

## Evaluación De Mediciones De Espectroscopía De Bioimpedancia En Tumores Cancerígenos Mamarios Con Bioconjugado Nanopartícula Magnética-anti Her2

Carla P. Cedillo-Alvarez<sup>1</sup>, Guadalupe C. Villanueva-López<sup>2</sup>, Jesús G. Silva-Escobedo<sup>1</sup>, César A. González-Díaz<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad del Ejército y Fuerza Aérea-Escuela Militar de Graduados de Sanidad, D.F., México

<sup>2</sup>Instituto Politécnico Nacional-Escuela Superior de Medicina, D.F., México

\* Correspondencia: cgonzalezd@ipn.mx

**Resumen**— El cáncer de mama (CaMa) es el segundo tipo de neoplasia mas común en el mundo y el mas frecuente entre la población femenina. En el tratamiento del CaMa se han propuesto tratamientos novedosos como la ablación por Radiofrecuencia (RF), la crioblación y la terapia de partículas subatómicas de hadrones. En particular la eficacia del proceso ablativo por RF parece estar asociada a la potencial capacidad de focalizar la energía electromagnética en una región específica. Nuestro grupo de investigación ha propuesto la ablación por RF asistida con nanopartículas magnéticas, cuya técnica consiste en marcar células malignas con nanopartículas magnéticas unidas a un anticuerpo monoclonal (bioconjugado: BC), el cual reconoce antígenos específicos en la membrana de las células blanco (Her-2). La idea central está orientada a incrementar la conductividad eléctrica de tejido cancerígeno y focalizar la energía electromagnética de RF. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto fisiológico del BC en tejido tumoral a través de mediciones de bioimpedancia eléctrica a diferentes frecuencias y evidenciar cambios de conductividad eléctrica. Se empleó un modelo de cáncer de mama inducido en ratas, y se midió la bioimpedancia eléctrica del tejido tumoral y de su contralateral sano. Los resultados indican que la infusión del BC promueve una disminución de la bioimpedancia del tejido cancerígeno con respecto al tejido sano, tal comportamiento se atribuye a cambios en la conductividad eléctrica tisular dependientes de cambios estructurales de las células cancerígenas al verse influenciadas por la unión con nanopartículas conductivas.

**Palabras clave**— Bioimpedancia, cáncer, Her-2, mama, , nanopartículas,

### I. INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es una proliferación maligna descontrolada y en general, el cáncer mamario se origina en el recubrimiento epitelial de los conductos de gran tamaño o intermedio (ductal) o en los conductos terminales de los lobulillos (lobulillar) [1]. El CaMa es el tipo de cáncer mas frecuente en mujeres, con 1.67 millones de casos nuevos diagnosticados en el 2012 y es cada vez mas frecuente en mujeres jóvenes, sobre todo en las fumadoras [2] [3]. En la búsqueda de métodos diagnósticos de ésta enfermedad, se ha encontrado que las mediciones de bioimpedancia del tejido tumoral revelan datos de importancia. La impedancia eléctrica se define como la oposición que presenta un cuerpo al paso de una

corriente alterna a través del él, donde en caso de la bioimpedancia, dicho cuerpo es un tejido biológico [4].

Es de considerar que la estructura de los tejidos afecte la bioimpedancia y que el comportamiento eléctrico de los tejidos biológicos varía en relación a la frecuencia de la corriente; cuando la frecuencia que se aplica va en aumento, la conductividad del tejido también aumenta hasta hacerse constante en frecuencias de 10 a 100MHz, observamos lo contrario con la permitividad, la cual decrementa a mayores frecuencias [5]. La permitividad se define como la medida de resistencia que se encuentra cuando se forma un campo eléctrico en un medio, es decir, describe cuánto flujo eléctrico es generado por unidad de carga en dicho medio, por lo que existe mayor flujo en un medio con baja permitividad, debido al efecto polarizante[6]. Este fenómeno donde se observa incremento en la conductividad y disminución en la permitividad, se presenta en tres principales dispersiones, conocidas como  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . Cada tejido tiene su propio rango de dispersión característico. Las dispersiones  $\alpha$  y  $\beta$  son las mas interesantes para las aplicaciones medicas, ya que la mayoría de los cambios entre el tejido patológico y el normal ocurren en este rango. [5] [7] [8].

A la caracterización de tejidos sanos y patológicos basados en sus propiedades eléctricas en un espectro de frecuencia determinado se denomina Espectroscopía de Impedancia Eléctrica (EIE) y esto es posible dado que las células poseen atributos que las hacen equivalente a un circuito eléctrico que tiene elementos tales como la resistencia, condensadores e inductores que se oponen al paso de la corriente alterna, donde la membrana celular actúa como un capacitor en su parte extracelular y como resistencia en su porción intracelular junto con los canales iónicos, y pueden ser descritos por una representación serial:

$$Z=R + jX \quad (1)$$

donde  $Z$  es la impedancia,  $R$  la resistencia y  $X$  la reactancia. [9].

En la actualidad, el uso de nanomateriales para el diagnóstico de numerosas enfermedades es algo factible. Dichos materiales funcionan también como acarreadores

de fármacos para el tratamiento de algunas patologías, y también se han usado acoplados a anticuerpos para tener mayor especificidad al momento de liberar el fármaco, por lo que nosotros nos planteamos si las nanopartículas acopladas a un anticuerpo tuvieran como antígeno un receptor sobreexpresado en células cancerígenas mamarias podrían ayudar no sólo al diagnóstico de la enfermedad, sino al tratamiento de la misma, mediante la modificación de la estructura celular y el aumento de su conductividad mediante los nanomateriales, con la finalidad de hacer una ablación por radiofrecuencia asistida con nanopartículas. Dicha técnica es diferente a aquellas propuestas como tratamiento en la actualidad, tales como la radioterapia, quimioterapia y cirugía, la crioblación y la ablación por inducción magnética, dado que éstas no permiten totalmente la viabilidad del tejido sano circundante al tumor.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto fisiológico de la infusión sistémica del bioconjugado (BC) “nanopartícula magnética–anti Her-2” en tejido tumoral a través de mediciones de bioimpedancia eléctrica a diferentes frecuencias y evidenciar cambios de conductividad eléctrica tisular.

## II. METODOLOGÍA

Se indujo CaMa en ratas de la cepa Sprague Dawley con 1-Metil 1-Nitrosurea (MNU) vía intraperitoneal a dosis de 30mg/kg de peso, de acuerdo al modelo reportado por Thompson y cols. [10]. Cinco ratas con desarrollo tumoral fueron anestesiadas con azepromacina (300mg/100ml), butorfanol (10mg/50 ml) y ketamina (1000mg/10m) y se les colocó un catéter venoso central por venodisección yugular para infusión sistémica de BC. El bioconjugado “nanopartícula magnética–anti Her-2” se realizó conforme al protocolo descrito a detalle por nuestro grupo [11]. En la figura 1 se muestra un esquema representativo del BC generado. Se empleó un espectrómetro de impedancia de alta precisión (Agilent; Modelo 4294A) para realizar mediciones de bioimpedancia eléctrica en el rango de frecuencias de 100 Hz a 100 MHz a 181 pasos logarítmicamente espaciados en tres condiciones: **Basal** (antes de la infusión de BC), **t=0 hrs** (inmediatamente después de la infusión del BC) y **t=24 hrs** (24 horas post-infusión del BC). Se utilizó la colocación de un magneto en la región tumoral con la finalidad de atraer las nanopartículas magnéticas a la región de interés (Fig. 2). En todos los casos las mediciones de bioimpedancia fueron normalizadas con respecto a su valor contralateral en tejido sano (Fig. 3).

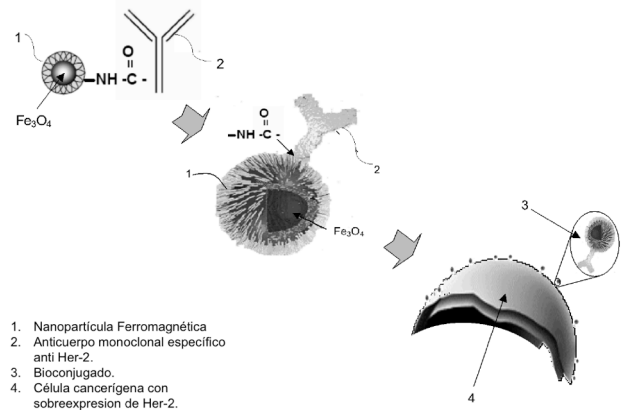


Fig. 1. Esquema representativo del BC generado “nanopartícula magnética–anti Her-2”.

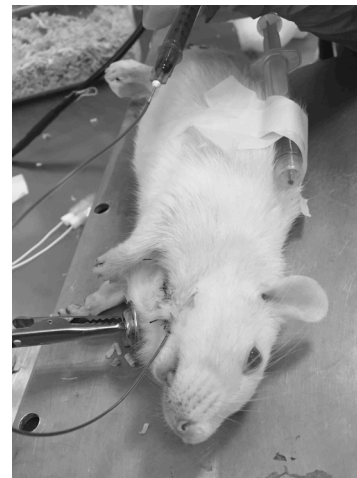


Fig. 2. Infusión de BC y colocación de magneto en región tumoral.

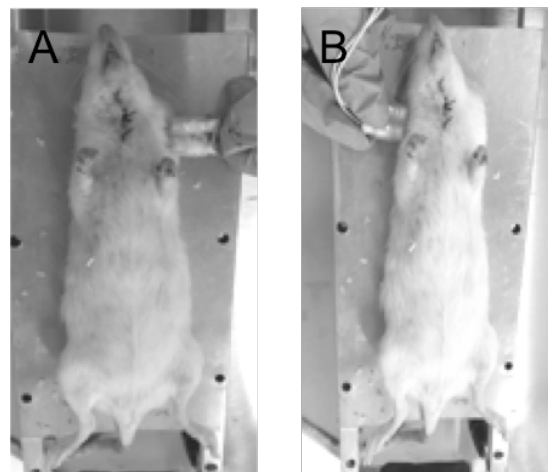


Fig.3. Medición de bioimpedancia post-infusión de BC. (A) tejido tumoral y (B) tejido contralateral sano.

### III. RESULTADOS

En la figura 4 se muestra la magnitud de mediciones de bioimpedancia normalizada (Sano/CaMa) medidas en todo el rango de frecuencias y en dos condiciones:  $t=0$  hrs (Panel A) y  $t=24$  hrs (Panel B), ambas comparadas con la condición **Basal** (sin BC). Como puede observarse en la figura 4 panel A, inmediatamente después de la infusión del BC, la relación entre la bioimpedancia del tejido sano y el tumoral no muestra cambios significativos a comparación de la medición basal del tumor en ningún rango de frecuencias. Sin embargo en la figura 4 panel B, donde se observa la relación de bioimpedancia en tejido sano y tumoral, a las 24 horas posteriores a la infusión, se aprecia una disminución del cociente a bajas frecuencias.

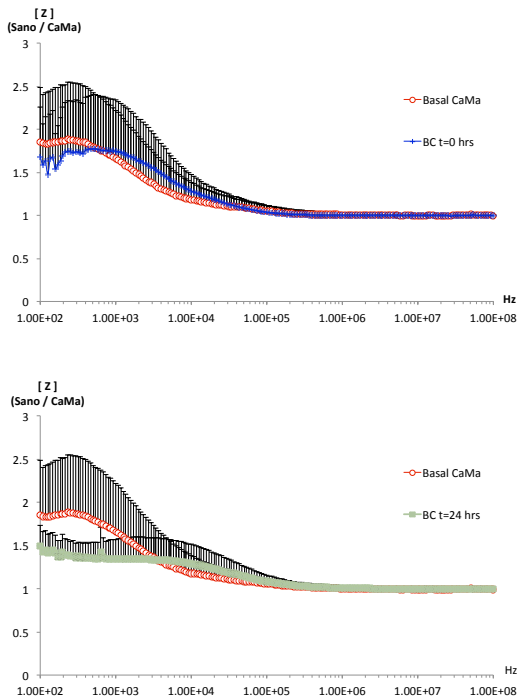


Fig. 4. Magnitud de bioimpedancia eléctrica de tejido cancerígeno de mama normalizado con respecto a tejido sano contralateral. A)  $t=0$  hrs y B)  $t=24$  hrs post-infusión de BC, ambas comparadas en condición **Basal** (sin BC).

### IV. DISCUSIÓN

Es bien conocido que los tumores tienen una bioimpedancia disminuida a comparación del tejido sano, debido a factores como la vascularidad ocasionada por la angiogénesis tumoral, el líquido inflamatorio, los arreglos celulares y otros, sin embargo, la estructura juega un papel fundamental en ésta medición, al menos en los rangos de frecuencia de la dispersión alfa. Es importante mencionar que los receptores Her-2 se encuentran no solo en tejidos tumorales sino en células sanas, tanto del tracto

gastrointestinal, respiratorio, urinario y reproductivo, como en tejido mamario, fetal y de adultos [12], pero su nivel de expresión es menor a comparación del tejido de cáncer de mama positivo para Her-2/neu, usado en nuestro modelo. Por ello en este estudio se utilizó, además de la reacción antígeno-anticuerpo que es específica, un magneto para dirigir a las nanopartículas al tumor para disminuir la posibilidad de que se concentren en otros órganos fuertemente irrigados, y con ello se conceden dos cambios a las células cancerígenas: se cambia su estructura general y se le une un material conductor a su superficie, afectando de esta manera los componentes capacitores celulares. Cabe remarcar que dicho cambio se observó principalmente a las 24 horas post infusión del bioconjugado, dado que se ha demostrado que las nanopartículas ferromagnéticas, como las usadas en este estudio, tuvieron su mayor acúmulo en diferentes órganos a las 24 horas después de la infusión [13].

### V. CONCLUSIÓN

La infusión sistémica de nanopartículas magnéticas acopladas a un anticuerpo específico que reconoce un antígeno en las células cancerígenas promueve una menor bioimpedancia del tejido cancerígeno a bajas frecuencias y a 24 horas post-infusión, tal condición permite asumir una mayor conductividad eléctrica tisular. Se requieren estudios adicionales para evaluar la relevancia práctica de tal comportamiento, así como la farmacodinamia del bioconjugado empleado.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Escuela Militar de Graduados de Sanidad y a la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional por las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo. Trabajo financiado en parte por CONACYT CB2012 No 180536. México.

### Bibliografía

- [1] Alan H. DeCherney, *Diagnóstico y tratamientos ginecobstétricos*. 8ª edición, 2006, Manual Moderno, cap. 61. Pag. 1237
- [2] Globocan 2012, Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, disponible en [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx)
- [3] American Cancer Society, Cancer facts & figures 2013-2014. Disponible en: <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@research/documents/document/ascp-040951.pdf>. Ingresado en febrero 7, 2014
- [4] Yolocuahtli Salazar Muñoz, "Caracterización de tejidos cardiacos mediante métodos mínimamente invasivos y no invasivos basados en espectroscopía de impedancia eléctrica" (Tesis doctoral), capítulo 2. UNIVERSITAT Politècnica Catalunya, Cataluña, España, 2004.

- [5] Schwan HP. Electrical properties of tissues and cell suspensions. *Adv Biol Med Phys* 1957;5:147–209. [PubMed: 13520431]
- [6] D.A. Dean, T. Ramanathan, D. Machado, and R. Sundararajan “Electrical Impedance Spectroscopy Study of Biological Tissues” *J Electrostat.* 2008 March ; 66(3-4): 165–177. doi:10.1016/j.elstat.2007.11.005.
- [7] Foster KR, Schwan HP, “Dielectric properties of tissues and biological materials: a critical review” *Crit Rev Biomed Eng.* 1989;17(1):25-104.
- [8] Blad B, Baldetorp B. “Impedance spectra of tumor tissue in comparison with normal tissue: a possible clinical application for electrical impedance tomography”, *Physiol Meas* 1996; 17:A105-A15
- [9] Y. Zou, Z. Guo “A review of electrical impedance techniques for breast cancer detection” *Medical Engineering & physics* 25 (2003) 79-90
- [10] Thompson HJ, Meeker LD. “Induction of mammary gland carcinomas by the subcutaneous injection of 1-methyl-1-nitrosourea”. *Cancer Res* 1983, 43:1628–1629.
- [11] Jesús G. Silva, Jaime Lopez<sup>2</sup>, Virginia Sánchez<sup>1</sup>, Lucila M. Lozano, and César A. González. “Breast Cancer Tissue Marked Selectively by Magnetic Nanoparticles in an Experimental Animal Model” *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* Vol. 15, 1–6, 2015
- [12] Michael F. Press, Carlos Cordon Cardo and Dennis J. Slamon “Expression of the Her-2/neu proto-oncogene in normal human adult and fetal tissues”, *Oncogene* 5(7): 953-962, 1990
- [13] Jun Wang “Pharmacokinetic parameters and tissue distribution of magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles in mice” *International Journal of Nanomedicine*, 12 Oct 2010.