



Revista EIA, ISSN 1794-1237 /
e-ISSN 2463-0950
Año XVII/ Volumen 17/ Edición N.34
Julio-Diciembre de 2020
Reia34028 pág 1-11

Publicación científica semestral
Universidad EIA, Envigado, Colombia

**PARA CITAR ESTE ARTÍCULO /
TO REFERENCE THIS ARTICLE /**

Orozco-Vásquez, J.C.; Grisales-Díaz J.F.;
Roldán-Vasco, S.; Ossa-Orozco, C.P.;
Restrepo-Múnera, L.M.; Moncada-
Acevedo, M.E. (2020). Diseño
y construcción de un equipo
estimulador de campo eléctrico tipo
capacitivo para estimulación celular.
Revista EIA, 17(34), Julio-Diciembre,
Reia34028. [https://doi.org/10.24050/
reia.v17i34.1410](https://doi.org/10.24050/reia.v17i34.1410)

✉ *Autor de correspondencia:*

Moncada-Acevedo, M.E. (María Elena):
Instituto Tecnológico Metropolitano,
Cl. 54a #30-01, Medellín, Antioquia
Tel. 460.07.27 ext 558.
Correo electrónico:
mariamoncada@itm.edu.co

Recibido: 12-04-2020
Aceptado: 18-06-2020
Disponible online: 12-12-2020

Diseño y construcción de un equipo estimulador de campo eléctrico tipo capacitivo para estimulación celular

JUAN CARLOS OROZCO-VÁSQUEZ¹

JUAN FELIPE GRISALES-DÍAZ¹

SEBASTIÁN ROLDÁN-VASCO¹

CLAUDIA PATRICIA OSSA-OROZCO²

LUZ MARINA RESTREPO- MÚNERA²

✉ MARÍA ELENA MONCADA-ACEVEDO¹

1. Instituto Tecnológico Metropolitano
2. Universidad de Antioquia

Resumen

La búsqueda de alternativas para tratamientos al cáncer que puedan ser de bajo costo, menos invasivos y con menores efectos secundarios, sigue siendo un tema de continuo interés. El estudio de un sistema combinado de campos eléctricos de bajo voltaje con nanomateriales, estos últimos actuando como nanovectores, en el tratamiento de cáncer ha mostrado resultados prometedores. En este trabajo se presenta el diseño, simulación y construcción de un equipo estimulador eléctrico tipo capacitivo de bajo voltaje para estimular células tipo fibroblastos normales y tipo melanoma combinadas con nanopartículas de oro. El equipo permite variación en voltaje, frecuencia, intensidad de corriente, forma de onda y ciclo de dureza. El diseño fue realizado en la plataforma Arduino Due, llevado a Eagle para el desarrollo PCB y con visualización en pantalla LCD. El generador construido es finalmente conectado a un par de placas paralelas encargadas del campo eléctrico que será inducido. De las variables entregadas por el equipo se encontraron exactitudes inferiores al 1,5% lo que garantiza el cumplimiento técnico del equipo en las variables necesarias.

Palabras clave: Estimulación eléctrica, Desarrollo de equipos, Estimulación capacitiva

Design and construction capacitive electric field equipment for cell stimulation

Abstract

The searching of options for cancer treatments at low cost, less invasive and with minor side effects is still an interest matter. The study of a combined system of low voltages electric

fields with nanomaterials, the latter working as nanovectors, in the cancer treatment has shown promising results. This work presents the design, simulation and construction of an electrical stimulator equipment capacitive type of low voltage for stimulation of healthy skin cells and melanoma type combined with gold nanoparticles. The equipment allows to modify voltage, frequency, current intensity, waveform and duty cycle. The design was performed in Arduino DUE platform, then taken to Eagle to the PCB development and the visualization on a LCD screen. The implemented generator is finally connected to a couple of parallel plates which are in charge of the induced electric field. From the variables delivered by the equipment, accuracies lower than 1.5% were found, this guarantees the technical fulfillment of the equipment in the needed variables.

Keywords: Electric stimulation instrument, Development equipment, Capacitive stimulation.

1. Introducción

El uso de nanopartículas en tratamientos de cáncer viene siendo ampliamente estudiado en las últimas décadas (Matsumura 1986; Maeda 2010; Lee 2014; Zhong 2014), pero con dificultades relacionadas con el pobre efecto de permeabilidad y retención de las nanopartículas hacia los espacios intracelulares (Pei-Chi 2016; Stylianopoulos 2013). Si las nanopartículas funcionaran como nanovectores al interior de las células, estas podrían llevar el reactivo antitumoral a los vasos sanguíneos del tumor y posiblemente filtrarse al tejido tumoral a través del espacio intercelular entre las células endoteliales (Lee 2014, Zhong 2014; Pei-Chi 2016; Stylianopoulos 2013; Sano 2013).

Por otra parte, la aplicación de estímulos eléctricos fuertes ha mostrado ser eficiente en el transporte de biomoléculas o nanopartículas hasta las células (Marty 2006; Miklavčič 2012; Gehl 2003). La aplicación de una fuerte estimulación eléctrica da como resultado un mayor potencial transmembrana que podría formar poros en la membrana celular. Estos poros reversibles podrían durar un tiempo específico, durante el cual las células podrían repararse (Gintautas 1997) y las biomoléculas difundirse o derivarse por la fuerte fuerza electroforética en la región objetivo (Pei-Chi 2016; Lekner 2014; Neumann 1999).

La electroporación por ejemplo, presenta una capacidad efectiva de transfección en el tratamiento de varios tipos de tumores y es usado comúnmente en terapias contra el cáncer como la terapia génica y la electroquimioterapia dirigida (TEC) (Neumann 1982; Titomirov 1991; Cemazar 2009; Camapana 2009; Gehl 2006; Satkauskas 2005). Su uso puede llegar a reducir la dosis de fármacos y los efectos secundarios generados, y si además se piensa en la incorporación de un nanovector (nanopartículas conductoras) podría superarse la limitación de escasa solubilidad del agente anticancerígeno en soluciones acuosas. Sin embargo, la electroporación efectiva generalmente requiere altos voltajes, lo que podría resultar en una electroporación irreversible y ablación de tejidos (Pei-Chi 2016; Kasivisvanathan 2012; Esser 2007).

Si hablamos de nanomateriales que actúen como nanovectores, se piensa en que estos sean conductores. Los nanotubos de carbono, por ejemplo, son capaces de mejorar el campo eléctrico y crear regiones localizadas de alto campo (Saito 2010; Kozinsky 2006), además estudios *in vitro*, que se basan en nanotubos de carbono, han revelado que podrían amplificar el campo eléctrico externo, induciendo así la formación de poros en la membrana celular (Raffa 2010; Shahini 2013; Wang 2015). En el estudio realizado por Shahini et al., (2013) células fueron expuestas a campos eléctricos dentro del chip de microfluidos incrustado con nanotubos de carbono, lo que condujo a la fuga de los componentes intracelulares y solo un bajo voltaje fue suficiente para la estimulación eléctrica necesaria (Pei-Chi 2016, Shahini 2013).

Pensando en una alternativa de estimulación por campos eléctricos de bajo voltaje que permita cambios a nivel celular sin presentar efectos irreversibles y considerando que Shahini obtuvo resultados para bajos voltajes aplicados cuando contó con nanovectores. En este estudio se planteó el diseño y construcción de un equipo de estimulación eléctrica tipo acople capacitivo, cuyas características técnicas cumplen con generación de bajo voltaje y baja frecuencia y con placas paralelas como electrodos encargados de inducir el campo eléctrico. El equipo se diseñó y construyó para ser utilizado como equipo estimulador de células cultivadas *in vitro* y que serán a la vez estimuladas por nanopartículas de oro (nanovectores). Las células serán ubicadas en el área de campo homogéneo que deberá garantizar el arreglo de los electrodos y el equipo operará para diferentes voltajes (solo bajo voltaje), frecuencia y tipos de onda.

Para la construcción del equipo se estudió inicialmente la gran variedad de formas, tiempos de exposición y técnicas de aplicación utilizadas en la estimulación eléctrica. Dentro de los factores necesarios para definir las variables más representativas del equipo se tienen (Pamela 2010; Jankovic 2008; Balakatounis 2008): su efecto en el organismo (electroquímicos, motores para los sistemas nervioso y muscular, mejoras metabólicas, regeneración, entre otros); modos de aplicación (pulsos, ráfagas, frecuencias fijas, etc.); frecuencia de aplicación (bajas de 0-1 kHz, medias de 2 – 10 kHz y altas desde 500 kHz hasta ionizantes) y tipo de estímulo (directo, inductivo o capacitivo).

Adicionalmente a los parámetros, deben ser tenidas en cuenta las condiciones de la señal tales como la amplitud, que determina la intensidad de la estimulación; el ancho del pulso, relacionada con contracciones o relajaciones (para regeneración se ha encontrado que un pulso más ancho tiene mejor penetración y que afecta los potenciales de acción); la frecuencia, que influye en contracción o fatiga de los tejidos y la forma de onda (cuadrada, sinusoidal, triangular) relacionada con la ionización celular (Araujo 2015).

El equipo diseñado y construido en este trabajo, cuenta con variación en voltaje, frecuencia, intensidad de corriente, forma de onda y ciclo de dureza. El sistema generador fue simulado en la plataforma Arduino due y llevado posteriormente a Eagle donde se desarrolló el PCB y la etapa de control. Los valores que aplica el equipo son visualizados en una pantalla LCD y la tarjeta electrónica, acoplada a un dispositivo Arduino Due encargada de la generación de las cuatro formas de onda de la señal. Finalmente, el equipo generador se conecta a un par de placas paralelas que son las encargadas de inducir el campo eléctrico en los cultivos celulares.

2. Materiales y métodos

Circuitos eléctricos

Las características técnicas seleccionadas fueron: tipos de onda sinusoidal, cuadrada, triangular y diente de sierra; amplitud de voltaje de 40 a 200 DC; corriente de 10 a 60 mA; frecuencia de 2 a 200 Hz y ciclo de dureza para la onda cuadrada de 20%, 50% y 75%.

Posteriormente, de acuerdo a las recomendaciones de Instrument & Brigitte (2014), fueron realizados los cálculos matemáticos para alcanzar el voltaje y corriente necesarios. Fueron determinados el elevador de voltaje tipo boost y el regulador de corriente. Las ecuaciones utilizadas para los diferentes cálculos son reportadas en la tabla de resultados.

Inicialmente fueron calculadas la corriente del interruptor con la que se determinó el ciclo de trabajo D , la entrada mínima de voltaje y las corrientes de conmutación máxima, máxima ripple de la bobina y suicheo. Con estos valores fue validado el valor

de la bobina, que es un elemento fundamental para el diseño. Posteriormente fue calculado también el valor del condensador de salida y finalmente el regulador de corriente se estableció como un circuito compuesto por un amplificador operacional operando como inversor y un transistor, para una corriente máxima esperada de 60mA.

Interfaz de visualización por LCD

Plataforma Arduino Due

La plataforma está compuesta por hardware y software y se basa en un microcontrolador con entradas y salidas analógicas y digitales. La plataforma es abierta y compatible con Windows, MacOS y Linux (santillan tovar & campos delgado, 2014). Arduino cuenta con diferentes librerías y en este trabajo se utilizó la placa Arduino Due para el generador de ondas. La placa cuenta con un microcontrolador de 32 bits, entradas y salidas analógicas con resolución de 12 bits y tasa de muestreo hasta 1000 ksp/s, los pines se enumeran de 0 – 53 y pueden ser utilizados como entradas o salidas digitales. Todas las entradas/salidas trabajan a 3.3V y cada una puede soportar una corriente de 3mA – 15 mA o recibir de 6 mA – 9 mA dependiendo del PIN. Estos pines poseen una resistencia de *pull-down* desactivada por defecto de 100 K Ω , además de contar con otras funciones específicas.

Arduino Due tiene integrados dos botones “*erase*” y “*reset*” para borrar o reiniciar un programa. Cuenta con dos puertos micro-USB “*Programming*” para programación y comunicación y “*Native*” para conectar periféricos externos USB como mouse o teclado (santillan tovar & campos delgado, 2014).

Finalmente, para la generación de las señales sinusoidal, triangular, diente de sierra y cuadrada, se realizó el código de programación con la tarjeta Arduino Due, siendo modificado e integrado con los sistemas de elevación de voltaje, regulador de corriente y rango de frecuencias requeridos. La validación se realizó comparando los valores registrados en la pantalla LCD, con los observados en el osciloscopio de referencia GDS-2062.

Electrodos

La dimensión del par de placas paralelas que fungen como nuestros electrodos fue establecida para garantizar un área de campo eléctrico homogéneo donde son ubicadas las células, siguiendo el procedimiento dado por la norma “*IEEE Recommended Practice for Instrumentation: Specifications for Magnetic Flux Density and Electric Field Strengthmeters – 10 Hz to 3 kHz*”. Donde se especifica paso a paso las condiciones geométricas que se deben cumplir. Así, para garantizar un campo eléctrico homogéneo de 4cm x 4cm en medio de las placas, los electrodos paralelos fueron construidos con una dimensión de 40 cm x 40 cm y separados 20 cm.

El par de placas paralelas fueron simuladas en el programa computación ANSYS en el módulo *Electromagnetics* para observar el cumplimiento del área homogénea necesaria para la estimulación celular.

3. Resultados

Los resultados obtenidos del diseño y construcción del equipo se enmarcan en el desarrollo de las ecuaciones y validación de medidas entregadas por el equipo y registradas con un osciloscopio de referencia GDS-2062 y un multímetro de referencia UT61C. La tabla a continuación presenta las ecuaciones desarrolladas para el elevador de voltaje y el regulador de corriente.

TABLA 1. RESULTADOS DE LAS ECUACIONES PARA ELEVADOR DE VOLTAJE Y REGULADOR DE CORRIENTE

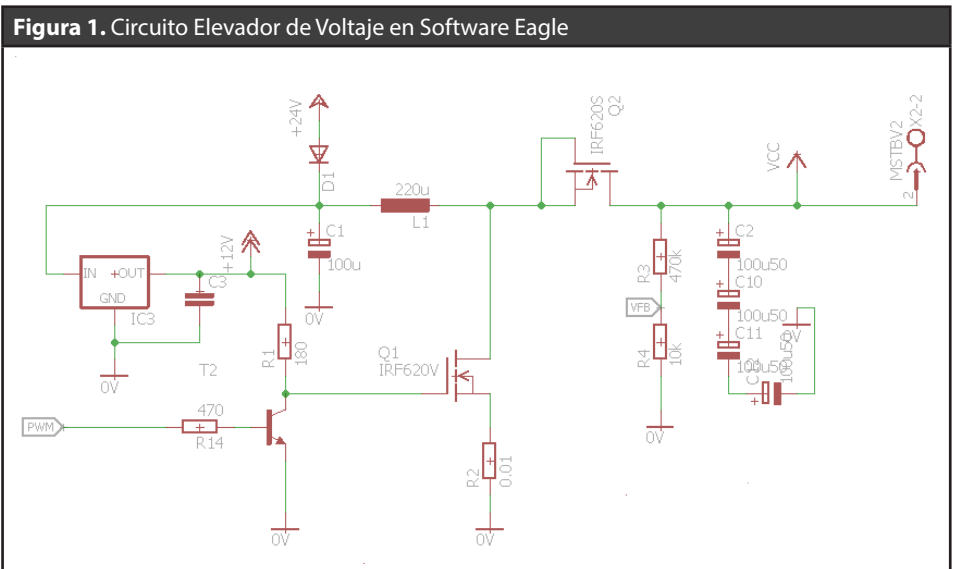
Ecuación	Resultado	Ecuación
$D = 1 - \frac{V_{in\ min} * n}{V_{out}}$	$D = 1 - \frac{24\ v * 0.85}{200\ v} = 0.90$	(1)
$\Delta iL = \frac{V_{in\ min} * D}{f_s * L}$	$\Delta iL = \frac{24 * 0.90}{40000 * 0.00022} = 2.5A$	(2)
$I_{sw\ max} = \frac{\Delta iL}{2} + \frac{I_{out\ max}}{1 - D}$	$I_{sw\ max} = \frac{2.5}{2} + \frac{0.060}{1 - 0.90} = 1.85\ A$	(3)
$L = \frac{V_{in} * (V_{out} - V_{in})}{\Delta iL * f_s * V_{out}}$	$L = \frac{24 * (200 - 24)}{2.5 * 40000 * 200} = 215.5\ \mu H$	(4)
$C_{out} (min) = \frac{I_{out\ max} * D}{f_s * \Delta V_{out}}$	$C_{out} (min) = \frac{0.060 * 0.90}{40000 * 0.01} = 134.7\ \mu f$	(5)
	$2.8\ v \div 47\ \Omega = 60\ mA$	(6)

D: ciclo de trabajo; Vinmin: entrada mínima de voltaje; n: eficiencia; vout: Voltaje de salida; ΔiL: corriente máxima ripple; Iswmax: corriente de suicheo; L: bobina; Cout. Condensador de salida.

Circuito eléctrico

Elevador de voltaje tipo boost

La **Figura 1** muestra el diseño del regulador de voltaje en el software Eagle, de acuerdo a los valores calculados para los elementos del circuito. En el diseño fue considerado un regulador de voltaje adicional de 12 V para lograr la excitación del Mosfet.



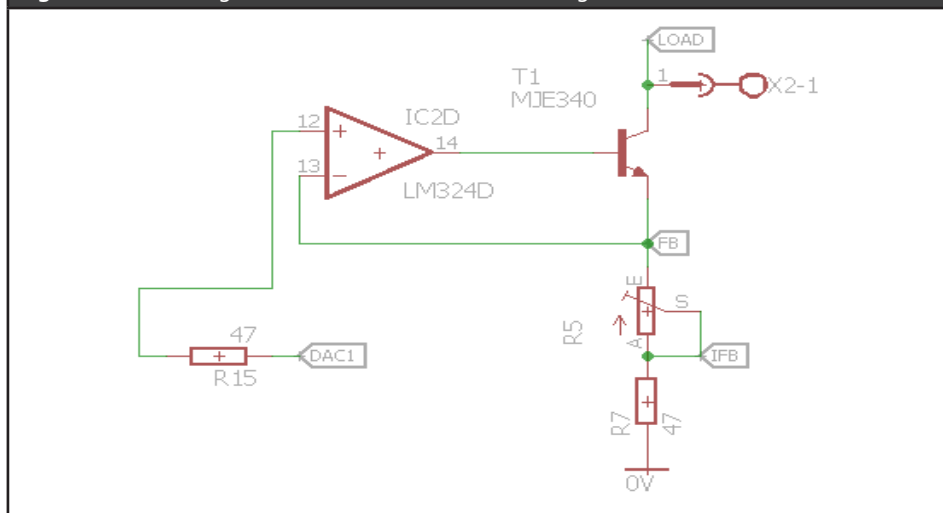
Regulador de corriente

La **Figura 2** muestra el circuito regulador de corriente dependiente de la resistencia de carga, con una corriente máxima esperada de 60mA. El valor mínimo que puede tener la resistencia de carga se calculó en 47Ω.

Generación de señales y ciclo de dureza

Con los componentes que integran la fuente de corriente y voltaje, y definida la librería para obtener la generación de señales a través de la placa Arduino DUE se diseñó la tarjeta electrónica. La tarjeta en su primera fase obtiene la señal de salida de la tarjeta Arduino a través del puerto de salida DAC1 y posteriormente mediante la implementación de pulsadores permite seleccionar el tipo de onda requerido (senoidal, triangular, cuadrada y diente de sierra); adicionalmente se puede seleccionar la onda cuadrada en duttycycle.

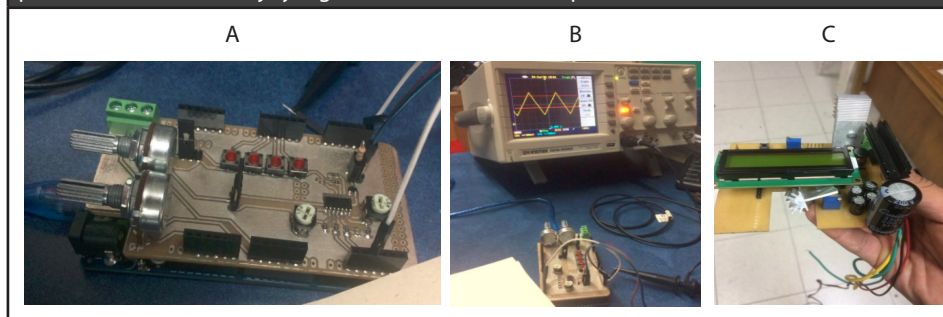
Figura 2. Circuito regulador de corriente en Software Eagle



Fuente de corriente y voltaje

Posterior a los cálculos y simulación de las fuentes de corriente y voltaje, se diseñó el circuito electrónico para acoplar la etapa digital con la etapa de potencia; el cual garantiza las condiciones de corriente y voltaje requeridas para el diseño del dispositivo (10 - 60 mA, 0 - 200Vdc) también fue adicionada una interfaz de visualización usando una pantalla LCD para monitorear en tiempo real el tipo de onda, frecuencia de muestreo de la señal, voltaje de la fuente, corriente de salida y voltaje de salida. La **Figura 3** muestra algunas de las partes que conforman el circuito.

Figura 3. A) PCB para generador de señales, B) Generador de señales y muestra en osciloscopio, C) elevador de voltaje y regulador de corriente con pantalla LCD.



Las **Figuras 5 a 8** presenta las imágenes registradas por el osciloscopio y pantalla LCD para diferentes formas de onda, voltajes, frecuencias y ciclos de dureza

Figura 5. Registro de onda cuadrada por A) osciloscopio, B) pantalla LCD

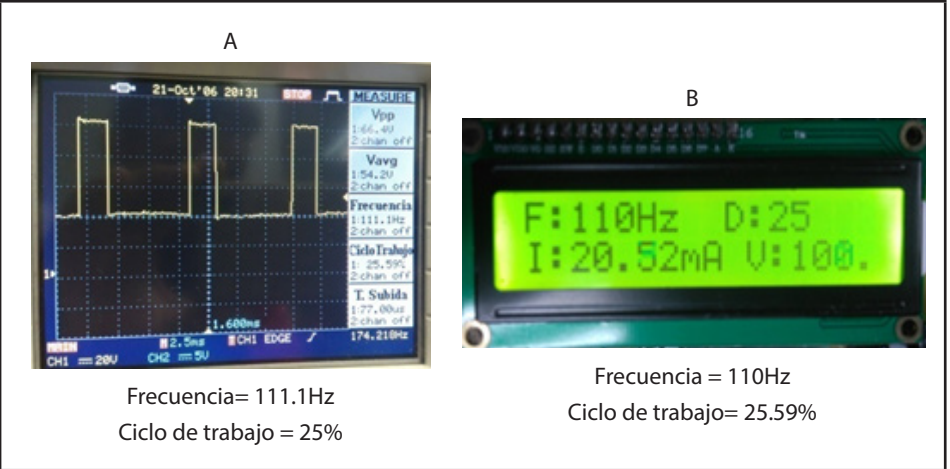


Figura 6. Registro de onda sinusoidal por A) osciloscopio, B) pantalla LCD (Voltaje de carga = $34.64\text{mA} \cdot 3300\Omega = 114.3\text{Vdc}$)

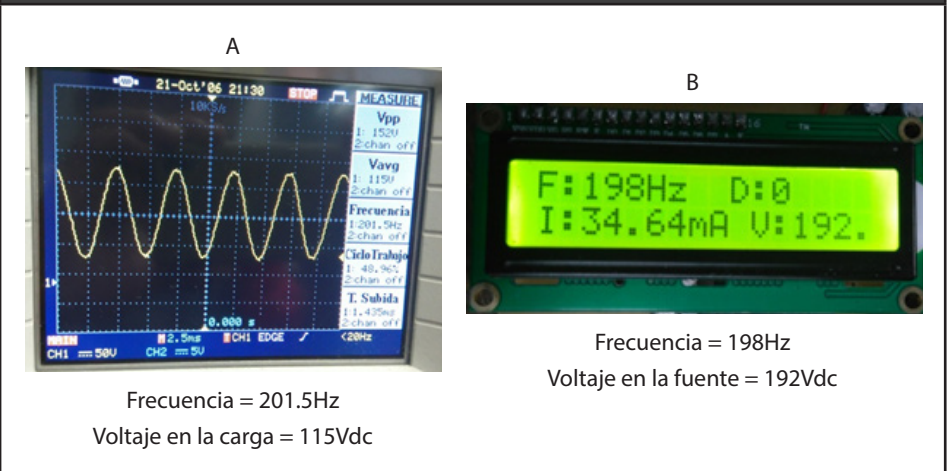


Figura 7. Registro de onda triangular por a) osciloscopio, b) pantalla LCD (Voltaje de carga = $34.64\text{mA} \cdot 3300\Omega = 114.3\text{Vdc}$)

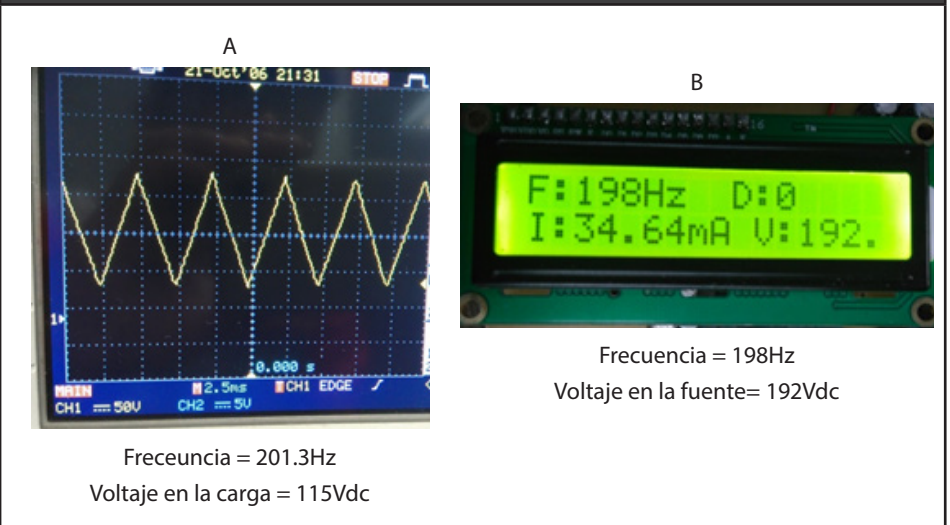


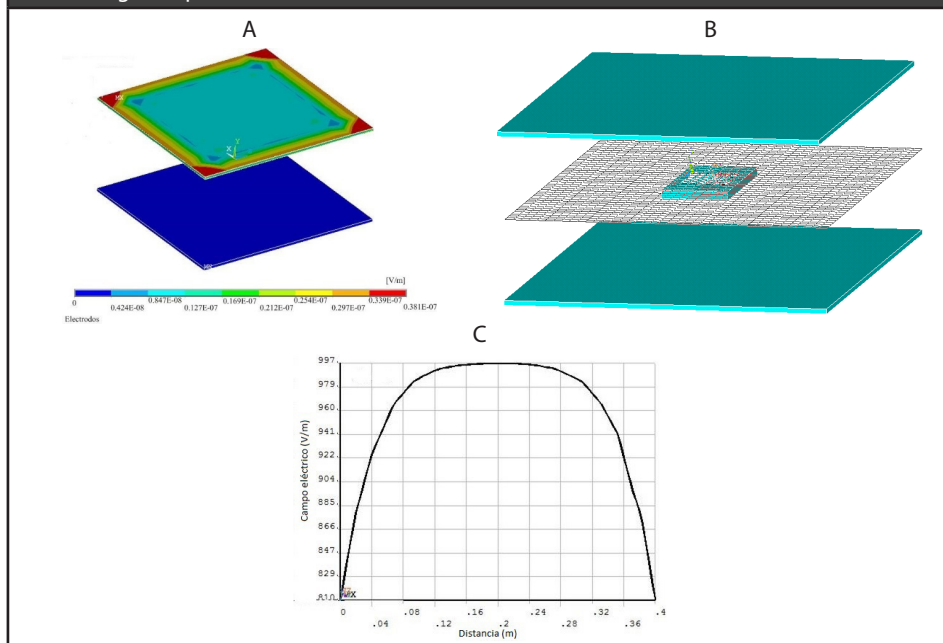
Figura 8. Registro de onda triangular por a) osciloscopio, b) pantalla LCD (Voltaje de carga = $34.64\text{mA} \times 3300\Omega = 114.3\text{Vdc}$)



Electrodos

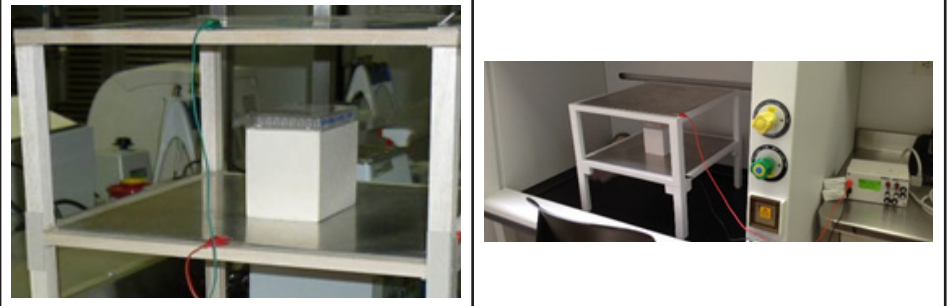
La **Figura 9** muestra los resultados de la simulación en Ansys del comportamiento del campo eléctrico del arreglo. La **Figura 9A** muestra la distribución del campo eléctrico en cada electrodo, donde uno de los electrodos se encuentra con potencial cero (azul) y en el otro se distribuye el campo eléctrico en Voltios/metro. La **Figura 9B** presenta el arreglo de los electrodos con una pequeña caja entre ellos, que representa una caja Falcom de cultivo celular y se visualiza también un plano de corte a la altura de la caja Falcom sobre la que se quiere observar el comportamiento del campo eléctrico. La **Figura 9C** presenta en el eje vertical el campo eléctrico vs la distancia a lo largo del plano de corte (eje horizontal) para una línea ubicada justo en centro de las placas y del plano de corte.

Figura 9. A) Distribución del campo eléctrico en las placas paralelas; B) Plano de corte en medio de las placas paralelas para visualizar el campo eléctrico; C) Campo eléctrico vs distancia a lo largo del plano de corte.



La **Figura 10** muestra la caja de cultivo celular ubicada en medio de los electrodos a la altura de campo eléctrico homogéneo y el arreglo de los electrodos acoplados al equipo generador de la señal.

Figura 10. A) Caja de cultivo celular ubicada en medio de los electrodos generadores de campo eléctrico; B) Arreglo de los electrodos acoplados al equipo generador de la señal.



4. Discusión

El dispositivo arroja un promedio de error general respecto a la medida real de 1.51%, encontrando la mayor exactitud en la corriente (error inferior al 1%) garantizando la necesidad del circuito para una de las magnitudes más importantes en el proceso de aplicación de la estimulación.

Por otro lado, se encontró que para las frecuencias más bajas el valor de la corriente en la carga fue la magnitud que presentó más variaciones, esto debido a las altas tolerancias que manejan las resistencias.

Por su parte, se logró simular el arreglo de placas paralelas encargadas de generar el campo eléctrico a la altura sobre la que estará ubicada la caja Falcom con el contenido celular. De la **Figura 9 C** se observan los valores de campo eléctrico inducido en el plano central de las placas (donde deberán ser ubicadas las células). La gráfica presenta un aplanamiento en la curva de campo eléctrico para la distancia de 16 cm a 24 cm (8 cm). Contando que las placas son cuadradas, se garantiza un área de campo eléctrico homogéneo de 8cm x 8cm en la que deberán ir ubicadas las células cultivadas in vitro.

5. Conclusiones

Se diseñó e implementó un dispositivo de estimulación eléctrica para ser utilizado como estimulador por campo eléctrico inducido, sobre células de piel sanas y tipo melanoma cultivadas in vitro que serán combinadas con nanopartículas de oro. Las características técnicas del equipo permiten la selección de tipo de onda entre sinusoidal, cuadrada, triangular y diente sierra monofásica pulsada con rango de voltaje entre 40 - 200 VDC, una corriente entre 10 - 60 mA y frecuencia de 0 - 200 Hz y ciclo de dureza entre 0, 25, 50, 75 y 100 % a partir de una tarjeta Arduino DUE haciéndolo más portable y de bajo costo. La simulación del circuito electrónico se realizó el programa Circuit Maker® y la simulación del campo eléctrico a ser aplicado a partir de las placas paralelas, fue realizado en el programa Ansys®. Los resultados de las señales obtenidas cumplen con los requerimientos planteados.

Agradecimientos

El grupo de trabajo agradece a Colciencias por su financiación para la realización de este trabajo enmarcado en un proyecto mayor.

Referencias

- Araujo, T. S. (2015). *Modulation of electrical stimulation applied to human physiology and clinical diagnostic*. Lisboa: Universidade Nova Lisboa. Fundación para la Ciencia y la Tecnología.
- Balakatounis K, Angoules A. (2008) 'Low-intensity Electrical Stimulation in Wound Healing: Review of the Efficacy of Externally Applied Currents Resembling the Current of Injury'. *Journal of Plastic Surgery*. 8:283-91.
- Camapana LG., et. al. (2009) 'Bleomycin-based electrochemotherapy: clinical outcome from a single institution's experience with 52 patients', *Ann. Surg. Oncol.* 16 191–199.
- Cemazar M., et. al. (2009) 'Control by pulse parameters of DNA electrotransfer into solid tumors in mice', *Gene Ther.* 16 635–644.
- Esser A.T., et. al. (2007) 'Towards solid tumor treatment by irreversible electroporation: intrinsic redistribution of fields and currents in tissue', *Technol. Cancer Res. Treat.* 6 (2007) 261–274.
- Gehl J, et. al. (2006) 'Results of the ESOPE (European Standard Operating Procedures on Electrochemotherapy) study: efficient, highly tolerable and simple palliative treatment of cutaneous and subcutaneous metastases from cancers of any histology', *J. Clin. Oncol.* 24 s8047 (Suppl).
- Gehl, (2003) 'Electroporation: theory and methods, perspectives for drug delivery, gene therapy and research', *Acta Physiol. Scand.* 177 437–447.
- Gintautas S, (1997) 'Pore disappearance in a cell after electroporation: theoretical simulation and comparison with experiments', *Biophys. J.* 73 1299–1309.
- Jankovic A, Binic I. (2008) 'Frequency rhythmic electrical modulation system in the treatment of chronic painful leg ulcers'. *Arch Dermatol Res.* 2008;300(7):377-83.
- Kasivisvanathan V, et. al. (2012) 'A. Thapar, Y. Oskrochi, J. Picard, E.L.S. Leen, Irreversible electroporation for focal ablation at the porta hepatis', *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* 35 1531–1534.
- Kozinsky B, et. al. (2006) 'Static dielectric properties of carbon nanotubes from first principles', *Phys. Rev. Lett.* 96 166801.
- Lee S, et. al., (2014) 'Chemical tumor-targeting of nanoparticles based on metabolic glycoengineering and click chemistry', *ACS Nano* 8 2048–2063.
- Lekner, (2014) 'Electroporation in cancer therapy without insertion of electrodes', *Phys. Med. Biol.* 59 6031–6042.
- Maeda H., (2010) 'Tumor-selective delivery of macromolecular drugs via the EPR effect: background and future prospects', *Bioconjug. Chem.* 21 797–802.
- Marty M., et. al. (2006) 'Electrochemotherapy — an easy, highly effective and safe treatment of cutaneous and subcutaneous metastases: results of ESOPE (European Standard Operating Procedures of Electrochemotherapy) study', *EJC Suppl.* 4 3–13.
- Matsumura Y, Maeda H., (1986). 'A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent SMANCS', *Cancer Res.* 46 pag. 6387–6392.
- Miklavčič D, et. al. (2012) 'Electrochemotherapy: technological advancements for efficient electroporation-based treatment of internal tumors', *Med. Biol. Eng. Comput.* 50 1213–1225.
- Neumann E, et. al. (1999) 'Fundamentals of electroporative delivery of drugs and genes, Bioelectrochem'. *Bioenerg.* 48 3–16.
- Neumann E, et. al. (1982) 'Gene transfer into mouse lymphoma cells by electroporation in high electric fields', *EMBO J.* 1 841–845.
- Pamela E., et. al. (2010) 'Electrical Stimulation Therapy Increases Rate of Healing of Pressure Ulcers in Community-Dwelling People With Spinal Cord Injury'. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*. Volume 91, Issue 5, Pages 669-678.

- Pei-Chi Lee et. al. (2016) 'Combining the single-walled carbon nanotubes with low voltage electrical stimulation to improve accumulation of nanomedicines in tumor for effective cancer therapy'. *Journal of Controlled Release* 225 140–151.
- Raffa V, et. al. (2010) 'Carbon nanotube enhanced cell electropermeabilisation', *Bioelectrochemistry* 79 136–141.
- Saito R, et. al. (2010) 'Physical Properties of Carbon Nanotube', Imperial College Press, London, 2010 1–29.
- Sano K, et. al. (2013) 'Markedly enhanced permeability and retention effects induced by photo-immunotherapy of tumors', *ACS Nano* 7 717–724.
- Satkauskas S, et. al. (2005) 'Effectiveness of tumor electrochemotherapy as a function of electric pulse strength and duration', *Bioelectrochemistry* 65 105–111.
- Shahini M, et. al. (2013) 'Cell electroporation by CNT-featured microfluidic chip', *Lab Chip* 13 2585–2590.
- Stylianopoulos T, (2013) 'EPR-effect: utilizing size-dependent nanoparticle delivery to solid tumors', *Ther. Deliv.* 4 421–423.
- Titimirov AV, et. al. (1991) 'In vivo electroporation and stable transformation of skin cells of newborn mice by plasmid DNA', *Biochim. Biophys. Acta* 1088 (1991) 131–134.
- Wang L, et. al. (2015) 'Cuschieri, Tumour cell membrane poration and ablation by pulsed low-intensity electric field with carbon nanotubes', *Int. J. Mol. Sci.* 16 6890–6901.
- Zhong Y, et. al. (2014) 'Ligand-directed active tumor-targeting polymeric nanoparticles for cancer chemotherapy', *Biomacromolecules* 15 1955–1969.