

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA ELÉTRICA E ELETRÔNICA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELETRÔNICA

Pedro Paulo Santos Gomes da Silva

Estudo *in vitro* da bioimpedância elétrica antes e depois da eletroporação

Florianópolis

2021

Pedro Paulo Santos Gomes da Silva

Estudo *in vitro* da bioimpedância elétrica antes e depois da eletroporação

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Engenharia Eletrônica do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Eletrônica.
Orientadora: Profa. Daniela Ota Hisayasu Suzuki, Dra.
Coorientador: Eng. Guilherme Brasil Pintarelli, Me.

Florianópolis

2021

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

Silva, Pedro Paulo Santos Gomes da
Estudo in vitro da bioimpedância elétrica antes e depois
da eletroporação / Pedro Paulo Santos Gomes da Silva ;
orientadora, Daniela Ota Hisayasu Suzuki, coorientador,
Guilherme Brasil Pintarelli, 2021.
61 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico,
Graduação em Engenharia Eletrônica, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Engenharia Eletrônica. 2. Eletroporação. 3.
Bioimpedância elétrica. 4. Campos elétricos pulsados. I.
Suzuki, Daniela Ota Hisayasu . II. Pintarelli, Guilherme
Brasil . III. Universidade Federal de Santa Catarina.
Graduação em Engenharia Eletrônica. IV. Título.

Pedro Paulo Santos Gomes da Silva

Estudo *in vitro* da bioimpedância elétrica antes e depois da eletroporação

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia Eletrônica e aprovado em sua forma final pelo Curso de Engenharia Eletrônica.

Florianópolis, 01 de outubro de 2021.



Documento assinado digitalmente
Fernando Rangel de Sousa
Data: 03/10/2021 20:41:44-0300
CPF: 884.649.114-91
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Fernando Rangel de Sousa, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:



Documento assinado digitalmente
Daniela Ota Hisayasu Suzuki
Data: 01/10/2021 17:07:42-0300
CPF: 928.397.389-53
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

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



Documento assinado digitalmente
Guilherme Brasil Pintarelli
Data: 01/10/2021 17:30:08-0300
CPF: 084.523.129-46
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Guilherme Brasil Pintarelli, Me. EE.
Coorientador
Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente

Jefferson Luiz Brum Marques

Data: 01/10/2021 17:41:09-0300

CPF: 457.624.060-91

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Jefferson Luiz Brum Marques, PhD.
Avaliador
Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente

MAURICIO MARTINS TAQUES

Data: 01/10/2021 17:31:03-0300

CPF: 661.317.239-15

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Maurício Taques, Dr.
Avaliador
Instituto Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado a minha tia Darci (*in memoriam*), por ter participado da minha criação, pelo eterno apoio e motivação

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, aos meus pais, Marcos e Érika, e aos meus avós, Pedro e Gina, pela boa criação, educação e apoio durante toda a minha vida.

Agradeço aos demais familiares, em especial aos meus tios, Jane e Eder, e aos meus primos, Thauan e Luana, por tornarem a vida mais leve com a sua presença.

Agradeço ao Instituto de Engenharia Biomédica, em especial aos meus orientadores Professora Daniela e Guilherme, e aos amigos Afrânio e Pedro Pagano, pela oportunidade, pelos ensinamentos e também pelo apoio na realização deste trabalho.

Agradeço a todo o Departamento de Engenharia Elétrica e Eletrônica da Universidade Federal de Santa Catarina, aos professores e aos grandes amigos que ele me trouxe.

Agradeço a todo o Departamento de Matemática, em especial a monitoria, aos professores e aos grandes amigos que ele me trouxe.

Agradeço aos grandes amigos da Congregação Cristã no Brasil, que sempre me apoiaram e me ensinaram a manter a minha fé.

Agradeço a toda Etec Takashi Morita, aos grandes amigos que levo para toda vida e aos professores, em especial à Professora Regina, Professora Tatiane e ao Professor Augusto, pela excelentíssima educação de base e por ter ajudado a formar o ser humano que eu sou hoje.

E agradeço também a todos que participaram da minha jornada, sempre somando+.

Igual Jesus, no caminho da luz todo mundo é preto.
(Emicida, 2019)

RESUMO

A eletroquimioterapia é uma técnica que visa melhorar ou substituir tratamentos tradicionais contra o câncer, utilizando a eletroporação. Ela apresenta resultados mais rapidamente e reduz drasticamente os efeitos colaterais em relação à quimioterapia convencional. Os protocolos atuais determinam um procedimento padrão para a aplicação da eletroquimioterapia, porém caso o tratamento seja considerado ineficiente, o que pode levar dias, uma vez que não há *feedback* visual imediato do tecido tratado, o protocolo é reaplicado. Como a eletroporação altera a impedância elétrica do material, o sensoriamento por impedância permite o sensoriamento da dinâmica de eletroporação. Nesse trabalho foi desenvolvida uma técnica para medição de impedância durante o processo de eletroporação utilizando pulsos quadrados entre os pulsos de eletroporação, de forma a obter-se os dados necessários para extração da impedância, afim de ter um acompanhamento mais preciso da dinâmica de eletroporação. Para isso, foi necessário desenvolver circuitos eletrônicos e algoritmos para o posterior processamento do conteúdo harmônico, para que se consiga monitorar a ocorrência da eletroporação. Os resultados deste trabalho demonstram que existe variação na impedância antes e depois da eletroporação. Este efeito pode ser obtido através da aplicação de ondas quadradas e análise das componentes de frequência com erros de 5% no espectro de frequência de 1kHz a 30kHz.

Palavras-chave: Eletroporação, Campos Elétricos Pulsados, Impedância elétrica.

ABSTRACT

Electrochemotherapy is a technique that aims to improve or replace traditional cancer treatments by using electroporation. It delivers results faster and dramatically reduces side effects compared to conventional chemotherapy. The current protocols dictate a standard procedure for applying electrochemotherapy, but if the treatment is deemed ineffective, which can take days because there is no immediate visual feedback from the treated tissue, the protocol is reapplied. Since electroporation changes the electrical impedance of the material, impedance sensing allows the sensing of electroporation dynamics. In this work we developed a technique for impedance measurement during the electroporation process using square pulses between electroporation pulses, in order to obtain the necessary data for impedance extraction, in order to have a more precise follow-up of the electroporation dynamics. For this, it was necessary to develop electronic circuits and algorithms for further processing of the harmonic content, in order to monitor the occurrence of electroporation. The results of this work demonstrate that there is a variation in impedance before and after electroporation. This effect can be obtained by applying square waves and analyzing the frequency components with 5% errors in the frequency spectrum from 1kHz to 30kHz.

Keywords: Electroporation, Pulsed Electric Fields, Electrical Impedance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Um órgão doente, possuindo células e tecidos normais, a esquerda, e células e tecidos cancerosos, a direita.	27
Figura 2 – Processo de metástase de um tumor.	28
Figura 3 – Esquemático do processo de EP, apresentando os limiares e efeitos das regiões da EP. E_{RE} é o limiar de eletroporação reversível, E_{IRE} é o limiar de eletroporação irreversível e E_{TERM} é o limiar de eletroporação com lesão térmica.	29
Figura 4 – Passos de aplicação típica da ECT.	30
Figura 5 – Constante dielétrica de um material biológico x frequência [Hz].	31
Figura 6 – Esquema de variação de impedância no tecido causado pela EP.	32
Figura 7 – Sinal ímpar e com simetria de meia onda.	34
Figura 8 – Formas de onda sugerida para EP, com pulsos de alta tensão para EP (vermelho) e pulsos de baixa tensão para a leitura da impedância (azul).	35
Figura 9 – Circuito desenvolvido.	36
Figura 10 – Caminho das correntes no circuito.	36
Figura 11 – Diagrama do cálculo da impedância.	37
Figura 12 – Esquema para leitura de tensão e corrente na carga.	38
Figura 13 – Esquema de eletrodos e tecido vegetal utilizado para testes <i>in vitro</i>	40
Figura 14 – Circuito e Resultados da validação da topologia no PSIM.	41
Figura 15 – Tensão da saída na carga do circuito completo.	42
Figura 16 – Circuito e resultados da validação da programação no PSIM.	43
Figura 17 – Resultado do processamento de dados extraídos do PSIM.	44
Figura 18 – Tensão e corrente na carga conhecida, sendo a corrente mensurada usando a tensão do R_{SHUNT}	45
Figura 19 – Resultado do processamento de dados extraídos experimentalmente.	46
Figura 20 – Tensão e corrente na batata, sendo a corrente mensurada usando a tensão do R_{SHUNT}	47
Figura 21 – Variação das impedâncias causada pela EP.	48
Figura 22 – Leitura das impedâncias.	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores utilizados para a simulação no PSIM.	42
Tabela 2 – Valores reais dos componentes utilizados.	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CRUK	<i>Cancer Research United Kingdom</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ECT	Eletroquimioterapia
EP	Eletroporação
ESOPE	Padrões Europeus de Procedimentos de Eletroquimioterapia
EVVIVAX	<i>Engineered Veterinary Vected Immunotherapy and Vaccines</i>
FFT	Transformada Rápida de Fourier
IEB	Instituto de Engenharia Biomédica
INCA	Instituto Nacional de Câncer
IRE	Eletroporação Irreversível
IVC	Instituto Vencer o Câncer
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
PEF	Campos Elétricos Pulsados
PSIM	<i>Power Simulation</i>
RE	Eletroporação Reversível
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina

LISTA DE SÍMBOLOS

E_{RE}	Limiar da eletroporação reversível
E_{IRE}	Limiar da eletroporação irreversível
E_{TERM}	Limiar de dano térmico
R	Resistor
$x(t)$	Sinal no tempo
ω_0	Frequência fundamental
c_n	Coefficientes da série exponencial de Fourier
$X(f)$	Transformada de Fourier de um sinal no tempo
\exists	Existe
\in	Pertence
\mathbb{N}	Números naturais
$ $	Tal que
\mathbb{C}^*	Números complexos não nulos
\forall	Para todo
\mathbb{R}	Números reais
U	Potencial elétrico
Q	Transistor
V	Tensão elétrica
Z	Impedância elétrica
I	Corrente elétrica
C	Capacitor

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
1.1	OBJETIVO GERAL	25
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
1.3	ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO	26
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	27
2.1	CÂNCER E QUIMIOTERAPIA	27
2.2	ELETROPORAÇÃO E ELETROQUIMIOTERAPIA	28
2.3	MONITORAMENTO DA ELETROPORAÇÃO	31
2.4	BASES DE FOURIER	33
3	MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1	CIRCUITO	35
3.2	PROGRAMAÇÃO	37
3.3	MÉTODO DE LEITURA	37
3.4	TESTES INICIAIS	38
3.5	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	39
4	RESULTADOS	41
4.1	ESTUDO DA TOPOLOGIA	41
4.2	FUNCIONAMENTO DO CIRCUITO	41
4.3	VALIDAÇÃO DA PROGRAMAÇÃO COM RESULTADOS DE <i>SOFTWARE</i>	42
4.4	VALIDAÇÃO DA PROGRAMAÇÃO COM RESULTADOS EM CARGA CO- NHECIDA	45
4.5	LEITURA DE IMPEDÂNCIA DAS BATATAS	46
5	DISCUSSÃO	51
6	CONCLUSÃO	53
	REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), o câncer é a segunda principal causa de morte no mundo, pois causou 9,6 milhões de mortes no ano de 2018 (OPAS, 2020), 70% dessas mortes acontecem em países de baixa e média renda. No Brasil, só no ano de 2020 foram registrados 625 mil óbitos causados pelo câncer (INCA, 2021a).

O diagnóstico em estágio inicial, quando acompanhado de tratamento, pode aumentar a sobrevida dos pacientes em até 17 vezes (SOARES, L. R. *et al.*, 2015). Quimioterapia, radioterapia e imunoterapia são os tratamentos utilizados tanto em estágios iniciais quanto em estágios mais avançados da doença (KOWALSKI, 2018), sendo a quimioterapia o principal deles, representando 50% dos casos de câncer curados de 2017 a 2018 (CHU, 2018), porém esse tratamento apresenta diversos efeitos colaterais provocados pela dosagem necessária de quimioterápicos (IVC, 2021).

A Eletroquimioterapia é uma técnica inovadora de tratamento de câncer, baseada na quimioterapia (SPUGININI; PORRELLO, 2003), que possibilita o uso de uma quantidade menor de quimioterápicos, diminuindo os efeitos colaterais da quimioterapia tradicional (SANTANA, 2012). Além disso, a Eletroquimioterapia é um tratamento seletivo, ou seja, permite focalizar uma determinada região de interesse (tumor), enquanto preserva vizinhanças de tecido saudável. Porém, o protocolo atual fixa um procedimento padrão para a aplicação da Eletroquimioterapia (ESOPE, 2002; GEHL *et al.*, 2018), que não possui *feedback* imediato, ou seja, o médico deve aguardar dias para verificar se o tumor reduziu ou não. O sensoriamento da impedância do material eletroporado torna possível um acompanhamento mais preciso da dinâmica de Eletroquimioterapia (LÓPEZ-ALONSO *et al.*, 2020).

Dentro deste contexto, este trabalho visa analisar a possibilidade de leitura de impedância para detectar a Eletroporação (antes e depois do tratamento). Foi estudado usar o próprio conjunto de eletrodos, já normalmente aplicado ao tecido, para estimulação com o protocolo de Eletroquimioterapia. Foi utilizado o conteúdo harmônico de pulsos quadrados para a medição da impedância em frequências entre 1kHz a 30kHz em tecido vegetal *in vitro*.

1.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral desse trabalho é o estudo de um sistema para sensoriamento da Eletroporação e teste em tecido vegetal.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Simulações de topologia de circuitos elétricos.

- Programação de algoritmos para análise de impedância.
- Validação de medições elétricas em cargas conhecidas.
- Experimentação com tecido vegetal, com medições de tensões elétricas.

1.3 ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO

O capítulo 2 aborda os princípios e definições dos temas relacionados ao trabalho, tais como o câncer e tratamentos, formação de poros na membrana plasmática de tecidos vegetais com a aplicação de Campos Elétricos Pulsados, denominado Eletroporação, aplicação de Campos Elétricos Pulsados para tratamento de tumores e alteração da impedância elétrica do tecido vegetal causada pela Eletroporação.

No capítulo 3 são definidos os métodos e materiais utilizados para alcançar os objetivos deste trabalho, tais como *softwares* de simulações de circuitos elétricos e a programação utilizada para análise dos dados.

Os resultados são mostrados no capítulo 4 e discutidos no capítulo 5, e apresentados em divisão tal qual estabelecida no capítulo 3. Por fim, no capítulo 6 são expostas as conclusões obtidas a partir da realização deste trabalho.

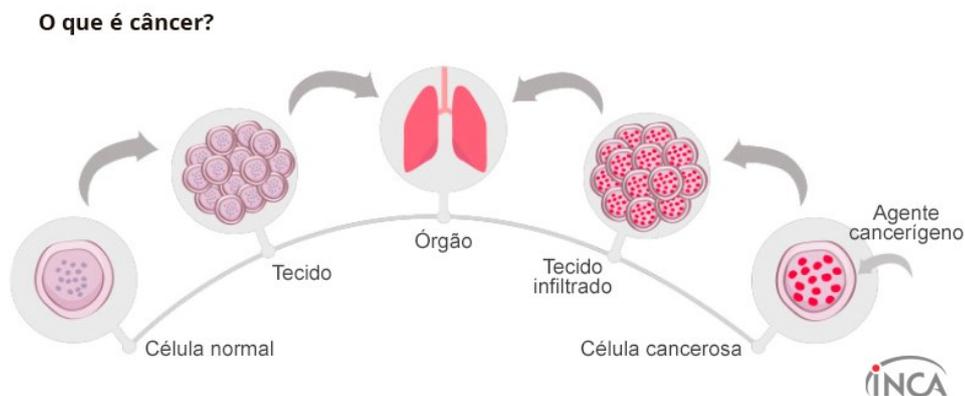
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Nessa sessão será feita uma breve revisão de conceitos biológicos e matemáticos importantes para o entendimento dos procedimentos, de forma a embasar os experimentos que seguem.

2.1 CÂNCER E QUIMIOTERAPIA

Câncer é um termo que engloba mais de 100 doenças diferentes, mas normalmente é caracterizado pelo crescimento desordenado das células, que podem invadir tecidos e órgãos próximos e distantes. Uma célula originária de câncer geralmente possui a superexpressão de fatores de crescimento ou a falta de proteínas supressoras da divisão, esses fatores podem provocar divisões celulares descontroladas e sem regulação, que podem originar um tumor. Os diferentes tipos de câncer podem ser diferenciados a partir do tipo de célula que o originou, quando eles surgem do tecido epitelial (como pele e mucosas), são denominados carcinomas e quando surgem do tecido conjuntivo (como osso, músculo e cartilagem), são denominados sarcomas. Os órgãos com câncer são compostos por células e tecidos normais e por células e tecidos cancerosos, como é mostrado na Figura 1 (INCA, 2020b).

Figura 1 – Um órgão doente, possuindo células e tecidos normais, a esquerda, e células e tecidos cancerosos, a direita.



Fonte – (INCA, 2020b)

O câncer causa alterações na estrutura molecular do Ácido desoxirribonucleico (DNA) das células, que carrega a sua informação genética. Essas alterações são chamadas de mutações, e fazem com que as células parem de agir, crescer e se dividir como deveriam. Ao se dividir descontroladamente, elas podem se desprender do órgão ou tecido que se originaram e alcançar outros tecidos ou órgãos pelo corpo, no processo chamado de metástase (INCA, 2020a), como mostrado na Figura 2. O câncer se torna perigoso quando surge em,

ou atinge por metástase, órgãos essenciais para a vida, atrapalhando o funcionamento desses órgãos e podendo levar à morte do indivíduo infectado (CRUK, 2019).

Figura 2 – Processo de metástase de um tumor.



Fonte – (INCA, 2020a)

Segundo o INCA (2021b) "A Quimioterapia é um tratamento que utiliza medicamentos para destruir as células doentes que formam um tumor". Esses medicamentos são levados até o tumor, e até as demais partes do corpo, pela corrente sanguínea, destruindo células doentes e saudáveis no processo. Os principais objetivos da quimioterapia são: eliminar completamente o tumor, ter um controle sobre a metástase do tumor (quando a eliminação completa não é possível) e melhorar a qualidade de vida do usuário e aumentar a sua sobrevivência (ONCOGUIA, 2021).

Porém, como as células cancerígenas possuem uma permeabilidade da membrana celular até 11 vezes menor quando comparada a uma célula saudável (RIVEL *et al.*, 2018), o que dificulta a entrega de fármacos para o tecido tumoral (WILHELM *et al.*, 2003), o uso de uma grande quantidade de quimioterápicos se faz necessário. Como a quimioterapia afeta as células que se dividem muito rápido é comum que os pacientes submetidos à quimioterapia tenham vários efeitos colaterais, como queda de cabelo, queda das unhas e descamação das mãos e dos pés (IVC, 2021).

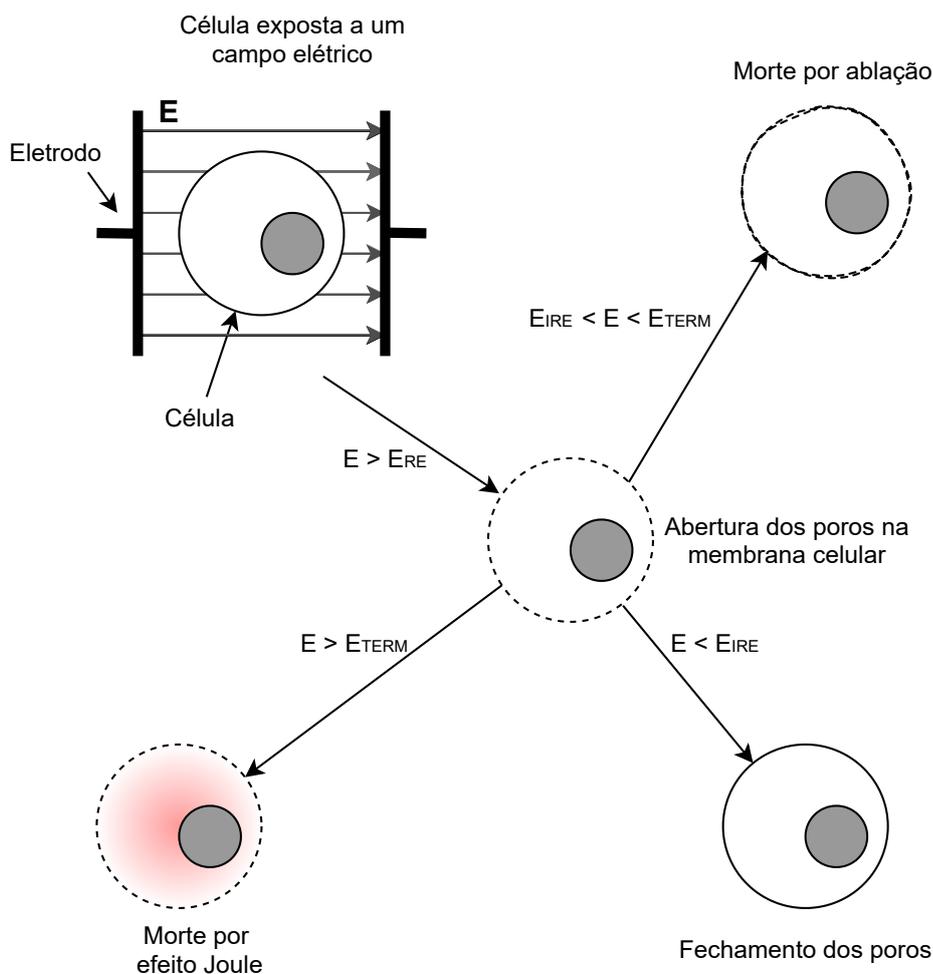
2.2 ELETROPORAÇÃO E ELETROQUIMIOTERAPIA

A Eletroporação (EP) é uma técnica que possibilita a criação de poros na membrana celular com a aplicação de Campos Elétricos Pulsados (PEF)^[1], aumentando a sua

^[1] Do inglês, *Pulsed Electric Fields*.

permeabilidade (NEUMANN *et al.*, 1982). O aumento da permeabilidade possibilita a transferência de fármacos, material genético e de outros produtos químicos para o interior da célula (WEAVER *et al.*, 1996). O processo de EP é ilustrado na Figura 3.

Figura 3 – Esquemático do processo de EP, apresentando os limiares e efeitos das regiões da EP. E_{RE} é o limiar de eletroporação reversível, E_{IRE} é o limiar de eletroporação irreversível e E_{TERM} é o limiar de eletroporação com lesão térmica.



Fonte – autor

A intensidade do PEF no material a ser eletroporado determina o tipo de efeito, sendo dividida em 2 categorias, a Eletroporação Reversível (RE)^[I], a Eletroporação Irreversível (IRE)^[III]. Além disso, também é possível causar danos térmicos ao material.

A RE não apresenta danos ao material eletroporado, acontecendo somente o aumento da permeabilidade das células através da abertura de poros na membrana celular, e o fechamentos desses poros com a retirada do campo elétrico. Para que a RE ocorra, é necessário que um limiar de intensidade de campo elétrico, chamado E_{RE} , seja ultrapassado (WEAVER *et al.*, 1996). A IRE acontece quando o campo elétrico excede um novo limiar,

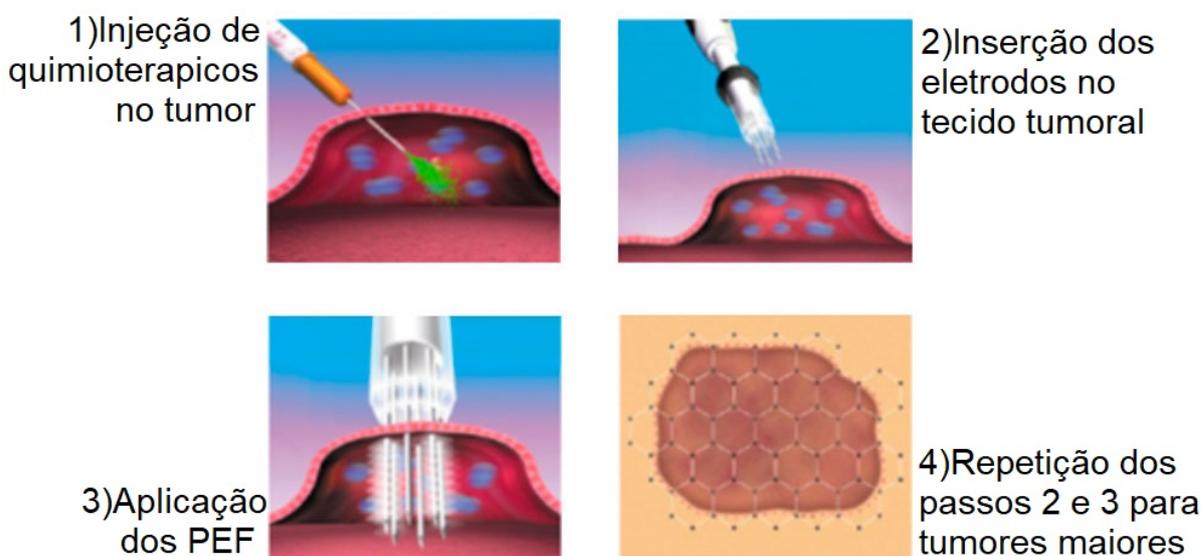
^[I] Do inglês, *Reversible electroporation*.

^[III] Do inglês, *Irreversible electroporation*.

chamado E_{IRE} . Quando se atinge esse limiar, os poros da membrana celular não se fecham com a retirada do campo elétrico, levando à ablação (morte) do material eletroporado (IVORRA, 2010). E o dano térmico acontece quando o campo elétrico atinge um novo limiar, chamado E_{TERM} . Quando esse limiar é atingido acontecem lesões no material eletroporado causadas por efeito Joule (PLIQUETT, 2003). O dano térmico deve ser evitado em tratamento por EP.

A Eletroquimioterapia (ECT)^[IV] é um procedimento que consiste na junção da quimioterapia com a EP no tumor, aumentando a permeabilidade da membrana celular das células tumorais e, conseqüentemente, aumentando a absorção dos quimioterápicos (SPUGININI *et al.*, 2003). O processo típico de aplicação da ECT consiste de quatro etapas principais que são mostradas na Figura 4. A aplicação dos PEF é feita com o uso de eletrodos e aplicação de diferenças de potenciais entre eles (passo 3). A ECT é uma técnica que aumenta a gama de aplicações da quimioterapia, tornando-a um tratamento menos invasivo e mais seletivo (RANGEL *et al.*, 2019), pois diminui os efeitos colaterais, mutilações e o tempo de resposta ao tratamento (SANTANA, 2012).

Figura 4 – Passos de aplicação típica da ECT.



Fonte – adaptado de EVVIVAX (2016)

Os fármacos mais estudados na ECT são a bleomicina e a cisplatina, que apresentam naturalmente uma baixa permeabilidade na membrana celular (SPUGININI *et al.*, 2003). O processo de absorção da bleomicina (chamado endocitose, em que a célula engloba a substância para poder absorvê-la) é lento, o que acaba limitando a sua eficiência. Com o uso da EP, a entrada da substância é facilitada, aumentando o seu efeito em até 8000 vezes. Já a cisplatina, que também apresenta naturalmente uma baixa taxa de absorção celular, tem o seu efeito aumentado em até 80 vezes com a EP (RANGEL *et al.*, 2008).

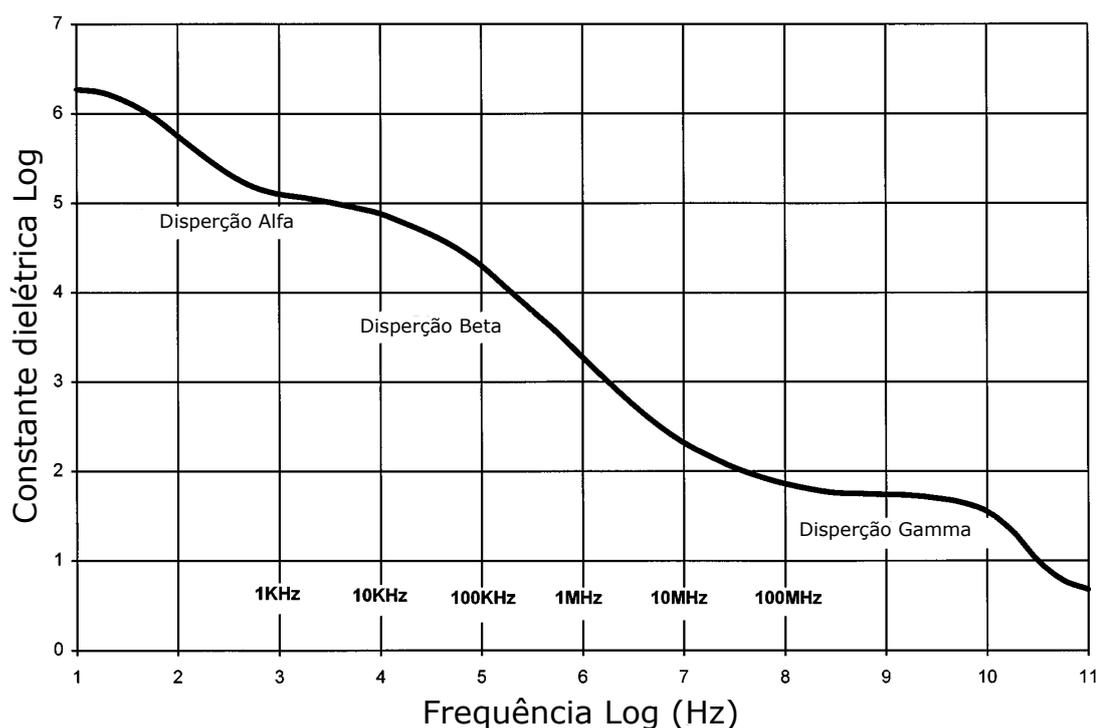
^[IV]Do inglês, *Electrochemotherapy*.

A Padrões Europeus de Procedimentos de Eletroquimioterapia (ESOPE)^[V], responsável por uniformizar as aplicações clínicas em células e tecidos, e estabelecer procedimentos padrões para a ECT (ESOPE, 2002; GEHL *et al.*, 2018), recomenda um determinado protocolo de PEF, que contém um número específico de pulsos e intensidade, além de orientações de aplicação em função do número e tamanho dos nódulos. Após a aplicação desses PEF, caso o tratamento se mostre ineficiente, o que pode levar dias, o tratamento é inteiramente reaplicado (LÓPEZ-ALONSO *et al.*, 2020).

2.3 MONITORAMENTO DA ELETROPORAÇÃO

Bioimpedância elétrica é a leitura da impedância elétrica de amostras biológicas. Esse parâmetro pode refletir algumas condições fisiológicas dos materiais, ou eventos como a EP. Schwan (1957) definiu 3 dispersões características na constante dielétrica de materiais biológicos, que são mostradas na Figura 5.

Figura 5 – Constante dielétrica de um material biológico x frequência [Hz].



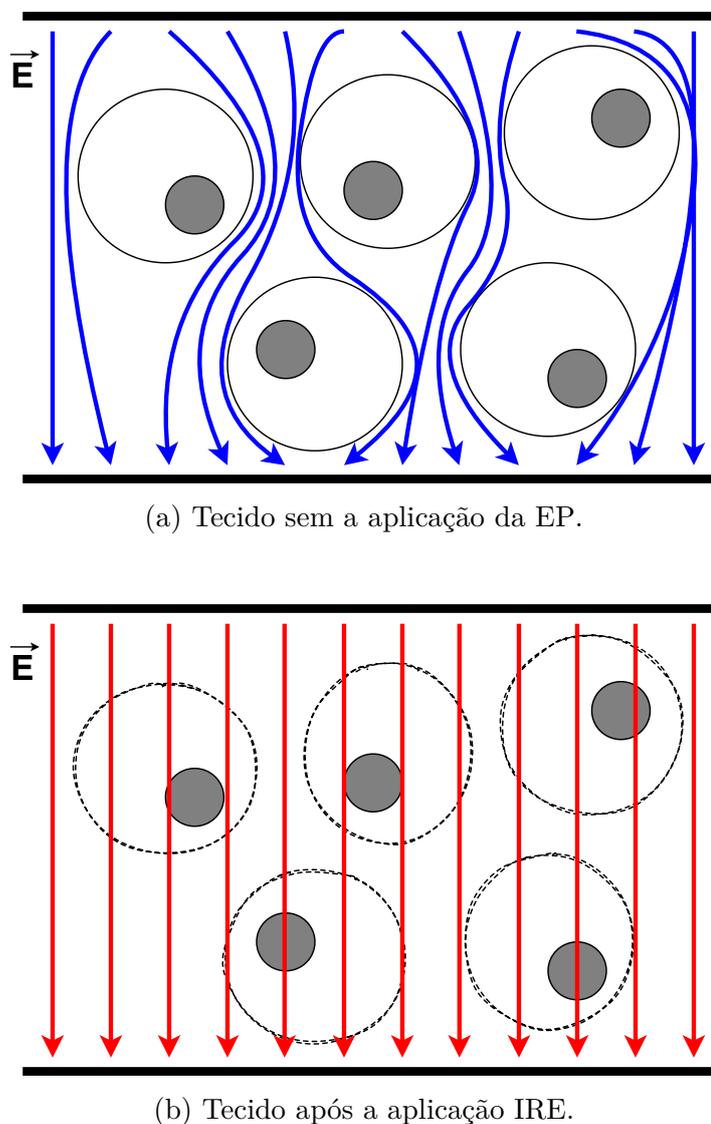
Fonte – adaptado de De Lorenzo *et al.* (1997).

As dispersões, Alfa e Beta, aparecem de 10 até as dezenas de MHz são associadas com processos de difusão iônica (dispersão Alfa) e com propriedades dielétricas das membranas celulares (dispersão Beta) (IVORRA, 2003). O processo de EP, ao criar os poros na membrana celular, altera a sua constante dielétrica, alterando também a dispersão beta (IVORRA *et al.*, 2009).

^[V] Do inglês, *European Standards Procedures on Electrochemotherapy*.

Além da variação na constante dielétrica do material, o processo de EP também causa uma alteração na condutância elétrica da membrana celular (IVORRA *et al.*, 2009). Essas alterações na condutância e na constante dielétrica da membrana levam numa alteração da impedância elétrica do material eletroporado (ZHAO *et al.*, 2018) e a leitura dessa impedância torna possível o monitoramento do processo de EP como um todo (LORENZO *et al.*, 2021; LÓPEZ-ALONSO *et al.*, 2020). O esquema da mudança de impedância é mostrado na Figura 6, onde 6a representa o tecido sem a aplicação da EP e 6b representa o tecido após a aplicação IRE. As setas indicam o caminho da corrente elétrica em baixa frequência. As membranas celulares, devido à sua característica capacitiva, dificultam a passagem da corrente. Caso as membranas possuam alterações, como a abertura de poros causada pela EP, o caminho da corrente elétrica é facilitado.

Figura 6 – Esquema de variação de impedância no tecido causado pela EP.



Fonte – autor

2.4 BASES DE FOURIER

A série de Fourier de um sinal periódico $x(t)$, com período T e frequência fundamental ω_0 , é a decomposição deste sinal na soma infinita de funções periódicas elementares (como senos e cossenos) cada uma sobre uma frequência que seja múltipla de ω_0 (CURTARELLI, 2020). A sua lei de formação é dada pela equação (1).

$$x(t) = \sum_{n=-\infty}^{\infty} c_n e^{jn\omega_0 t} \quad (1)$$

A Transformada de Fourier de um sinal qualquer no tempo $x(t)$, denominada $X(f)$ e definida pela equação (2), é utilizada para analisar o comportamento em frequência de um sinal (CURTARELLI, 2020).

$$X(f) = \int_{-\infty}^{\infty} x(t) e^{-jft} dt \quad (2)$$

Sabe-se que a Transformada de Fourier de um sinal periódico é uma sequência de impulsos que coincide com os coeficientes c_n da série de Fourier, sendo possível estender algumas das propriedades da Série de Fourier para a Transformada de Fourier, em especial a propriedade da série de Fourier de sinais ímpares com simetria de meia onda (LATHI, 2007).

Seja $x(t)$ um sinal periódico com período T e ímpar^[VI], ele é dito simétrico de meia onda se, e somente se, $x(t) = -x(t + T/2)$. Um sinal ímpar e simétrico de meia onda é mostrado na Figura 7. Podemos ver que, além da antissimetria presente em múltiplos inteiros de T , devido ao sinal ser ímpar, existe uma simetria nos múltiplos ímpares de $T/2$, devido ao sinal ser simétrico de meia onda. Além disso, todo sinal ímpar e simétrico de meia onda tem seus coeficientes de Fourier c_n dados pela equação (3) (ZANINOTTO *et al.*, 2015).

$$c_n = \begin{cases} 0, & \text{se } n \text{ for par} \\ C, & \text{se } n \text{ for ímpar} \end{cases} \quad (3) \quad \exists n \in \mathbb{N} \mid C \in \mathbb{C}^* \quad (4)$$

Portanto, a série de Fourier e a Transformada de Fourier de um sinal ímpar com simetria de meia onda só possui valores não nulos para múltiplos ímpares de sua frequência fundamental ω_0 .

^[VI]um sinal ímpar é um sinal que $x(-t) = -x(t) \forall t \in \mathbb{R}$ (MATEMATICA, 2021).

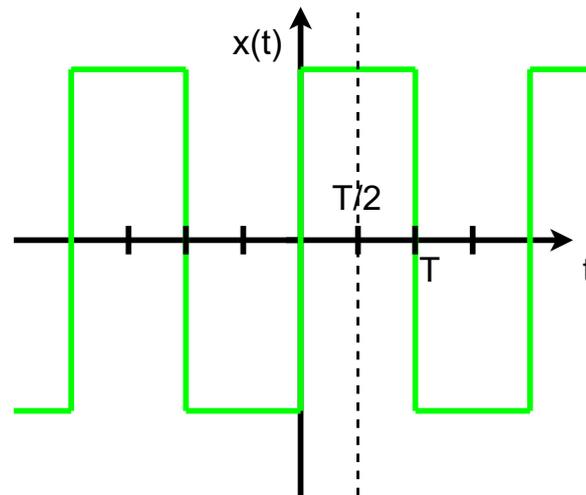


Figura 7 – Sinal ímpar e com simetria de meia onda.

Fonte – autor

A Transformada Rápida de Fourier (FFT)^[VII] é uma técnica computacional que consiste no cálculo da Transformada de Fourier de uma forma mais eficiente (ROCKMORE, 2000), sendo capaz de ser implementada digitalmente. Porém, por se tratar de uma versão truncada da Transformada de Fourier, a FFT possui erros de quantização que são intrínsecos e constantes com a frequência (JAMES, 1975).

^[VII]Do inglês, *Fast Fourier Transform*.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O propósito desse trabalho é o desenvolvimento de uma técnica para monitorar a dinâmica da EP através do monitoramento da variação da impedância. Para isso, um trem de pulsos quadrados de baixa tensão é produzido entre os pulsos de alta tensão da EP (LÓPEZ-ALONSO *et al.*, 2020).

A forma de onda da tensão proposta para ser aplicada no material a ser eletroporado, mostrada na Figura 8, foi adaptada de LÓPEZ-ALONSO *et al.* (2020), porém com pulsos de EP bipolares, pois esses mostram diversas vantagens em relação aos pulsos bipolares (ARENA *et al.*, 2011). U_1 e U_2 são escolhidos respeitando os limiares de EP, sendo que U_1 não pode gerar quaisquer efeitos no material e U_2 precisa gerar um PEF entre E_{RE} e E_{IRE} para que ocorra a RE ou acima de E_{IRE} para que ocorra a IRE. A frequência na qual se quer caracterizar os materiais define a frequência dos trens de pulso de baixa tensão.

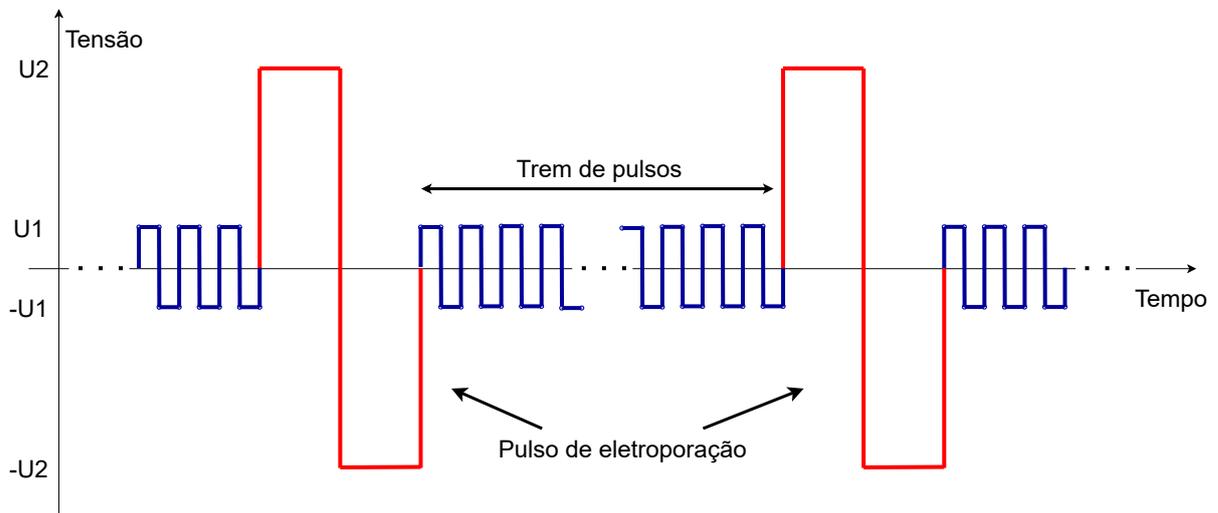


Figura 8 – Formas de onda sugerida para EP, com pulsos de alta tensão para EP (vermelho) e pulsos de baixa tensão para a leitura da impedância (azul).

Fonte – autor

3.1 CIRCUITO

Neste tópico será dado enfoque ao circuito implementado para produção da forma de onda mostrada na Figura 8. Foi desenvolvido um circuito baseado em Prabaharan *et al.* (2017) e esse circuito é mostrado na Figura 9. O circuito é composto por uma ponte H (arranjo de transistores Q_2 , Q_3 , Q_4 e Q_5), responsável pela troca do sentido da corrente na carga, e um transistor Q_1 , responsável pelo pulso de EP.

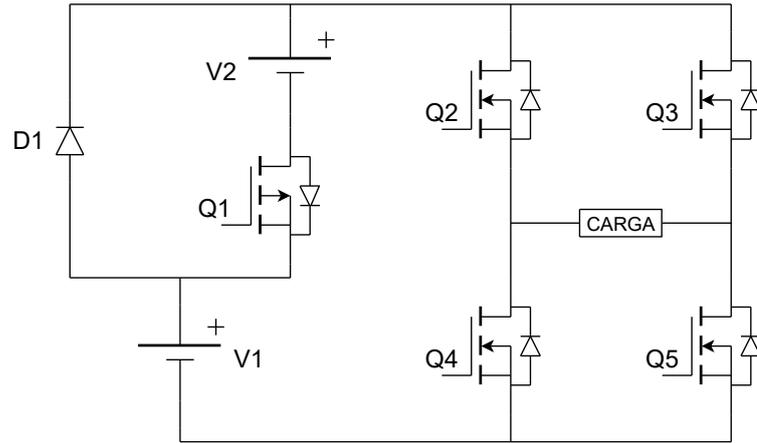
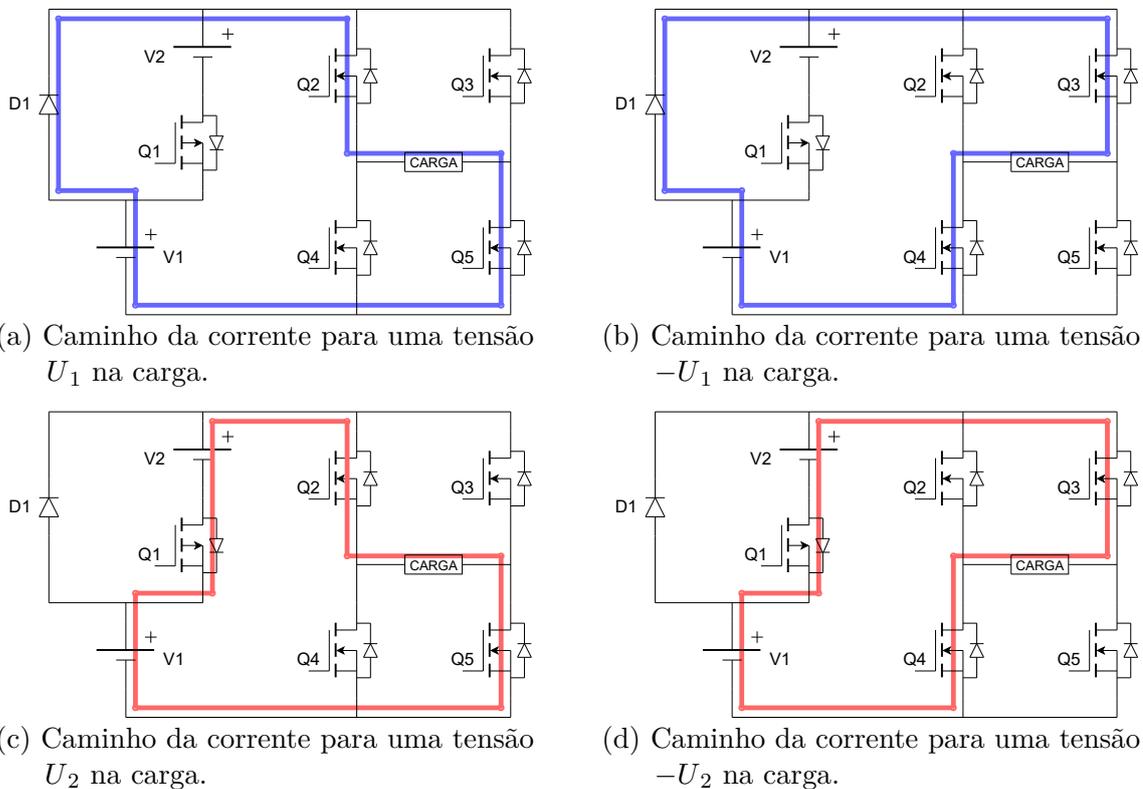


Figura 9 – Circuito desenvolvido.

Fonte – adaptado de Prabakaran *et al.* (2017)

Para se atingir o potencial de $+U_1$ na carga, aciona-se apenas os transistores Q_2 e Q_5 , para se atingir o potencial $+U_2$ o transistor Q_1 é acionado, além dos transistores Q_2 e Q_5 . Para se atingir os potenciais $-U_1$ e $-U_2$ o mesmo esquema é feito, porém com os transistores Q_3 e Q_4 no lugar dos transistores Q_2 e Q_5 . Os caminhos das correntes para cada uma dos casos é mostrado na Figura 10. As tensões V_1 e V_2 são determinadas pelo material a ser eletroporado ($V_1=U_1$ e $V_2=U_2 - V_1$).

Figura 10 – Caminho das correntes no circuito.



Fonte – autor

3.2 PROGRAMAÇÃO

Nesta tópicos será dado enfoque na programação utilizada para realizar o cálculo da impedância. Primeiramente foram extraídos da carga a tensão e a corrente, e então a impedância foi calculada a partir da equação (5) (LORENZO *et al.*, 2021).

$$Z(f) = \frac{V(f)}{I(f)} \quad (5)$$

Onde $V(f)$ e $I(f)$ são a FFT da tensão e da corrente na carga, respectivamente. Resultando, então, na transformada de Fourier da impedância, $Z(f)$, da carga. É importante notar que, como a tensão é um trem de pulsos, que é uma função ímpar com simetria de meia onda, sua transformada de Fourier só terá valores não-nulos para frequências múltiplas da frequência fundamental, o mesmo vale para a transformada de Fourier da impedância (LÓPEZ-ALONSO *et al.*, 2020; BHONSLE *et al.*, 2018).

A programação consiste no cálculo das FFT dos sinais de tensão e de corrente, seguida pela divisão dos sinais resultando na impedância e, para evitar valores não confiáveis gerados por ruído, são zerados todos os seus valores que estão fora dos múltiplos ímpares da frequência fundamental do trem de pulsos da tensão. O diagrama da Figura 11 ilustra esse processo.

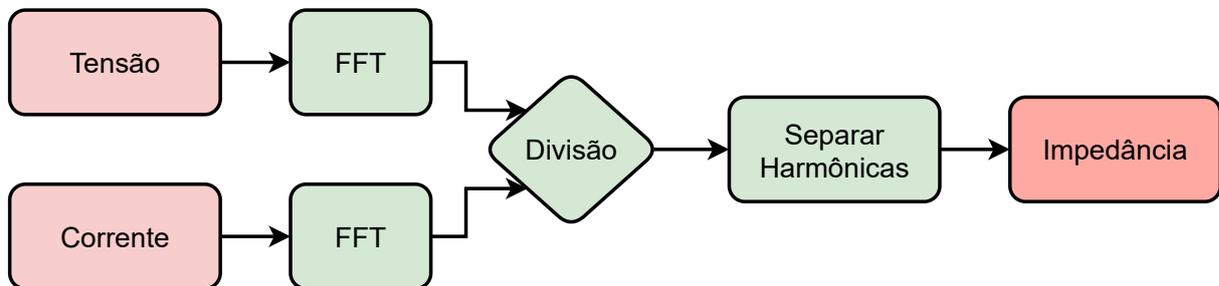


Figura 11 – Diagrama do cálculo da impedância.

Fonte – autor

3.3 MÉTODO DE LEITURA

Para medição de corrente e tensão entre os pulsos de tensão foi usado o método Tensão-Corrente (VÁZQUEZ-NAMBO *et al.*, 2020), onde a tensão e a corrente foram retirados em relação à mesma referência. A corrente foi obtida através da leitura da tensão em um resistor de baixa resistência (R_{SHUNT}), o esquema de leitura das tensões é mostrado na Figura 12.

A tensão sobre a carga é dada pela equação (6), e a corrente é dada pela equação (7).

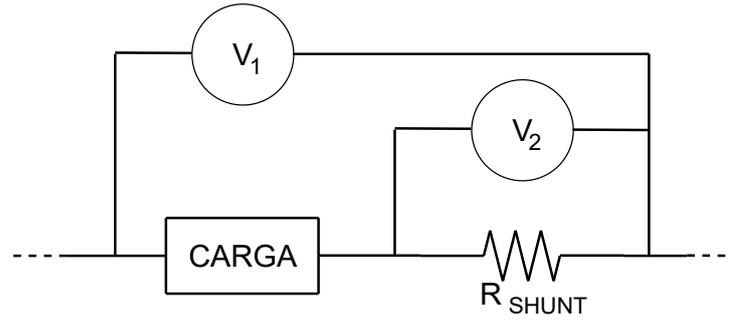


Figura 12 – Esquema para leitura de tensão e corrente na carga.

Fonte – autor

$$V_{\text{Carga}} = V_1 - V_2 \quad (6) \quad I_{\text{Carga}} = \frac{V_2}{R_{\text{SHUNT}}} \quad (7)$$

O equipamento utilizado para as medições das tensões foi o osciloscópio digital Tektronix TDS 1001B, que possui frequência de amostragem de 500 MS/s e 8 *bits* de resolução, com a ponteira Tektronix P2220 e o equipamento utilizado para as medições dos resistores e capacitores utilizados na validação, bem como o resistor R_{SHUNT} , foi o multímetro Aneng AN8009. Foi considerado que os valores lidos com o multímetro não sofreram alterações consideráveis com a frequência no escopo desse trabalho (ordem de kHz), ou seja, todos os erros foram causados pelo método de leitura proposto, por erros de discretização do osciloscópio e por ruído. Para as medições relativas ao circuito demonstrativo de geração de multiníveis discretos foi utilizado o osciloscópio analógico Caddo 802 com a ponteira Tektronix P6100.

3.4 TESTES INICIAIS

Antes de realizar os experimentos com tecido biológico, foram realizados alguns testes através de *software* e circuitos, de forma a validar a metodologia e a teoria expostas:

- Testes do circuito:
 - Para uma validação inicial da topologia, o circuito mostrado na Figura 9 foi montado no *software Power Simulation* (PSIM). As tensão das fontes foram $V_1 = 10V$ e $V_2 = 90V$, o que levou aos potenciais $U_1 = 10V$ e $U_2 = 100V$. Além disso, a frequência fundamental do trem de pulsos entre os pulsos de EP foi $f_{\text{Trem}}=42.5\text{kHz}$;
 - O circuito mostrado na Figura 9 foi montado em bancada, os transistores utilizados na ponte H foram os transistores IRF3205, o transistor S_1 utilizado foi o transistor IRF9640, o diodo D_1 foi o diodo 1N4004, fontes utilizadas para

V_1 e V_2 foram fontes de 5V e o acionamento dos transistores foi feito com um Arduino Uno.

- Testes do programa:
 - Para reproduzir o sistema de aquisição de dados utilizado no teste *in vitro*, o circuito da Figura 12 foi montado no PSIM. A fonte de alimentação do circuito é uma fonte de tensão quadrada com amplitude de 10V e frequência de 1kHz;
 - Para validar a programação e realizar uma comparação com os resultados de *software*, o circuito da Figura 12 foi montado em bancada. A fonte de alimentação do circuito é uma fonte de tensão quadrada com amplitude de 12V e frequência de 1kHz.

3.5 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Para estudar a variação de impedância causada pela EP foi conduzido um experimento de aplicação da EP alternada pela medição de impedância em 16 partes de batata (por se tratar do padrão *in vitro* para testar a EP (MIKLOVIC *et al.*, 2017)), sendo que 5 delas tiveram a impedância medida com trens de pulso de 1kHz e as outras 5 tiveram a impedância medida com trens de pulso de 10kHz, ambos com amplitude de 12V. Vale notar que a EP foi feita por uma sequência de 8 PEF, cada um com intensidade de 120kV/m (ESOPE, 2002; GEHL *et al.*, 2018). O campo elétrico foi aplicado, utilizando um eletroporador do Instituto de Engenharia Biomédica (IEB) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), com 4 eletrodos do tipo agulha inseridos no tecido vegetal, conforme a Figura 13. Definiu-se o campo elétrico máximo de 120 kV/m considerando a diferença de potencial entre cada par paralelo de 240 Volts. A distância entre eletrodos é de 2 mm, diâmetro agulha 0.7 mm e altura 10 mm. Segundo Ivorra, Mir e Rubinsky (2009) e Berkenbrock *et al.* (2018) 120kV/m provoca IRE no tecido vegetal, alterando a sua impedância. O grupo de controle é composto por 6 batatas, 3 com a impedância medida com trens de pulso de 1kHz e as outras 3 com pulsos de 10kHz. Todas as batatas eletroporadas tiveram a impedância medida com os trens de pulso, passaram pelo processo de EP, e tiveram a impedância novamente medida 1 minuto após a retirada do eletroporador. Já as batatas de controle tiveram a sua impedância medida com o trem de pulsos, foram colocadas no eletroporador, porém desligado, e tiveram novamente a sua impedância medida 1 minuto após a retirada do eletroporador.

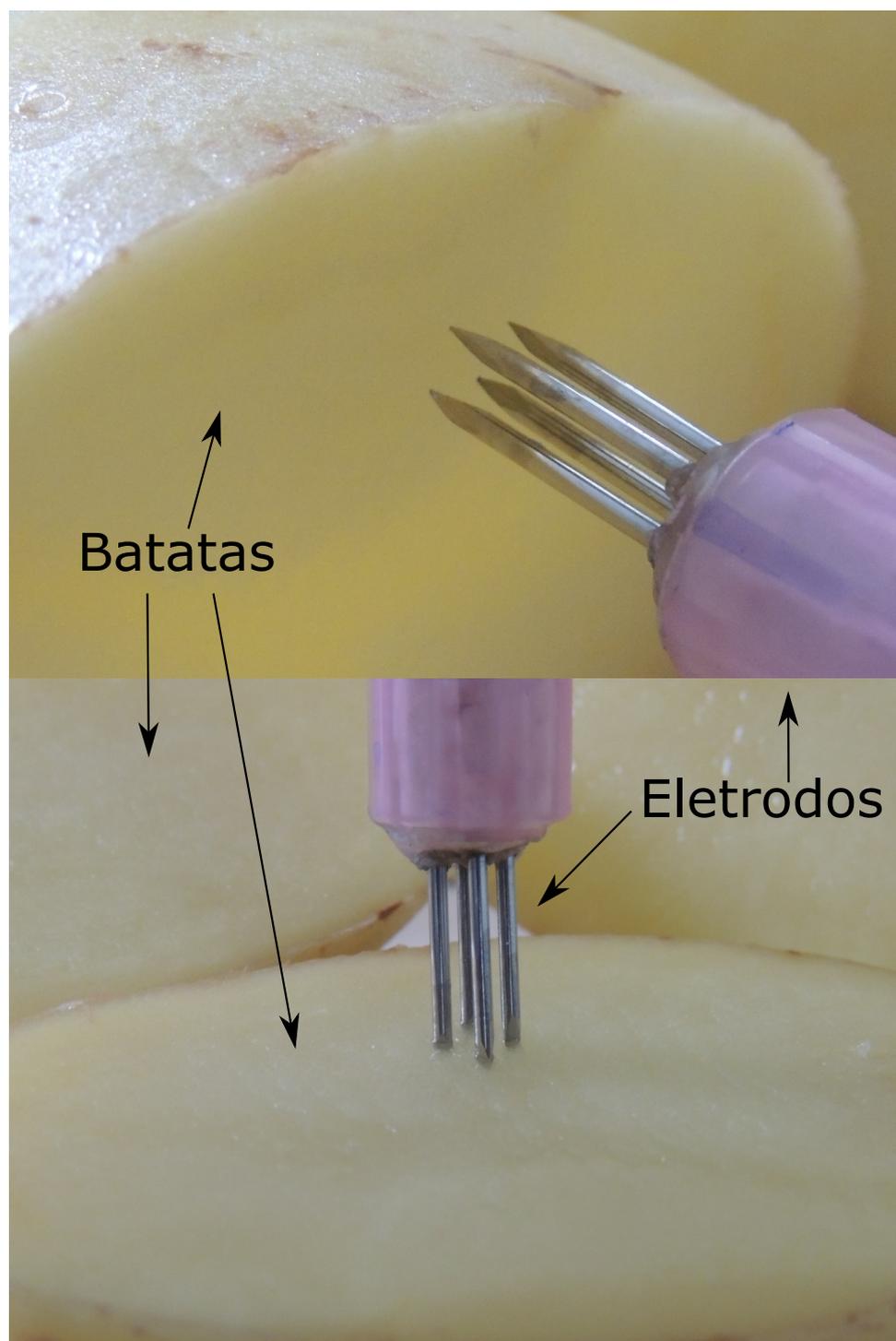


Figura 13 – Esquema de eletrodos e tecido vegetal utilizado para testes *in vitro*.

Fonte – autor

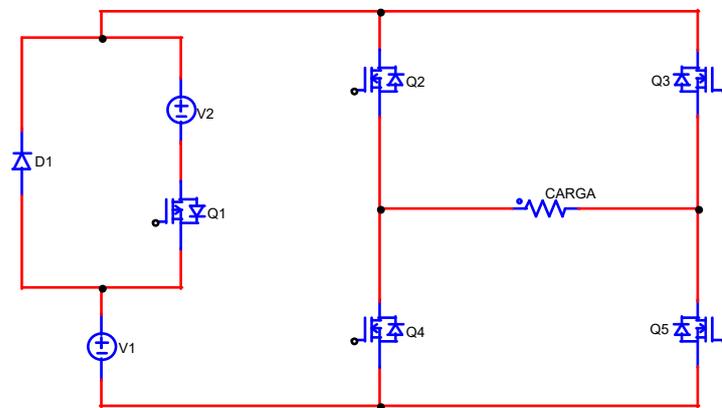
4 RESULTADOS

Nessa seção serão apresentados os resultados dos testes do circuito e da programação, bem como resultados da variação de impedância nas batatas.

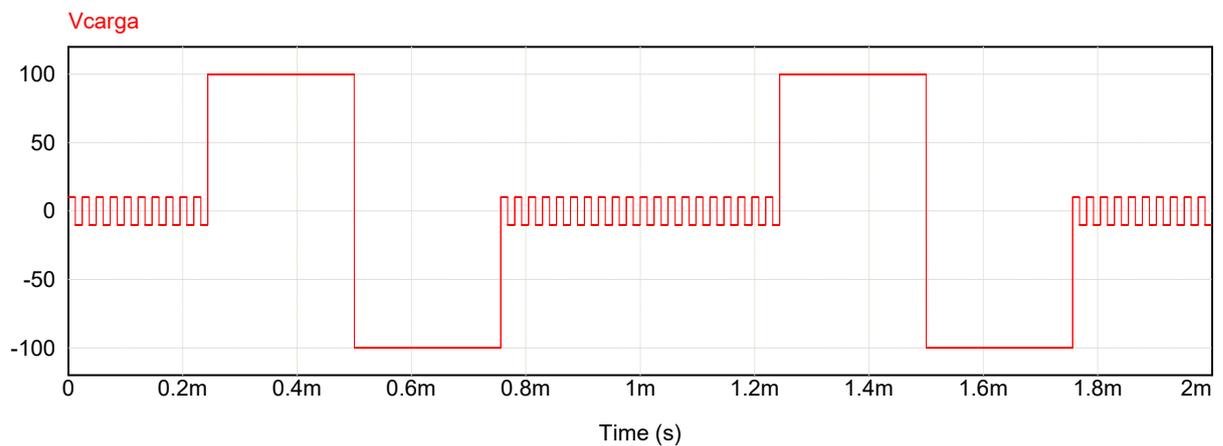
4.1 ESTUDO DA TOPOLOGIA

Os resultados da validação da topologia são mostrados na Figura 14. O circuito montado no *software* PSIM é mostrado na Figura 14a e a tensão de saída do circuito é mostrada na Figura 14b.

Figura 14 – Circuito e Resultados da validação da topologia no PSIM.



(a) Circuito montado no PSIM.



(b) Tensão de saída do circuito [V] x tempo [s].

Fonte – autor

4.2 FUNCIONAMENTO DO CIRCUITO

O resultado da montagem física do circuito mostrado na Figura 9 é mostrado na Figura 15. Esta figura mostra que é possível tensões contínuas em 4 níveis, $-5V$, $+5V$,

-10V e +10V.

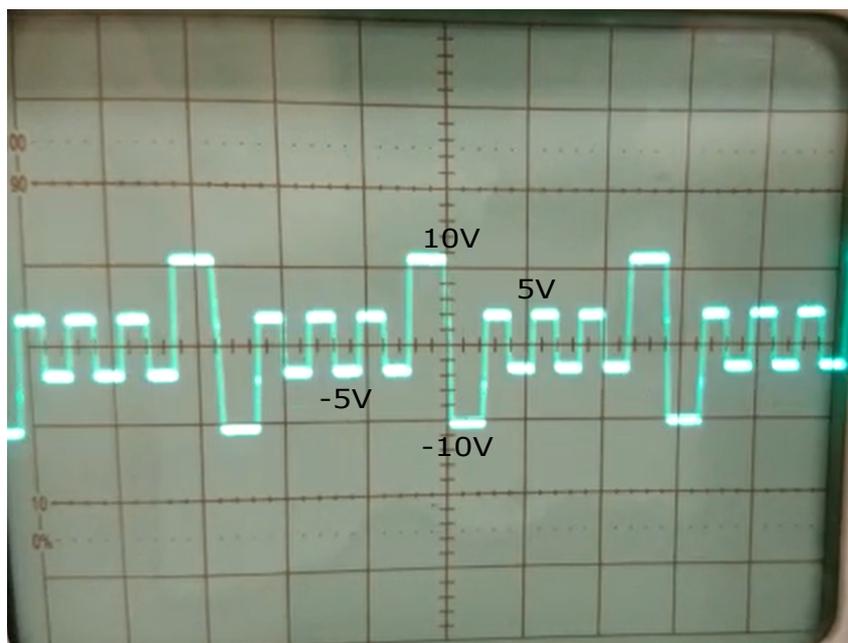


Figura 15 – Tensão da saída na carga do circuito completo.

Fonte – autor

4.3 VALIDAÇÃO DA PROGRAMAÇÃO COM RESULTADOS DE SOFTWARE

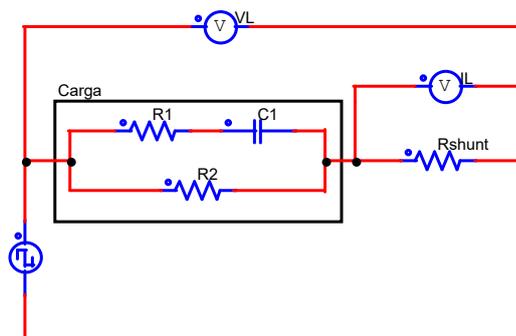
O circuito da Figura 16a foi montado no PSIM e os resultados das tensões são mostrados na Figura 16b. Os valores utilizados para os componentes mostrados na Figura 16a são mostrados na tabela 1.

Tabela 1 – Valores utilizados para a simulação no PSIM.

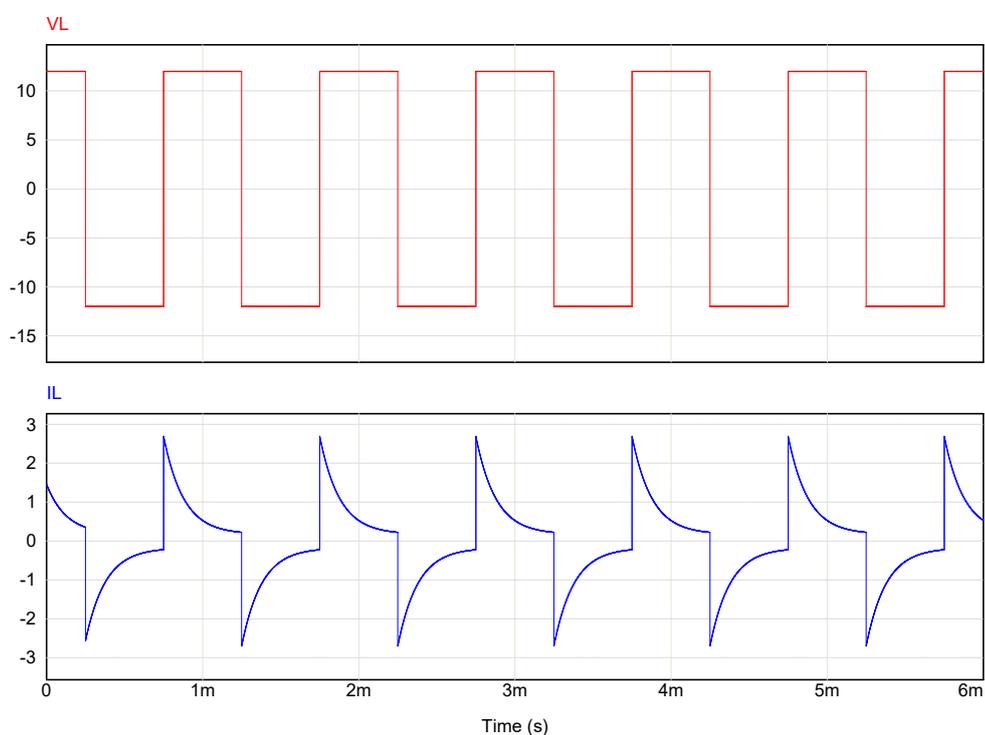
Componente	Valor utilizado
R_1	1 k Ω
R_2	100 Ω
R_{SHUNT}	15 Ω
C_1	1 μF

Fonte – autor

Figura 16 – Circuito e resultados da validação da programação no PSIM.



(a) Circuito montado no PSIM.

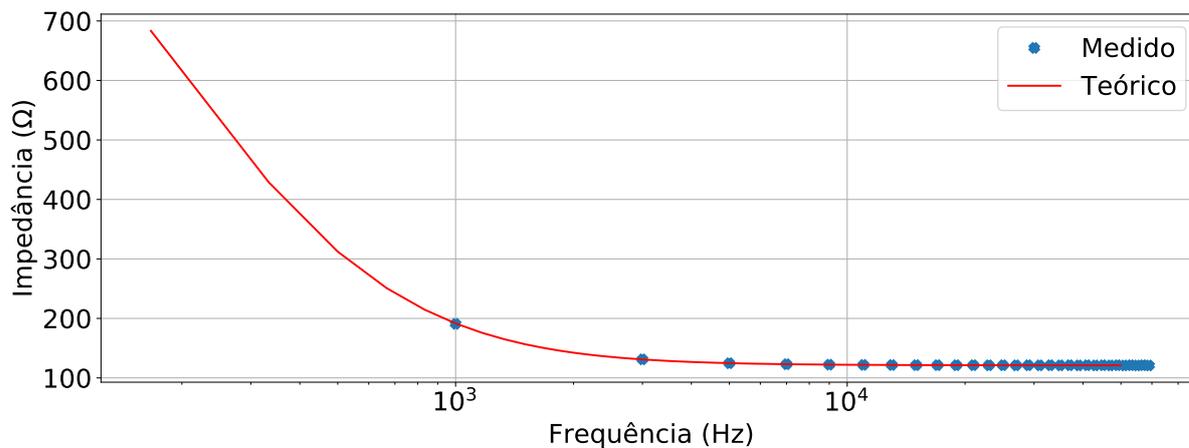
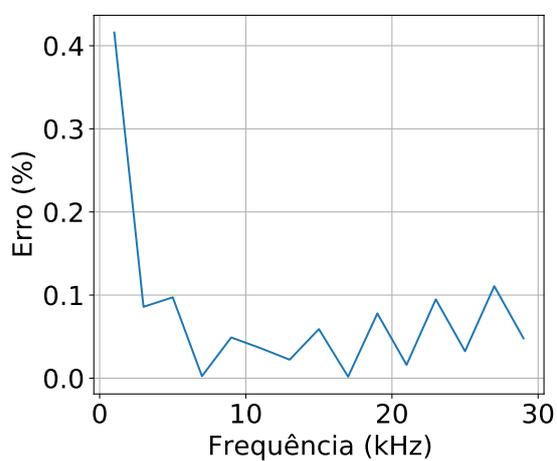
(b) Tensão na carga (vermelho) [V] e Tensão no R_{SHUNT} (azul) [V] x tempo [s].

Fonte – autor

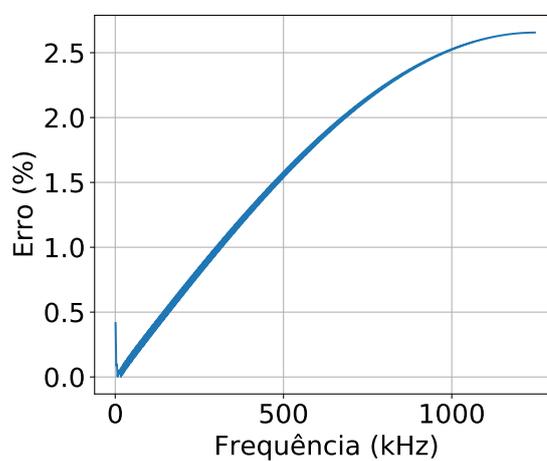
Os dados da Figura 16b foram processados pelo programa desenvolvido neste trabalho para o cálculo da impedância. O resultado do processamento, juntamente da impedância teórica é mostrado na Figura 17a, o erro das primeiras 15 harmônicas, calculado através da equação (8), e mostrado na Figura 17b e o erro em todo o espectro da FFT é mostrado na Figura 17c.

$$\text{Erro} = \frac{|Z_{\text{Teorico}} - Z_{\text{Medido}}|}{Z_{\text{Teorico}}} \quad (8)$$

Figura 17 – Resultado do processamento de dados extraídos do PSIM.

(a) Resultado do processamento [Ω] x frequência [Hz].

(b) Erro [%] x frequência [kHz] das primeiras 15 harmônicas.

(c) Erro [%] x frequência [kHz] em todo espectro da FFT testado no *software*.

Fonte – autor

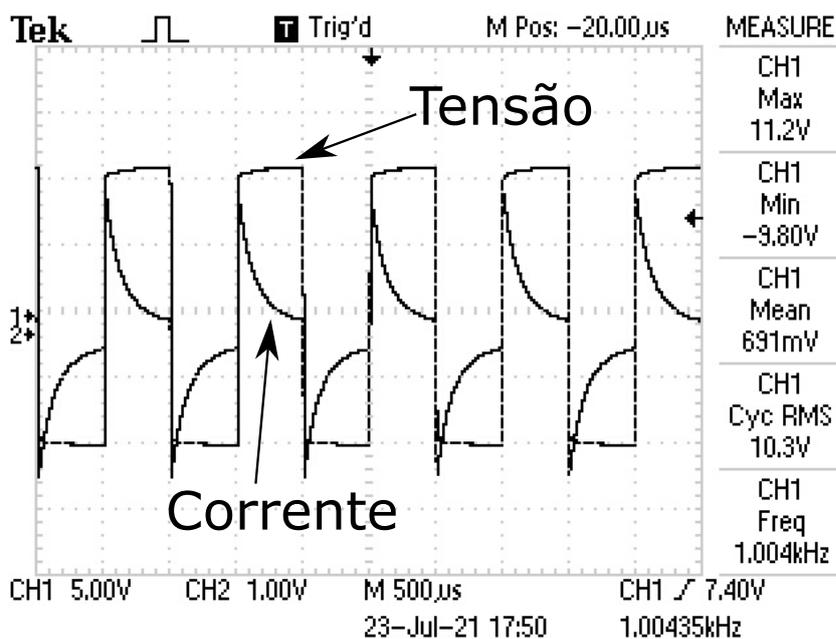
4.4 VALIDAÇÃO DA PROGRAMAÇÃO COM RESULTADOS EM CARGA CONHECIDA

O circuito da Figura 16a foi montado experimentalmente, e os resultados das tensões são mostrados na Figura 18. Os valores utilizados para os componentes mostrados na Figura 16a são mostrados na tabela 2.

Tabela 2 – Valores reais dos componentes utilizados.

Componente	Valor Medido
R_1	1004 Ω
R_2	119,0 Ω
R_{SHUNT}	14,75 Ω
C_1 [50V]	955,3 nF

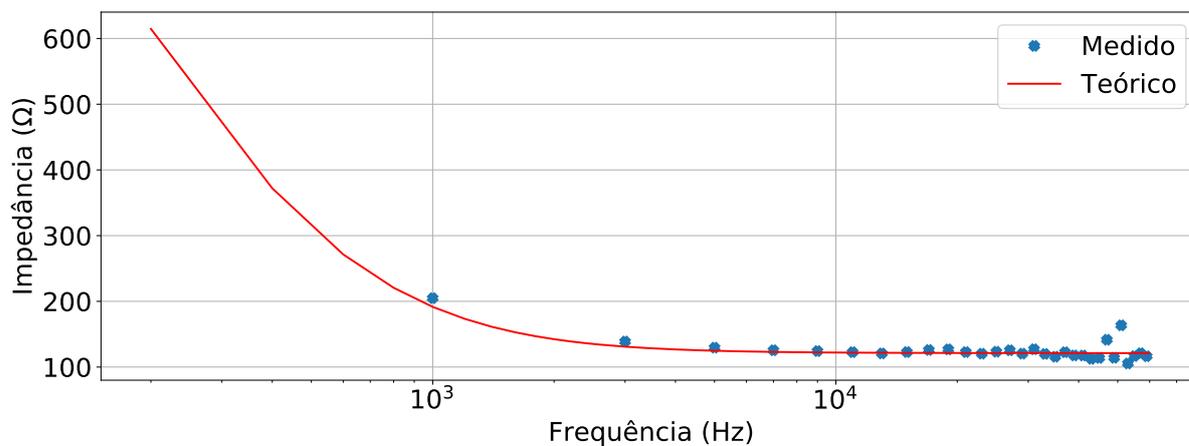
Fonte – autor

Figura 18 – Tensão e corrente na carga conhecida, sendo a corrente mensurada usando a tensão do R_{SHUNT} .

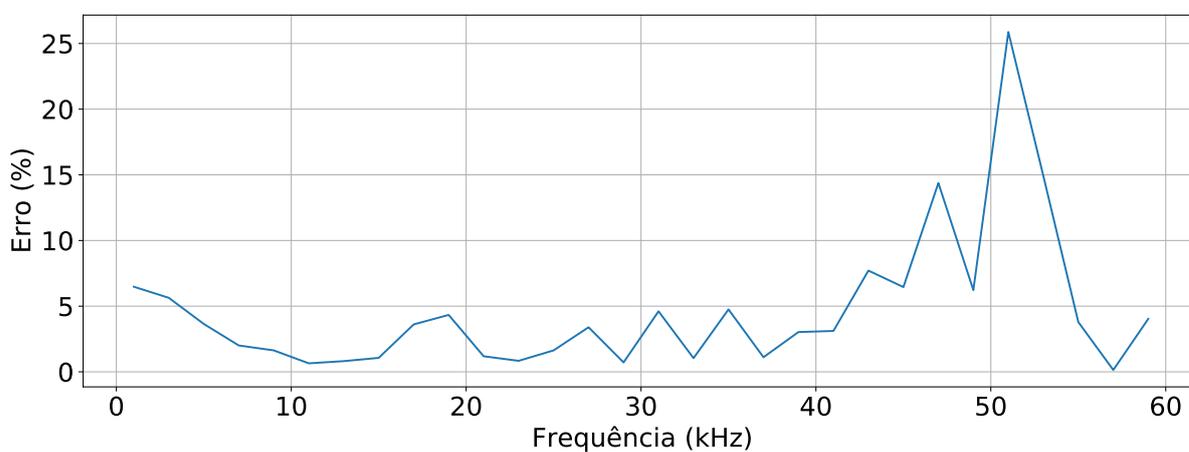
Fonte – autor

Os dados da Figura 18 foram processados pelo programa desenvolvido para cálculo da impedância. O resultado do processamento e a impedância teórica, é mostrado na Figura 19a, e o erro, calculado através da equação (8), das primeiras 30 harmônicas e mostrado na Figura 19b.

Figura 19 – Resultado do processamento de dados extraídos experimentalmente.



(a) Resultado do processamento[Ω] x frequência[Hz].



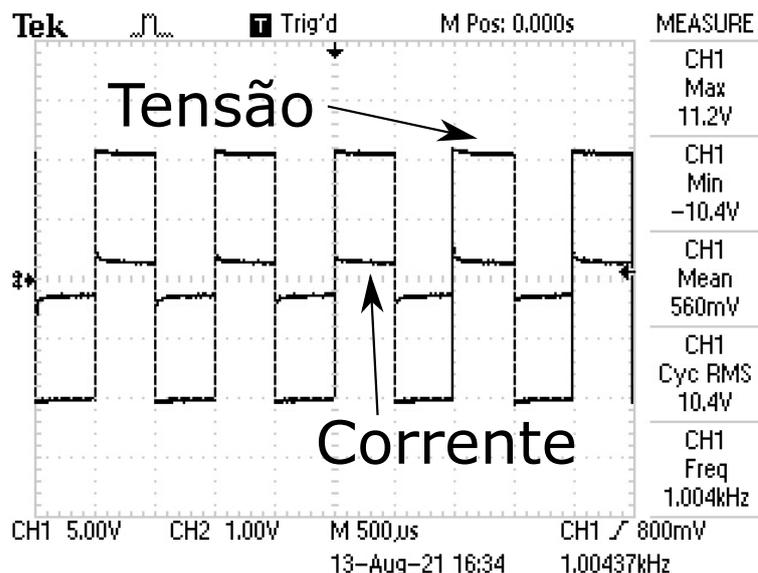
(b) Erro[%] x frequência[Hz].

Fonte – autor

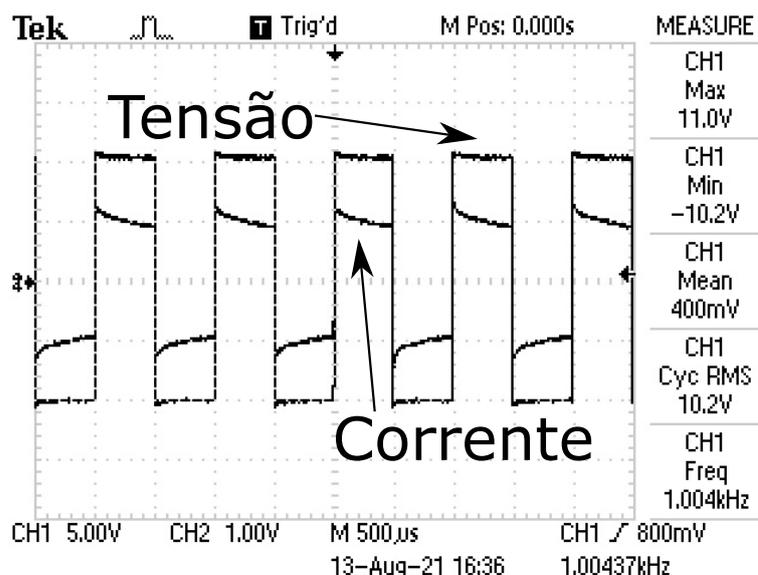
4.5 LEITURA DE IMPEDÂNCIA DAS BATATAS

As leituras das tensões de uma das amostras de tecido vegetal usadas no experimento, realizada com o trem de pulsos de 1kHz, é mostrada na Figura 20, e as tensões antes da EP são mostradas na Figura 20a e as depois após a aplicação dos pulsos de EP são mostradas na figura 20b.

Figura 20 – Tensão e corrente na batata, sendo a corrente mensurada usando a tensão do R_{SHUNT} .



(a) Tensão e corrente na batata antes da EP.

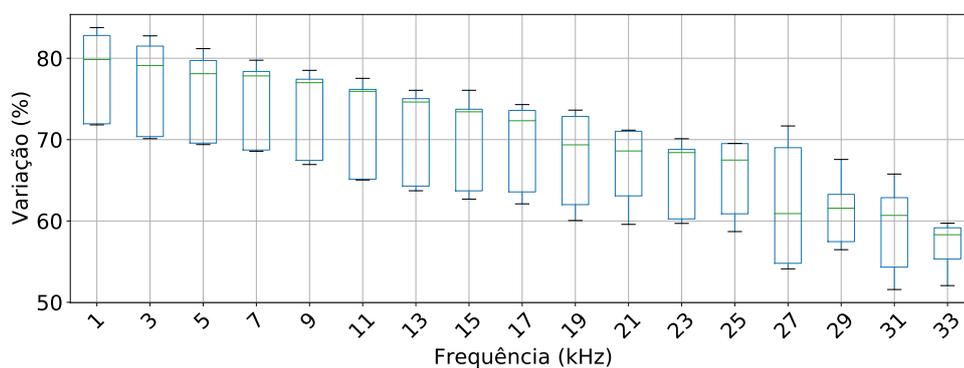


(b) Tensão e corrente na batata depois da EP.

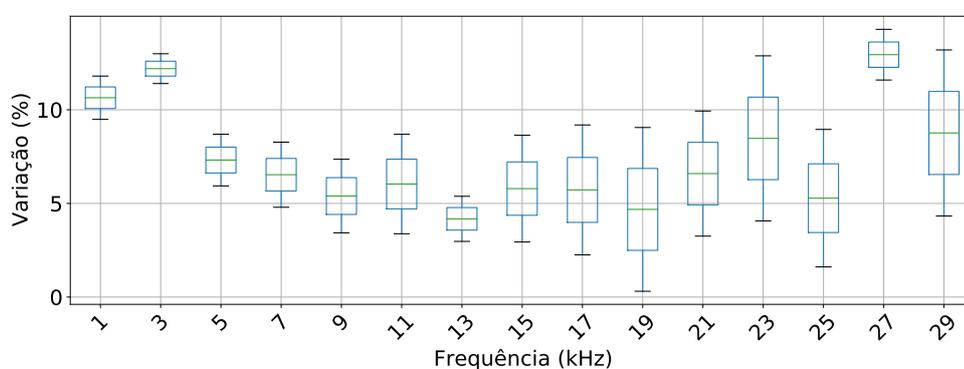
Fonte – autor

As variações das 16 primeiras harmônicas da impedância das batatas lida com o trem de pulso de 1kHz é mostrada na Figura 21a; das 4 primeiras harmônicas da impedância das batatas lida com o trem de pulso de 10kHz é mostrada na Figura 21c; das 16 primeiras harmônicas da impedância das batatas de controle lida com o trem de pulso de 1kHz é mostrada na Figura 21b; e das 4 primeiras harmônicas da impedância das batatas de controle lida com o trem de pulso de 10kHz é mostrada na Figura 21d.

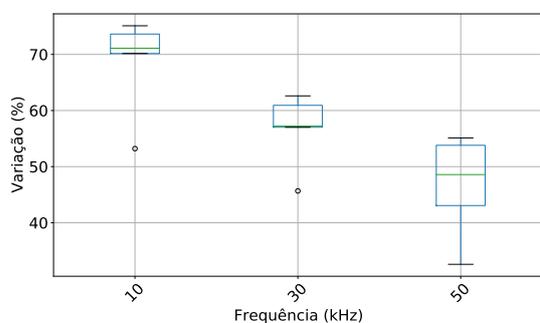
Figura 21 – Variação das impedâncias causada pela EP.



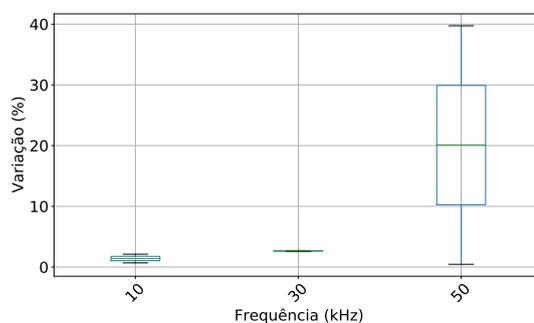
(a) Impedância lida com trem de pulsos de 1kHz.



(b) Impedância de controle lida com trem de pulsos de 1kHz.



(c) Impedância lida com trem de pulsos de 10kHz.

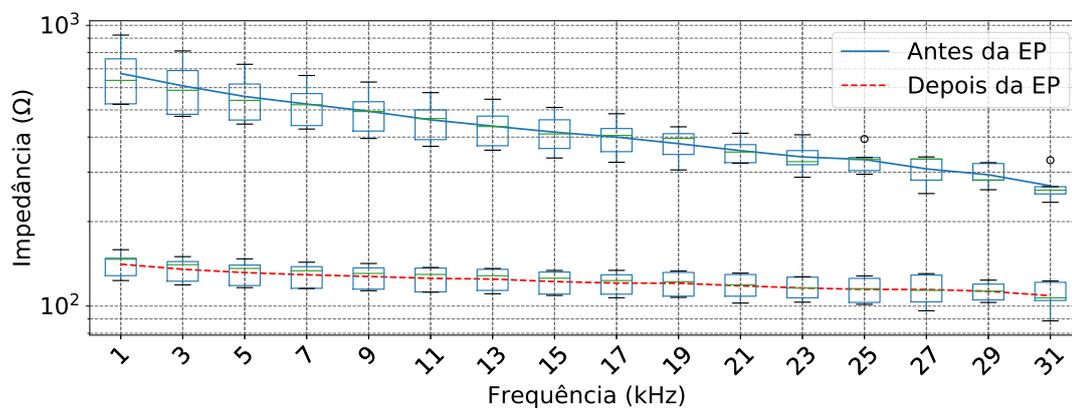


(d) Impedância de controle lida com trem de pulsos de 10kHz.

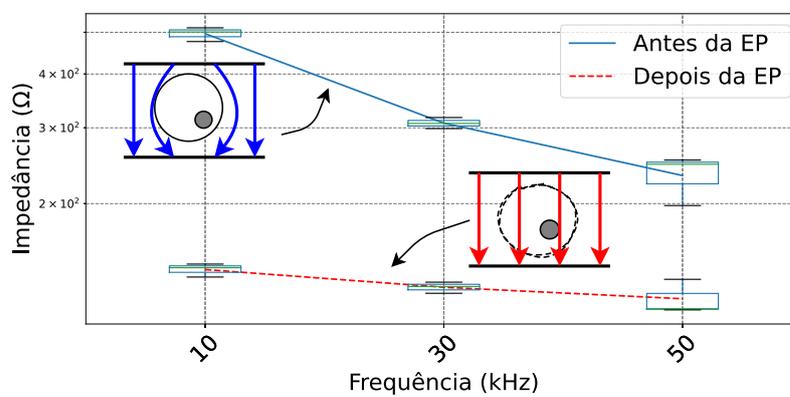
Fonte – autor

O gráfico das primeiras 16 harmônicas das impedâncias lidas com o trem de pulso de 1kHz antes e depois da EP é mostrado na Figura 22a, e o gráfico das primeiras 3 harmônicas das impedâncias lidas com o trem de pulso de 10kHz antes e depois da EP, junto de um demonstrativo do caminho de campo elétrico passando pelas células, é mostrado na Figura 22b.

Figura 22 – Leitura das impedâncias.



(a) Comparação da impedância antes e depois da EP, lida com trem de pulso de 1kHz.



(b) Comparação da impedância antes e depois da EP, lida com trem de pulso de 10kHz.

Fonte – autor

5 DISCUSSÃO

Com o circuito descrito em software, usando chaves ideais, foi possível geração de sinais multiníveis, conforme Figura 14. O controle das chaves é simples devido ao arranjo dos transistores, em que somente 2 controles se fazem necessários: um para controlar Q1, que aciona os pulsos de EP; e outro para controlar a ponte H, que varia o sentido da corrente tanto em baixa tensão quanto nos pulsos de EP.

O conversor multinível, adaptado de Prabakaran *et al.* (2017), é capaz de gerar as formas de onda desejadas, conforme Figura 15. O osciloscópio está configurado com 10V/div na escala horizontal e 1ms/div na escala vertical, portanto pode-se notar que o trem de pulsos que caracterizaria o material está configurado com uma frequência de 2kHz e que os potenciais $U_1 = 5V$ e $U_2 = 10V$. E, como os transistores utilizados tem um alto alcance tanto de tensão quanto de corrente, é possível escalar o circuito para tensões e correntes maiores.

A Figura 17 mostra que na faixa de interesse desse trabalho (frequências entre 1kHz e 30kHz) o seu valor máximo é de 0,41%, e para frequências acima dos 30kHz, onde as componentes que compõem o sinal são muito pequenas, confundindo-se com o erro de quantização, o erro sobe até 2,65%.

O erro dá impedância aumentou se comparado aos dados extraídos do *software*, pois ultrapassou os 25% entre 1kHz e 60kHz, conforme Figura 19. Esse erro se da a partir da soma dos erros de quantização da FFT, do erro de discretização do osciloscópio e do ruído presente na medição. Considerando somente as 16 primeiras harmônicas, indo até 31kHz, o erro se mantém abaixo dos 6%, sendo que os principais contribuintes para esse erro são a discretização do osciloscópio e o ruído (visto que os resultados de *software* se mantiveram abaixo dos 0.5%).

Na Figura 21, para os trens de pulso de 1kHz, a variação de impedância causada pela EP foi de 80% para as frequências menores, indo até 50% em frequências maiores, o que condiz com LÓPEZ-ALONSO *et al.* (2020), e o monitoramento dessa impedância possibilita o monitoramento do processo de EP como um todo. A variação presente no conjunto de controle ficou na casa dos 10%, e essa se deve principalmente ao ruído e ao erro de discretização do osciloscópio, como dito na seção 4.4. Já para os trens de pulso de 10kHz somente as 2 primeiras harmônicas obtiveram um resultado satisfatório, pois a partir da terceira harmônica a variação causada pela EP se aproxima com a variação presente no conjunto de controle, e como as duas primeiras harmônicas de 10kHz então presentes na análise feita com os trens de pulso de 1kHz, o uso do trem de pulsos de 10kHz se faz desnecessário.

A Figura 22 mostra que a EP alterou a impedância do material. Além disso, a dispersão beta, que acontece perto dos 5kHz, diminui após a EP. Isso acontece devido a criação de poros permanentes na membrana celular causada pela IRE que as batatas

foram submetidas.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi desenvolvido uma metodologia para o sensoriamento da impedância durante a EP. Foi desenvolvida uma técnica de processamento do dados de tensão e corrente para o cálculo da impedância que acrescenta erros mínimos ao processo e um circuito para chaveamento das tensões na carga a ser eletroporada que é capaz de produzir as formas de onda necessárias para a EP do tecido e para se fazer a análise de impedância proposta no trabalho. A técnica demonstrada pode ser utilizada na detecção da EP. Adaptações desta técnica podem contribuir para melhora do procedimento de tratamento de câncer por ECT, por exemplo, detectar se o tecido foi eletroporado ou não.

Foi observada uma variação considerável na impedância do tecido vegetal eletroporado, mostrada na Figura 22a e 22b, e essa variação é consistente com os resultados de LÓPEZ-ALONSO *et al.* (2020) e LORENZO *et al.* (2021). O sensoriamento entre pulsos dessa impedância, aliado de um entendimento mais profundo do processo de EP como um todo, torna possível o acompanhamento mais preciso da dinâmica da EP. Com esse acompanhamento seria possível melhorar o protocolo descrito por ESOPE (2002) e Gehl *et al.* (2018), já que este fixa um procedimento padrão para o tratamento de qualquer tipo de tumor utilizando a ECT. Seria possível a utilização de um *feedback*, em que a escolha do número de pulsos de EP seria dada via *software*. Além disso, como os PEF de EP e os PEF propostos para a extração da impedância acontecem em tempos diferentes, o mesmo conjunto de eletrodos pode ser usado para ambos os casos.

Em trabalhos futuros é possível fazer uma integração maior dos sistemas apresentados, com o uso de microprocessadores para realizar os cálculos e acionamento das chaves, estudo de novas topologias para a geração da forma de onda da Figura 14b, estudo em tecidos animais e utilização de mais chaves e fontes de tensão para se obter múltiplos patamares de EP.

REFERÊNCIAS

- ARENA, Christopher B.; SANO, Michael B.; RYLANDER, Marissa Nichole; DAVALOS, Rafael V. Theoretical Considerations of Tissue Electroporation With High-Frequency Bipolar Pulses. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v. 58, n. 5, p. 1474–1482, 2011.
- BERKENBROCK, José Alvim; BRASIL PINTARELLI, Guilherme; CASTRO ANTÔNIO JÚNIOR, Afrânio de; SUZUKI, Daniela Ota Hisayasu. Verification of Electroporation Models Using the Potato Tuber as In Vitro Simulation. **Journal of Medical and Biological Engineering**, v. 39, n. 2, p. 224–229, abr. 2018.
- BHONSLE, Suyashree; LORENZO, Melvin F.; SAFAAI-JAZI, Ahmad; DAVALOS, Rafael V. Characterization of Nonlinearity and Dispersion in Tissue Impedance During High-Frequency Electroporation. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v. 65, n. 10, p. 2190–2201, out. 2018.
- CHU, Edward. *In: CANCER Chemoterapy*. [S.l.]: Cenveo, 2018. cap. 55, p. 948–977.
- CRUK. **How can cancer kill you?** [S.l.: s.n.], 2019. Disponível em: <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/coping/dying-with-cancer/how-can-cancer-kill-you>.
- CURTARELLI, Vitor Probst. **Análise de Sinais e Sistemas Lineares**. [S.l.: s.n.], 2020.
- DE LORENZO, A.; ANDREOLI, A.; MATTHIE, J.; WITHERS, P. Predicting body cell mass with bioimpedance by using theoretical methods: a technological review. **Journal of Applied Physiology**, v. 82, n. 5, p. 1542–1558, mai. 1997.
- ESOPE. **European standard operating procedures for electrochemotherapy and electrogenetherapy**. [S.l.: s.n.], 2002. Disponível em: <https://cordis.europa.eu/project/id/QLK3-CT-2002-02003/it>.
- EVVIVAX. **Electrochemotherapy**. [S.l.: s.n.], 2016. Disponível em: <https://www.evvivax.com/index.php/our-tecnologies/electrochemotherapy>.

GEHL, Julie *et al.* Updated standard operating procedures for electrochemotherapy of cutaneous tumours and skin metastases. **ACTA ONCOLOGICA**, v. 57, n. 7, p. 874–882, mar. 2018.

INCA. **Como se comportam as células cancerosas?** [*S.l.: s.n.*], 2020a. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/como-se-comportam-celulas-cancerosas>.

INCA. **Estatísticas de câncer.** [*S.l.: s.n.*], 2021a. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>.

INCA. **O que é Câncer?** [*S.l.: s.n.*], 2020b. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>.

INCA. **O que é quimioterapia?** [*S.l.: s.n.*], 2021b. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/perguntas-frequentes/o-que-e-quimioterapia>.

IVC. **O que vai acontecer com seu corpo durante a químio e a rádio?** [*S.l.: s.n.*], 2021. Disponível em: <https://vencerocancer.org.br/dia-a-dia-do-paciente/efeitos-colaterais/o-que-vai-acontecer-com-seu-corpo-durante-a-quimio-e-a-radio-pele/>.

IVORRA, A.; MIR, L. M.; RUBINSKY, B. Electric Field Redistribution due to Conductivity Changes during Tissue Electroporation: Experiments with a Simple Vegetal Model. *In: IFMBE Proceedings.* [*S.l.*]: Springer Berlin Heidelberg, 2009. P. 59–62.

IVORRA, Antoni. **Bioimpedance Monitoring for physicians: an overview.** [*S.l.: s.n.*], 2003.

IVORRA, Antoni. **Tissue electroporation as a bioelectric phenomenon: Basic concepts.** [*S.l.*]: Series in Biomedic Engineering, 2010. P. 23–61.

IVORRA, Antoni; AL-SAKERE BASSIM; RUBINSKY, Boris; MIR, Lluís M. In vivo electrical conductivity measurements during and after tumor electroporation: conductivity changes reflect the treatment outcome. **Physics in Medicine and Biology**, v. 54, n. 19, p. 5949–5963, set. 2009.

JAMES, D. Quantization errors in the fast Fourier transform. **IEEE Transactions on Acoustics, Speech, and Signal Processing**, v. 23, n. 3, p. 277–283, jun. 1975.

KOWALSKI, Luiz Paulo. **Câncer: o diagnóstico precoce é o melhor tratamento**. [S.l.: s.n.], 2018. Disponível em: <https://veja.abril.com.br/blog/letra-de-medico/cancer-o-diagnostico-precoce-e-o-melhor-tratamento/>.

LATHI, B. P. **Sinais e Sistemas Lineares**. [S.l.]: Bookman, 2007.

LÓPEZ-ALONSO, Borja; SARNAGO, Héctor; LUCÍA, Óscar; BRIZ, Pablo; BURDÍO, José Miguel. Real-Time Impedance Monitoring During Electroporation Processes in Vegetal Tissue Using a High-Performance Generator. **IEEE Sensor**, v. 20, n. 11, p. 3158, jun. 2020.

LORENZO, Melvin F.; BHONSLE, Suyashree P.; ARENA, Christopher B.; DAVALOS, Rafael V. Rapid Impedance Spectroscopy for Monitoring Tissue Impedance, Temperature, and Treatment Outcome During Electroporation-Based Therapies. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v. 68, n. 5, p. 1536–1546, mai. 2021.

MATEMATICA. **O que é uma função ímpar?** [S.l.: s.n.], 2021. Disponível em: <https://www.matematica.pt/faq/funcao-impar.php>.

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**, v. 45, n. 11, p. 2524–2534, jul. 2017.

NEUMANN, Eberhard; SCHAEFER-RIDDER, M; WANG, Y; HOFSCHEIDER, PH. Gene transfer into mouse lymphoma cells by electroporation in high electric fields. **The EMBO Journal**, v. 1, n. 7, p. 841–845, jul. 1982.

ONCOGUIA. **Uso da quimioterapia no tratamento do câncer**. [S.l.: s.n.], 2021. Disponível em: <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/quimioterapia/3701/50/>.

OPAS. **Câncer**. [S.l.: s.n.], 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/cancer>.

PLIQUETT, Uwe. Joule heating during solid tissue electroporation. **Medical & Biological Engineering & Computing**, v. 41, n. 2, p. 215–219, mar. 2003.

PRABAHARAN, Natarajan; SARAVANAN, Subramani; JERIN, Amalorpavaraj Rini Ann; PALANISAMY, Kaliannan. A Reduced Switch

Asymmetric Multilevel Inverter Topology Using Unipolar Pulse Width Modulation Strategies for Photovoltaic Application. *In: RECENT Developments on Power Inverters*. [S.l.]: InTech, jun. 2017.

RANGEL, Marcelo M.M.; LUZ, Jean C.S.; OLIVEIRA, Krishna D.; OJEDA, Javier; FREYTAG, Jennifer O.; SUZUKI, Daniela O. Electrochemotherapy in the treatment of neoplasms in dogs and cats. **Austral journal of veterinary sciences**, v. 51, n. 2, p. 45–51, mai. 2019.

RANGEL, Marcelo Monte Mór; FERNANDES, N. C. C. A; NAGAMINE, Márcia Kazumi; FUKUMASU, Heidge; OLIVEIRA, Krishna Duro de; LOWE, Ron; MIR, Lluís Maria; SINHORINI, Idécio Luiz; DAGLI, Maria Lúcia Zaidan. Eletroquimioterapia: uma nova promessa para o tratamento de cânceres em animais. **Clínica Veterinária**, v. 13, n. 75, p. 30–36, jul. 2008.

RIVEL, T.; RAMSEYER, C.; YESYLEVSKYY, S. O. **Permeation of cisplatin through the membranes of normal and cancer cells: a molecular dynamics study**. [S.l.]: Cold Spring Harbor Laboratory, jul. 2018.

ROCKMORE, D.N. The FFT: an algorithm the whole family can use. **Computing in Science Engineering**, v. 2, n. 1, p. 60–64, fev. 2000.

SANTANA, Ana Lúcia. **Eletroporação**. [S.l.: s.n.], 2012. Disponível em: <https://www.infoescola.com/medicina/eletroquimioterapia/>.

SCHWAN, Herman P. Electrical Properties of Tissue and Cell Suspensions. *In: ADVANCES in Biological and Medical Physics*. [S.l.]: Elsevier, 1957. P. 147–209.

SOARES, Leonardo Ribeiro; FREITAS-JUNIOR, Ruffo; OLIVEIRA, José Carlos. A detecção precoce do câncer de mama e o impacto do rastreamento mamográfico nas taxas de sobrevivência. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 20, n. 10, p. 3285–3286, out. 2015.

SPUGININI, Enrico; PORRELLO, A. Potentiation of chemotherapy in companion animals with spontaneous large neoplasms by application of biphasic electric pulses. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 22, n. 4, p. 571–580, dez. 2003.

VÁZQUEZ-NAMBO, Manuel; GUTIÉRREZ-GNECCHI, José-Antonio; REYES-ARCHUNDIA, Enrique; YANG, Wuqiang; RODRIGUEZ-FRIAS, Marco-A.;

OLIVARES-ROJAS, Juan-Carlos; LORIAS-ESPINOZA, Daniel. Experimental Study of Electrical Properties of Pharmaceutical Materials by Electrical Impedance Spectroscopy. **Applied Sciences**, v. 10, n. 18, p. 6576, 2020.

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

WILHELM, Stefan; TAVARES, Anthony J.; DAI, Qin; OHTA, Seiichi; AUDET, Julie; DVORAK, Harold F.; CHAN, Warren C. W. Analysis of nanoparticle delivery to tumours. **Nature Reviews Materials**, v. 1, n. 5, abr. 2003.

ZANINOTTO, João Manoel R.; SOARES, Maria Zoraide M C. **SÉRIES DE FOURIER (Uma aplicação da trigonometria na engenharia de telecomunicações)**. [*S.l.: s.n.*], 2015. Disponível em: <https://www.ime.unicamp.br/sites/default/files/lem/material/series-de-fourier.pdf>.

ZHAO, Yajun; LIU, Hongmei; BHONSLE, Suyashree P.; WANG YILIN; DAVALOS, Rafael V.; YAO, Chenguo. Ablation outcome of irreversible electroporation on potato monitored by impedance spectrum under multi-electrode system. **BioMedical Engineering OnLine**, v. 17, n. 1, p. 5949–5963, set. 2018.