

Scientific Reports

SCARLET™

Primer equipo capaz de estimular la neocolagénesis y la neovascularización mediante la “Non-Insulated RF Bipolar Microneedling”.

Única
y exclusiva
tecnología
diseñada
científicamente para
el rejuvenecimiento y
cuidado de la piel.

Reacción del Tejido a la Exposición Electromagnética y a la Distribución de Radiofrecuencia Bipolar Vía Electrodo de Microagujas Invasivas No Insuladas.

Jongju Na¹, Zhenlong Zheng^{2,3}, Christopher Dannaker⁴, Sang Eun Lee², Jin-Soo Kang⁵ & Sung Bin Cho^{2,5}

La radiofrecuencia (RF) puede ser emitida en la piel de manera invasiva o no invasiva, en modalidad monopolar, que utiliza un electrodo activo y un electrodo neutro, o en modalidad bipolar que emplea dos electrodos activos. En este estudio experimental donde se observan reacciones del tejido a la RF, se emitió energía de RF bipolar en piel in vivo de cerdo miniatura a diferentes niveles de penetración de la microaguja, amplitudes de señal y tiempos de conducción. Inmediatamente después del tratamiento de RF, las muestras de piel exhibieron en la dermis columnas de termocoagulación alrededor de cada microaguja. En tejido ex vivo de hígado bovino, las columnas de termocoagulación se encontraron concentradas principalmente alrededor de la punta de cada electrodo. Después de 2 segundos de conducción de la RF, las columnas comenzaron a unirse con las columnas vecinas; se encontró que la convergencia de estas columnas empieza en la punta de los electrodos vecinos.

La radiofrecuencia (RF) se refiere a alta frecuencia que alterna corrientes eléctricas, la misma frecuencia que utiliza la radiotransmisión. La señal electromagnética, incluyendo la RF, induce reacciones termoeléctricas en el tejido blanco cuyos patrones dependen de la resistencia de este¹. La energía de RF puede ser emitida en la piel de manera invasiva o no invasiva, en modalidad monopolar, que utiliza un electrodo activo y un electrodo neutro, o en modalidad bipolar que emplea dos electrodos activos². La modalidad monopolar genera en el cuerpo del paciente un circuito eléctrico formado por una corriente de electrones que fluye desde el electrodo activo hasta el neutro², mientras que los sistemas de electrocirugía bipolar inducen una corriente eléctrica entre los dos electrodos activos que se limita al tejido blanco^{2,3}. Estos electrodos activos emiten una corriente de electrones que fluye a través del tejido de un electrodo a otro, y en teoría limitan la profundidad de la respuesta térmica inducida por la energía electromagnética².

Comparados con los sistemas no invasivos, los dispositivos de RF invasiva que distribuyen energía electromagnética a través de electrodos, y que penetran el tejido blanco ofrecen la ventaja de ser un tratamiento más profundo con patrones independientes⁴⁻⁷. En un estudio reciente, se utilizó un sistema de RF monopolar de 0.4 MHz equipado con un solo electrodo que indujo termocoagulación en el tejido ex vivo de un hígado bovino, ésta comenzó en la punta de los electrodos no insulados y formó un borde de tejido coagulado alrededor de las agujas con aumento de niveles de energía⁶.

Aquí, el borde de tejido coagulado más grueso se formó alrededor de las puntas de los electrodos, sugiriendo que los electrodos de gran penetración no insulados pueden ser usados para distribuir la energía de RF de manera segura y efectiva sin dañar la epidermis⁶. Por otra parte, la investigación de aparatos de RF bipolar invasiva sugiere que los electrodos deben estar insulados para poder preservar la epidermis^{5,6}. En un modelo predictivo, el sistema de RF bipolar de mínima invasión mostró un perfil térmico que se delimitaba a las porciones no insuladas de los electrodos de gran penetración⁵. Igualmente, en un estudio que se realizó en tejido in vivo de cerdos miniatura, se observaron columnas individuales de coagulación y una herida térmica en forma de gota de lluvia ovalada inmediatamente después de la emisión de RF, por medio de un aparato de RF bipolar con microagujas, equipado con electrodos de gran penetración insulados⁷. Sin embargo, no se llevaron a cabo investigaciones posteriores acerca de por qué las columnas de coagulación se generaban por separado alrededor de cada electrodo y no entre los electrodos⁷.

En este estudio sobre reacciones del tejido a la RF, pretendemos investigar los patrones electromagnéticos de exposición y distribución de la energía de RF bipolar aplicada a través de electrodos de microaguja invasiva no insulada. La piel in vivo de cerdos miniatura se expuso a la energía de RF bipolar con microagujas a diferentes profundidades, amplitudes de señal, y a diferentes tiempos de conducción. Adicionalmente, se realizó un estudio en tejido ex vivo de hígado bovino para investigar cambios histológicos en el tejido del hígado inducido por el paso de la corriente eléctrica entre los electrodos de microaguja. Por otra parte, se capturaron fotogramas a alta velocidad para demostrar que, las reacciones del tejido muscular ex vivo de cerdo miniatura y de hígado bovino a la RF dependen del tiempo de exposición.

Department of Anatomy¹, Soonchunhyang University College of Medicine, Cheonan, Korea, Department of Dermatology and Cutaneous Biology Research Institute², Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea, Department of Dermatology³, Yanbian University Hospital, Yanji, China, Department of Dermatology⁴, University of California, School of Medicine, San Francisco, CA, USA, Kangskin Dermatology Clinic⁵, Seoul, Korea. Correspondence and requests for materials should be addressed to S.B.C. (email: drsbccho@gmail.com)

Resultados

Reacciones del tejido en piel *in vivo* de cerdo miniatura. Inmediatamente después del tratamiento con RF, las muestras de piel exhibieron columnas de coagulación por lesión térmica en la dermis, generadas por separado alrededor de cada electrodo con microaguja (Fig. 1a, b). No se detectaron reacciones inducidas por la RF ni en la epidermis, ni en la dermis entre los electrodos. Se analizaron microfotografías de las secciones de piel teñidas con hematoxilina y eosina, expuestas a una amplitud de señal de la RF que fluctúa entre los 25,6 V y los 36,6 V, y un tiempo de conducción de 120 ms, 200 ms, y 300 ms. A una misma profundidad de penetración y amplitud de señal de la RF, los tiempos de conducción más largos crearon áreas más grandes de coagulación en la dermis (Fig. 1c–e). Por otra parte, la energía de RF más alta generó grados más altos de destrucción del tejido a la misma profundidad de penetración de la microaguja y tiempo de conducción de la RF (Fig. 1f–h).

Reacciones del tejido *ex vivo* de hígado bovino. Se investigaron las reacciones del tejido provocadas por el tratamiento con señales de RF emitidas vía invasiva, con electrodos de microaguja no insulada y con tiempos de conducción de 120 ms, 200 ms, 300 ms, de 1 a 7 segundos, con incrementos de 1 segundo. El tejido del hígado está compuesto principalmente de hepatocitos y vasculaturas con impedancia y permitividad relativamente homogéneas comparado con el tejido de la piel. Sin embargo, inmediatamente después de la exposición a la energía de RF durante 120 ms, 200 ms, y 300 ms, se observaron columnas de coagulación en forma oval y de capullo alrededor de cada electrodo con microaguja, tal como se observó en los experimentos sobre piel *in vivo* de cerdo miniatura (no se muestra información). Al inicio de la conducción, las columnas de coagulación térmica se concentraron alrededor de la punta de cada electrodo. Después de 2 segundos de conducción, las áreas individuales de coagulación térmica se unieron con las columnas de coagulación vecinas inducidas por la RF (Fig. 2a–d). Se encontró que la unión de las columnas de coagulación comenzaba en la punta de los electrodos vecinos, y se hicieron aparentes entre las puntas de los electrodos que se encontraban más cerca uno del otro. También, se encontró una ruta de corriente eléctrica adicional en medio de los electrodos con microaguja. En un tiempo de conducción de la RF mayor a los 4 segundos, se encontraron circuitos de corriente eléctrica a lo largo del electrodo, atravesando áreas de coagulación adyacentes, tal como se observó en la realineación de hepatocitos (Fig. 2e, f). Al momento en que las áreas de coagulación individuales se unieron con otras durante el tratamiento de RF, las corrientes eléctricas mostraron propagación hacia todos los electrodos vecinos, no solo entre cada par de electrodos (Fig. 2c).

Fotogramas a alta velocidad. El estudio con fotogramas se realizó para capturar los efectos invasivos del tratamiento de RF bipolar usando electrodos de microaguja no insulados, en tejido muscular de cerdo miniatura y en tejido de hígado bovino, ambos *ex vivo*, desde sus reacciones iniciales hasta las finales de convergencia y vaporización. La reacción en ambos tejidos se inició en la punta de los electrodos de microaguja que los penetró (**Video suplementario 1**). Inmediatamente después, las reacciones del tejido se propagaron hacia arriba, a lo largo de los electrodos de microaguja en dos fases: hacia arriba de las puntas de los electrodos de microaguja, y de manera más profunda a lo largo y ancho de la microaguja.

Después de una breve demora, la segunda fase de propagación comenzó mientras las reacciones seguían moviéndose hacia arriba, alrededor del cuerpo del electrodo con microaguja, y se expandieron lateralmente. La propagación de la corriente en medio de los electrodos y entre los electrodos vecinos se hizo aparente primero entre las puntas de los electrodos, después entre las porciones medias de los electrodos y finalmente entre la longitud completa de los electrodos. Una vez terminada la convergencia de todas las áreas de coagulación individuales, los tejidos empezaron a mostrar vaporización y carbonización.

Efectos en estructuras vasculares y folículos pilosos. Se hizo evidente una extravasación parcial de glóbulos rojos, alrededor de las estructuras dérmicas superiores que fueron directamente dañadas por la inserción de la microaguja (Fig. 4a); Sin embargo, la mayoría de las estructuras vasculares dentro o cerca de las columnas de coagulación sólo estaban congestionadas, no destruidas (Fig. 4b). Asimismo, se encontró congestión vascular marcada en las regiones superiores de la dermis entre los electrodos (Fig. 1a), pero no se distinguió coagulación en la región de tejido ubicada entre los electrodos que rodeaban las estructuras vasculares congestionadas.

Además, las señales de RF fueron principalmente dirigidas a lo largo de los vasos del tejido de hígado bovino, la coagulación

Department of Anatomy,¹ Soonchunhyang University College of Medicine, Cheonan, Korea, Department of Dermatology and Cutaneous Biology Research Institute,² Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea, Department of Dermatology,³ Yanbian University Hospital, Yanji, China, Department of Dermatology,⁴ University of California, School of Medicine, San Francisco, CA, USA, Kangskin Dermatology Clinic,⁵ Seoul, Korea. Correspondence and requests for materials should be addressed to S.B.C. (email: drsbocho@gmail.com)

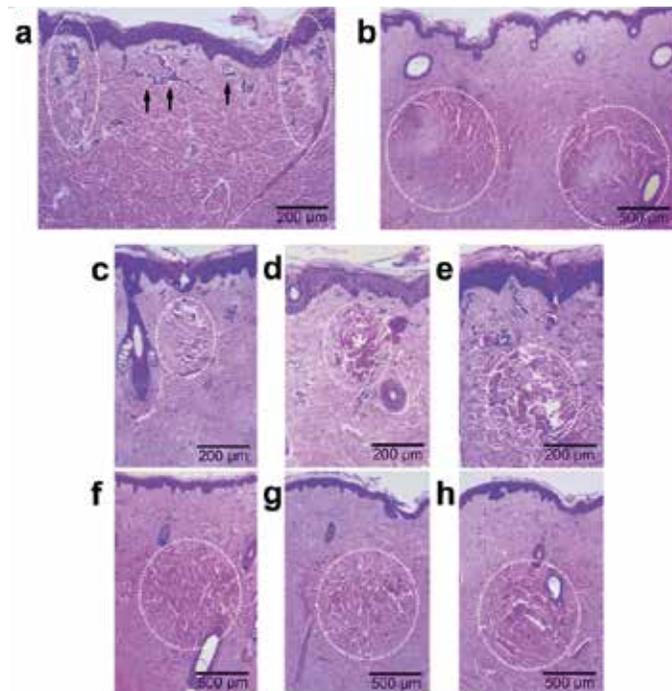


Figura 1. Reacciones del tejido in vivo de cerdo miniatura, después del tratamiento de radiofrecuencia (RF) bipolar invasiva con electrodos de microaguja. Las columnas de coagulación que se observan en la lesión térmica provocada por la RF (líneas discontinuas) se generan por separado alrededor de cada electrodo con microaguja (a) en la capa superior de la dermis con congestión vascular notoria entre los electrodos (flechas), y (b) en la dermis media con ajustes de tratamiento de 3.0 mm de profundidad, una amplitud de señal de 29,6 V, y tiempo de conducción de 300 ms. Microfotografías de las secciones de tejido de cerdo miniatura con un tiempo de conducción de la RF de (c) 120 ms, (d) 200 ms, y (e) 300 ms, con una amplitud de señal de 35,6 V y una profundidad de penetración del electrodo de 1.0 mm. Microfotografías de las secciones de tejido de cerdo miniatura con una amplitud de señal de (f) 29,5 V, (g) 32,6 V, o (h) 35,6 V, con un tiempo de conducción de 200 ms y una profundidad de penetración del electrodo de 2.0 mm. Teñida con H&E.

inducida por RF se encontró en la túnica adventicia y no en las células endoteliales, la túnica íntima, ni en la túnica media (Fig. 4c, d). También, se encontró congestión notoria en los vasos sanguíneos dentro o cerca de las columnas de coagulación alrededor de cada electrodo, tal como se muestra en el estudio del tejido in vivo del cerdo miniatura. Secciones horizontales del tejido ex vivo de hígado bovino, no exhibieron cambios importantes en los extremos proximales de los electrodos de gran penetración, con un tiempo de conducción de la RF de 1 segundo (Fig. 3). En un tiempo de conducción de la RF de 2 y 3 segundos, se observó congestión evidente en las muestras de estructuras vasculares, a los 4 segundos se descubrió coagulación del tejido rodeando el electrodo completo.

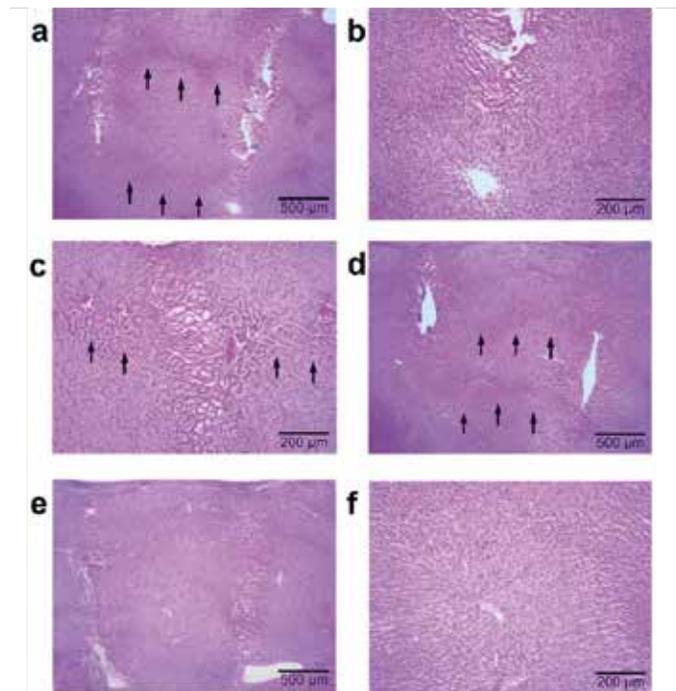


Figure 2. Reacciones del tejido ex vivo de hígado bovino, después del tratamiento de RF bipolar invasiva con electrodos de microaguja no insulated. Áreas individuales de coagulación térmica coinciden con las columnas de coagulación vecinas (flechas), (a) después de 2 segundos de conducción de la RF con una profundidad de penetración de 3,0 mm y una amplitud de señal de 31,6 V, (b) que se originan en los electrodos de microaguja vecinos. (c) Las corrientes eléctricas comienzan a coincidir bilateralmente hacia los electrodos vecinos después de 2 segundos de conducción de la RF, con una profundidad de penetración de 3,0 mm y una amplitud de señal de 36,6 V. La trayectoria de las corrientes eléctricas entre las áreas de coagulación se hace más aparentes después de (d) 3 y (e) 4 segundos de conducción de la RF con una profundidad de penetración del electrodo de 3,0 mm y una amplitud de señal de 31,6 V. (f) La conducción de RF por más de 4 segundos muestra la distribución de la corriente eléctrica a través de la extensión completa del electrodo, con reorganización de hepatocitos a lo largo de la trayectoria de la corriente. Teñido con H&E.

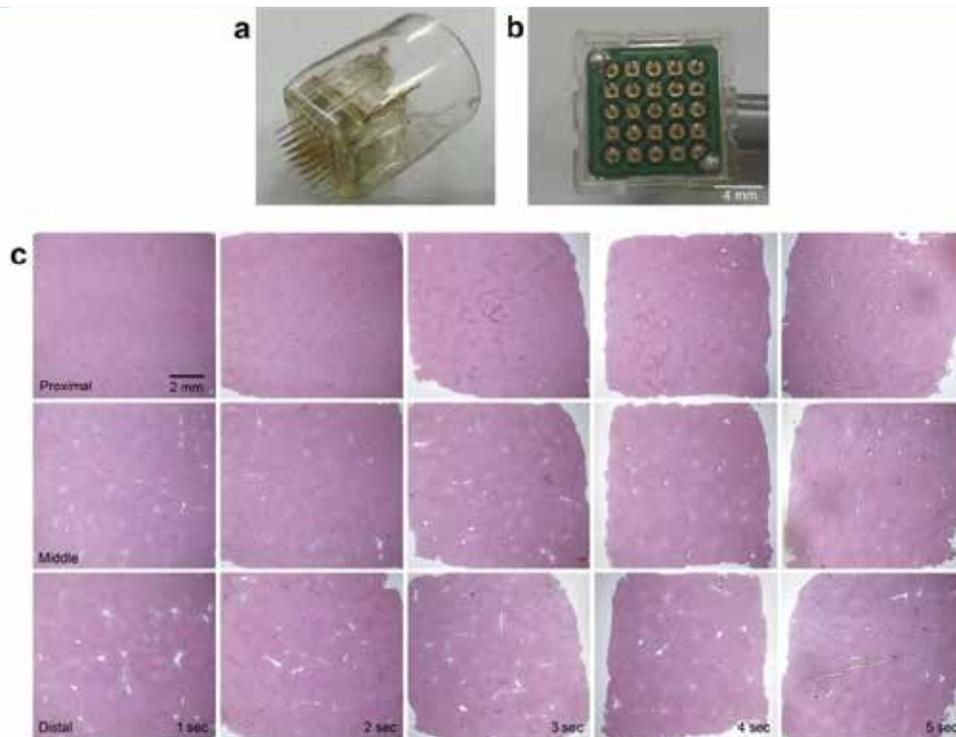


Figura 3. Secciones horizontales del tejido ex vivo de hígado bovino. (a) Las puntas desechables usadas por el aparato de RF bipolar contienen 25 electrodos invasivos no aislados (b) acomodados en una secuencia de 5 x 5. (c) Se obtuvieron secciones de tejido de hígado bovino después del tratamiento de RF con una penetración de 3.0 mm y una amplitud de señal de 36.6 V. Se observó carbonización considerable a lo largo de los extremos distales de los electrodos de gran penetración después de 1 segundo de conducción de la RF. En el centro de los electrodos, la coagulación del tejido es visible en tiempo de conducción de 1 segundo, y carbonización considerable parece desarrollarse después de 3 segundos. En los extremos proximales de los electrodos, se distingue congestión de las estructuras vasculares en las muestras tratadas en tiempos de 2 y 3 segundos de conducción de la RF. Se encontró coagulación a lo largo de porciones superficiales del tejido ex vivo de hígado bovino a los 4 segundos de conducción, mientras que apareció carbonización considerable después de los 5 segundos de conducción. Teñido con H&E.

Las señales de RF tuvieron tendencia a propagarse a lo largo de la parte exterior del folículo piloso, principalmente en la vaina de la raíz externa y en tejido conectivo fibroso, en vez de propagarse por dentro del folículo piloso, que debería de haber sido el camino más corto hacia el electrodo más cercano (Fig. 5a, b). En general, las estructuras del folículo piloso se preservaron sin cambio histológico. Los complejos vasculares en forma de canasta que rodean el folículo también se congestionaron de manera considerable. Cuando las reacciones del tejido a la RF se concentraron alrededor de la parte superior del folículo piloso (Fig. 5c), se encontró que la coagulación del tejido inducida por la RF fue mínima o nula en el bulbo capilar. Mientras las señales de RF generaron una reacción mínima en la parte superior del folículo, también se notaron reacciones más extensas a la RF alrededor del bulbo capilar (Fig. 5d).

Discusión

Las señales de RF pueden ser emitidas para producir reacciones electrotérmicas en los nervios fibrosos, músculos, piel, y tumores por medio del calentamiento global^{1-4, 8}. Debido a las diferencias de impedancia en las capas de la piel, se observa repetidamente una zona de coagulación electrotérmica en forma de gota de agua en la dermis, debido a la exposición de la piel a la energía de RF a través de electrodos de gran penetración^{4, 9, 10}. En este estudio, los valores histológicos para el

ancho y profundidad de las áreas de coagulación difieren de acuerdo a la profundidad de penetración de las microagujas, a pesar de tratarlos con el mismo nivel de RF y tiempo de conducción. En otras palabras, una penetración más profunda de las microagujas generó columnas más grandes de coagulación al mismo nivel de RF y tiempo de conducción. Además de la resistencia del tejido, los patrones de exposición y distribución de la RF también pueden contribuir, en parte, a la naturaleza de la coagulación del tejido inducida por la RF6.

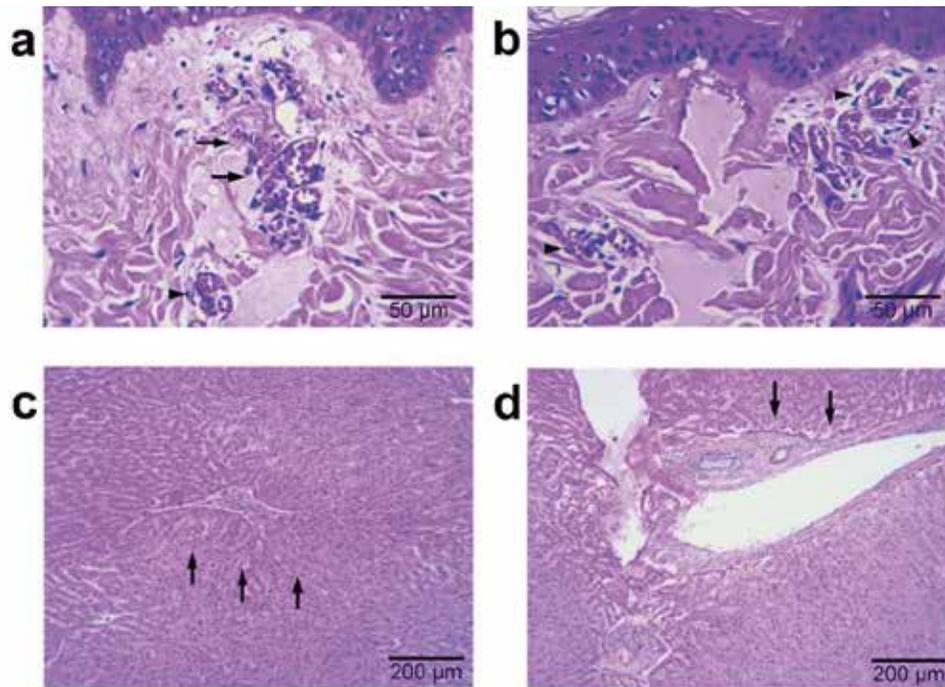


Figure 4. Efecto del tratamiento de RF bipolar invasivo a 2 MHz en estructuras vasculares. Las microfotografías de secciones de piel de cerdo miniatura teñida con hematoxilina y eosina después del tratamiento con una profundidad de 3.0 mm, una amplitud de señal de 29.6 V, y un tiempo de conducción de 300 ms demostró (a) extravasación parcial de los glóbulos rojos alrededor de las estructuras dérmicas vasculares superiores debido a lesión directa con la microaguja, así como (b) congestión notable, pero no destrucción: vasculaturas dentro o cerca de las columnas de coagulación. (c) La señal de RF se condujo preferentemente a lo largo de los vasos penetrados de tejido ex vivo de hígado bovino, tratado con ajustes de 3.0 mm de profundidad de penetración, una amplitud de señal de 31.6 V, y un tiempo de conducción de 3 segundos. (d) La coagulación inducida por RF se encontró principalmente en la túnica adventicia, no en las células endoteliales, la túnica íntima, ni en la túnica media a una profundidad de penetración de 3.0 mm, una amplitud de señal de 31.6 V, y un tiempo de conducción de 4 segundos. Teñidos con H&E.

En un estudio anterior, la exposición a RF monopolar en tejido ex vivo de hígado bovino, que tenía impedancia y permitividad del tejido relativamente homogénea comparado con el tejido de piel, indujo reacciones del tejido a la RF a lo largo del electrodo y resultó en una respuesta extrema del tejido alrededor de la punta del electrodo⁶.

Los aparatos de RF bipolar con electrodos de microaguja insulada han demostrado que generan reacciones electrotérmicas en las puntas de los electrodos, similares a las producidas por los aparatos de RF monopolar⁷. En el estudio citado, no se encontraron reacciones de la piel inducidas por la RF en el tejido ubicado entre los electrodos, con tiempos de conducción de 20 ms, 50 ms, 100 ms, y 1000 ms y una amplitud de señal de 5.0 V-50.0 V⁷. Sin embargo, estos resultados no son consistentes con aquellos

encontrados en otros estudios sobre RF bipolar invasiva o con los conceptos básicos de la teoría de conducción eléctrica¹⁻⁵. Teóricamente, los circuitos de corriente eléctrica en la RF bipolar comienzan en un ánodo activo y terminan en un cátodo activo, generando así reacciones a la RF en el tejido entre los electrodos². Los resultados del estudio arriba mencionado nos llevan a cuestionarnos ¿De qué forma difieren las reacciones electrotérmicas de la conducción de energía de RF bipolar, a través de electrodos invasivos no insulados?

En el presente estudio, se emitió energía de RF bipolar a través de electrodos de gran penetración no insulados con

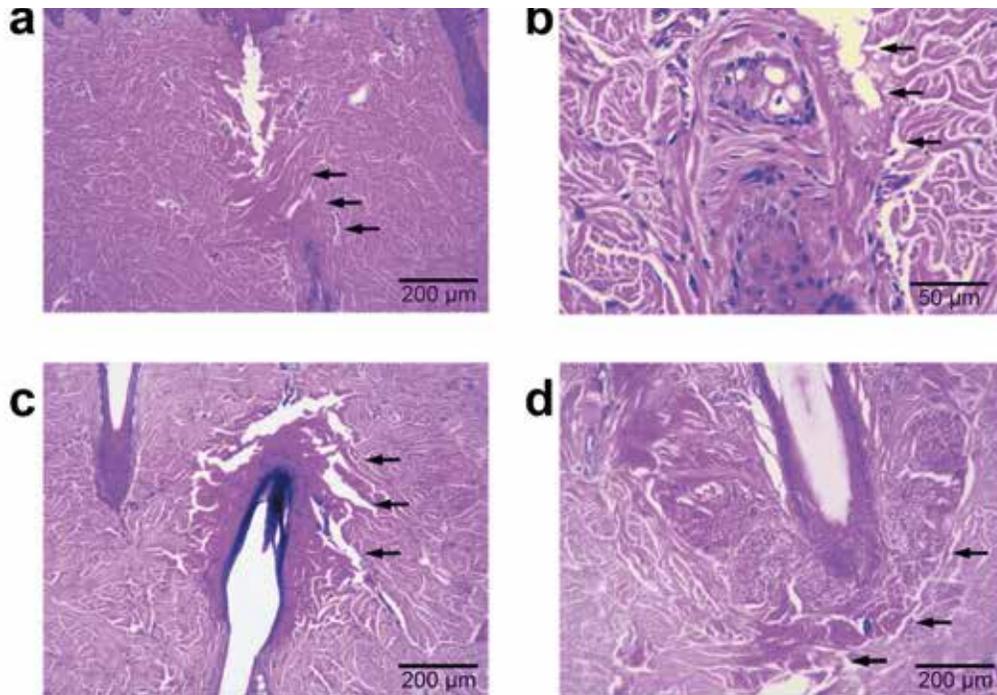


Figura 5. Efectos del tratamiento de RF bipolar invasiva de 2 MHz con electrodos de microaguja no insulada en folículos pilosos. Microfotografías de las secciones de piel de cerdo miniatura teñidas con hematoxilina y eosina, tomadas después del tratamiento con RF mostraron que las señales de RF tienden a propagarse a lo largo del exterior de los folículos pilosos, principalmente en la vaina externa de la raíz y en el tejido conectivo fibroso. (a) a una profundidad de penetración de 3,0 mm, una amplitud de señal de 35,6 V, y un tiempo de conducción de 200 ms, y (b) a una profundidad de penetración de 3,0 mm, una amplitud de señal de 32,6 V, y un tiempo de conducción de 300 ms. (c) Las reacciones del tejido a la RF se concentraron a lo largo de la parte superior del folículo piloso, con una coagulación mínima o nula del tejido del bulbo capilar inducida por la RF, a una profundidad de penetración de 3,0 mm, una amplitud de señal de 33,7 V y un tiempo de conducción de 120 ms. (d) las señales de RF generan una reacción mínima en la parte superior del folículo piloso, con reacción extensiva del tejido a la RF alrededor del bulbo capilar a una profundidad de penetración de 2,0 mm, una amplitud de señal de 30,6 V, y un tiempo de conducción de 120 ms. Teñidas con H&E.

diferentes tiempos de conducción para obtener reacciones en serie del tejido a la RF de la piel in vivo de cerdo miniatura, tejido muscular ex vivo de cerdo miniatura, y tejido ex vivo de hígado bovino. En el estudio de piel in vivo de cerdo miniatura, se encontró que el tratamiento de RF bipolar invasiva con electrodos de gran penetración no insulados también resultó en columnas ovaladas en forma de gotas de agua o capullos, que se generaron por separado alrededor de cada electrodo de

microaguja en la dermis, con un tiempo de conducción de 120 ms, 200 ms, y 300 ms. Dadas las condiciones de nuestro experimento, los cambios electrotérmicos en la epidermis fueron evidentes, mientras que la magnitud de la lesión fue mínima, posiblemente debido a la impedancia y permitividad del tejido de la epidermis, así como a las pautas de exposición y distribución de las señales de RF. Además, todas las columnas de coagulación mostraron los mismos resultados histológicos, sin importar su ubicación en torno a los electrodos. Por otra parte, en el estudio sobre piel in vivo de cerdo miniatura, no encontramos evidencia de la propagación de corriente eléctrica entre los electrodos.

En el estudio realizado en tejido ex vivo de hígado bovino, distribuimos energía de RF durante más de 1 segundo para detectar y analizar pautas en la formación y distribución de corrientes eléctricas. Para realizar este estudio se eligió tejido de hígado bovino y no de piel, debido a la impedancia uniforme del tejido, y porque las capas y los extremos de las estructuras de la piel pueden afectar significativamente la impedancia y permitividad del tejido. Comparado con la piel in vivo de cerdo miniatura, el tejido ex vivo de hígado, compuesto principalmente de hepatocitos y estructuras vasculares, requirió un tiempo de conducción más largo para generar cambios histológicos notorios. Sin embargo, la emisión de RF por más de 1 segundo produjo un área de coagulación en forma de capullo alrededor de cada electrodo (área con densidad de corriente más alta). Otras zonas de coagulación coincidieron al pasar entre las microagujas (zonas con densidad de corriente más baja). Se sugiere nombrar este descubrimiento de coagulación del tejido independiente alrededor de cada electrodo "efecto Na" para distinguirlo de las reacciones del tejido a la RF. En nuestros experimentos, las áreas de coagulación aparecieron secuencialmente con un tiempo de conducción de RF elevado que pudo ser inducido fácilmente a baja frecuencia. El primer circuito de corriente eléctrica bipolar se formó entre las puntas de los electrodos, después apareció un segundo circuito entre las porciones medias de los electrodos. Finalmente, los circuitos de corriente eléctrica bipolar se encontraron a lo largo de los electrodos, tal como se muestra en el modelo predictivo de RF bipolar invasiva⁵. Por otra parte, después de un largo periodo de conducción, los hepatocitos se realinearon en forma de limadura en un campo eléctrico creado por las corrientes eléctricas bipolares similares a las limaduras de hierro bajo un campo magnético creado por un imán.

En este estudio, se observaron cambios perceptibles en las estructuras microvasculares de la piel in vivo de cerdo miniatura y de tejido ex vivo de hígado bovino.

La energía eléctrica de corriente alterna parece haber sido convertida en calor cerca de las capas exteriores de las estructuras vasculares y conducida a través de las paredes de los vasos sanguíneos^{11,12}. Las microvasculaturas dérmicas y las estructuras perivasculares entre los electrodos parecen pasar mejor la corriente, muestran una densidad de corriente más alta, y son activadas selectivamente por la corriente de RF bipolar. También se encontraron reacciones vasculares del tejido inducidas por la RF a lo largo del folículo piloso, principalmente en la vaina externa de la raíz y en el tejido conectivo fibroso. Sin embargo, la importancia clínica de las corrientes de RF bipolar en los vasos sanguíneos y los folículos pilosos no se investigó en este estudio.

En resumen, se encontró que las pautas de distribución de energía de RF bipolar vía electrodos de microaguja no insulada son similares a aquellas producidas por la energía de RF monopolar con electrodos no insulados. Además, al controlar los tiempos de conducción de la RF, se demostró que la distribución de energía de RF bipolar vía electrodos no insulados puede inducir respuestas térmicas similares a las de los electrodos insulados. Aunque la composición histológica de tejido muscular y de piel de cerdo miniatura y de hígado bovino no coinciden exactamente con el tejido de piel humana, creemos que nuestra investigación histológica de las reacciones del tejido a la emisión electromagnética y a la distribución de RF inducida vía tratamiento de RF bipolar con microagujas invasivas no insuladas ayudará en investigaciones posteriores, y en estudios para promover la tecnología de RF en tratamientos de la piel.

Métodos

Distribución de RF bipolar invasiva vía electrodos de microaguja no insulada. Se utilizó un aparato de RF bipolar de 2 MHz, equipado con electrodos de microaguja no insulada (CELLFIRM; ViOL, Kyunggi, Corea) para evaluar las reacciones a la RF de tejido de piel in vivo y tejido muscular ex vivo de cerdo miniatura y tejido ex vivo de hígado bovino. Para los propósitos de este estudio, se controlaron los parámetros de profundidad de penetración de las microagujas, el procedimiento y el nivel

de energía. Este aparato utiliza puntas desechables compuestas por 25 electrodos de microaguja de invasión mínima no insuladas y ordenadas en un patrón de 5 x 5. Las microagujas son de acero quirúrgico con chapa de oro de 24K, y tienen un diámetro de $300 \pm 10 \mu\text{m}$ y la punta mide $750 \mu\text{m}$. La conductividad de las puntas desechables de las microagujas es de $1.1 \times 10^6 \text{ S/m}$ para el acero inoxidable y de $4.1 \times 10^7 \text{ S/m}$ para el oro.

Tratamiento con RF bipolar vía electrodos invasivos no insulados en piel *in vivo* de cerdo miniatura. Todos los protocolos experimentales fueron aprobados por el Comité de Ética de la Universidad de Yonsei (Ethics Committee of the Yonsei University) y por el Comité Institucional de Cuidado y Uso Animal (Institutional Animal Care and Use Committee) (2014–0150) y los métodos se realizaron de acuerdo con sus normas. Todos los experimentos se realizaron en un cerdo femenino libre de patógenos (3 meses de edad, peso 8.4 kg). Se le administró anestesia general vía inyección intramuscular rápida de tiletamina/zolazepam (5 mg/kg) y xilazina (2 mg/kg). Poco después, se realizó intubación endotraqueal y se conectó a un ventilador. Los pulmones se ventilaron con oxígeno, y se mantuvo anestesiado con isoflurano al 2%. Se mantuvo hidratación intravenosa con solución salina normal a través de vena auricular superficial (25 mL/h).

Para cada uno de los parámetros del tratamiento, se rasuró el lomo del cerdo con una rasuradora eléctrica y se cuadrículó con tinta. Cada cuadro midió 4cm^2 (216 cuadros en total); cada cuadro se dibujó a 1 cm de distancia del otro para minimizar los efectos térmicos de la RF en las áreas vecinas. El área utilizada se limpió con jabón y alcohol al 70%. Después, el cerdo miniatura recibió tratamiento de RF bipolar con microaguja a una profundidad de penetración de entre los 0.5 mm y los 3.5 mm con incrementos de 0.5 mm; a una amplitud de señal de entre 25.6 V a 36.6 V; y en tiempos de conducción de 120 ms, 200 ms, y 300 ms. No se administró anestesia local ni antes ni después del tratamiento. El cerdo miniatura fue sacrificado después de extraer las muestras del tejido tratado, de forma humanitaria y según los protocolos estandarizados.

Tratamiento de RF bipolar vía electrodos invasivos no insulados en tejido *ex vivo* de hígado bovino. Antes de la aplicación del tratamiento de RF bipolar invasiva con microagujas en tejido fresco de hígado bovino, se cuadrículó la superficie con cuadros de 2cm^2 (37 cuadros en total); con espacio de 2 cm entre ellos para minimizar los efectos térmicos de la RF en las áreas vecinas. El tratamiento se realizó a una profundidad de penetración de 3.0 mm; una amplitud de señal 36.6 V; y un tiempo de conducción de 120 ms, 200 ms, 300 ms, y 1–7 segundos con incrementos de 1 segundo. Un estudio experimental adicional se condujo a una profundidad de 3.0 mm; una amplitud de señal de 31.6 V y 36.6 V; y un tiempo de conducción de 2, 3, and 4 segundos. Las muestras de hígado bovino fresco se tomaron inmediatamente después del tratamiento. Todos los experimentos se realizaron en grupos de tres.

Análisis histológico. Para realizar la evaluación histológica se obtuvieron muestras del tejido *in vivo* de cerdo miniatura y del hígado bovino *ex vivo* después de una hora de terminado el tratamiento. Cada muestra se fijó con formol tamponado al 10% y se introdujeron en parafina. La piel de cerdo miniatura y el tejido de hígado bovino se cortaron longitudinalmente para detectar los cortes provocados por la penetración de las microagujas. Para cada uno de los parámetros del tratamiento, se prepararon y se tiñeron con hematoxilina y eosina, de 20 a 30 secciones de piel y tejido de hígado de $4 \mu\text{m}$. Adicionalmente, se prepararon y tiñeron secciones horizontales gruesas de tejido de hígado para evaluar la interacción interna de los electrodos.

Fotogramas de alta velocidad. Se utilizó una cámara de video digital de alta velocidad (Phantom v710; Vision Research Inc., Wayne, NJ, USA) con una velocidad de captura de 1,000 fotogramas por segundo a $1,280 \times 800$ píxeles, para videografiar cada una de las reacciones del tejido, desde el comienzo de la vaporización de los tejidos, incluyendo la coalescencia de las áreas de coagulación y la oscilación de la burbuja de vaporización resultante.

Bajo un diodo emisor de luz de 120 W, los fotogramas capturaron las señales de RF bipolar de 2 MHz vía electrodos de microaguja no insulada en tejido muscular *ex vivo* de cerdo miniatura, y de tejido de hígado bovino. Para obtener la visualización óptima, se insertaron 4 microagujas no insuladas en forma lineal en el tejido muscular y de hígado para distribuir las señales de RF, con un tiempo de conducción máximo de 7 segundos y una amplitud de señal de 50 V.

Referencias

1. Taheri, A. et al. Electrosurgery: part I. Basics and principles. *J. Am. Acad. Dermatol.* 70, 591.e1–591.e14 (2014).
2. Taheri, A. et al. Electrosurgery: part II. Technology, applications, and safety of electrosurgical devices. *J. Am. Acad. Dermatol.* 70, 607.e1–607.e12 (2014).
3. Brill, A. I. Bipolar electrosurgery: convention and innovation. *Clin. Obstet. Gynecol.* 51, 153–158 (2008).
4. Hantash, B. M. et al. Pilot clinical study of a novel minimally invasive bipolar microneedle radiofrequency device. *Lasers Surg. Med.* 41, 87–95 (2009).
5. Berube, D., Renton, B. & Hantash, B. M. A predictive model of minimally invasive bipolar fractional radiofrequency skin treatment. *Lasers Surg. Med.* 41, 473–478 (2009).
6. Taheri, A. et al. Entrance and propagation pattern of high-frequency electrical currents in biological tissues as applied to fractional skin rejuvenation using penetrating electrodes. *Skin Res. Technol.* 20, 270–273 (2014).
7. Zheng, Z. et al. Histometric analysis of skin-radiofrequency interaction using a fractionated microneedle delivery system. *Dermatol. Surg.* 40, 134–141 (2014).
8. Chu, K. F. & Dupuy, D. E. Thermal ablation of tumours: biological mechanisms and advances in therapy. *Nat. Rev. Cancer* 14, 199–208 (2014).
9. Emilia, d.P.M. et al. Effect of controlled volumetric tissue heating with radiofrequency on cellulite and the subcutaneous tissue of the buttocks and thighs. *J. Drugs Dermatol.* 5, 714–722 (2006).
10. Trelles, M. A. et al. Histological findings in adipocytes when cellulite is treated with a variable-emission radiofrequency system. *Lasers Med. Sci.* 25, 191–195 (2010).
11. Mandel, Y. et al. Vasoconstriction by electrical stimulation: new approach to control of non-compressible hemorrhage. *Sci. Rep.* 3, 2111 (2013).
12. Golberg, A. et al. Tissue heterogeneity in structure and conductivity contribute to cell survival during irreversible electroporation ablation by "electric field sinks". *Sci. Rep.* 5, 8485 (2015).

Contribuciones del autor

J.N., Z.Z., y S.B.C. idearon el método. Z.Z., S.E.L., y S.B.C. realizaron los experimentos. J.N., C.D., S.E.L., J.S.K. y S.B.C. analizaron los datos. J.N. and S.B.C. redactaron el escrito. J.N. and S.B.C. condujeron el experimento y el análisis de la información.

Información adicional

Información complementaria se encuentra en <http://www.nature.com/srep>

Intereses financieros: Los autores declaran no tener intereses financieros.

Como citar este artículo: Na, J. et al. Electromagnetic Initiation and Propagation of Bipolar Radiofrequency Tissue Reactions via Invasive Non-Insulated Microneedle Electrodes. *Sci. Rep.* 5, 16735; doi: 10.1038/srep16735 (2015).

Este trabajo está autorizado por Atribución 4.0 Internacional de la Organización Creative Commons. Las imágenes o cualquier material de terceros están incluido en la autorización de la organización Creative Commons, a menos que se indique lo contrario en los créditos; si el material no está incluido en la autorización de la organización Creative Commons, los usuarios deberán obtener el permiso del titular para reproducir este material. Para ver una copia de la autorización visite <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



(33) 3955 7997



Plan de San Luis 1768
Col. Chapultepec Country
C.P. 44620 Guadalajara.

www.kpibeauty.com

