterior de temperatura, visto que a aplicação de 250 V atingiu  $90^{\circ}\text{C}$ , muito acima do limite de segurança térmica estabelecido.

Figura 9 – Dano térmico abaixo dos eletrodos para o fígado.



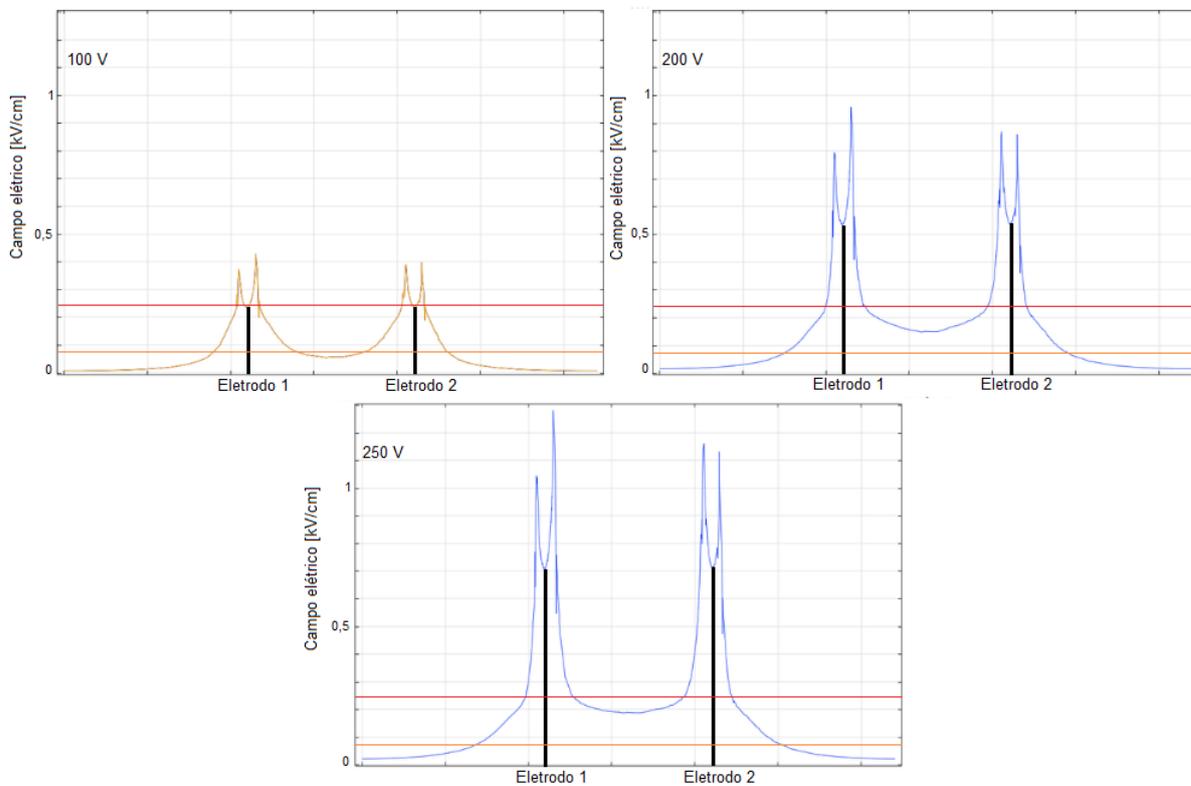
Fonte: O autor.

Figura 10 – Distribuição de campo elétrico (V/cm) para o músculo. A área branca representa a região que não sofreu eletroporação, na região colorida ocorreu eletroporação reversível e na região preta, irreversível.



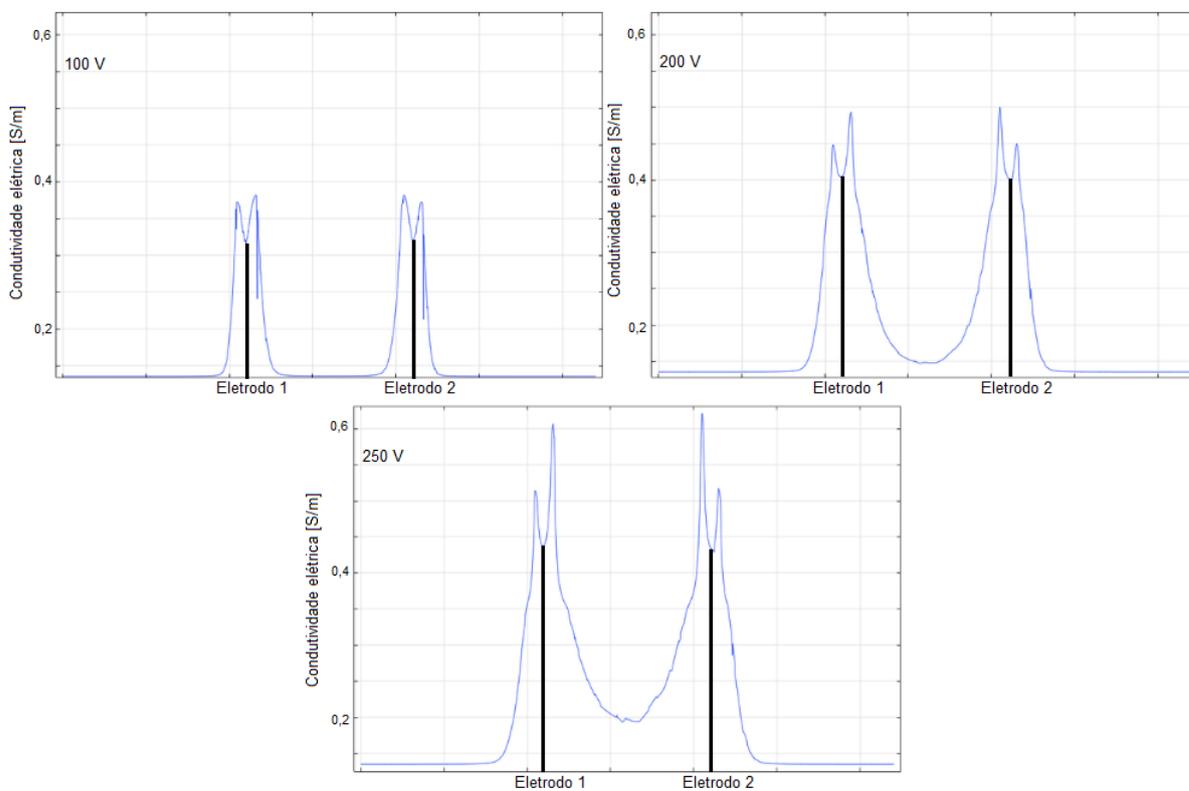
Fonte: O autor.

Figura 11 – Distribuição de campo elétrico (V/cm) para o músculo. As linhas pretas representam os eletrodos, a linha laranja representa o limiar de RE e a linha vermelha, o de IRE.



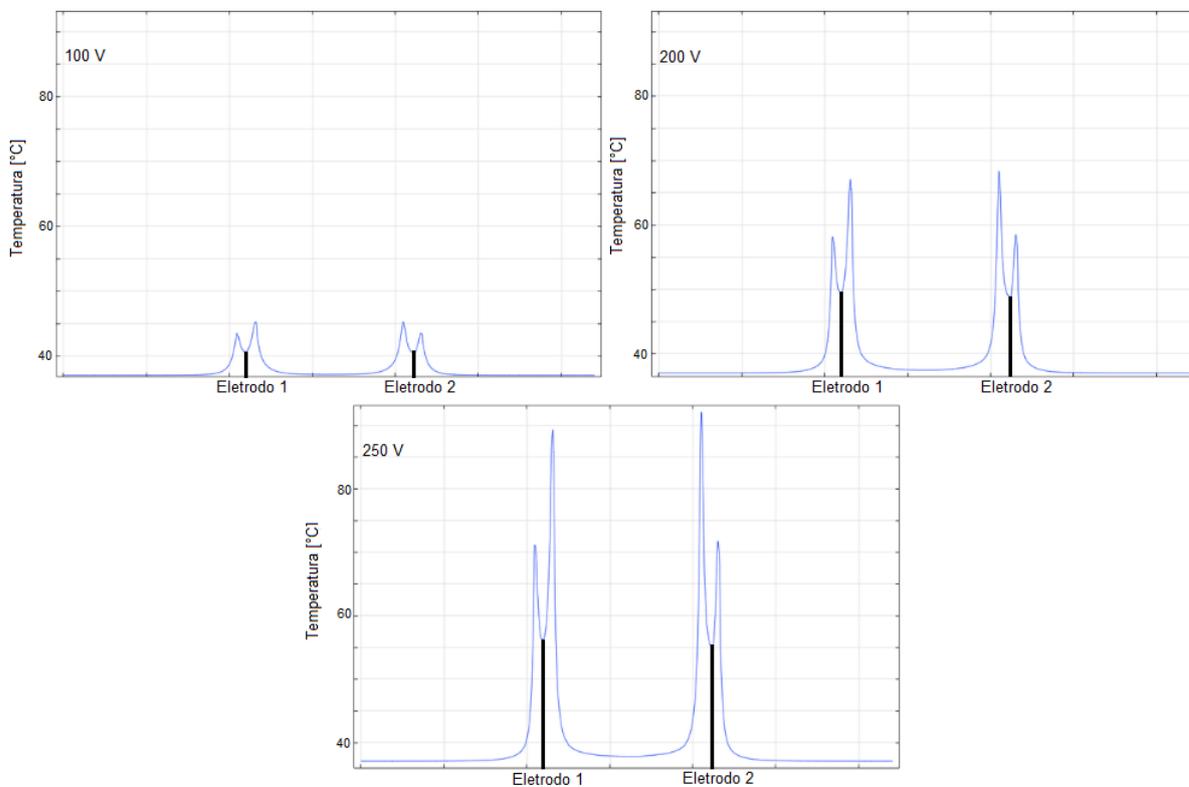
Fonte: O autor.

Figura 12 – Variação da condutividade elétrica (S/m) para o músculo. As linhas pretas representam os eletrodos.



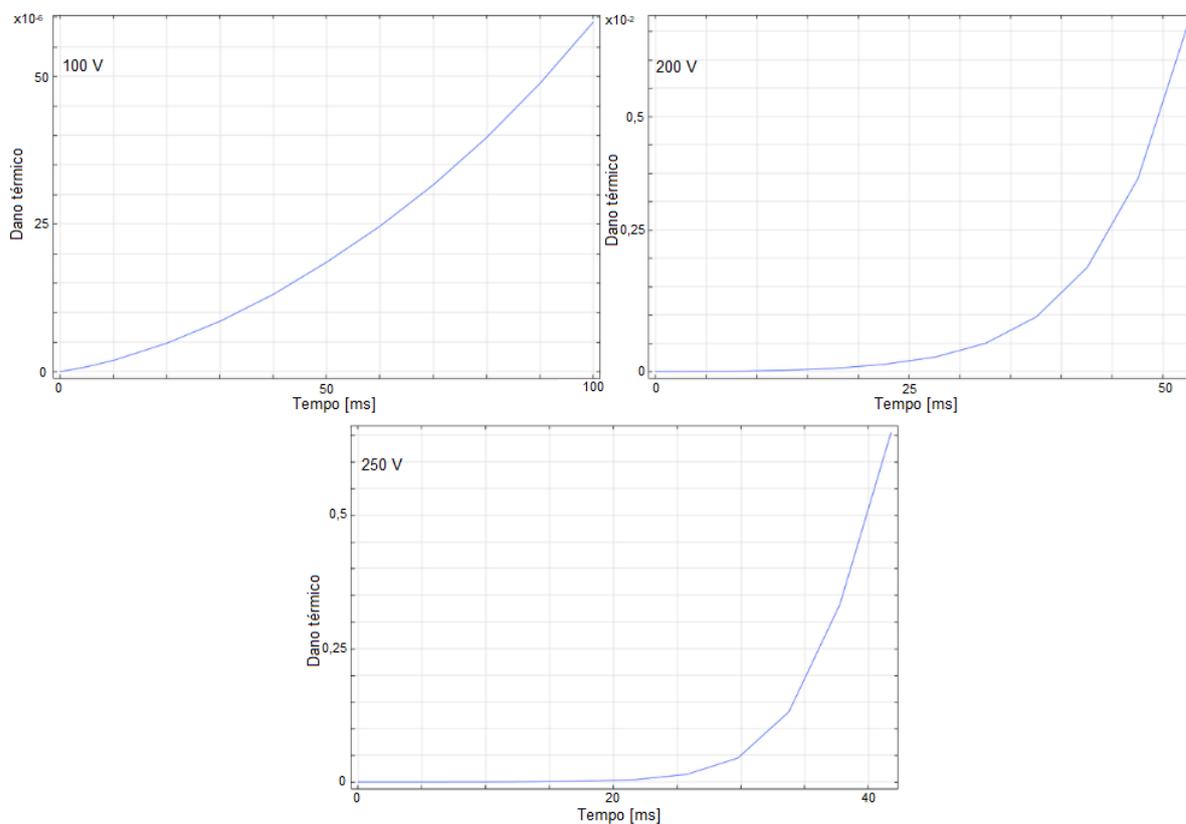
Fonte: O autor.

Figura 13 – Distribuição de temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) para o músculo. As linhas pretas representam os eletrodos.



Fonte: O autor.

Figura 14 – Dano térmico abaixo dos eletrodos para o músculo.



Fonte: O autor.

## 5 DISCUSSÃO

Neste capítulo, discute-se primeiramente os resultados do estudo de IRE e depois o de RE, seguindo a mesma ordem de apresentação do capítulo anterior. Aborda-se primeiro as propriedades elétricas (campo elétrico e condutividade) e depois as térmicas (temperatura e dano térmico).

### 5.1 ESTUDO DE IRE NO FÍGADO

Na Figura 5, ambas as tensões foram suficientes para eletroporar irreversivelmente até a região entre eletrodos. Os resultados são condizentes com a equação mostrada no Capítulo 3, em que o campo elétrico é proporcional à tensão aplicada. Tanto para a tensão aplicada de 1000 V quanto para 1500 V, a região afetada não é muito maior que o espaço entre eletrodos, o que garante segurança do ponto de vista térmico ao tratamento e permite compará-lo a outras formas de ablação como criocirurgia.

Já na Figura 6, vê-se os valores de campo elétrico atingidos em cada simulação ao longo do eixo X. O valor máximo atingido pela tensão de 1000 V foi próximo a 5000 V/cm e para 1500 V, quase 9000 V/cm. Esses valores são acima do limiar de eletroporação irreversível (700 V/cm). Tendo isso em conta, e a distribuição vista na Figura 5, poderia se afirmar que a primeira tensão é suficiente para se atingir o objetivo do tratamento. Contudo, a condutividade elétrica apresenta variações significativas.

Avaliando a condutividade elétrica na Figura 7, nota-se uma leve variação entre os dois casos de 1000 V nos picos encontrados próximos aos eletrodos. Essa variação já é consideravelmente maior para 1500 V. Isso ocorre por conta da elevação de temperatura que é maior para 1500 V. Além disso,  $\sigma$  tem um valor uniforme entre eletrodos para 1500 V, enquanto que há uma oscilação para 1000 V. O interesse por aumentar a condutividade consiste em aumentar a permeabilização da membrana plasmática das células, distribuindo mais uniformemente os PEFs. A região afetada também é maior para 1500 V. Portanto, há vantagem em aumentar a tensão aplicada, pois, para um tumor teórico de 1 cm (distância entre eletrodos), haveria uma queda na condutividade justamente no seu centro. A variação de condutividade inicial para a máxima atingida é condizente com a esperada (ZHAO *et al.*, 2017), em torno de quatro vezes a inicial.

Analisando a temperatura atingida pelo efeito Joule (Figuras 8), as quatro simulações tiveram resultados seguros termicamente, abaixo de 50 °C. O último teste se aproximou, mas não atingiu a temperatura de desnaturação das proteínas. Nele ocorreu o maior crescimento de temperatura, quase 7 °C. Percebe-se também que há uma tendência de aumentar a temperatura no sentido de encontrar o eletrodo vizinho.

Pela Figura 9 nota-se que, apesar das tensões serem elevadas, o tempo de

aplicação foi baixo o suficiente para não causar dano térmico. Assim, pode-se afirmar que os quatro tratamentos são seguros do ponto de vista térmico.

## 5.2 ESTUDO DE RE NO MÚSCULO ESQUELÉTICO

As Figuras 10 e 11 mostram que a tensão de 100 V não foi capaz de eletroporar toda a região entre eletrodos, o que a torna ineficiente para a aplicação desejada. As tensões de 200 V e 250 V ultrapassaram o limiar de RE em toda a região entre eletrodos, mas também o de IRE ao redor deles, o que não se quer em um tratamento de vacinação de DNA. De fato, até mesmo 100 V provocou, mesmo que minimamente, eletroporação irreversível. Isso se dá pelo fato de o limiar do tecido muscular (240 V/cm) ser muito menor que o do fígado (700 V/cm). O motivo de uma tensão de 100 V com espaçamento de 1 cm gerar um campo elétrico maior que 240 V/cm se dá pelo efeito do poder das pontas, em que extremidades pontiagudas acumulam mais carga.

Na sequência, como a condutividade inicial do músculo é o dobro da do fígado, era esperado que os resultados de condutividade também fossem mais altos. Além disso, a temperatura máxima (Figura 13) é bastante acima da atingida no caso do fígado. Na Equação 8, o termo entre chaves para o pior caso do estudo no músculo (250 V) é quase quatro vezes maior que o do pior caso do fígado (1500 V por 200  $\mu$ s). Contudo, a região entre eletrodos foi pouco permeabilizada, ficando em torno de 0,2 S/m para o caso de 250 V. Isso evidencia que os picos de condutividade são principalmente por conta da temperatura e não do campo elétrico.

Embora as tensões sejam em torno de dez vezes menores que as do estudo em fígado, o tempo de aplicação é mil vezes maior e isso levou aos altos valores de temperatura atingidos na aplicação de 200 V e 250 V (Figura 13). Em 200 V, ultrapassou-se a temperatura de desnaturação das proteínas e em 250 V, além dessa temperatura, também se ultrapassou a de dano ao DNA. Ou seja, as duas aplicações não são seguras do ponto de vista térmico.

Por fim, a Figura 14 mostra que as duas primeiras simulações ficaram dentro do limite de dano térmico, mas o estudo de 250 V ultrapassou o valor de 0,53 (queimadura de primeiro grau) e, portanto, não é termicamente seguro também no critério de dano térmico.

## 5.3 VALIDAÇÃO

Avaliando a região tratada na Figura 5, pode-se afirmar que é um resultado proporcional ao apresentado por Edd *et al.* (2006). Também, Davalos *et al.* (2005) estudaram a aplicação de eletrodos com 1 cm de espaçamento com campo elétrico semelhante ao do estudo do fígado e obtiveram resultados similares.

Para RE, o estudo de McMahon e Wells (2004) reportou queimadura para 200 V a partir de oito pulsos. No estudo aqui feito, com um único pulso, o dano para 200 V ficou ainda na ordem de  $10^{-2}$ , mas como já houve dano para 250 V, é possível afirmar que ocorreria queimadura se o estudo continuasse.

#### 5.4 TRABALHOS FUTUROS

Um problema visto na aplicação da eletroporação, seja reversível ou irreversível, é a contração muscular involuntária e a dor causada (GOLBERG; RUBINSKY, 2012). Tenta-se evitar isso com anestesia, modificação nos protocolos de eletroporação, como aumentar a frequência do pulso para os casos de vários pulsos, e *design* do eletrodo. Contudo, a contração é inevitável, já que a ativação do músculo é duas ordens de magnitude menor que a permeabilização elétrica do tecido (5 V/cm). Sendo assim, vários estudos alterando configurações dos eletrodos podem ser feitos em testes *in vivo*.

Este trabalho avaliou o caso em que não há vaso sanguíneo para dissipar calor. O mesmo estudo pode ser refeito acrescentando um vaso sanguíneo.

Percebeu-se uma necessidade de maior investigação de protocolos de eletroporação para aplicação de vacinas de DNA. Os campos elétricos gerados neste trabalho não satisfizeram os critérios estabelecidos.

## 6 CONCLUSÃO

O efeito da eletroporação promete avanços em várias aplicações, sendo preciso que continuem os estudos para se conseguir o máximo de aproveitamento. Este estudo simulou uma aplicação de eletroporação irreversível em fígado e uma reversível em músculo com um único pulso. Viu-se em ambos os casos que a elevação de temperatura é um fator crítico na aplicação dessa técnica.

Para o tratamento de fígado, viu-se que a área que ultrapassou o limite de eletroporação irreversível não aumentou tanto com o aumento da tensão, mas o valor máximo de campo elétrico atingido é bastante maior. Houve diferença na uniformidade de condutividade elétrica, que mostrou que a tensão de 1500 V consegue um valor constante entre eletrodos, enquanto que com 1000 V ocorreram oscilações. O aumento da duração do pulso não provocou mudança relevante na condutividade elétrica. Os quatro testes apresentaram temperatura segura e dano térmico irrelevante. O tempo de aplicação se mostrou suficientemente baixo para as tensões estudadas, visto que o maior aumento de temperatura foi em torno de 13 °C.

Já nas simulações com músculo, os resultados não foram positivos: a tensão de 100 V foi ineficiente para provocar RE em toda a região desejada, 200 V e 250 V causaram IRE e ultrapassaram a temperatura segura, sendo que a última aplicação também provocou queimadura. A condutividade elétrica foi bastante influenciada pela temperatura na região dos eletrodos, que por sua vez foi afetada pela duração do pulso, com elevação máxima de 53 °C, aproximadamente.

A aplicação de um único pulso foi útil para se visualizar o efeito dos parâmetros tensão aplicada e tempo de aplicação. Comparando os dois estudos, nota-se como a duração do PEF impactou na segurança da aplicação: a tensão no estudo de IRE é dez vezes menor, mas como o tempo é mil vezes maior, as temperaturas ultrapassaram os valores seguros termicamente.

## REFERÊNCIAS

- AGNASS, Pierre *et al.* Mathematical modeling of the thermal effects of irreversible electroporation for in vitro, in vivo, and clinical use: A systematic review. **International journal of hyperthermia**, Taylor & Francis, v. 37, n. 1, p. 486–505, 2020.
- ALBERTS, Bruce; JOHNSON, Alexander; LEWIS, Julian; MORGAN, David; RAFF, Martin; ROBERTS, Keith; WALTER, Peter. **Biologia molecular da célula**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- BECKER, SM; KUZNETSOV, AV. Numerical modeling of in vivo plate electroporation thermal dose assessment. **Journal of Biomechanical Engineering**, ASME, v. 128, n. 10, p. 76–84, 2006.
- BEEBE, S. J. Regulated and apoptotic cell death after nanosecond electroporation. *In*: MIKLAVČIČ, D. (Ed.). **Handbook of Electroporation**. Cham: Springer, 2017. P. 511–528.
- BERGMAN, Theodore L; LAVINE, Adrienne S; INCROPERA, Frank P; DEWITT, David P. **Fundamentos de transferencia de calor e de massa**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2014.
- CHAKRAVARTHI, Balabhadrapatruni VSK; NEPAL, Saroj; VARAMBALLY, Sooryanarayana. Genomic and epigenomic alterations in cancer. **The American journal of pathology**, Elsevier, v. 186, n. 7, p. 1724–1735, 2016.
- CHARNY, C K. Mathematical models of bioheat transfer. *In*: CHO, Young I (Ed.). **Advances in Heat Transfer: Bioengineering Heat Transfer**. San Diego: Academic Press, 1992. v. 22. P. 19–155.
- CHEN, C; SMYE, SW; ROBINSON, MPe; EVANS, JA. Membrane electroporation theories: A review. **Medical and Biological Engineering and Computing**, Springer, v. 44, n. 1, p. 5–14, 2006.
- COMSOL. **The Joule Heating Effect**. Fevereiro 2017. Disponível em: <https://www.comsol.com/multiphysics/the-joule-heating-effect>. Acesso em: 29 set. 2023.

COROVIC, Selma; LACKOVIC, Igor; SUSTARIC, Primoz; SUSTAR, Tomaz; RODIC, Tomaz; MIKLAVCIC, Damijan. Modeling of electric field distribution in tissues during electroporation. **Biomedical engineering online**, Springer, v. 12, n. 1, p. 1–27, 2013.

ČOROVIĆ, Selma; MIR, Lluís M; MIKLAVČIČ, Damijan. In vivo muscle electroporation threshold determination: realistic numerical models and in vivo experiments. **The Journal of membrane biology**, Springer, v. 245, p. 509–520, 2012.

ČOROVIĆ, Selma; ŽUPANIČ, Anže; KRANJC, Simona; AL SAKERE, Bassim; LEROY-WILLIG, Anne; MIR, Lluís M; MIKLAVČIČ, Damijan. The influence of skeletal muscle anisotropy on electroporation: in vivo study and numerical modeling. **Medical & biological engineering & computing**, Springer, v. 48, p. 637–648, 2010.

DANIELS, Charlotte; RUBINSKY, Boris. Electrical field and temperature model of nonthermal irreversible electroporation in heterogeneous tissues. **Journal of Biomechanical Engineering**, ASME, v. 131, n. 7, p. 071006, 2009.

DAVALOS, R. V.; MIR, L. M.; RUBINSKY, B. Tissue ablation with irreversible electroporation. **Annals of biomedical engineering**, Springer, v. 33, n. 2, p. 223–231, 2005.

DAVALOS, R. V.; RUBINSKY, B. Temperature considerations during irreversible electroporation. **International journal of heat and mass transfer**, Elsevier, v. 51, n. 23-24, p. 5617–5622, 2008.

DAVALOS, Rafael V; RUBINSKY, Boris; MIR, Lluís M. Theoretical analysis of the thermal effects during in vivo tissue electroporation. **Bioelectrochemistry**, Elsevier, v. 61, n. 1–2, p. 99–107, 2003.

DEV, Sukhendu B; RABUSSAY, Dietmar P; WIDERA, Georg; HOFMANN, Gunter A. Medical applications of electroporation. **IEEE Transactions on Plasma Science**, IEEE, v. 28, n. 1, p. 206–223, 2000.

DILLER, K R. Modeling of bioheat transfer processes at high and low temperatures. *In*: CHO, Young I (Ed.). **Advances in Heat Transfer: Bioengineering Heat Transfer**. San Diego: Academic Press, 1992. v. 22. P. 157–357.

DUCK, Francis A. **Physical properties of tissues: A comprehensive reference book**. Londres: Academic press, 1990.

EDD, Jon F; HOROWITZ, Liana; DAVALOS, Rafael V; MIR, Lluís M; RUBINSKY, Boris. In vivo results of a new focal tissue ablation technique: irreversible electroporation. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, IEEE, v. 53, n. 7, p. 1409–1415, 2006.

EUROTREATMED. **NanoKnife IRE**. Disponível em: <https://eurotreatmed.co.uk/treatments/oncology/nanoknife-ire/>. Acesso em: 20 out. 2022.

GAYLOR, Diane Catherine. **Physical mechanisms of cellular injury in electrical trauma**. 1989. Tese (Doutorado) – Massachusetts Institute of Technology, Cambridge.

GEDDES, Linda. **Why some people might be immune to certain COVID-19 vaccines**. Outubro 2020. Disponível em: <https://www.gavi.org/vaccineswork/why-some-people-might-be-immune-certain-covid-19-vaccines#:~:text=This%20so%2Dcalled%20%E2%80%9Canti%2D,a%20second%20or%20third%20time..> Acesso em: 19 jul. 2023.

GOLBERG, Alex; RUBINSKY, B. Towards electroporation based treatment planning considering electric field induced muscle contractions. **Technology in cancer research & treatment**, SAGE Publications Sage CA: Los Angeles, CA, v. 11, n. 2, p. 189–201, 2012.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Estimativa 2023**: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, 2022.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **A situação do câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde., 2006.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Estimativa 2020**: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, 2019.

JOURABCHI, Natanel; BEROUKHIM, Kourosh; TAFTI, Bashir A; KEE, Stephen T; LEE, Edward W. Irreversible electroporation (NanoKnife) in cancer treatment. **Gastrointestinal Intervention**, Elsevier, v. 3, n. 1, p. 8–18, 2014.

KOTNIK, Tadej; FREY, Wolfgang; SACK, Martin; MEGLIČ, Saša Haberl; PETERKA, Matjaž; MIKLAVČIČ, Damijan. Electroporation-based applications in biotechnology. **Trends in biotechnology**, Elsevier, v. 33, n. 8, p. 480–488, 2015.

KRANJC, M; MIKLAVČIČ, D. Electric field distribution and electroporation threshold. *In*: MIKLAVČIČ, D. (Ed.). **Handbook of Electroporation**. Cham: Springer, 2017. P. 1043–1058.

LALIA-KANTOURI, Maria; HARTOPHYLLES, M. Thermal behaviour and kinetic analysis of the thermogravimetric data of some copper (II), nickel (II), and palladium (II) 2-hydroxyaryloximates. **Thermochimica acta**, Elsevier, v. 224, p. 203–215, 1993.

LAMBRICHT, Laure; LOPES, Alessandra; KOS, Spela; SERSA, Gregor; PRÉAT, Véronique; VANDERMEULEN, Gaëlle. Clinical potential of electroporation for gene therapy and DNA vaccine delivery. **Expert opinion on drug delivery**, Taylor & Francis, v. 13, n. 2, p. 295–310, 2016.

LEE, Edward W; WONG, Daphne; PRIKHODKO, Sergey V; PEREZ, Alejandro; TRAN, Cassidy; LOH, Christopher T; KEE, Stephen T. Electron microscopic demonstration and evaluation of irreversible electroporation-induced nanopores on hepatocyte membranes. **Journal of Vascular and Interventional Radiology**, Elsevier, v. 23, n. 1, p. 107–113, 2012.

LEI, Yangyang; LIU, Baoxian; SU, Liya; XIE, Xiaoyan; KUANG, Ming; CHEN, Mianni; LAN, Huixia; ZHAO, Huijuan; LIN, Manxia. Perioperative nursing of patients with pancreatic cancer treated with a nanoknife. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, American Scientific Publishers, v. 20, n. 10, p. 6584–6590, 2020.

MAOR, E.; RUBINSKY, B. Endovascular nonthermal irreversible electroporation: A finite element analysis. **Journal of Biomechanical Engineering**, ASME, v. 132, n. 3, 2010.

MCMAHON, Jillian M; WELLS, Dominic J. Electroporation for gene transfer to skeletal muscles: current status. **BioDrugs**, Springer, v. 18, p. 155–165, 2004.

MCRAE, DA; ESRICK, MA. Changes in electrical impedance of skeletal muscle measured during hyperthermia. **International journal of hyperthermia**, Taylor & Francis, v. 9, n. 2, p. 247–261, 1993.

MIKLOVIC, Tyler; LATOUCHE, Eduardo L; DEWITT, Matthew R; DAVALOS, Rafael V; SANO, Michael B. A comprehensive characterization of parameters affecting high-frequency irreversible electroporation lesions. **Annals of biomedical engineering**, Springer, v. 45, n. 11, p. 2524–2534, 2017.

MILLER, Kimberly D; NOGUEIRA, Leticia; MARIOTTO, Angela B; ROWLAND, Julia H; YABROFF, K Robin; ALFANO, Catherine M; JEMAL, Ahmedin; KRAMER, Joan L; SIEGEL, Rebecca L. Cancer treatment and survivorship statistics, 2019. **CA: a cancer journal for clinicians**, Wiley Online Library, v. 69, n. 5, p. 363–385, 2019.

MILLER, Liron; LEOR, Jonathan; RUBINSKY, Boris. Cancer cells ablation with irreversible electroporation. **Technology in cancer research & treatment**, SAGE Publications Sage CA: Los Angeles, CA, v. 4, n. 6, p. 699–705, 2005.

MIMURA, Kouji; LIM, Jae-Won; ISSHIKI, Minoru; ZHU, Yongfu; JIANG, Qing. Brief review of oxidation kinetics of copper at 350 C to 1050 C. **Metallurgical and materials transactions A**, Springer, v. 37, n. 4, p. 1231–1237, 2006.

NEAL II, Robert E; GARCIA, Paulo A; ROBERTSON, John L; DAVALOS, Rafael V. Experimental characterization and numerical modeling of tissue electrical conductivity during pulsed electric fields for irreversible electroporation treatment planning. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, IEEE, v. 59, n. 4, p. 1076–1085, 2012.

RAMOS, Airton; SUZUKI, Daniela O. H. Computational Approach for Electrical Analysis of Biological Tissue Using the Equivalent Circuit Model. *In*: MIKLAVČIČ, D. (Ed.). **Handbook of Electroporation**. Cham: Springer, 2017. P. 1179–1198.

REMS, L. Lipid pores: Molecular and continuum models. *In*: MIKLAVČIČ, D. (Ed.). **Handbook of Electroporation**. Cham: Springer, 2017. P. 3–24.

ROSSMEISL, John H; GARCIA, Paulo A; PANCOTTO, Theresa E; ROBERTSON, John L; HENAO-GUERRERO, Natalia; NEAL, Robert E; ELLIS, Thomas L; DAVALOS, Rafael V. Safety and feasibility of the NanoKnife system for irreversible electroporation ablative treatment of canine spontaneous intracranial gliomas. **Journal of neurosurgery**, American Association of Neurological Surgeons, v. 123, n. 4, p. 1008–1025, 2015.

RUARUS, A. H.; VROOMEN, L. G. P. H.; PUIJK, R. S.; SCHEFFER, H. J.; FAES, T. J. C.; MEIJERINK, M. R. Conductivity rise during irreversible electroporation:

True permeabilization or heat? **Cardiovascular and interventional radiology**, Springer, v. 41, n. 8, p. 1257–1266, 2018.

SANTOS, Maria Tereza. **A técnica que dá choques no câncer de pâncreas**. Veja Saúde. Mar. 2021. Disponível em: <https://saude.abril.com.br/medicina/tecnica-que-da-choques-no-cancer-de-pancreas-chega-ao-brasil/>. Acesso em: 3 jun. 2022.

SARDESAI, Niranjana Y; WEINER, David B. Electroporation delivery of DNA vaccines: prospects for success. **Current opinion in immunology**, Elsevier, v. 23, n. 3, p. 421–429, 2011.

SCUDERI, Maria; DERMOL-ČERNE, Janja; BATISTA NAPOTNIK, Tina; CHAIGNE, Sebastien; BERNUS, Olivier; BENOIST, David; SIGG, Daniel C; REMS, Lea; MIKLAVČIČ, Damijan. Characterization of Experimentally Observed Complex Interplay between Pulse Duration, Electrical Field Strength, and Cell Orientation on Electroporation Outcome Using a Time-Dependent Nonlinear Numerical Model. **Biomolecules**, MDPI, v. 13, n. 5, p. 727, 2023.

SEL, Davorka; CUKJATI, David; BATIUSKAITE, Danute; SLIVNIK, Tomaz; MIR, Lluís M; MIKLAVČIČ, Damijan. Sequential finite element model of tissue electropermeabilization. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, IEEE, v. 52, n. 5, p. 816–827, 2005.

SHAFIEE, Hadi; GARCIA, Paulo A; DAVALOS, Rafael V. A preliminary study to delineate irreversible electroporation from thermal damage using the arrhenius equation. **ASME**, v. 131, p. 074509-1 –074509-5, 2009.

SIEGEL, Rebecca L; MILLER, Kimberly D; FUCHS, Hannah E; JEMAL, Ahmedin. Cancer statistics, 2021. **CA: a cancer journal for clinicians**, Wiley Online Library, v. 71, n. 1, p. 7–33, 2021.

SPORN, Michael B. The war on cancer. **Lancet (London, England)**, v. 347, n. 9012, p. 1377–1381, 1996.

SUNG, Hyuna; FERLAY, Jacques; SIEGEL, Rebecca L; LAVERSANNE, Mathieu; SOERJOMATARAM, Isabelle; JEMAL, Ahmedin; BRAY, Freddie. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36

cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, Wiley Online Library, v. 71, n. 3, p. 209–249, 2021.

SUZUKI, Daniela O. H. **Estudo da condutividade elétrica de suspensões de eritrócitos de ratos durante aplicação de campos elétricos intensos**: Teoria, modelagem e experimentação. 2009. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Curso de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, Florianópolis.

SUZUKI, Daniela O. H.; ANSELMO, Jânio; OLIVEIRA, Krishna D de; FREYTAG, Jennifer O; RANGEL, Marcelo MM; MARQUES, Jefferson LB; RAMOS, Airton. Numerical model of dog mast cell tumor treated by electrochemotherapy. **Artificial Organs**, Wiley Online Library, v. 39, n. 2, p. 192–197, 2015.

TEISSIE, J. Mechanistic description of membrane electropermeabilization. *In*: MIKLAVČIČ, D. (Ed.). **Handbook of Electroporation**. Cham: Springer, 2017. P. 451–472.

VALERIO, Massimo; DICKINSON, Louise; ALI, Afia; RAMACHANDRAN, Navin; DONALDSON, Ian; FREEMAN, Alex; AHMED, Hashim U; EMBERTON, Mark. A prospective development study investigating focal irreversible electroporation in men with localised prostate cancer: Nanoknife Electroporation Ablation Trial (NEAT). **Contemporary clinical trials**, Elsevier, v. 39, n. 1, p. 57–65, 2014.

VASAN, Sandhya *et al.* In vivo electroporation enhances the immunogenicity of an HIV-1 DNA vaccine candidate in healthy volunteers. **PloS one**, Public Library of Science San Francisco, USA, v. 6, n. 5, e19252, 2011.

WEAVER, James C; CHIZMADZHEV, Yu A. Theory of electroporation: A review. **Bioelectrochemistry and bioenergetics**, Elsevier, v. 41, n. 2, p. 135–160, 1996.

WIDERA, Georg *et al.* Increased DNA vaccine delivery and immunogenicity by electroporation in vivo. **The Journal of Immunology**, American Association of Immunologists, v. 164, n. 9, p. 4635–4640, 2000.

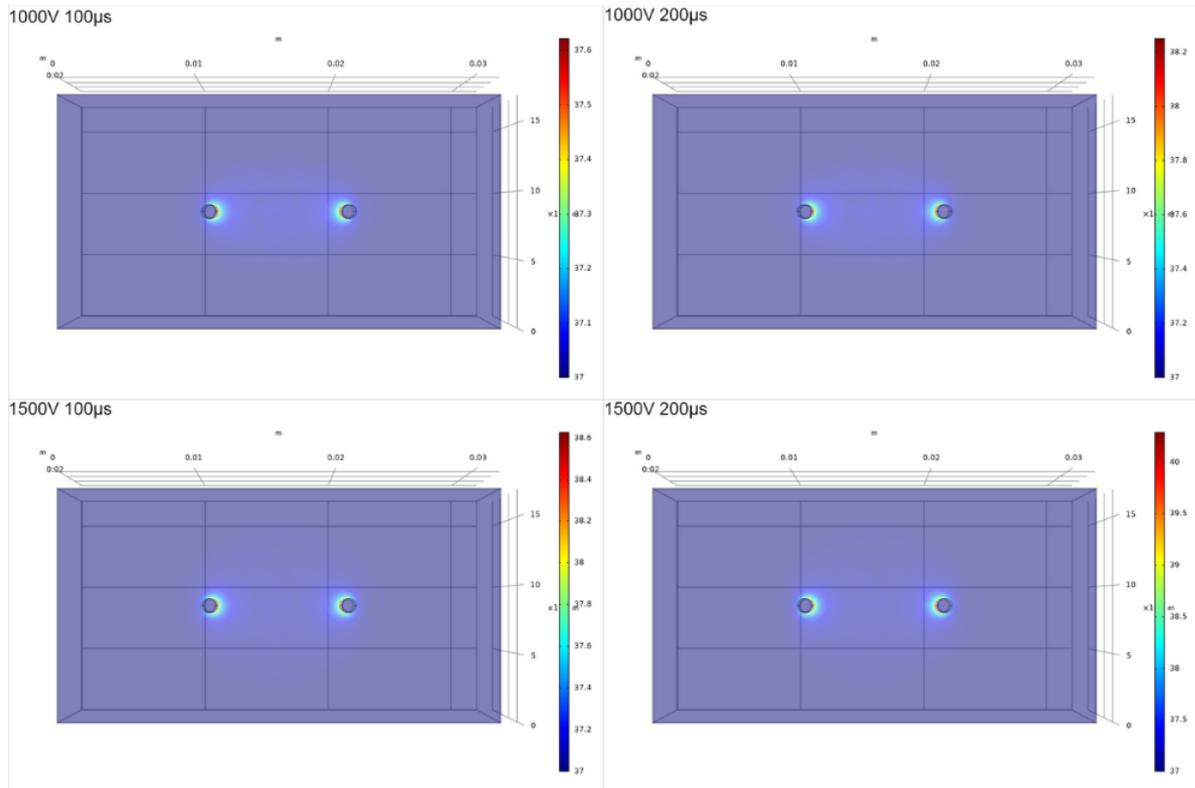
WILD, CHRISTOPHER P; WEIDERPASS, ELISABETE; STEWART, BERNARD W. **World cancer report**. Lyon: World Health Organization, 2020.

---

ZHAO, Yajun; BHONSLE, Suyashree; DONG, Shoulong; LV, Yanpeng; LIU, Hongmei; SAFAAI-JAZI, Ahmad; DAVALOS, Rafael V; YAO, Chenguo. Characterization of conductivity changes during high-frequency irreversible electroporation for treatment planning. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, IEEE, v. 65, n. 8, p. 1810–1819, 2017.

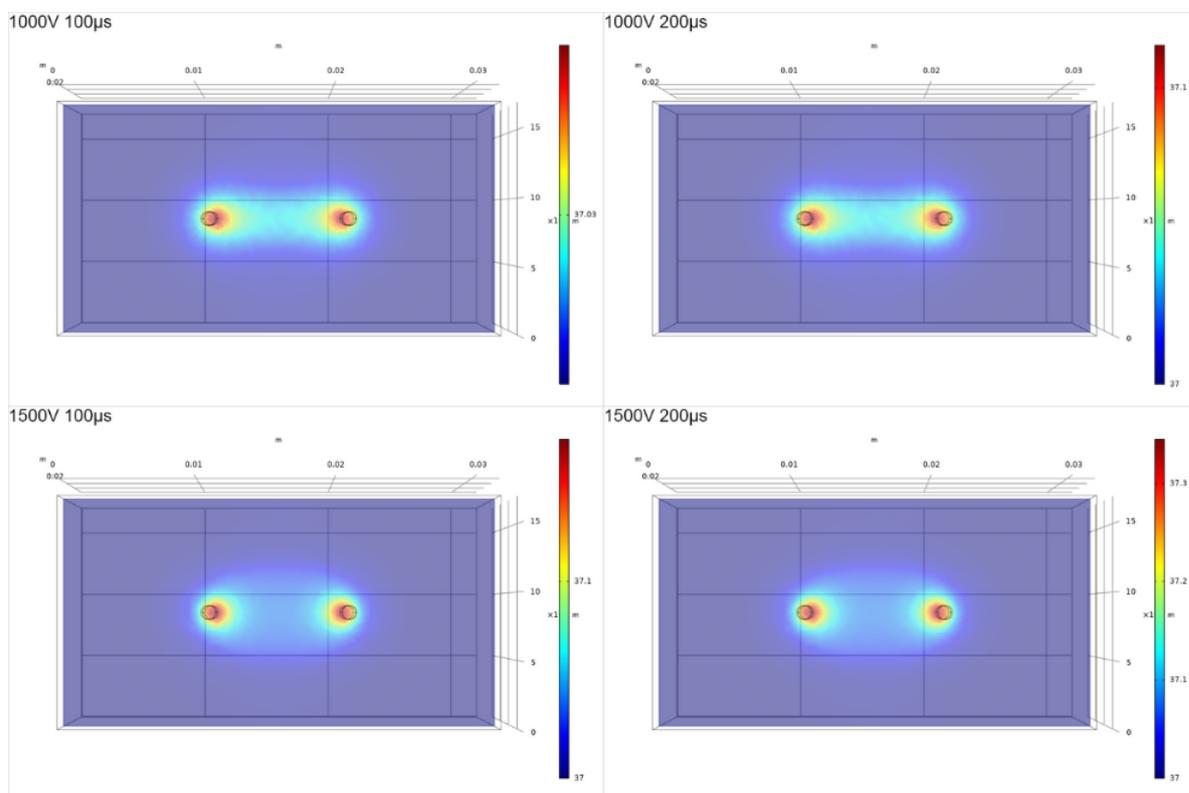
## APÊNDICE A – CORTES ADICIONAIS PARA O FÍGADO EVIDENCIANDO TEMPERATURA

Figura 15 – Corte XY mostrando a temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) 1mm abaixo da superfície para o fígado.



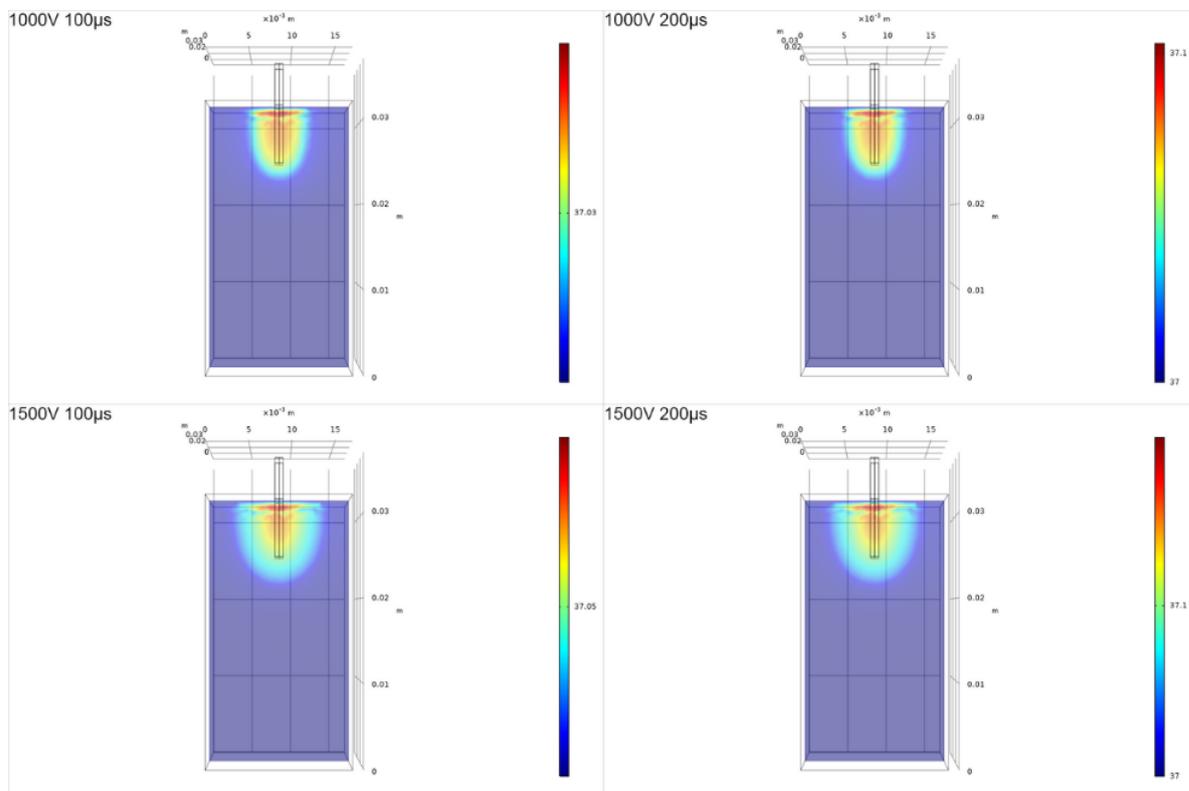
Fonte: O autor.

Figura 16 – Corte XY mostrando a temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) 1mm abaixo dos eletrodos para o fígado.



Fonte: O autor.

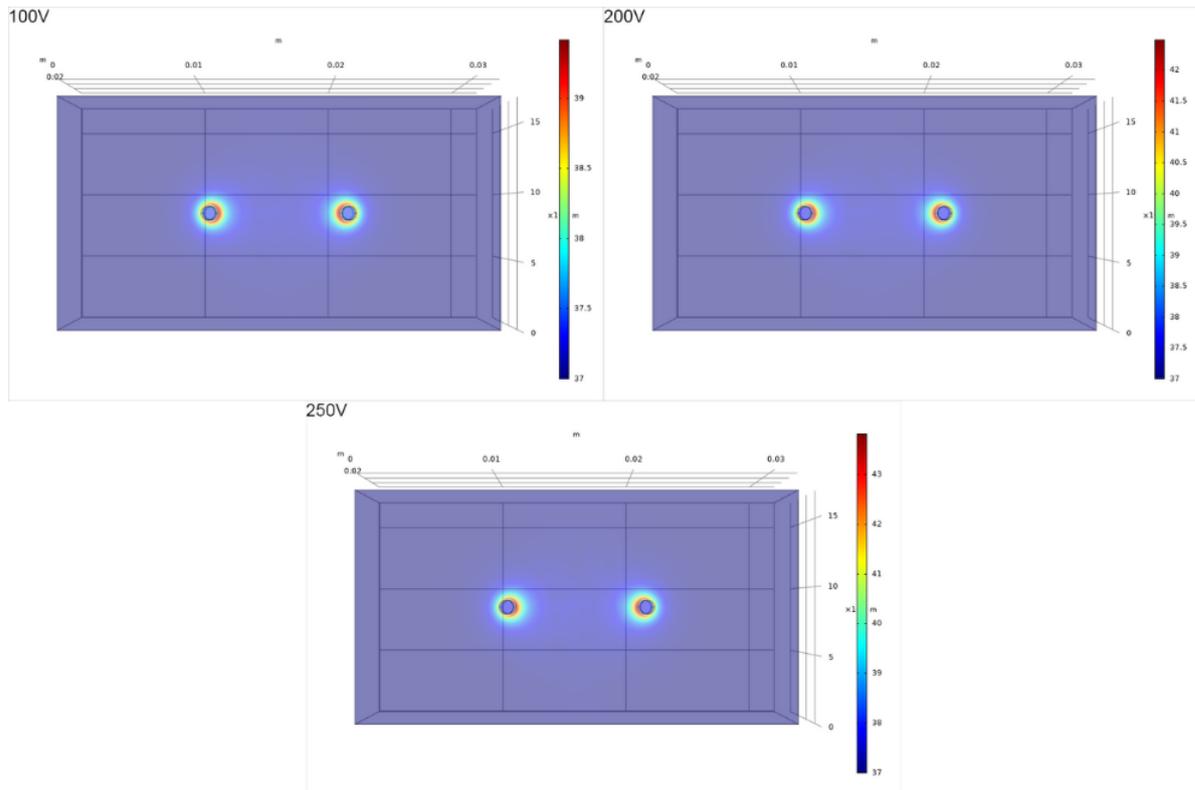
Figura 17 – Corte YZ mostrando a temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) entre eletrodos para o fígado.



Fonte: O autor.

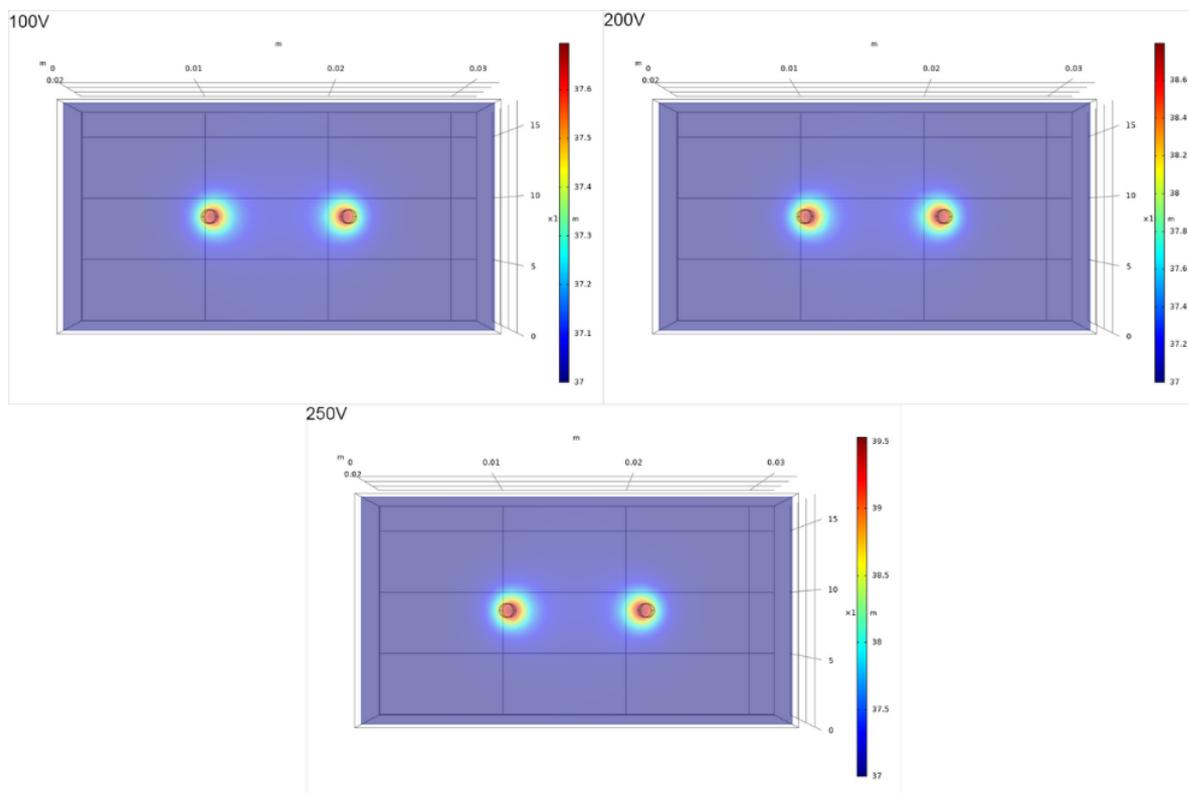
## APÊNDICE B – CORTES ADICIONAIS PARA O MÚSCULO EVIDENCIANDO TEMPERATURA

Figura 18 – Corte XY mostrando a temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) 1mm abaixo da superfície para o músculo.



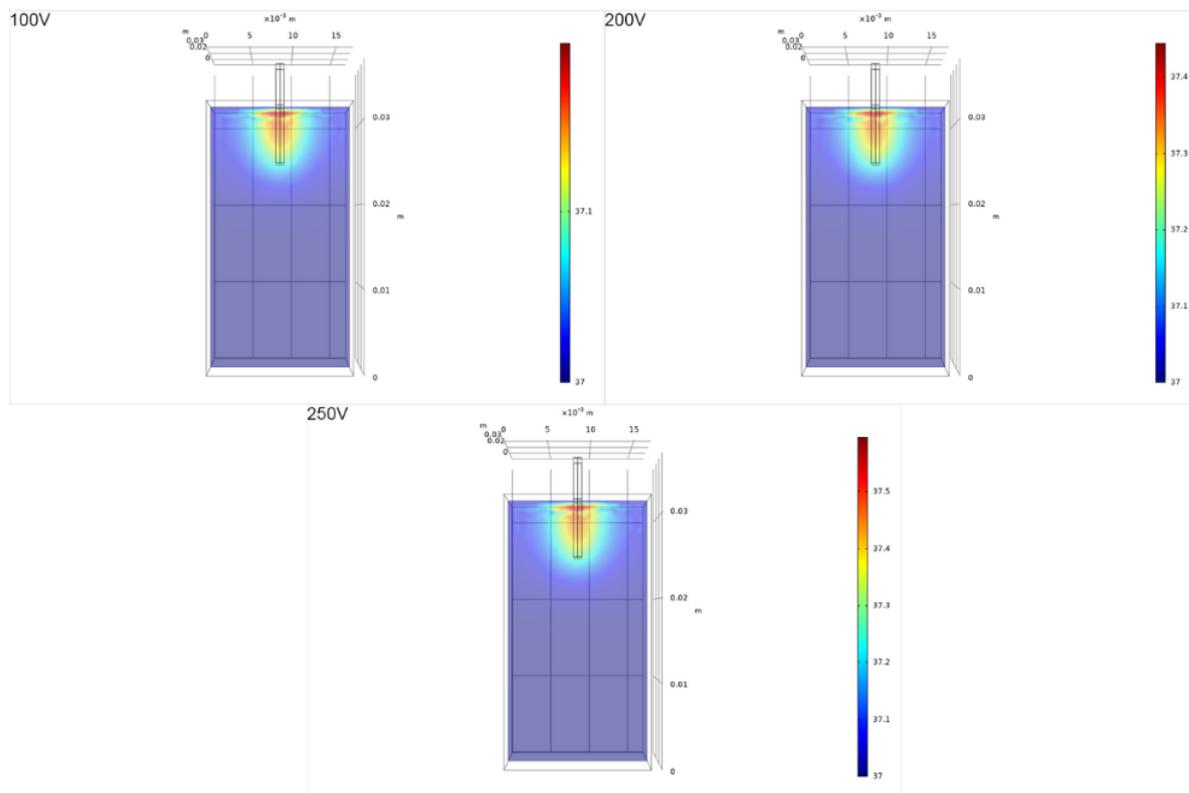
Fonte: O autor.

Figura 19 – Corte XY mostrando a temperatura (°C) 1mm abaixo dos eletrodos para o músculo.



Fonte: O autor.

Figura 20 – Corte YZ mostrando a temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) entre eletrodos para o músculo.



Fonte: O autor.