

Variación del pH por acción de la corriente galvánica empleada en la electrolisis percutánea

Ramón Margalef¹ Francisco Minaya-Muñoz^{2,3} Fermín Valera-Garrido^{2,3} Marc Bosque¹
Manel M. Santafé¹

¹Unidad de Histología y Neurobiología, Departamento de Ciencias Médicas Básicas, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad Rovira i Virgili, Reus, España

²MVClinic Institute, Madrid, España

³Departamento de Fisioterapia, Universidad CEU San Pablo, Madrid, España

Address for correspondence: Manel M. Santafé, MD, PhD, Unidad de Histología y Neurobiología, Departamento de Ciencias Médicas Básicas, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad Rovira i Virgili, Reus, España, Carrer St Llorenç Num 21, 43201 Reus, España (e-mail: manuel.santafe@urv.cat).

Rev Fisioter Invasiva 2020;3:2–6.

Resumen

Objetivo Determinar si la electrolisis del cloruro sódico genera un cambio de pH en los tejidos.

Métodos Se ha evaluado la corriente galvánica de 3 mA durante 3 segundos y 3 repeticiones (3:3:3). Se evaluó los cambios de pH in vitro: 1, en viales Eppendorf® llenos con solución Ringer; 2, de la solución Ringer en un volumen muy reducido (100µl); 3, igual que en la situación 1 pero con solución fisiológica (NaCl 0,9%). Se evaluaron los cambios de pH en gastrocnemios de ratones, usando el izquierdo como control y el derecho como intervención. Los gastrocnemios se trituraron y se determinó el pH de cada grupo.

Resultados En los estudios in vitro 1 y 2, no hubo variación de pH ni en el Ringer del cátodo ni en el Ringer de ánodo (en ningún caso supero el 16% de variación, $p > 0,05$). En el estudio 3 in vitro el pH después de aplicar corriente galvánica incrementó un 70% en la solución fisiológica del cátodo y el pH de ánodo disminuyó un 34% ($p < 0,05$ en ambos casos). En los experimentos in vivo no se obtuvo ningún cambio de pH (% de variación: $0,00 \pm 0,00$).

Conclusiones La corriente galvánica empleada en la electrolisis percutánea con los parámetros 3:3:3 generan unos cambios muy pequeños en el pH, en la zona cercana a la aguja, que el cuerpo es capaz de compensar rápidamente.

Palabras clave

- ▶ corriente galvánica
- ▶ electrolisis in vitro
- ▶ electrolisis in vivo
- ▶ pH

Introducción

El uso de la electrolisis percutánea musculoesquelética (EPM; en inglés *percutaneous needle electrolysis*, PNE) se ha popularizado entre los tratamientos de fisioterapia invasiva durante los últimos años. El modelo teórico de los efectos biológicos de la electrolisis percutánea, describe que la corriente galvánica (CG) aplicada a través de una aguja solida de metal provoca una respuesta inflamatoria en el tejido tratado, favoreciendo su reparación.¹ Está descrito que

esta respuesta inflamatoria está causada por una reacción electroquímica no termal y local, que utiliza la aguja catódica como electrodo de tratamiento.² Como es sabido, los tejidos biológicos y compartimentos corporales contienen básicamente agua (H₂O) y sales como el cloruro sódico (NaCl). Aplicando la CG a través del cátodo se genera una disociación electrolítica del NaCl y H₂O, produciendo gases e hidróxido de sodio (NaOH), coloquialmente denominado “sosa cáustica,” con un pH marcadamente básico.¹ A este compuesto se le atribuye la generación de la respuesta

received
December 16, 2019
accepted
April 8, 2020

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0040-1712511>.
ISSN 2386-4591.

Copyright © 2020 by Thieme Revinter Publicações Ltda, Rio de Janeiro, Brazil

License terms



inflamatoria en los tejidos comentada anteriormente.² Pese a la evidencia de la electrolisis del NaCl no hay estudios que evalúen el cambio de pH habitual de los tejidos (pH = 7,2) a uno más básico. De ahí, que el objetivo del presente estudio es determinar si la electrolisis del NaCl genera un cambio en el pH de los tejidos.

Material y Métodos

El estudio se realizó en la Unidad de Histología y Neurobiología (UHN) de la Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad Rovira i Virgili, Reus. Está dividido en experimentos *in vitro* e *in toto*. Se utilizaron ratones adultos macho de 40 días de edad. Los ratones fueron tratados según la normativa de la Directiva del Consejo de la Comunidad Europea de Noviembre de 1986 (86/609/EEC) para la manipulación de animales de laboratorio. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Rovira i Virgili con la referencia número 0259GC. A estos ratones se les anestesió con 0,7 ml de tribromoetanol intraperitoneal (TBE 2%: 2 g de Tribromoetanol en 100 ml de agua bidestilada). Para comprobar que el ratón está sedado se valoró la inexistencia del reflejo ocular y plantar. Todos los experimentos se realizaron en el laboratorio, manteniendo constante la temperatura de 26° y una humedad del 50%. En todos los procedimientos se usaron agujas Physio Invasiva® (PRIM Physio. C/ F n° 15, Polígono Industrial n°1-28938. Móstoles, España) de 0,30 mm × 40 mm. El protocolo evaluado fue de 3 mA durante 3 segundos y 3 repeticiones (3:3:3) ya que es una dosificación habitual en las aplicaciones clínicas de electrolisis percutánea.^{3,4} El equipo utilizado para generar la CG fue Physio Invasiva® CE0120 (PRIM Physio. C/ F n° 15, Polígono Industrial n°1-28938. Móstoles, España).

Evaluación del pH

Se evaluaron los cambios de pH *in vitro*, en un tubo de ensayo, y en los músculos gastrocnemios de ratón. Todas las mediciones del pH se realizaron con el pHímetro Crison GLP 21+ (Crison Instruments, SA. Riera Principal, 34, 36. E-08328 Alella, España).

Los experimentos *in vitro* se realizaron en tres condiciones de estudio. En la situación de estudio 1, se evaluó el efecto del protocolo de tratamiento de CG 3:3:3, con 10 segundos entre aplicaciones, sumergiendo las agujas en viales Eppendorf® llenos con solución Ringer (NaCl 137 mM, KCl 5 mM, NaHCO₃ 12 mM, Na₂HPO₄ 1 mM, CaCl₂ 2 mM, MgSO₄ 1 mM) fisiológica. Los tubos Eppendorf® contenían un volumen de 0,6 ml de Ringer. Para cada vial se determinó el pH antes de aplicar la corriente. Se determinó el pH del cátodo (4 viales) y del ánodo (4 viales). Se usó un puente de cristal lleno de agar (3.5% agar en 137 mM de NaCl) para comunicar eléctricamente los dos Eppendorf® (1 para cátodo, 1 para ánodo) manteniendo aislado el efecto de cada polo (→ **Figura 1A**). Una vez aplicado el protocolo se recogió el contenido de cada grupo de viales y se agrupó en un único tubo de ensayo para los ánodos y otro para los cátodos (volumen sumado de 2.4 ml). A continuación, se realizó la determinación del pH. Este procedimiento se repitió 3 veces

con 3 juegos de agujas, viales y tubos de ensayo en cada ocasión.

En el estudio 2, se evaluaron los cambios de pH de la solución Ringer expuestas al protocolo de tratamiento de CG 3:3:3, en un volumen muy reducido de 100µl (→ **Figura 1B**). Como en las situaciones anteriores, se utilizó un tubo de ensayo convencional para realizar las lecturas de pH, uno para el Ringer expuesto al cátodo y otro para el ánodo. A cada tubo de ensayo se le vertió 2 ml de Ringer y se determinó el pH. El contenido de ese tubo de ensayo fue vertido en los tubos de 100µl que fueron distribuidos en 2 grupos: cátodo ($n = 20$) y ánodo ($n = 20$). Se usó un puente de cristal lleno de agar (3.5% agar en 137 mM de NaCl) para comunicar la corriente entre los dos tubos, manteniendo aislado el efecto de cada polo. Una vez aplicado el protocolo se recoge el contenido de cada grupo de tubos y se depositan en el tubo de ensayo convencional y se procede a realizar las mediciones de pH. Este procedimiento se repitió en tres ocasiones con tubos de ensayo, tubos de 100µl y agujas nuevas.

Para el estudio 3, se repitió el procedimiento descrito en la situación 1 pero remplazando la solución Ringer, por solución fisiológica (SF; H₂O + NaCl 0,9%). Este procedimiento también se repitió 3 veces con tubos de ensayo, tubos Eppendorf® y agujas nuevas en cada ocasión.

En los experimentos *in toto* con animales, (→ **Figura 1C**) se usaron agujas Physio Invasiva® de 0,30 mm × 40 mm. Se aplicó el mismo protocolo de tratamiento 3:3:3 dejando 10 segundos entre aplicaciones. Con el ratón anestesiado, en decúbito prono y las patas posteriores estiradas y depiladas, se realiza la inserción de la aguja, desde el extremo proximal hacia la inserción distal, de cada gastrocnemio, el izquierdo como grupo control y derecho como grupo de tratamiento. A continuación, se extrajeron los gastrocnemios y se liberaron de tejido conectivo (tendones y fascias). Para evitar una posible difusión de sustancias por todo el volumen muscular, se reseco únicamente el área del músculo donde estuvieron las agujas insertadas. Posteriormente la muestra se pesó y se les añadió Ringer en una relación de 1 gr de músculo por 2 gr de Ringer. A continuación, se trituró el conjunto con un homogeneizador VWR /VDI 12 (VWR International Eurolab, S.L. C/ De la Tecnología, 5-17 A7 08450 Llinars del Vallès). Finalmente se determinó el pH del tubo de cada grupo.

Análisis Estadístico

El software estadístico SPSS v17.0® se utilizó para analizar los resultados. Los valores se expresan en media ± SD. Para evaluar las diferencias entre grupos, se utilizó la prueba t de Student. Las diferencias se consideraron significativas si $p < 0,05$.

Resultados

Estudio del pH

Con la intención de asemejar el medio normal biológico, se realizaron experimentos con solución Ringer normal previamente oxigenado. Esta solución es rica en iones,

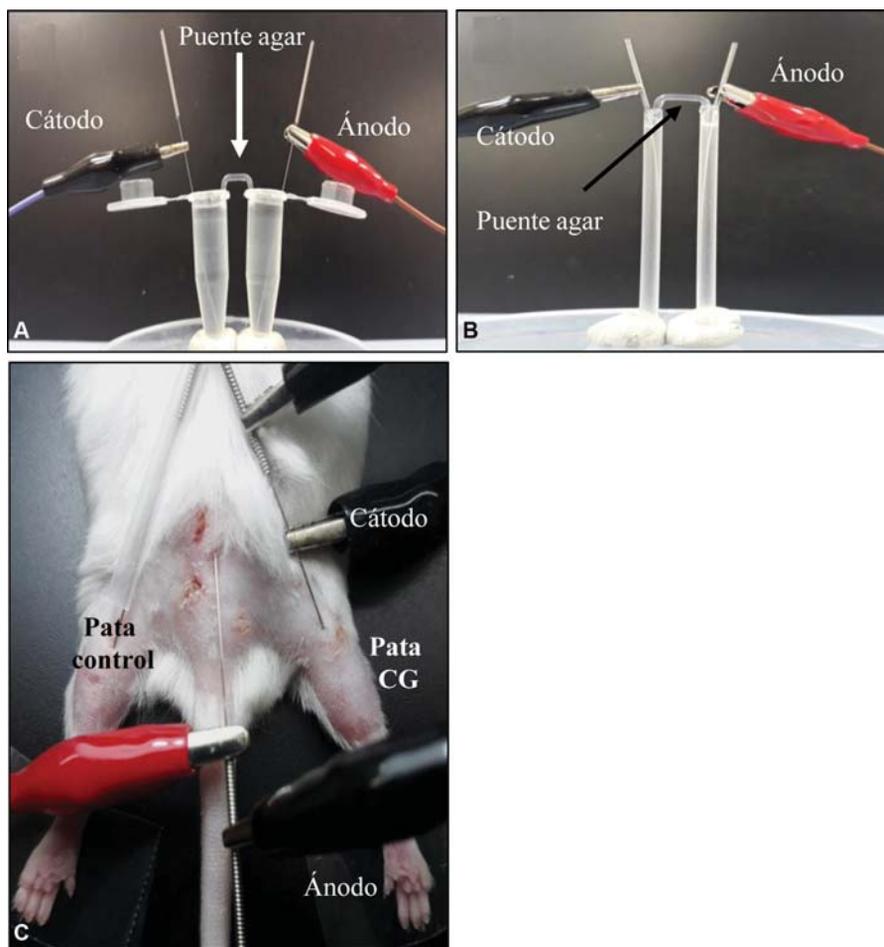


Fig. 1 Estudio de pH in vitro. (A) El ánodo y el cátodo se sumergieron en viales Eppendorf® llenos de Solución Ringer o solución fisiológica, según el protocolo 1 o 3. Los 2 viales están comunicados por un puente de vidrio lleno de agar conductor. (B) Experimento realizado con Ringer pero en volúmenes muy reducidos. Al igual que en la figura anterior, el ánodo y el cátodo están sumergidos en solución Ringer y los viales están eléctricamente conectados por puentes de vidrio llenos de agar conductor. Estudio de pH in vivo. (C) Con el ratón anestesiado, en decúbito prono y las patas posteriores estiradas y depiladas, se realiza la inserción de la aguja. La inserción se realiza en dirección distal en cada gastrocnemio. De cada animal, se trató el gastrocnemio derecho (se insertó el cátodo) y el gastrocnemio izquierdo fué usado como control. La aguja usada como ánodo se insertó en la base de la cola. En todos los casos se ha aplicado corriente galvánica (CG) de 3 mA durante 3 segundos repetido 3 veces (3:3:3).

azúcares y con un pH dentro del rango fisiológico. Se determinó el pH antes y después de aplicar la CG 3:3:3 del Ringer expuesto al cátodo y el pH del Ringer expuesto al ánodo. En ambos casos no hubo una variación de pH ($\approx 1,15\%$ de variación, $n = 3$ determinaciones, $p > 0,05$ respecto a valores iniciales en los dos casos; ver ►Tabla 1).

La falta de resultados hizo suponer que la generación de NaOH era muy escasa para el volumen de líquido usado y por lo tanto se diluía en exceso. Así que se diseñaron un set

de experimentos con un volumen muy reducido de líquido (►Figura 1B; ver estudio 2 en el apartado de Material y Métodos). En esa ocasión también se determinó el pH inicial del Ringer y después de aplicar la CG 3:3:3 expuesto al cátodo (12,01% de variación) y de Ringer expuesto al ánodo (15,26% de variación), tampoco se obtuvieron variaciones de pH significativas, ($n = 3$ determinaciones, $p > 0,05$ comparado con los valores iniciales en ambos casos; ver ►Tabla 1).

Tabla 1 Determinación del pH in vitro

Solución	Volumen	Antes	Después CG	
			Cátodo	Ánodo
Ringer Normal Oxigenado	0,6 ml	6,13 ± 0,07	6,20 ± 0,20	6,20 ± 0,10
	100 µl	6,16 ± 0,03	6,90 ± 0,10	7,10 ± 0,05
NaCl (0,9%)	0,6 ml	5,90 ± 0,04	10,09 ± 0,20*	3,90 ± 0,50*

Corriente galvánica (CG) de 3 mA durante 3 segundos repetido 3 veces (3:3:3).

* $p < 0,05$ respecto a valores del pH antes de aplicar CG.

Dado que la electrolisis es un fenómeno de disociación de agua y sal, se optó por realizar experimentos en solución SF al 0,9% de NaCl. El pH después de aplicar CG 3:3:3 incrementó un 70% en el SF del cátodo y paralelamente el pH del ánodo disminuyó un 34% ($n = 3$ determinaciones, $p < 0,05$ respecto a valores iniciales en ambos casos; ver **Tabla 1**).

Para los experimentos in vivo, se aplicaron en los gastrocnemios derechos de 3 ratones, el protocolo 3 mA, 3 segundos y 3 aplicaciones y se comparó con los resultados obtenidos en la pata izquierda, control. No se obtuvo ningún cambio (% de variación: $0,00 \pm 0,00$).

Discusión

En la literatura está explicitado que cuando dos electrodos están inmersos en un medio conductivo y se hace pasar una corriente directa continua (corriente galvánica) entre ellos se producen reacciones electroquímicas alrededor de los electrodos y en el medio que los contiene.⁵ En el presente trabajo se ha visto que el cambio de pH solo tiene lugar en una solución simple de NaCl. Usando Ringer normal oxigenado no se consiguió ninguna modificación del pH y tampoco con muestra viva. Sin embargo, está descrito un aumento de protones en el área del ánodo, es decir pH ácido y una disminución alrededor del cátodo, es decir pH básico. Estos pH extremos en algunos casos pueden causar desnaturalización de las proteínas, incluso muerte celular. Por ejemplo, Eva Nilsson y colaboradores,⁶ trabajando con CG aplicadas mediante electrodos de platino, describen que la reacción más importante que se produce es la descomposición del agua en H_2 y iones hidroxilo (OH^-) (formulado sería: $2H_2O + 2e^- \leftrightarrow H_2 + 2OH^-$). Es sabido que durante la aplicación de la CG se forman burbujas de hidrógeno en la aguja catódica. Éste se acumula en el tejido que rodea la aguja y una parte se escapa por la línea de inserción de la aguja. Este gas en condiciones fisiológicas tiene una baja reactividad electroquímica y su posible efecto estaría limitado a un efecto mecánico por presión.⁷ Por otro lado, cuando este hidrógeno se combina con un oxígeno forma un hidroxilo, este ion puede causar la destrucción de tejido, pero en condiciones biológicas los sistemas amortiguadores del tejido entre ellos el bicarbonato, proteínas y el fosfato orgánico, son capaces de neutralizar el papel destructivo de este ion.⁶ El bicarbonato es un sistema amortiguador presente en el plasma y en el líquido intersticial. Cuando un tejido es expuesto a una alcalinidad fuerte, el sistema amortiguador del bicarbonato actúa como un sistema abierto permitiendo compensar los cambios.⁸ En los experimentos del presente trabajo no cambió el pH al trabajar con la solución Ringer normal oxigenada. Esta solución es isotónica y con un juego iónico con una discreta capacidad tamponadora oncótica y de pH. Podría pasar que los experimentos realizados ex vivo con Ringer hubieran sido tamponados mientras que con la simple SF no ha pasado y así sí que el cambio de pH fue dado.

Por otro lado, las proteínas, mediante los grupos prostéticos (componente no aminoacídico de las proteínas que es necesaria para que sea funcional) también contribuyen a amortiguar los cambios que pueda generar el hidrógeno.⁶ En último lugar destacar el papel amortiguador del fosfato

orgánico presente en la molécula de adenosín trifosfato (ATP; muy presente en el tejido muscular). Por tanto, los experimentos realizados en el presente estudio con muestra muscular no mostraron variación en el pH posiblemente por el efecto tamponador de proteínas y ATP.⁶

Li y colaboradores,⁹ en un trabajo pionero, aplicando un protocolo de CG de 8,5 Volts a 30 mA durante 69 minutos obtuvieron cambios en las concentraciones de iones Na^+ y K^+ en el cátodo (pH = 12,9) y de Cl^- en el ánodo (pH = 2,1). Posteriormente se publicaron varios trabajos^{5,7,10} que consideraron el cambio de pH como el principal mecanismo de necrosis de tejidos tratados con corrientes eléctricas. Este cambio de pH en el cuerpo humano requiere de una aplicación temporal aproximada de 30 minutos para conseguir estos efectos y además precisa que estén los dos electrodos presentes en el tejido tratado. En el presente trabajo la CG usada ha sido de mucho más bajo amperaje (3 mA) y una duración de solo segundos. Es posible que estos valores tan bajos empleados en el presente estudio generen un insuficiente cambio de pH como para ser detectado y que además sea fácilmente tamponado.

En resumen, los cambios de pH detectados en solución salina pudieron ocurrir porque no había tamponadores iónicos como en la solución de Ringer o no había tamponadores biológicos como en los experimentos realizados en músculo. Adicionalmente, el amperaje y la duración usadas son extremadamente bajas para generar un gran cambio de pH y este es fácilmente tamponado por la solución Ringer o los tejidos biológicos.

Según los resultados obtenidos en este estudio, los beneficios clínicos obtenidos del tratamiento con el protocolo 3 mA durante 3 segundos y 3 repeticiones no provienen de forma significativa del pH, sino de otras fuentes como los cambios en el potencial de membrana de las células de los tejidos tratados. Por ejemplo, es conocido desde los años 50 que la actividad de los osteocitos y osteoblastos depende de variaciones de potenciales de membrana.¹¹ Este tema sigue siendo vigente en la actualidad (ver por ejemplo el libro de Zhao¹²). Muchos otros tejidos se benefician de cambios en el potencial de membrana de sus células como por ejemplo la piel^{13,14} o las células de la córnea.¹⁵ Por otro lado, es sabido que células de la respuesta inflamatoria o inmune como los linfocitos¹⁶ o los macrófagos¹⁷ son atraídos (efecto llamada) por la corriente galvánica. Se ha descrito una vasodilatación local inmediata y transitoria en vasos de mediano y pequeño calibre tras la aplicación de la CG¹⁸ que agilizaría la llegada de estas células. Dada la implicación de células de la respuesta inflamatoria se podría proponer también la participación del inflammasoma NLRP3/ASC/CASP1 que genera un aumento en la liberación de interleucina (IL)- 1β , a partir de la descompensación iónica provocada por la CG en los macrófagos residentes en el tejido que genera una bajada del potasio (K^+) intracelular,¹⁹ y con ello induciría la primera fase proinflamatoria de regeneración tisular.

En este sentido, los cambios mínimos hallados en el pH local no avalarían la hipótesis electroquímica y no serían suficientes para justificar la respuesta inflamatoria asociada a la electrolisis percutánea.

No obstante, dado el escaso radio de acción de la corriente eléctrica en torno a la punta de la aguja, sería interesante evaluar el pH local de la forma inicial descrita por Eva Nilsson y colaboradores⁶ comentada anteriormente, con corriente galvánica aplicada en el tejidos mediante electrodos de platino.

Conclusión

El uso de la CG empleada en la electrolisis percutánea con los parámetros 3 mA, 3 segundos y 3 aplicaciones, genera unos cambios muy pequeños en el pH en la zona cercana a la aguja, que el cuerpo es capaz de compensar en un breve periodo de tiempo. La relevancia de los cambios de pH en un tejido tratado con CG está ligada a los parámetros de intensidad y tiempo, que en el presente estudio reprodujo la forma habitual de aplicación clínica, por lo que los efectos terapéuticos no parecen estar vinculados a cambios del pH sino a otros factores.

Conflicto de Intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Los autores deseamos agradecer a la empresa PRIM Physio que ha cedido, de forma completamente desinteresada, las agujas y el aparato para generar corriente galvánica usados en este estudio.

Bibliografía

- Valera Garrido F, Minaya Muñoz F. *Fisioterapia Invasiva*. 1ª ed. Barcelona: Elsevier; 2013. Capítulo 9: Mecanismos moleculares de la electrolisis percutánea intratisular; 187–203
- Finch JG, Fosh B, Anthony A, et al. Liver electrolysis: pH can reliably monitor the extent of hepatic ablation in pigs. *Clin Sci (Lond)* 2002;102(04):389–395
- Valera Garrido F, Polidori F, Benavent Canet J, et al. Criterios clínicos de aplicación de electrolisis percutánea en las tendinopatías: documento de consenso de expertos y estudio transversal en fisioterapeutas. *Rev Fisioter Invasiva* 2019;2(02):55–61
- Valera-Garrido F, Minaya-Muñoz F. *Fisioterapia Invasiva*. 2ª ed. Barcelona: Elsevier; 2016. Capítulo 17: Aplicaciones clínicas de la electrolisis percutánea; 417–451
- Perkons NR, Stein EJ, Nwaezeapu C, et al. Electrolytic ablation enables cancer cell targeting through pH modulation. *Commun Biol* 2018;1:48
- Nilsson E, Fontes E. Mathematical modelling of physicochemical reactions and transport processes occurring around a platinum cathode during the electrochemical treatment of tumours. *Bioelectrochemistry* 2001;53(02):213–224
- Vijh AK. Phenomenology and Mechanisms of Electrochemical Treatment (ECT) of Tumors. In: *Modern Aspects of Electrochemistry*. Springer US; 2007:231–274
- Arieff AI, DeFronzo RA. *Fluid, Electrolyte and Acid-Base Disorders*. 2nd ed. Churchill Livingstone New York; 1995
- Li K, Xin Y, Gu Y, Xu B, Fan D, Ni B. Effects of direct current on dog liver: possible mechanisms for tumor electrochemical treatment. *Bioelectromagnetics* 1997;18(01):2–7
- Ciria HMC, González MM, Zamora LO, et al. Antitumor effects of electrochemical treatment. *Chin J Cancer Res* 2013;25(02):223–234
- Wiesmann HP, Hartig M, Stratmann U, Meyer U, Joos U. Electrical stimulation influences mineral formation of osteoblast-like cells in vitro. *Biochim Biophys Acta - Mol. Cell Res* 2001;1538(01):28–37
- Zhao M. Electrical fields in wound healing—An overriding signal that directs cell migration. *Semin Cell Dev Biol* 2009;20(06):674–682
- Ravikumar K, Boda SK, Basu B. Synergy of substrate conductivity and intermittent electrical stimulation towards osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Bioelectrochemistry* 2017;116:52–64
- Foulds IS, Barker AT. Human skin battery potentials and their possible role in wound healing. *Br J Dermatol* 1983;109(05):515–522
- Levin MH, Kim JK, Hu J, Verkman AS. Potential difference measurements of ocular surface Na⁺ absorption analyzed using an electrokinetic model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(01):306–316
- Lin F, Baldessari F, Gyenge CC, et al. Lymphocyte electrotaxis in vitro and in vivo. *J Immunol* 2008;181(04):2465–2471
- Sun YS, Peng SW, Cheng JY. In vitro electrical-stimulated wound-healing chip for studying electric field-assisted wound-healing process. *Biomicrofluidics* 2012;6(03):34117
- Margalef R, Minaya Muñoz F, Valera Garrido F, Santafe MM. Vasodilation secondary to exposure to galvanic currents. *J Invasive Tech Phys Ther* 2019;2(02):107
- García Vidal JA, Pelegrín P, Escolar Reina P, Medina i Mirapeix F. Inflammatory response of two invasive techniques in the mouse with collagenase induced tendinopathy. *J Invasive Tech Phys Ther* 2019;2(02):80