



Bioelektricitet från
Galvanis
dansande
groddor
till temporära
elektroder

Bioelektricitetens och bioelektronikens världar är ofta sammanvävda. De associeras för det mesta med kronisk stimulering av elektriskt aktiva celler, som vid behandling av Parkinsons sjukdom eller användning av pacemakers för att styra hjärtrytmen, men även med futuristiska koncept. Det som är fascinerande när vi tänker på framtiden är idéer om AI (artificiell intelligens) och avancerade elektroniska kretsar integrerade i hjärnan för att förbättra kognitiv förmåga – kretsar som skall vara med oss resten av livet. Dessa koncept låter som något ur en science fiction-berättelse, men de är inte längre helt utom räckhåll.

Mindre uppmärksammat, men med lika stor potential, är idén om tillfälliga elektroder. Dessa är designade för att implanteras i kroppen utan behov av invasiv kirurgi. Efter att ha utfört sin funktion, upplöser de sig själva och försvinner, vilket eliminerar behovet av ytterligare kirurgiska ingrepp för att avlägsna dem. Denna teknik öpp-

nar upp för nya, skonsamma behandlingsmetoder för diverse sjukdomstillstånd.

Men vad är bioelektricitet och vad innebär elektrisk stimulering? För att få en form av förståelse för detta, börjar vi från början och tar oss tillbaka till slutet av 1700-talet. Det var då Luigi Galvani, en banbrytande italiensk fors-

kare, gjorde en epokgörande upptäckt. Galvani påvisade existensen av det han kallade "animalisk elektricitet". Denna upptäckt inspirerade även en annan italiensk vetenskapsman, Alessandro Volta, som läste Galvanis publikation, troligen något hastigt, som man kan läsa ett översäljande abstrakt, där den initiala fascinationen snabbt kan övergå

till en skeptisk irritation när man väl betar sig igenom texten. Hur som helst blev Volta eld och lågor och skrev ett överväldigande brev till Galvani där han gratulerade honom för denna fantastiska upptäckt, men sedan läste han publikationen noggrant ... Detta inledde en minst sagt infekterad debatt, där Volta påstod att den så kallade animaliska elektriciteten endast uppkom på grund av att Galvanis berömda dansande grodor var upphängda på så sätt att två olika metaller interagerade och generade en elektrisk ström; det var inte tal om någon inneboende animal elektricitet. Utifrån denna debatt fick Alessandro Volta idén till världens första batteri "Voltas stapel", som han också byggde vilket gav honom stor berömmelse, medan Luigi Galvani dog i vanära och fattigdom 1798.¹

Giovanni Aldini, Galvanis brorson,

”
Alexander von Humboldt är känd för sina djärva och smärtsamma experiment på sig själv.

kämpade för att återupprätta sin farbrors rykte. Aldini, mest berömd för sina kontroversiella experiment, utförde 1803 en offentlig demonstration av elektrisk stimulering på George Forster, en färskt avrättad brottsling, vilket syftade till att illustrera principerna bakom Luigi Galvanis upptäckter om

bioelektricitet. Paradoxalt nog använde Aldini en Voltaisk stapel för att tillföra elektrisk ström till Forsters kropp. När strömmen applicerades på Forsters olika kroppsdelar, observerades konvulsioner som såg ut som om den avlidnes ansikte visade uttryck av smärta och ilska samtidigt som kroppen började att röra på sig, vilket fick åskådarna att tro att Forster var på väg att återupplivas. Detta gav Mary Shelley inspiration till sin berömda roman Frankenstein.²

Hur som helst, en som inte riktigt köpte Voltas nedsvärtande av Galvanis påstådda animaliska elektricitet var Alexander von Humboldt,³ en av historiens mest berömda vetenskapsmän som blivit glömd. Alexander von Humboldt är känd för sina djärva och smärtsamma experiment på sig själv. Han var också den förste som påvisade naturens cirkulära system och att på-

Giovanni Aldinis elektriska experiment 1803 inspirerade Mary Shelley att skriva romanen Frankenstein.



verkan på den kan ge klimateffekter, men det är en annan historia. Ett särskilt anmärkningsvärt experiment under hans studier innebar att han förde in en silverelektrod i sitt rektum och stoppade en zinkelektrod munnen. Genom att sluta denna krets upplevde von Humboldt en stark visuell stimulering, där det "blixtrade" i hans ögon, samtidigt som han upplevde gastrointestinala fenomen som buksmärter, muskelsammandragningar och ofrivilliga evakueringar. Historien vill påskina att när von Humboldt kom till sina sinnesfulla bruk efter experimentet, var hans första tanke: Vad händer om jag för upp silverelektroden ännu längre?

Denna drastiska personliga erfarenhet ledde von Humboldt till slutsatsen att det som Alessandro Volta och Luigi Galvani beskrev var aspekter av samma fenomen, fast med olika egenskaper. Volta fokuserade på de kemiska reaktionerna som genererar elektricitet genom elektronrörelser, medan Galvani intresserade sig för de elektriska fenomenen i biologiska organismer. I dag vet vi att bioelektricitet – eller "animalisk elektricitet" som Galvani refererade till – primärt bygger på joner, inte elektroner. Detta är en viktig distinktion eftersom kroppens nervsystem och muskler använder sig av positivt laddade joner som natrium, kalium och kalcium för att skicka signaler och generera rörelse. Elektroner – å andra sidan – är de negativt laddade partiklarna som strömmar i elektriska kretsar. Denna insikt har stor betydelse för medicinsk teknik, speciellt när det gäller utformningen av implanterbara enheter som pacemakers eller neurostimulatorer. Dessa enheter använder ofta elektroder som leder elektroner. För att vara effektiva i kroppen måste dessa elektroniska signaler "översättas" till jonströmmar som kroppens celler kan förstå och svara på.

Utöver de välkända elektriskt aktiva cellerna som hjärtmuskelceller och nervceller, har alla celler en form av bioelektricitet. Denna bioelektricitet visar sig som en membranpotential, där cellens insida är negativt laddad jämfört med utsidan. Membranpotentialen skiljer sig mellan olika celltyper. Till exempel har nervceller en välkänd membranpotential på cirka -70 mV, medan skelettmuskelceller och fettceller har membranpo-

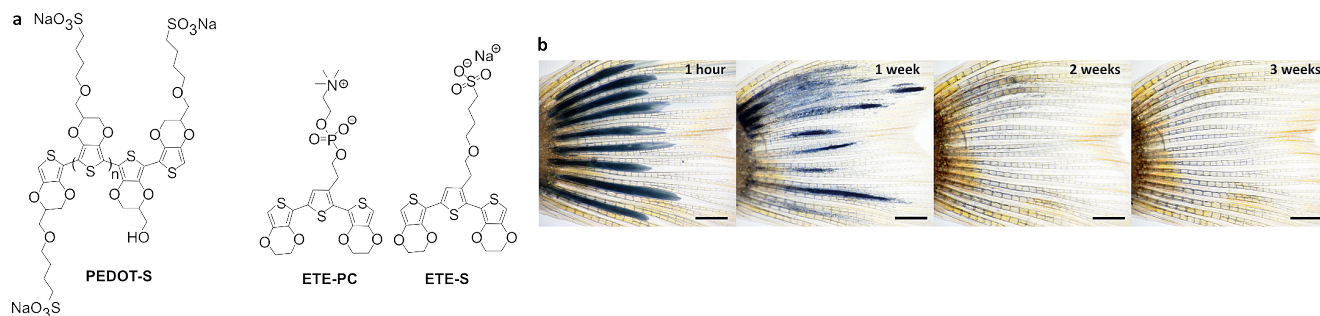
tentialer på ungefär -100 mV respektive -50 mV. Noterbart är att stamceller och cancerceller vanligtvis har lägre membranpotentialer, i spannet mellan -10 mV till -30 mV, vilket avspeglar ett mer depolariserat tillstånd.

Känsligheten av det bioelektriska fältet var ett forskningsområde som Harold Saxton Burr ägnade sig åt. Runt 1937 stod denne inom vetenskapen kontroversielle figur på sitt kontor på Yale University och kliade sig i huvudet. Han hade under en längre tid studerat elektrodynamiska fält runt olika typer av levande vävnader. Han hade låtit männen i labbet sticka ner pekfingerarna i två olika saltlösningar

och funnit att varje enskild individ hade en stabil potential men att den emellan varierade i intervallet $2-10$ mV. Nu hade han gjort något liknande med kvinnorna och plötsligt sett markanta periodvisa avvikelser. Efter uppföljande forskning menade han att dessa avvikande elektriska mönster kunde användas för att förutsäga ägglossning och därmed hjälpa par att skaffa barn.⁴ Detta var i en tidsepok när det var fastslaget att ägglossning skedde punktligt i mitten av en menstruationscykel, vanligtvis runt dag 14, och var grundläggande för kalendermetoden för familjeplanering. Det Burr däremot noterade var att det fanns en variation



Staty av Luigi Aloisio Galvani i Bologna, där han var verksam som professor och undervisade i anatomi.



Kemisk struktur för den injicerbara organiska elektroden, (a) PEDOT-S, och två trimerer som kan användas för att funktionalisera elektroden på plats i vävnad. Om elektroden installeras i en stjärtfena på fisken absorberas den av djuret inom några veckor utan att lämna några skador (b).

i tidpunkten för ägglossning, vilken avvek från det allmänt vedertagna och kunde därmed inte vara korrekt. I dag vet vi bättre. Burr gick då vidare och studerade cancer. En av hans mer kända teorier, var att cancer kunde vara relaterad till störningar i de elektromagnetiska fälten hos levande vävnad. Han föreslog att onormala eller oregelbundna elektriska mönster kunde vara en indikator på cancer och att dessa mönster kunde observeras innan fysiska tumörer faktiskt utvecklades.

I nutid så har Michael Levin tillsammans med sin grupp vid Tufts University gjort stora framsteg när det gäller att förstå och utnyttja cellers bioelektricitet.⁵ Deras arbete har fokuserat på förändringar i cellernas elektriska egenskaper i processer som celldifferentiering och vävnadsregenerering. Genom att noggrant justera membranpotentialen hos cellerna, har Levins team kunnat influera cellernas utveckling och interaktioner, vilket banar väg för revolutionerande tillämpningar inom regenerativ medicin och cancerterapi. Ett av de mest slående exemplen på detta är Levins experiment med plattmaskar av släktet Planaria. Dessa vattenlevande maskar är kända för sin enastående förmåga att regenerera; om man delar en Planaria, kan den regenerera saknade delar, såsom ett huvud eller en svans. I ett specifikt experiment manipulerade Levins grupp bioelektriciteten på mittendelen av en planaria som delats i tre delar, istället för det förväntade att en normal Planaria med huvud och svans formades, resulterade det i att en ny mask med två huvuden bildades. Det som var speciellt anmärkningsvärt var att dessa tvåhövda individer, när de ånyo delades på

”*Målet är att implantering av den ledande strukturen skall ske med en minimalt invasiv metod.*

mitten, fortsatte att regenerera till nya tvåhövda maskar, vilket visar att den bioelektriska förändringen orsakade en stabil förändring i organismens fenotyp utan att man direkt hade manipulerat dess DNA. I andra experiment har Levins team skapat ett extra seende öga på ett grodyngels rumpa och extra ben på salamander bara genom att mixra med cellers membranpotentialer.

Varken Burr eller Levins studier har till dags datum blivit uppföljda vidare av andra grupper mig veterligen. I väntan på detta, visar deras forskning ändå på potentialen att analysera och styra regenerering och utveckling på sätt som tidigare ansetts omöjliga, vilket öppnar upp för spännande nya möjligheter inom biologisk forskning och medicinsk behandling. Dessa experiment understryker betydelsen av bioelektricitet som en central faktor i cellulär utveckling och organisation.

Efter att ha tillbringat 17 år inom läkemedelsindustrin, följt av sex år vid Lunds universitet där min forskningsgrupp fördjupat sig i studier av beteend-

demönster som uppstår genom läkemedelsanvändning hos zebrafiskar, påbörjade vi vår resa inom organisk bioelektronik för ungefär fem år sedan.

Gruppens forskningsmål är att upptäcka och utveckla tillfälliga elektroder och använda dessa för att studera regenerativ medicin och cancerterapi (onkoelektroterapi).

Vårt första fokus var att bygga elektroder inuti levande djur, elektroder som kan leda både elektroner och joner, så kallade kombinerade elektronjonledande elektroder. Målet är att implantering av den ledande strukturen skall ske med en minimalt invasiv metod. Det har beskrivits i litteraturen att om man använder en nål med en diameter mindre än 30 µm (storlek som ett mänskligt hårstrå), skadar man inte blodkärlen i hjärnan. Denna minimala nål medför dock stora krav och innebär att komponenterna man injicerar för att bilda elektroden behöver ha en väldigt hög vattenlöslighet, samtidigt skall dessa komponenter självaggregera och forma en ledande struktur i en vävnad. Löslighet-aggregation är en dualitet som behöver balanseras med precision. Andra kriterier är: att styvheten i strukturen skall matcha styvheten i vävnaden så att man inte får skador och ärrbildning på vävnaden, detta är ett problem med de flesta av dagens elektroder som i huvudsak är gjorda av solida metaller; att elektroden skall lösas upp efter en viss tidsperiod och inte vara giftig under denna process; att strukturen som formas skall ha en hög ledningsförmåga relativt vävnad och leda både joner och elektroner; att den ledande strukturen skall kunna anpassas till olika biologiska processer och användningsområden.

Arbetsvägen inom organisk bioelektronik är PEDOT:PSS vilken är en polymerblandning som leder både elektroner och joner och kan därmed vara översättare mellan klassisk elektronik och bioelektricitet. PEDOT:PSS är ett tvåkomponent polymer system som består av en tiofenpolymer (PEDOT) och polystyrenulfonate (PSS). Då detta tvåkomponentsystem utsätts för en vattenmiljö, till exempel levande vävnad, finns det risk för att komponenterna separerar och formar en olöslig PEDOT-fas och att den polära PSS-polymeren går i lösning. För funktionen är det viktigt att de båda komponenterna tillsammans bildar en sammanvävd struktur. Därför bestämde vi oss för att istället satsa på den mindre kända polymeren PEDOT-S, där man direkt har monterat på den negativa sulfonaten på tiofenpolymeren. Sulfonaten behövs för att stabilisera en positiv laddning på tiofenpolymer-ryggraden vilket möjliggör och förstärker den elektriska ledningsförmågan. Den ser också till att PEDOT-S-aggregaten är vattenlösliga. Det finns olika sätt att tillverka PEDOT-S och de olika tillverkningsmetoderna ger polymeren olika egenskaper. Efter en hel del forskning och utveckling kom vi fram till en metod som gjorde att PEDOT-S bildade nanopartiklar (80 nm) med en hög vattenlöslighet.⁶ När vi injicerade dessa nanopartiklar in i hjärnan på en zebrafisk så bildades en elektriskt ledande struktur.⁷

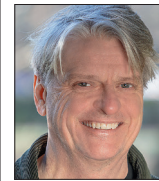
Så här hade vi funnit vad vi sökte, för att sammanfatta: Vi tog en vatten-

lösning av nanopartiklar, injicerade den med en nål tunn som ett hårstrå in i hjärnvävnad och det bildades en ledande struktur.

Denna struktur matchar styvheten i hjärnvävnaden, den visar inga toxiska effekter och den löstes upp och försvann efter några dagar. Med detta var de flesta av de uppsatta kriterierna uppfyllda. Men hur kan vi uppnå flexibilitet? Istället för att försöka utveckla ett polymeralternativ till PEDOT-S för varje unikt användningsområde, en polymer som hade tagit lång tid att utveckla, övervägde vi ett annat alternativ. Genom att utgå från PEDOT-S som bas, funderade vi på att tillsätta en liten byggsten till PEDOT-S. Efter injektion och bildandet av den ledande strukturen skulle denna byggsten anpassa den nybildade strukturens egenskaper till önskad funktion. Så till vattenlösningen av PEDOT-S blandade vi in en liten molekyl bestående av tre sammankopplade tiofener (tiofen-trimer) som man monterat en modifierbar funktionalitet på, där den senares funktion kunde ändra egenskaperna på hela eller delar av den ledande strukturen. Vi resonerade att eftersom vi ändå skulle koppla den bildade strukturen till en extern strömkälla, så kunde vi använda ström för elektrofunktionaliseringen och därmed få en ledande struktur med olika egenskaper. Det viktiga här är att spänningspotentialen som används för elektrofunktionaliseringen var så låg att inte processen skadade vävnaden. Denna blandning injicerades i hjärnan på

en zebrafisk, elektrofunktionaliserades, och som innan, noterade vi inte några toxiska effekter. Vi kunde dessutom, genom yttre stimuli, kontrollera nervcellssignalering.

Nu när vi har en användbar teknologi att börja göra försök med, så är nästa steg att börja använda den för terapier. Ett projekt som precis påbörjats är regenerering av ryggraden efter skada, ett annat är elektroterapi för cancer (onko-elektroterapi).

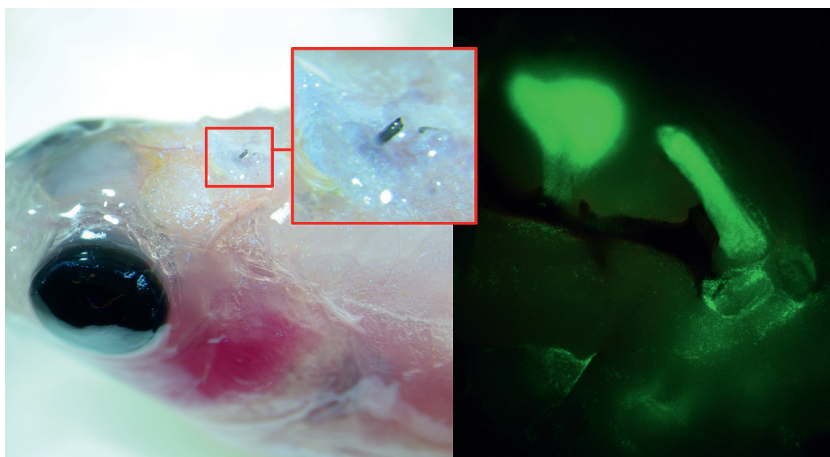


ROGER OLSSON

Professor i kemisk biologi och läkemedelsutveckling, Lunds universitet
roger.olsson@med.lu.se

Referenser

1. Piccolino M and Bresadola M. (2013). *Shocking Frogs: Galvani, Volta, and the Electric Origins of Neuroscience* (Oxford University Press). 10.1093/acprof:oso/9780199782161.001.0001.
2. Aldini G. (1803) *An account of the late improvements in galvanism* (Printed for Cuthell and Martin etc.).
3. Finger S, Piccolino M and Stahnisch FW. (2013). Alexander von Humboldt: galvanism, animal electricity, and self-experimentation part 1: formative years, naturphilosophie, and galvanism. *J Hist Neurosci* 22, 225-260. 10.1080/0964704X.2012.732727.
4. Burr HS, Musselman LK, Barton D and Kelly NB. (1937). Bio-Electric Correlates of Human Ovulation. *Yale J Biol Med* 10, 155-160.
5. Levin M, Pietak AM and Bischof J. (2019). Planarian regeneration as a model of anatomical homeostasis: Recent progress in biophysical and computational approaches. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 87, 125-144. 10.1016/j.semcdb.2018.04.003.
6. Mousa AH, Bliman D, Hiram Betancourt L, Hellman K, Ekström P, Savvakis M, Strakosas X, Marko-Varga G, Berggren M, Hjort M, et al. (2022). Method Matters: Exploring Alkoxyulfonate-Functionalized Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) and Its Unintentional Self-Aggregating Copolymer toward Injectable Bioelectronics. *Chemistry of Materials* 34, 2752-2763. 10.1021/acs.chemmater.1c04342.
7. Hjort M, Mousa AH, Bliman D, Shameem MA, Hellman K, Yadav AS, Ekstrom P, Ek F and Olsson R. (2023). In situ assembly of bioresorbable organic bioelectronics in the brain. *Nat Commun* 14, 4453. 10.1038/s41467-023-40175-3.



Zebrafisk med en inplanterad hjärnelektrod. Genom att kontaktera den utstickande biten kan elektroden användas för att styra signaleringsmönstret i hjärnan vilket kan ses i att nervceller börjar lysa i grönt i bilden.