

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

DEPARTAMENTO DE ELECTRÓNICA



**Diseño y desarrollo de sistemas electrónicos de
hipertermia y liberación controlada para
aplicaciones bioquímicas y farmacológicas**

TESIS DOCTORAL

Doctorando: **Roberto Montes Robles**

Directores: **Dr. Eduardo García Breijo**

Dr. Javier Ibáñez Civera

Valencia, Enero 2018

A Yolanda y Lucas

El número de células en nuestro cuerpo se define por un equilibrio de fuerzas opuestas: la mitosis añade células, mientras que la muerte celular programada las elimina. Demasiada división celular puede conducir a un aumento patológico si este aumento del número células no se ve contrarrestado con su correspondiente muerte celular.

H. Robert Horvitz

Resumen

La hipertermia es una técnica de aplicación oncológica comúnmente utilizada en la lucha contra el cáncer que consiste en el calentamiento de los tejidos enfermos a una temperatura entre 40 °C a 48 °C. Su finalidad es la de debilitar y conducir a una muerte natural las células enfermas mediante apoptosis. Desde las primeras aplicaciones de esta técnica, la hipertermia ha progresado sustancialmente, focalizándose cada vez más en la zona tumoral. En dicha evolución, la nanotecnología ha supuesto un gran avance. El reducido tamaño de estos nuevos materiales ha permitido realizar tratamientos mucho más focalizados, pudiendo trabajar incluso a nivel celular. Al contrario que ocurría con las técnicas convencionales, en la hipertermia mediada por nanopartículas, el calor producido mana de dentro de tumor hacia fuera, mejorando sustancialmente la técnica.

El presente trabajo se centra en el desarrollo de dos equipos capaces de interactuar sobre nanocompuestos diseñados en laboratorio. Ambos han sido confeccionados para ser utilizados en ensayos in vitro de hipertermia y de liberación controlada de medicamentos. Para ello se ha desarrollado un dispositivo láser, capaz de interactuar con nanopartículas de oro y un equipo de inducción electromagnética, útil para la excitación de nanopartículas magnéticas. Tras su implementación se han realizado distintas experiencias, destinadas por un lado a verificación de las especificaciones y a la validación en pruebas de campo de los prototipos. A lo largo de los distintos capítulos se explica de forma razonada su elaboración e implementación, tanto de los equipos principales como la de sus accesorios auxiliares.

Resum

La hipèrtermia és una tècnica d'aplicació oncològica comunament utilitzada en la lluita contra el càncer que consisteix en el calfament dels teixits malalts a una temperatura entre 40 °C a 48 °C. La seua finalitat és la de debilitar i conduir a una mort natural les cèl·lules malaltes per mitjà d'apoptosi. Des de les primeres aplicacions d'aquesta tècnica, la hipèrtermia ha progressat substancialment, focalitzant-se cada vegada més en la zona tumoral. En aquesta evolució, la nanotecnologia ha suposat un gran avanç. La reduïda dimensió d'aquests nous materials ha permès realitzar tractaments molt més focalitzats, podent treballar inclús a escala cel·lular. Al contrari que ocorria amb les tècniques convencionals, en la hipèrtermia mitjançada per nanopartícules, la calor produïda brolla de dins de tumor cap a fora, millorant substancialment la tècnica.

El present treball se centra en el desenrotllament de dos equips capaços d'interactuar sobre nano compostos dissenyats en laboratori. Ambdós han sigut confeccionats per a ser utilitzats en assajos in vitro d'hipèrtermia i d'alliberament controlada de medicaments. Per això s'ha desenvolupat un dispositiu làser, capaç d'interaccionar amb nanopartícules d'or i un equip d'inducció electromagnètica, útil per a l'excitació de nanopartícules magnètiques. Després de la seua implementació s'han realitzat distintes experiències, destinades per un costat a la verificació de les especificacions i a la validació en proves de camp dels prototips. Al llarg dels distintes capítols s'explica de forma raonada la seua elaboració i implementació, tant dels equips principals com la dels seus accessoris auxiliars.

Abstract

Hyperthermia is an oncological treatment frequently used that consists of warming ill tissues above 40°C to 48°C. The purpose of this is to weaken and lead the ill cells into a natural death by apoptosis. Hyperthermia has successfully progressed since its first applications focussing more on the tumour area. In this evolution nanotechnology has supposed a huge improvement. The small size of these new materials has allowed to carry out treatments much more focussed. In contrast to conventional techniques, in hyperthermia by nanoparticles, the heat produced flows from inside to outside of the tumour, which substantially improves the technique.

This work is focussed on the development of two devices capable to interact with designed nano-composite in laboratory. Both devices have been made to be used in vitro hyperthermia essays and controlled release drug. To get these results a laser device able to interact with gold nanoparticles and an induction electromagnetic device has been developed, useful for exciting magnetic nanoparticles. After its implementation different experiences have been performed, on the one hand to verify the specifications and on the other hand to validate the prototypes in field tests. Through the different chapters, the elaboration and implementation of both the main equipment and its auxiliary accessories are well-reasoned.

Agradecimientos

Mucho antes de que comenzara mi tesis doctoral comenzó una etapa en mi vida cuando me uní como becario de colaboración en el IDM. Gracias a Eduardo García y a Juan Soto empecé a adentrarme en el mundo de la electrónica y el campo de la investigación. Fue todo un sueño hecho realidad poder trabajar de algo que era para mí toda una vocación. Fue tanto lo que me aportó que posteriormente quise embarcarme en algo mayor, en mi tesis doctoral.

En primer lugar, quisiera dar las gracias a Javier Ibáñez y Eduardo García, mis directores de tesis. En especial me gustaría dar las gracias a Javier por sus innumerables consejos, su paciencia y por escucharme. Por darme su apoyo en los momentos más críticos y por sus sabios consejos e intervenciones que me ayudaron a seguir y a hallar el camino.

A los compañeros de laboratorio, Javier Carrascosa, Edwin Loeff y Cristian Olgín. En especial a Javier y a Edwin que han sido mi referencia en mi desarrollo profesional. Hemos compartido tantos momentos buenos y ha habido tan buena sintonía trabajando codo con codo. A todos los considero verdaderos amigos. Tampoco me puedo olvidar de Javi López, Hector y Consuelo, un placer haber coincidido con vosotros.

A los compañeros del grupo GED&PS, Miguel Alcañiz, Luis Gil, Jose Vicente Lidón, Nicolás Lagurada, José Garrigues, Clara Lagurda, Laura Contat y en especial a Rafa Masot por su aportación en las publicaciones.

A Pepe y a María por el buen ambiente de trabajo en el laboratorio y por atenderme siempre ayudándome en lo que estaba en su mano.

Al profesor Fernando Ibáñez por el interés desinteresado que mostró en mis avances y por los conocimientos que me aportó en el campo de la electrónica de potencia.

Al grupo de química encabezado por Ramón Martínez. Destacar la labor de Andy Hernández, Santiago Sánchez y Cristina de La Torre por estar trabajando de forma paralela en el material químico, imprescindible para las pruebas de los equipos desarrollados.

A Myles Capstick por acogerme en IT's durante mi estancia, facilitándome el alojamiento y por guiarme en mi labor en Zurich. También he de agradecer a Hazael Montanaro por la ayuda inicial para poder manejarme en las simulaciones. En general a la gente con la que coincidí en Suiza.

Agradecer a los compañeros de La Fé de Valencia a Angel Alverich, Luis Martí-Bonmatí y Amadeo Ten por su colaboración en los experimentos con el equipo de resonancia electromagnética.

Agradecimientos

Al programa de doctorado de la UPV y al Vicerrectorado de Investigación por aceptar mi propuesta y por la cobertura económica. Sin esta no habría sido posible.

A los revisores y al tribunal, que de forma desinteresada han tenido la paciencia de leer y valorar mi trabajo.

A mis padres por la confianza que han depositado en mí que aunque les costó entender lo que estaba haciendo, siempre han sido mis mejores embajadores. También a mí hermano y a Vanessa que siempre me han visto como un ejemplo de esfuerzo y buen hacer. Y como no, al pequeño Lucas, que para mí representa el futuro.

Por último me gustaría agradecer de todo corazón a Yolanda por compartir conmigo los buenos y malos momentos de la última etapa de la Tesis y por creer en mí. Gracias por ayudarme con la revisión detectando aquellas erratas que mi ojo no es capaz de ver y por no ponerse demasiado celosa por dedicar tiempo a la otra, la Tesis.

Seguro que me dejo a alguien, porque han sido tantos los que me han aportado algo. A todos, muchas gracias.

Siglas y abreviaturas

AAS	Espectroscopia de Absorción Atómica
Au	Oro
BF	Baja frecuencia
CEM	Equivalente en Minutos (Cumulative Equivalent Minutes)
CMA	Campo Magnético Alterno
CT	Tomografía computarizada
CTAB	Bromuro de hexadeciltrimetilamonio (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide).
DLS	Dispersión de Luz Dinámica
DP	Densidad de potencia
EMI	Interferencia Electromagnética
Hc	Coercitividad
HIFU	Aplicador de Ultrasonidos Focalizados de Alta Intensidad
HSP	Proteínas de Choque Térmico (Heat Shock Protein)
ILP	Pérdida de Potencia Intrínseca (Intrinsic Lost Power)
LRT	Respuesta Térmica Lineal (Linear Response Theory)
LSPR	Resonancia de Plasmón Superficial Localizada
Mr	Remanencia
NF	Nanofluido
NIR	Radiación Infrarroja Cercana (Near-Infrared)
NP	Nanopartícula
NPM	Nanopartícula Magnética
RPS	Resonancia de Plasmón Superficial
SAR	Ratio de Absorción Calorífico (Specific Absorption Rate)
SLP	Pérdidas Específicas de Potencia (Specific Lost Power)
SP	Superparamagnética
μC	Microcontrolador

Tabla de Contenidos

Estado del Arte	1
<i>1. Hipertermia y sistemas de liberación controlada de fármacos</i>	<i>1</i>
1.1. Hipertermia	1
1.2. Liberación controlada de fármacos	5
2. Equipos convencionales de hipertermia	6
3. La nanomedicina aplicada a la hipertermia y la liberación controlada	8
3.1. Introducción	8
3.2. Nanopartículas de oro	10
3.2.1. Descripción general	10
3.2.2. Principio físico de interacción	10
3.2.3. Tipos de nanopartículas de oro	13
3.2.4. Interés de las NPs-Au en la lucha contra el cáncer	14
3.3. Nanopartículas magnéticas	15
3.3.1. Descripción general	15
3.3.2. Principio físico de interacción	16
3.3.3. Relación del principio físico con el tipo de NPM	21
3.3.4. Interés de las NPMs en la lucha contra el cáncer	23
3.4. Rendimiento energético de las NPs	24
3.4.1. Medida del calentamiento de las NPs	24
3.4.2. Estimación experimental del rendimiento	26
3.4.3. Maximización del SAR de las NPMs	26
3.5. Las NPs y la liberación controlada de fármacos	28
Objetivos de la Tesis.....	29
Capítulo 2.	31
Equipo de Hipertermia Láser	31
1. Introducción	31

Tabla de contenidos

2. Descripción del Hardware del equipo	31
2.1. Descripción general	31
2.2. Diseño del sistema óptico	33
2.2.1. Emisor láser	33
2.2.2. Sistema de visión	34
2.3. Etapa de potencia	35
2.3.1. Convertidor tensión-corriente	35
2.3.2. Función de transferencia del sistema	36
3. Descripción del firmware del equipo	38
3.1. Herramienta de desarrollo	38
3.2. Descripción general firmware	39
4. Resultados experimentales	40
4.1. Rendimiento térmico de las Au-NPs	40
4.1.1. Nanobastones de oro	40
4.1.2. Nanoestrellas de oro	43
4.1.3. Estudio comparativo del rendimiento térmico de las NPs-Au	46
4.2. Estudio de sistemas de liberación controlada	46
4.2.1. Descripción del material híbrido de fotoliberación	46
4.2.2. Síntesis y caracterización	48
4.2.3. Experimento de fotoliberación	49
5. Discusión	50
Capítulo 3	55
Equipo de Hipertermia Electromagnética	55
1. Introducción	55
1.1. Limitaciones biológicas	56
1.2. Limitaciones constructivas	57
1.2.1. Estudio de distintas configuraciones de inductores	60
2. Descripción del hardware del equipo	63

2.1. Especificaciones básicas	63
2.2. El circuito tanque	63
2.3. Convertidor de potencia	68
2.3.1. Consideraciones preliminares	68
2.3.2. Filtro de entrada.....	71
2.3.3. Rectificador de señal AC y filtro de suavizado	78
2.3.4. Interruptor de potencia	81
2.3.5. Circuito de disparo	87
2.3.6. Transformador de potencia.....	99
2.3.7. Circuito de potencia.....	109
2.3.8. Circuito de control del equipo	113
2.4. Respuesta en frecuencia del circuito tanque ante la etapa de excitación.....	116
2.4.1. Comportamiento en resonancia	116
2.4.2. Comportamiento capacitivo.....	117
2.4.3. Comportamiento Inductivo.....	119
3. Descripción del firmware del equipo.....	119
3.1. Herramientas de desarrollo	119
3.2. Descripción del código del μ C.....	119
4. Resultados	121
4.1. Pruebas de verificación.....	123
4.1.1. Caracterización del inductor en frecuencia.....	123
4.1.1. Corriente e inducción máxima.....	125
4.1.2. Estudio térmico del equipo	125
4.3. Pruebas in vitro con NPMs	128
4.3.1. Síntesis de las nanopartículas y caracterización	128
4.3.2. Determinación del rendimiento térmico de las NPMs	131
5. Discusión.....	133
Capítulo 4	137

Cámara termostática para hipertermia y fotoliberación 137

1. Introducción 137

2. Descripción del sistema 138

 2.1 Hardware del equipo 138

 2.1.2 Área de control térmico 141

 3.2 Firmware 143

 3.3 Interface de usuario 143

4 Resultados 145

 4.1 Validación del equipo 145

5. Discusión 147

Capítulo 5 149

Planificación de una terapia personalizada de hipertermia magnética 149

1. Introducción 149

2. Método y modelo de simulación 150

 2.1. NPMs apropiadas para el tratamiento 151

 2.1.1. Selección de las NPMs 151

 2.1.2. Modelos matemáticos predictivos 152

 2.2 Características del CMA-BF 153

 2.3. Modelo térmico del biocalentamiento 153

 2.4. Modelo virtual del paciente 154

 2.5. Modelo de simulación 155

 2.5.1. Pequeña dosis de NF sin difusión 155

 2.5.2. Posicionado aleatorio del NF considerando difusión 156

 2.5.3. Planificación de la distribución del NF 156

3. Resultados 162

 3.1. Distribución del NF sin difusión 162

3.2. Distribución del NF tras difusión	162
3.3. Distribución óptima del NF	163
4. Validación del modelo virtual.....	165
4.1. Materiales y métodos	165
4.1.1. Control automatizado del sistema de inyección	165
4.1.2. Inyección de un fluido en carne.....	166
4.1.3. Caracterización de las NPMs en distintos medios	167
4.1.4. Inyectado e inducción del NF en agarosa	167
4.1.5. Inyectado del NF en el fantoma de carne	169
4.1.6. Caracterización de la distribución del NF mediante RMN	170
4.1.7. Experiencia real y simulación del fantoma de carne	170
4.2. Resultados prácticos y conclusiones	173
4.2.1. Difusión de un fluido tras ser inyectado en carne.....	173
4.2.2. Comportamiento térmico del NF en distintos medios	174
4.2.3. Transmisión térmica del calor producido por el NF en agarosa	175
4.2.4. Difusión del NF contrastado con la imagen RMN	175
4.2.5. Calentamiento del fantoma de carne.....	176
5. Discusión.....	178
5.1. Modelos planteados de simulación	178
5.2. Estudio de validación del modelo de simulación.....	180
5.2.1. Modelo de difusión del NF	180
5.2.2. Rendimiento térmico del NF	181
5.2.3. Experimentos de validación.....	182
Conclusiones.....	185
Conclusions	189
Líneas Futuras	191
1. Hipertermia óptica.....	191
2. Hipertermia electromagnética	191

Publicaciones Científicas	195
1. <i>Publicaciones en revistas indexadas.....</i>	<i>195</i>
2. <i>Publicaciones en congresos internacionales</i>	<i>195</i>
Bibliografía.....	197

Estado del Arte

1. Hipertermia y sistemas de liberación controlada de fármacos

1.1. Hipertermia

La hipertermia consiste en un calentamiento de los tejidos vivos por encima de su temperatura normal, esta puede ser por causas naturales o artificiales. El rango de temperatura de la hipertermia está definido entre 40 °C a 48 °C y debe de ser mantenido en el tiempo durante un periodo determinado, para conseguir el efecto deseado. Por encima de esta temperatura se producen otros efectos; superados los 50 °C la sangre comienza a coagularse, si dicha temperatura aumenta hasta alcanzar el rango entre 60 °C y 90 °C se produce la conocida termoablación y a partir de temperaturas superiores a 200 °C los tejidos sufren una carbonización (Jordan *et al.*, 1999),(Chicheł *et al.*, 2007).

La hipertermia es una técnica ancestral utilizada para combatir la proliferación de tumores. Civilizaciones egipcias, romanas y griegas ya la utilizaban como remedio ante este tipo de afecciones. Ya alrededor del 3000 a.C. los médicos indios la aplicaron de forma local y general mediante puntas calientes y baños de agua. La primera referencia escrita de esta praxis data del año 300 d.C. (van der Zee, 2002). En la historia reciente un estudio realizado en el siglo XIX demostró como la fiebre provocaba una regresión de los tumores, por lo que los científicos de la época estudiaron la forma de aplicarla a tumores cervicales. En los años 70 se realizaron estudios más rigurosos comprobando que las células cancerosas eran sensibles a las altas temperaturas (Wust *et al.*, 2002). La hipertermia mediada a través de campos magnéticos alternos (CMA) y partículas

magnéticas fue utilizada por primera vez en los años 80. Finalmente en 2010 el tratamiento de hipertermia con nanopartículas magnéticas (NPMs) superó las pruebas de terapia clínica llamándose termoterapia (Asín *et al.*, 2012).

En relación a la extensión del cuerpo al que se aplique la hipertermia se pueden clasificar en: hipertermia local, regional y de cuerpo entero. La extensión de la hipertermia se ve condicionada en primer lugar a lo evolucionado que se encuentre el tumor, siendo dependiente también de la accesibilidad y localización. La aplicación de cuerpo entero está vinculada a los casos más complejos, donde el cáncer se ha propagado al resto del cuerpo mediante metástasis. El aumento de temperatura se realiza mediante baños de agua caliente, cámaras térmicas o radiadores infrarrojos. La aplicación global del calor requiere un control preciso de la temperatura de la piel, tratando de minimizar los posibles efectos secundarios. En tumores menos extendidos se puede aplicar la hipertermia regional. Esta técnica se emplea en tumores avanzados mucho más localizados, como puede ser cavidades del cuerpo, órganos o extremidades. Su aplicación práctica puede realizarse empleando aplicadores externos, como puede ser el caso de equipos microondas o de radio frecuencia. Por último para los casos menos extensivos es más indicada una hipertermia localizada. Su aplicación está indicada en tumores superficiales o cavidades accesibles e internas muy localizados. Se pueden utilizar diferentes fuentes de energía para producir calor, entre otras se destacan los equipos de microondas, ultrasonidos y radiofrecuencia.

El aporte de nutrientes para el crecimiento y reproducción de las células tumorales se realiza en gran medida mediante ramificaciones vasculares del propio tumor. Conforme estos tejidos patológicos van creciendo, ciertas partes del tumor sufren una isquemia e hipoxia que desencadena una serie de acontecimientos coordinados, generando nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) (Dvorak, 2003). Como resultado se obtienen unos tejidos que generalmente presentan una estructura vaso-capilar distribuida caóticamente, con una capilaridad menor que los tejidos normales. Dicha estructura vaso-sanguínea, se comporta adecuadamente a la temperatura corporal, ofreciendo un aporte de nutrientes suficiente. Aunque no se puede generalizar ya que hay una gran dependencia del tamaño y del tipo del tumor, existen multitud de ejemplos que demuestran que a la temperatura de hipertermia, los tejidos patológicos expuestos durante un cierto periodo de tiempo sufren una degradación de las estructuras vaso-capilares (Song *et al.*, 1980; Emami *et al.*, 1981; Dudar and Jain, 1984). Por el contrario, los tejidos normales se adaptan mucho mejor que los tumorales cuando son sometidos a un estrés térmico. Esto es debido a una mejor vasodilatación y estructuración (ver Figura 1). Dicho flujo sanguíneo, ayuda a disipar la temperatura excedente produciéndose consecuentemente una degradación celular mucho menor.

A nivel celular se ha demostrado que la sobretemperatura provoca una degradación en la membrana (Konings and Ruifrok, 1985; Majda *et al.*, 1994) y el citoesqueleto celular (Overgaard, 1976). Otro de los efectos que se ha podido observar en varios experimentos es la inhibición de la síntesis del ADN (Henie and Leeper, 1979) y de las proteínas de choque térmico (HSP, Heat-shock proteins) (Li, Mivechi and Weitzel, 1995). A todo

esto se le suma la reducción del flujo sanguíneo, afectando en el suministro de oxígeno y nutrientes. Aunque ninguno de estos efectos por sí solo representa un daño letal para la célula, la hipertermia puede contribuir a una reducción de la energía y consecuentemente a una mala capacidad de regeneración tras el estrés térmico (Ortega and Pankhurst, 2013). Pero sin duda, lo más interesante de esta terapia es su estrecha correlación con la muerte natural de la célula o muerte programada (apoptosis) (Vertrees *et al.*, 2005; Cui *et al.*, 2014).

La apoptosis se ha reconocido como un mecanismo espontáneo y programado de muerte celular, provocada por el propio organismo con el fin de autocontrolar la proliferación y crecimiento de las células dañadas. En comparación con otros mecanismos artificiales de muerte celular, como por ejemplo la necrosis, resulta menos agresiva y perjudicial para el paciente ya que la necrosis produce una muerte repentina de las células desencadenando una inflamación periférica asociada, que puede desembocar a una septicemia o gangrena. La apoptosis juega un papel muy importante evitando que proliferen enfermedades como el cáncer. Sin embargo, en las células tumorales típicamente no se produce la apoptosis de forma natural ya que estas son más resistentes a la falta de nutrientes, como el oxígeno y aminoácidos (Brannon-Peppas and Blanchette, 2012). Sin embargo el desgaste físico que implica la hipertermia provoca un estado de debilidad que induce a las células afectadas una muerte programada.

A temperatura superior a 40 °C la toxicidad celular comienza a aumentar de forma exponencial en consonancia con el tiempo de exposición. En cambio cuando la temperatura desciende por debajo de 40 °C, mejora el riego circulatorio de los tumores. La mayor irrigación produce un aumento de los niveles de oxígeno en las células desencadenando la formación de radicales libres (Hauser *et al.*, 2015). A su vez el aumento de la circulación sanguínea también mejora la administración de los fármacos e incrementa su concentración, causando mayores daños sobre el ADN (Dikomey and Franzke, 1986). Consecuentemente se pueden obtener muy buenos resultados si después de la hipertermia se combina con otras terapias anticáncer, como puede ser la radioterapia, quimioterapia, terapia génica o la inmunoterapia (Wust *et al.*, 2002; Chichel *et al.*, 2007; Datta *et al.*, 2015; Hauser *et al.*, 2015). La combinación de terapias resulta altamente efectiva ya que se aprovecha el estado de debilidad, sufrido por el estrés térmico para potenciar la segunda terapia, mejorando los resultados obtenidos de ambas por separado.

Referente a la estandarización de la dosis térmica, es muy frecuente utilizar como referencia, el equivalente en minutos a la temperatura de 43 °C (Cumulative Equivalent Minutes; CEM). De esta forma las oscilaciones térmicas que se producen en el tejido a lo largo de la terapia se normalizan quedando bien definida la dosis (Dewhirst *et al.*, 2003). Para su cálculo Spareto y Dewey (Sapareto and Dewey, 1984) propusieron un método simple denominado “dosis térmica isoefectiva” que se deduce de la siguiente ecuación:

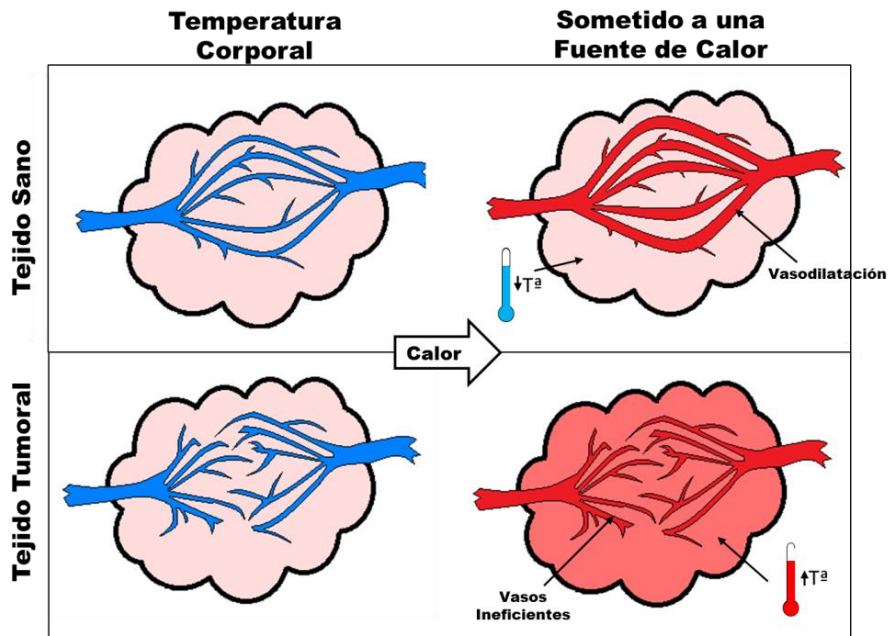


Figura 1: Representación de tejidos normales (superior) frente a tejidos tumorales (inferior) en condiciones de temperatura normal (izquierda) frente a un sobrecalentamiento de los tejidos (derecha)

$$CEM43^{\circ}C = tR^{(43-T)} \quad (1)$$

donde $CEM43^{\circ}C$ es la dosis calorífica en minutos normalizado, t es tiempo en minutos, T es la temperatura media en el intervalo de tiempo y R un parámetro que representa cuantos minutos son necesarios para que se produzca un cambio de $1^{\circ}C$, cuando se alcanza la temperatura de $43^{\circ}C$.

Aunque los tejidos sanos tienen una mayor resistencia al calor, en exposiciones largas de hipertermia también se ven afectados. Es por ello conforme avanza la técnica, las terapias de hipertermia cada vez están más localizadas en la zona afectada. Una de las mejores contribuciones en esta evolución son los nanomateriales. Gracias a su reducido tamaño y a la capacidad de ser excitados con fuentes externas no invasivas, la hipertermia localizada alcanza su mínima expresión pudiendo ser aplicada célula a célula.

1.2. Liberación controlada de fármacos

Uno de los mayores problemas que presentan los fármacos actuales es la falta de selectividad. Típicamente tan solo un 1% del medicamento administrado llega a la zona donde se requiere. Además la mayoría de drogas suelen ser no solubles o poco solubles en agua, lo que implica una gran dosis para obtener un tratamiento efectivo. En el caso de utilizar fármacos muy agresivos, como el utilizado en la terapia contra el cáncer, multitud de tejidos sanos se ven afectados colateralmente. La calidad de vida del paciente o en el mejor de los casos, la erradicación del tumor, está ligada de la efectividad del tratamiento. La dosis administrada depende de las características del paciente, entre las que se encuentra el sexo, edad, condición física e incluso el estado anímico. Una mala tolerancia a la medicación puede desembocar en la interrupción del tratamiento antes de extinguirse el cáncer por completo. En el peor de los casos, la medicación puede ser insuficiente y el cáncer llegar a proliferar hasta producir la muerte del paciente (Brannon-Peppas and Blanchette, 2012). Para mejorar la acción y mitigar los efectos negativos de este tipo de fármacos, se requieren nuevos fármacos que tengan la habilidad de alcanzar el objetivo, minimizando los daños en las células sanas. Frente a este problema, la liberación de fármacos controlada se presenta como una excelente alternativa, liberando idealmente el fármaco solo en los tejidos enfermos.

No obstante resulta muy complejo que las drogas alcancen el objetivo sin afectar a otros tejidos. Las drogas orales requieren una alta estabilidad en el tracto intestinal y al mismo tiempo ser capaces de penetrar los tejidos epiteliales. Algo similar ocurre con las drogas administradas por vía nasal, pulmonar, intestinal y cutánea. Hasta que este tipo de drogas avancen, parece que la vía de administración intravenosa es la mejor opción (Alexis *et al.*, 2010).

Mediante una inyección intravenosa, la droga entra al torrente sanguíneo extendiéndose por todo el cuerpo. Sin embargo aunque la distribución vascular del tumor es muy heterogénea, puede presentarse una mala perfusión en grandes áreas tumorales. Por otro lado, el drenaje linfático deteriorado contribuye a un aumento de la presión intersticial de fluido, ofreciendo una barrera natural a la distribución de fármacos (Maeda, Sawa and Konno, 2001). Además se ha demostrado que la presencia de colágeno hallada en los tumores supone un impedimento más en la distribución del fármaco. Aunque los tumores plantean dichas barreras, también presentan ciertas características exclusivas, como puede ser la alta permeabilidad vascular y la demanda masiva de ciertas sustancias. Estas características pueden ser explotadas facilitando la llegada del fármaco a los tejidos enfermos.

La liberación del fármaco puede deberse a un proceso pasivo, como la difusión en el medio, la erosión, degradación de la partícula o por un proceso activo. Los procesos activos están controlados por estímulos externos, lo que resulta mucho más efectivo ya que se puede controlar de forma más precisa la zona donde se quiere liberar el fármaco. Existen varias estrategias de liberación que están asociadas a los siguientes estímulos (Grazú, Moros and Sánchez-Espinel, 2012):

- *Temperatura.* Es una de las estrategias más comunes ya que la mejora de ciertas enfermedades está relacionado con el incremento de la temperatura del tejido. Este puede ser el caso del tratamiento por hipertermia en tumores. Para alcanzar la temperatura de liberación existen diferentes técnicas, como la aplicación de microondas, radiación ionizante, láser o calor derivado a través de partículas sensibles al campo magnético o lumínico.
- *pH.* Muchos tejidos y órganos enfermos de cáncer o fibrosis quística presentan un pH muy por debajo de lo normal. Este cambio de pH puede ser utilizado como mecanismo activador de la liberación.
- *Ultrasonidos concentrados.* La onda ultrasónica transmite a las partículas una energía mecánica que se convierte en calor. Esta energía se puede aprovechar para romper o calentar el encapsulado que contiene la droga y producir su liberación. Además esta misma energía puede contribuir a un calentamiento de los tejidos, consiguiendo un efecto doble, de liberación controlada y de hipertermia.
- *Redox.* Este mecanismo de liberación aprovecha las distintas concentraciones del medio reductor para desencadenar la liberación. Un claro ejemplo se encuentra en el entorno celular. El glutatión es un agente reductor que se encuentra en una concentración muy elevada en el interior de la célula, hallándose una gran diferencia si se compara con el que se encuentra en el exterior.
- *Enzimas.* La presencia de enzimas en distintos tejidos y órganos enfermos también se puede utilizar para desencadenar una liberación de la droga. Una de las enzimas más utilizadas para este propósito es la proteasa. Esta enzima se encuentra presente en multitud de enfermedades ya que está asociada con la degeneración de tejidos.

2. Equipos convencionales de hipertermia

El cuerpo humano dispone de una serie de mecanismos orientados a la regulación de su temperatura. Ante un incremento externo de la temperatura del tejido, la perfusión sanguínea se encarga de contrarrestar el calor excedente, intentando alcanzar la temperatura ideal. Para alcanzar la temperatura de hipertermia (40 °C – 48 °C) se requiere de una fuente externa que sea capaz de elevar dicha temperatura más allá de su estado ideal y mantenerlo durante el tiempo necesario, centrando el foco de calor sobre los tejidos enfermos.

Las primeras aplicaciones de hipertermia, se realizaban empleando procedimientos muy rudimentarios como los baños de agua caliente. Dicho calentamiento se transmitía a la

piel y después a la zona enferma. Sin embargo en la mayoría de los casos, el sistema de termorregulación corporal actuaba disipando el calor excedente, por lo que tan solo se alcanzaba unos pocos milímetros de penetración (3-5 mm) (Verma, Lal and Van Noorden, 2014). Otra técnica consistía en la utilización de catéteres, empleando tubos a través del tejido por el que se recirculaba agua caliente. Esta supuso una mejora en cuanto a la distribución de la temperatura en el interior del tumor (Schreier *et al.*, 1989). A pesar de los buenos resultados, se trata de una técnica invasiva que implica una cirugía y la incorporación de elementos extraños. Estos elementos pueden ser el canal de infecciones, pudiendo llegar a causar inflamaciones muy molestas para el paciente.

Conforme ha ido avanzando la técnica, se ha ido buscando un calentamiento mucho más localizado, basado en técnicas no intrusivas. Entre los equipos más relevantes se puede destacar:

- *Aplicador de radiofrecuencia (RF)*. Este equipo está constituido por una etapa de RF y una antena que se coloca en la zona a tratar. El tipo de antena depende de la frecuencia a la que se realice el tratamiento. Esta puede ser de tipo guía ondas, bocinas, espiral, dipolar o integrada (Chakaravarthi and Arunachalam, 2014). Además se requiere de un acoplamiento electromagnético para adaptar la antena al paciente. Este acoplamiento se realiza mediante un bolo, a través del cual se hace recircular una solución salina de agua que sirve de guía ondas. La temperatura del líquido juega un papel importante y está relacionada con la dispersión y penetración de la onda. Por este motivo se requiere previo a la aplicación del tratamiento, una planificación para conocer cuál es la temperatura idónea para el tratamiento. Además mediante la asociación de antenas se puede conseguir crear una radiación contractiva o destructiva que ayude a mejorar la focalización de la energía radiada en la zona tumoral (Capstick *et al.*, 2014).
- *Aplicador de ultrasonidos focalizados de alta intensidad (HIFU)*. El equipo de ultrasonidos está compuesto por un transductor piezoeléctrico que opera a una frecuencia de 1-10 MHz y una intensidad de focal de 1000-10000 W/cm². El aplicador suele recibir una potencia eléctrica de 100-500 W permitiendo una presión máxima de 2 a 4 MPa. La profundidad de penetración máxima es de 15 cm y suele sincronizarse con sistema de visión por ultrasonidos para su guiado (Bailey *et al.*, 2003).
- *Equipos Láser*. Este equipo está constituido principalmente por un láser de baja potencia (0.2– 2.0 W) que suelen operar en el rango infrarrojo. El láser aplicado directamente, o a través de fibras ópticas, puede alcanzar zonas superficiales o cavidades accesibles de forma no invasiva. Por otro lado, si se introducen fibras ópticas en el tejido, se pueden tratar afecciones más profundas en las que estén implicados órganos o tumores intramusculares. En cuanto al tipo de tecnología láser, una de las más utilizadas para este tipo de aplicación es la basada en el

láser de Neodimio de itrio de aluminio granate (Nd:YAG) (Masters *et al.*, 1992; Robinson *et al.*, 1998).

- *Radiación infrarroja.* Este equipo está basado en un emisor de infrarrojos (760-1400 nm) siendo su principal aplicación la hipertermia de cuerpo entero. La gran ventaja que presenta este equipo frente a un aplicador de calor directo, es que la piel a la longitud de onda utilizada, deja penetrar la luz consiguiendo un calentamiento a mayor profundidad. Gracias a esta característica y a su relativa sencillez de uso, este tipo de equipo ha tenido una gran aceptación médica (Wehner, von Ardenne and Kaltofen, 2001).

A excepción del equipo de infrarrojos, el resto de equipos están diseñados para conseguir una mejor focalización de la energía en los tejidos a tratar. Sin embargo, existen multitud de limitaciones que impiden que la hipertermia se realice en condiciones óptimas. En el caso de los equipos de RF, la profundidad de penetración de la radiación y el volumen de acción están relacionados con la longitud de onda de la señal, obteniendo en la mayoría de los casos un volumen de acción mucho más grande que el volumen del propio tumor. Además, la reflexión, el acoplamiento y la absorción de la señal, junto con la localización del tumor, son diferentes en cada caso, siendo muy complejo conseguir una configuración ideal.

Por otro lado, los dispositivos HIFU (Bailey *et al.*, 2003) tienen la capacidad de producir volúmenes de calentamiento muy precisos, siendo en la mayoría de los casos mucho más pequeños que el volumen del propio tumor. Por esta razón, en terapia es necesario realizar un barrido sobre la zona, lo que implica, que pequeños movimientos del paciente durante la terapia, pueden afectar principalmente de dos formas: dejando partes del tumor sin radiar o radiando tejidos sanos (Oliver and Cobos, 2015).

El tratamiento por hipertermia a través del equipo láser también presenta inconvenientes. Por un lado si se quiere realizar un calentamiento del tejido superficial, el spot del láser puede ser mayor o menor que la zona a tratar. En el caso de que el spot sea mayor, también se estarán calentando células que no deberían calentarse, lo que se traduce en una falta de selectividad. En cambio en el caso de que el spot sea menor, se debería hacer un barrido para calentar la zona, siendo muy complejo ajustarse de forma adecuada en el tejido a tratar.

3. La nanomedicina aplicada a la hipertermia y la liberación controlada

3.1. Introducción

La idea conceptual de manipular los átomos y moléculas de forma individual parte de una publicación realizada por el físico Richard Feynman el año 1959 titulada “There’s

plenty of room at the bottom”(Feynman, 1960). Del concepto planteado surge un campo de la ciencia llamado nanotecnología (Roco, 2003). El prefijo “nano”, de origen griego, hace referencia a la mil millonésima parte del metro ($1 \text{ nm} = 1 \times 10^{-9} \text{ m}$). En términos de tamaño el “National Nanotechnology Institute (NNI)” define la dimensión de este tipo de materiales en el rango de 1 a 100 nm (Bharali *et al.*, 2009). Poder trabajar a tal escala ha marcado un hito revolucionario en áreas tan diversas como la medicina, comunicaciones, robótica, etc. En el campo de la medicina implica la formación a nivel atómico, molecular y supramolecular de nuevas estructuras, dispositivos y estructuras biológicas. Esta nueva tecnología abre un campo muy prometedor en el mundo de la investigación, con aplicaciones en el diagnóstico, prevención y el tratamiento de enfermedades (Saha, 2009).

Gran parte de los avances realizados en la nanomedicina están basados en el uso de nanopartículas (NPs). Una de las propiedades más interesantes de las NPs es la enorme superficie de contacto que presentan en relación con su reducido volumen (Ningthoujam *et al.*, 2012). A modo de ejemplo, un cubo de hierro de un centímetro de lado, ofrece una minúscula proporción de sus átomos expuestos al exterior (del orden de $10^{-5} \%$). Sin embargo, si se divide el mismo cubo en partículas cúbicas de 10 nm la superficie de átomos expuesta aumentaría en un millón de veces (Link and El-Sayed, 2000). Además su reducido volumen las dota de un alto grado de suspendibilidad en cualquier disolvente. Tales características las diferencian por completo del material en bruto, ofreciendo un mundo nuevo de posibilidades (García Jimeno, 2012).

Las NPs ya se están usando en áreas médicas muy diversas, entre las que destaca las aplicaciones contra el cáncer. En este sentido una de las grandes áreas de investigación es la mejora del tratamiento. Además del tratamiento, las NPs pueden ser utilizadas para el diagnóstico de enfermedades, siendo capaces de proporcionar nuevas herramientas en la detección precoz de tumores (Fortin *et al.*, 2007). De ambas áreas de la medicina surge un nuevo concepto, el “teranóstico” (Thanh and Hervault, 2014) que abre aún más si cabe las posibilidades en el mundo de la investigación médica (Ningthoujam *et al.*, 2012).

El trabajo de esta tesis se ha centrado en la rama terapéutica, más en concreto en el área aplicada a la mejora de la hipertermia y la liberación controlada de fármacos. Aunque pueda parecer que ambas áreas de investigación no tienen relación alguna entre sí, realmente están basadas en el mismo principio. Por un lado para originarse la hipertermia se necesita un foco de calor que eleve la temperatura local. Este incremento de temperatura se puede conseguir si ciertas NPs son excitadas con una fuente de energía adecuada. El mismo calentamiento inducido para las NPs se puede utilizar como fuente de activación para liberar la droga, en el caso de los sistemas de liberación controlada. Es por ello que los equipos descritos en los capítulos 2 y 3 pueden ser utilizados tanto para hipertermia como para una liberación controlada de fármacos. Concretamente el trabajo descrito en los siguientes capítulos se ha centrado en el desarrollo de equipos de hipertermia y de liberación controlada de fármacos, basados en nanopartículas de oro y nanopartículas metálicas de óxido de hierro. Previo a la descripción de los equipos se

detalla un estudio para explicar la naturaleza y el principio físico del calentamiento de ambos tipos de NPs.

3.2. Nanopartículas de oro

3.2.1. Descripción general

Las nanopartículas de metales nobles y particularmente las nanopartículas de oro (NPs-Au) exhiben unas excelentes propiedades ópticas debido a su acentuado efecto de Resonancia de Plasmón Superficial (RPS). Gracias a este efecto y la buena biocompatibilidad demostrada en varios experimentos *ex vivo* e *in vivo* (Bhattacharya and Mukherjee, 2008), las NPs-Au han sido objeto de estudio en numerosas aplicaciones médicas y más específicamente en terapias contra el cáncer.

Una de las cualidades más destacables de las NPs-Au es la capacidad de producir calor (debido al efecto de RPS), cuando son excitadas con una fuente lumínica adecuada. Gracias a esto las NPs-Au presentan un gran potencial como agentes fototerapéuticos en el campo de la hipertermia localizada. De forma más sofisticada, el calor generado puede ser utilizado como mecanismo de liberación, si las NPs-Au se combinan con sustancias capaces de albergar otro tipo de nanosustancias. Actualmente se está trabajando en sistemas híbridos que combinan nanocontenedores capaces de transportar moléculas, sustancias farmacológicas, proteínas, péptidos, plásmidos, ADN, etc.

Otra de las ventajas que presentan las NPs-Au es la capacidad de ser sintonizadas en el proceso de síntesis, acentuando RPS a una determinada longitud de onda. Dentro del espectro lumínico la radiación infrarroja cercana (NIR, Near-Infrared), frente a otras longitudes de onda, destaca por la baja absorción energética y la mayor penetración en los tejidos. Esto implica que los tejidos sometidos a una densidad de potencia moderada ($\leq 9 \text{ W/cm}^2$), no se ven sometidos a un estrés térmico considerable. Caso contrario ocurre en aquellos tejidos donde estén presentes NPs-Au (Hu *et al.*, 2009). Esta capacidad de sintonización está ligada a la geometría de la NP, siendo las nanoestrellas, nanocápsulas y los nanobastones las morfologías más utilizadas para este tipo de aplicaciones.

3.2.2. Principio físico de interacción

Al someter a una partícula de metal a una luz, el campo electromagnético incidente induce una oscilación coherente sobre los electrones libres. Esta oscilación se propaga a través del volumen del metal provocando una separación de la carga con respecto a la red iónica, que forma un dipolo a lo largo de la dirección del campo eléctrico de la luz (ver Figura 2). Este fenómeno adquiere un máximo a la longitud de onda de la RPS. Este efecto cobra una mayor relevancia en partículas muy pequeñas, en donde el recorrido libre de los electrones se ve interrumpido al chocar con las paredes de la partícula. Debido principalmente a la naturaleza que presentan los materiales nobles y más en concreto el oro y la plata, la RPS es mucho mayor que la que presentan otros metales.

Su eficiencia energética depende principalmente: de la densidad de carga electrónica en superficie, tipo, metal, tamaño, forma, estructura, composición y constante dieléctrica de la partícula (Khan, Vishakante and Siddaramaiah, 2013).

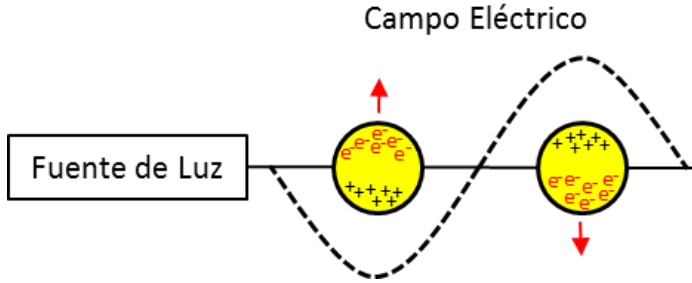


Figura 2: Efecto del campo electromagnético de la luz en la resonancia de electrones a través de la NP

La teoría de Mie (Mie, 1908) es capaz de predecir muchas de las propiedades relacionadas con el efecto de la RPS. Esta teoría postula que para NPs más pequeñas que la longitud de onda de la radiación incidente ($\lambda \gg 2R$, para oro $2R < 25 \text{ nm}$), solo contribuye en la absorción de los dipolos la sección transversal de extinción C_{ext} de las NPs (Link, Wang and El-Sayed, 1999):

$$C_{ext} = \frac{9V \cdot \varepsilon_m^{3/2}}{c} \cdot \frac{\omega \cdot \varepsilon_i(\omega)}{[\varepsilon_r(\omega) + 2 \cdot \varepsilon_m]^2 + \varepsilon_i(\omega)^2} \quad (2)$$

donde V es el volumen de la NP esférica, c es la velocidad de la luz, ω es la frecuencia angular de la radiación de excitación, ε_m hace referencia a la constante dialéctica del medio y $\varepsilon(\omega)$ a la del material de la partícula, siendo el subíndice r la parte real y i la imaginaria.

No obstante, para que sea válida esta premisa, la teoría parte de una serie de hipótesis en dónde las NPs deben de ser esféricas, homogéneas y que la luz incidente sea la suma de la dispersa más la absorbida, siguiendo el principio de linealidad (la luz absorbida por N partículas es N veces dispersada).

Analizando la ecuación (2), la resonancia ocurre cuando $\varepsilon_r(\omega) \approx -2 \cdot \varepsilon_m$, si ε_i es pequeña. En estas condiciones el ancho de banda y el pico máximo están determinados por $\varepsilon_i(\omega)$. Para entender este comportamiento y hallar la frecuencia de resonancia, se plantea un modelo simplificado de un electrón libre en un gas, en donde la frecuencia

con respecto al dieléctrico están descritos por la teoría de Drude-Sommerfeld (Derkachova and Kolwas, 2007):

$$\varepsilon(\omega) = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + i\gamma_0\omega} \quad (3)$$

donde γ es la constante de amortiguación fenomenológica del material en bruto y ω_p es la frecuencia del plasmón. A su vez ω_p depende de la densidad de electrones n , de la carga del electrón e , de la permitividad en el vacío ε_0 y de la masa efectiva del electrón m_{eff} o de la masa óptica, que incluye el acoplamiento de los electrones libres del núcleo iónico:

$$\omega_p^2 = \frac{ne^2}{\varepsilon_0 m_{eff}} \quad (4)$$

En el caso que los electrones se encuentren totalmente libres y que $\gamma \ll \omega$, el ancho de banda del plasmón está determinado por la constante de amortiguamiento γ .

Combinando las condiciones de resonancia de la ecuación (2) con la expresión de la constante dieléctrica del electrón libre en gas (3) se puede obtener la frecuencia de máxima absorción aproximada (Link, Wang and El-Sayed, 1999):

$$\omega_{max} = \frac{ne^2}{\varepsilon_0 m_{eff} \sqrt{1 + \varepsilon_m}} \quad (5)$$

La onda electromagnética genera energía térmica cuando interacciona sobre la NPs-Au, principalmente por los procesos de absorción y dispersión de la radiación lumínica. Mediante la ecuación de Mie se puede calcular la eficiencia de dispersión Q_{dis} y la de absorción total Q_{abs} partiendo de la eficiencia de extinción Q_{ext} . La eficiencia total de extinción y dispersión de Mie Q_{ext} y Q_{dis} para una esfera homogénea se expresa como la serie infinita:

$$Q_{ext} = \frac{2}{x^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n + 1) Re[a_n + b_n] \quad (6)$$

$$Q_{dis} = \frac{2}{x^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1)[a_n^2 + b_n^2] \quad (7)$$

$$Q_{abs} = Q_{ext} - Q_{dis} \quad (8)$$

$$a_n = \frac{m\psi_n(mx)\psi'_n(x) - \psi_n(x)y'_n(mx)}{m\psi_n(mx)\xi'_n(x) - m\xi_n(x)\psi'_n(mx)} \quad (9)$$

$$b_n = \frac{\psi_n(mx)\psi'_n(x) - m\psi_n(x)\psi'_n(mx)}{\psi_n(mx)\xi'_n(x) - m\xi_n(x)\psi'_n(mx)} \quad (10)$$

donde m es la relación de refracción de la esfera, n es el medio circundante, x es el parámetro de tamaño dado por $2\pi n_m R/\lambda$, ψ_n y ξ_n son las funciones de Riccati-Bessel.

La eficiencia adimensional de absorción, dispersión y extinción (Q_{abs} , Q_{sca} y Q_{ext}) de las nanoesferas puede ser transformada a un equivalente en sección transversal (C_{abs} , C_{sca} y C_{ext}) si se multiplica con el área transversal de las NPs. Esta nueva magnitud tiene unidades de m^2 y representa la contribución del área transversal de la partícula con respecto a la absorción, dispersión y extinción. Además dicha sección transversal puede ser directamente relacionada con el coeficiente molar, medido en el espectrómetro (Jain *et al.*, 2006).

A pesar de que ha habido grandes avances teóricos que describen las propiedades intrínsecas de este tipo de NPs, existen limitaciones de cálculo. En una de las suposiciones en las que está basada la teoría considera que las constantes dieléctricas se mantienen igual al material en bruto, lo que no se puede asegurar para NPs inferiores a 100 nm. Por otro lado la falta de uniformidad morfológica de las NPs, hace compleja la selección de un equivalente de la sección transversal, por lo que es frecuente que existan pequeñas derivas en el cálculo teórico del rendimiento térmico, con respecto al real.

3.2.3. Tipos de nanopartículas de oro

La síntesis de NPs-Au consiste en una reducción de su tamaño, normalmente en presencia de sales de oro y de agentes estabilizantes para evitar su aglomeración (Khan, Vishakante and Siddaramaiah, 2013). Atendiendo a su morfología, existen multitud de tipos de NPs-Au (Li and Gu, 2010):

- *Nanoesferas*. Este tipo de NPs además de ser altamente suspendibles en agua, presentan un buen grado de biocompatibilidad. Dicha biocompatibilidad es debida a la ausencia de un agente reductor en el proceso de síntesis. El tamaño oscila desde unos pocos nanómetros hasta cientos. La longitud de onda de absorción está comprendida entre 500 y 600 nm, por los que no responden a estímulos de radiación NIR.

- *Nanobastones*. Han sido una de las morfologías más estudiadas para la liberación controlada de fármacos. Gracias a la gran sección trasversal que las caracteriza, dichas NPs-Au presentan una excitación a longitudes de onda NIR. Típicamente disponen de dos bandas de absorción que se corresponden con la resonancia de plasmón superficial longitudinal y transversal. No obstante el aspecto que determina el pico de resonancia óptico, es la relación entre las longitudes de onda transversal y longitudinal. Este tipo de NPs resultan muy adecuadas para fines médicos, gracias al alto grado de biocompatibilidad y su excelente estabilidad.
- *Nanocápsulas*. Presentan una novedosa estructura compuesta por un núcleo dieléctrico, principalmente sílice y una carcasa metálica. La longitud de onda de absorción depende del ratio entre el diámetro del núcleo de sílice y el espesor de la corteza. Este tipo de NPs-Au resultan muy atractivas en el campo del diagnóstico y tratamiento del cáncer, pudiéndose utilizar en la mejora de las imágenes biomédicas y en la elaboración de biosensores.
- *Nanocajas*. Están formadas por estructuras cúbicas con paredes porosas e interior hueco. Al igual que ocurre con las nanocápsulas, el espesor de la corteza está relacionado con la absorción de la RPS. El rango de sintonización que presentan este tipo de NPs-Au es amplio, pudiendo ser ajustadas desde longitudes de onda de luz visible hasta radiaciones NIR.
- *Nanocruces*. Pueden excitarse a lo largo de cualquiera de sus ramas actuando de forma sinérgica con campos electromagnéticos locales. Por esta razón las NPs altamente ramificadas exhiben un alto efecto fototérmico, siendo muy aptas para el uso en terapia (Ye *et al.*, 2011).
- *Nanoestrellas*. Resulta particularmente interesantes debido a que combinan la resonancia del plasmón superficial de su núcleo y de las puntas. Frente a otro tipo de morfologías el núcleo actúa como antena mejorando la respuesta de la RPS en las puntas (Barbosa *et al.*, 2010).

3.2.4. Interés de las NPs-Au en la lucha contra el cáncer

Las propiedades fototérmicas de las NPs-Au abren un mundo de posibilidades en el campo de la medicina. Su tamaño nanométrico, su rápida respuesta térmica (picosegundos) y la posibilidad de focalización láser le confieren una precisión en el tratamiento de hipertermia inigualable. Además la excelente afinidad con otros materiales, ofrece la posibilidad de que estas sean funcionalizadas con diferentes ligandos, lo que las convierte en una herramienta clave en el tratamiento de diversas afecciones (Li and Gu, 2010).

Gracias a la utilización de estos nuevos materiales, se puede conseguir una muerte selectiva de las células tumorales. La adhesión de las NPs-Au con cierto tipo de ligandos crea una cierta afinidad con las células tumorales. Un mecanismo de atracción consiste en la funcionalización de las NPs-Au con alguna sustancia que dicho tipo de células tengan carencia o que sea ampliamente demandado (Beik *et al.*, 2016). Como por ejemplo el ácido fólico o folato. (Ali Mansoori, Brandenburg and Shakeri-Zadeh, 2010; Shakeri-Zadeh and Mansoori, 2010; Mehdizadeh *et al.*, 2014). Cuando finalmente dichas NPs alcanzan el objetivo, se podría decir que estas células están foto-sensibilizadas.

En el campo de la liberación controlada, las NPs-Au además de la gran absorción energética producida por la RPS, presentan unas excelentes cualidades, entre las que se destaca la baja polidispersidad, la gran estabilidad a largo plazo, la baja toxicidad, la fácil funcionalización y la gran relación superficie-volumen. La capacidad de ser combinada con agentes que ayuden al guiado de las NPs, potencia aún más las posibilidades de selectividad en la liberación (Khlebtsov *et al.*, 2013).

3.3. Nanopartículas magnéticas

3.3.1. Descripción general

Las nanopartículas magnéticas (NPMs) están constituidas principalmente por materiales ferromagnéticos, como puede ser el hierro, níquel, cobalto.... Pese a su origen, su comportamiento no tiene por qué ser exactamente igual al del material en bruto. El tamaño de las NPMs está estrechamente ligado con la remanencia y la coercitividad del material. Esta dependencia se debe a la relación que existe entre la reducción del tamaño de la partícula y el número de dominios magnéticos. Al ir disminuyendo en tamaño, ambos efectos se hacen despreciables y consecuentemente el momento magnético se hace nulo. La razón por la cual ocurre este fenómeno se debe a la pérdida de energía que tiene lugar en la NPM cuando disminuye su volumen ($K \cdot v$, siendo K es la constante de anisotropía y v el volumen de la partícula), en relación con energía térmica ($k \cdot T$, siendo k es la constante de Boltzmann y T es la temperatura en Kelvin), que permanece constante. En el caso que la energía térmica sea superior a la relacionada con el volumen, las NPs toman una orientación aleatoria dependiendo de la energía térmica, manteniendo un momento magnético alto (10^3 - 10^4 μ B).

El material ferromagnético en bruto, dispone de múltiples dominios que actúan independientemente (Giustini *et al.*, 2010). Cada dominio consiste en una región en donde hay una agrupación de dipolos que toman una dirección magnética común, manteniendo un estado bajo de energía (ver Figura 3) (Ningthoujam *et al.*, 2012), (Thanh and Hervault, 2014). La orientación de los múltiples dominios se produce de forma aleatoria, generando una imanación neta nula. Este tipo de materiales se caracterizan principalmente por dos propiedades, la remanencia y la coercitividad. La remanencia es la capacidad de un material para retener el magnetismo y la coercitividad se define como la intensidad de campo magnético que se necesita, para reducir la magnetización a cero de un material previamente saturado magnéticamente.

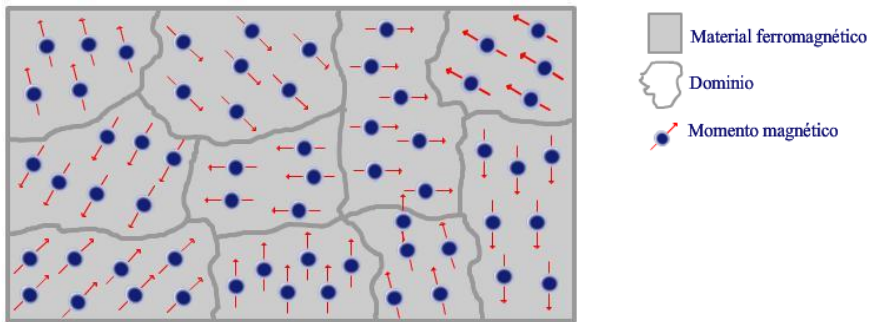


Figura 3. Ejemplo de la distribución de los dominios en el interior de un material ferromagnético

3.3.2. Principio físico de interacción

Existe un gran número de aplicaciones donde el aumento de temperatura debido a la inducción electromagnética supone un problema ya que en la mayoría de los casos produce una reducción de la eficiencia, pudiendo llegar a la destrucción de alguno de sus componentes. Es el caso de transformadores, motores y otros dispositivos donde se utilicen campos magnéticos alternos, donde sus materiales sufren un deterioro al alcanzar la temperatura de Curie. En el capítulo 3 se describen varias situaciones donde es necesario evitar un calentamiento excesivo, por ello en la fase de diseño se ha tenido muy presente el dimensionamiento de todos los componentes.

En esta sección el enfoque es totalmente opuesto, tratando de maximizar el calor liberado por las NPMs. Existen principalmente dos razones por las que se demanda un elevado rendimiento térmico: por un lado la minimización del campo magnético alterno (CMA) y por otro la reducción de la dosis de NPMs suministrada. De esta forma se pretende que el calor producido por las NPMs sea lo suficientemente elevado como para producir un estado de hipertermia en el paciente. Existen varios efectos que pueden contribuir en el calentamiento de una NPM: las corrientes de Foucault, el efecto de histéresis y los fenómenos de relajación de Brownian y Néel. A continuación se describen de forma detallada cada uno de estos efectos y su contribución al calentamiento:

- Las *corrientes Foucault (Eddy current)*. Fueron descubiertas por el físico León Foucault en 1851. Este fenómeno describe los bucles de corriente inducidos en un conductor cuando se ve sometido a un campo electromagnético alterno externo. Estas corrientes se producen en un plano perpendicular al campo inductor. Así mismo, los bucles generados se oponen a la variación de flujo magnético que las induce, como está descrito en la ley de Lenz. Las corrientes de Foucault que circulan a través de un conductor, originan un choque entre electrones creando un aumento de la temperatura debido al efecto Joule.

El CMA aplicado sobre el material ferromagnético genera una circulación alterna de las corrientes de Foucault dando lugar al *efecto pelicular o skin*. Debido a este efecto, cuando un conductor se ve atravesado por una corriente alterna en frecuencia, la distribución de la corriente a través del mismo no se produce de manera uniforme. A mayor frecuencia la corriente fluye en mayor medida por la parte más superficial del conductor, disminuyendo la sección útil y consecuentemente aumentando la resistencia del conductor.

De la ecuación (11) se deduce la profundidad de penetración de la corriente (δ). Tomando como constante la resistividad ($\rho_f = 2 \cdot 10^{-3} \Omega m$) y la permeabilidad ($\mu_r = 10$) de la ferrita, la profundidad de penetración disminuye al aumentar la frecuencia f_s .

$$\delta = \sqrt{\frac{\rho_f}{\pi \cdot f_s \cdot \mu_0 \cdot \mu_r}} \quad (11)$$

Aunque este efecto pueda ser considerable en partículas grandes, las frecuencias indicadas para esta aplicación (100 kHz a 1 MHz) y el tamaño nanométrico de las partículas utilizadas, hacen que el calor generado resulte despreciable. A modo de ejemplo si el equipo de inducción trabaja a la frecuencia de 200 kHz, el orden de profundidad se encuentra en torno a milímetros, quedando muy lejos del radio nanométrico de las NPMs (Jordan *et al.*, 1999; Chicheł *et al.*, 2007).

- *Efecto de histéresis*. Al someterse un material multidominio a un campo electromagnético, los momentos magnéticos de los átomos se orientan a favor de las líneas del campo que las recorre. Cuando se alcanza la saturación magnética todos los dipolos están completamente alineados. Si el campo inductor cesa, muchos de los dipolos regresan a su estado original. En cambio, debido al rozamiento molecular, otras estructuras no son capaces de regresar a su posición original, manteniendo un magnetismo remanente. Este comportamiento recibe el nombre de histéresis. En la Figura 4 se muestra una curva característica de un material multidominio.

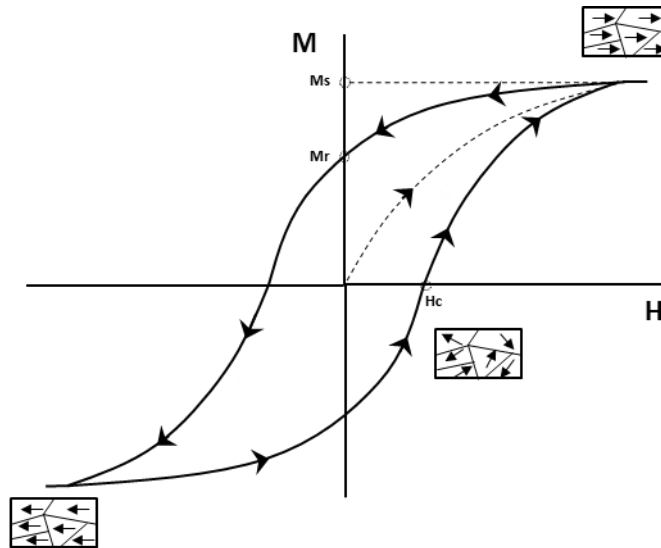
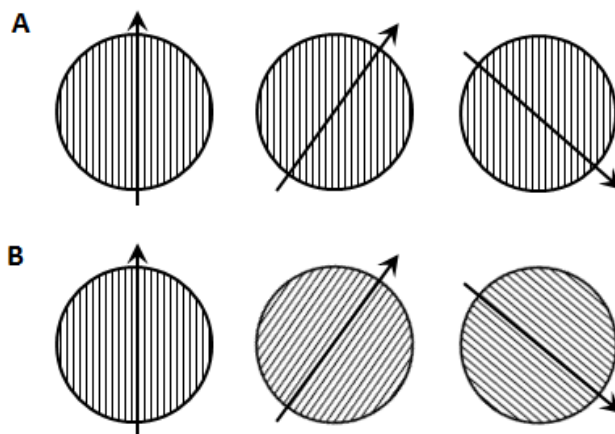


Figura 4. Campo magnético aplicado en un material multidominio frente a magnetización. Las imágenes I e II representan la alineación de los distintos dominios del material cuando este está saturado

Los materiales multidominio presentan dos propiedades magnéticas: la coercitividad (H_c) y la remanencia (M_r). Estas propiedades son indicativas del campo necesario para lograr una desmagnetización del material y la orientación de los dominios magnéticos. Al aplicar una energía electromagnética sobre el material se produce una modificación en la orientación de dichos dominios, desencadenando una interacción molecular entre los átomos, lo que deriva en un calentamiento del material (García Jimeno, 2012). Este efecto cobra una mayor relevancia cuando las NPMs presentan el tamaño adecuado, ofreciendo un rendimiento térmico elevado.

- *Efecto de relajación Brownian y Néel.* En ausencia de campo magnético la orientación de los momentos magnéticos de las NPMs con un solo dominio en suspensión, se encuentran determinadas por su estructura cristalina. Cuando se aplica un campo magnético con suficiente energía, el momento magnético varía la orientación magnética cristalina y la orientación física de la partícula (ver Figura 5). Este proceso desencadena una liberación de energía en forma de disipación térmica.



- **Figura 5. (A) Rotación de Néel: El momento magnético rota mientras que la partícula se queda fija. (B) Rotación de Brownian: El momento magnético se mantiene fijo respecto a la estructura cristalina mientras que la partícula gira** (Deatsch and Evans, 2013)

El tiempo necesario para alcanzar la nueva orientación magnética desde la posición original, se denomina tiempo de relajación Néel. Este fenómeno fue descubierto por el físico Louis Eugène Félix Néel y reformulado posteriormente por Robert Brown (Deatsch and Evans, 2013), quedando descrito en la siguiente ecuación (ver Figura 6 rojo):

$$\tau_N = \frac{\tau_0}{2} \sqrt{\pi \frac{k_B T}{KV}} e^{\frac{KV}{k_B T}} \quad (12)$$

donde $\tau_0 = 10^{-9} s$ es la constante de tiempo de Larmor, K es la constante de anisotropía, debida generalmente a la estructura cristalina y a su forma, V es el volumen de partículas, k_B es la constante de Boltzmann y T la temperatura.

Analizando la ecuación (12) se observa que el tiempo de relajación Néel está estrechamente ligado al volumen de la partícula, de modo que cuanto menor es el tamaño de la NP menor energía es necesaria para rotar su momento magnético, consecuentemente a menor tamaño el efecto Néel será más relevante.

El tiempo de relajación de Brownian está relacionado con la orientación física de las partículas. El cambio de orientación produce una fricción con el medio, que está fuertemente ligado a la viscosidad del disolvente, donde se encuentren inmersas las NPMs y del volumen hidrodinámico de las partículas. Este fenómeno fue descrito por primera vez por Robert Brown. El comportamiento del tiempo de relajación asociado al volumen hidrodinámico de la partícula, se describe en la siguiente ecuación (ver Figura 6 trazo azul punteado):

$$\tau_B = \frac{3\eta V_H}{k_B T} \quad (13)$$

donde η es la viscosidad del disolvente y V_H el volumen hidrodinámico de la partícula.

El tiempo de relajación efectivo resulta de la combinación de ambos mecanismos (12),(13). Aunque ambos efectos se producen simultáneamente, en las NPMs pequeñas ($< 12 - 14$ nm) predomina el efecto Néel, mientras que en las más grandes lo hace el efecto Brownian. La siguiente ecuación describe el tiempo de relajación τ efectivo (ver Figura 6 trazo discontinuo verde):

$$\tau = \frac{\tau_B \cdot \tau_N}{\tau_B + \tau_N} \quad (14)$$

La disipación térmica asociada a este efecto está relacionada con la intensidad de campo y la frecuencia. Por ello la máxima liberación energética se consigue cuando las dos magnitudes alcanzan un nivel adecuado (Rosensweig, 2002; Deatsch and Evans, 2013). Según Ronald E Rosensweig la potencia disipada P por la suspensión de las NPMs está descrita según la siguiente ecuación (Rosensweig, 2002):

$$P = \frac{1}{2} \omega \mu_0 \chi_0 H_0^2 \frac{\omega \tau}{1 + \omega^2 \tau^2} \quad (15)$$

donde ω es la frecuencia angular del campo electromagnético alterno, μ_0 es la permeabilidad en el vacío, χ_0 es la susceptibilidad magnética efectiva y H_0 es la amplitud del campo magnético.

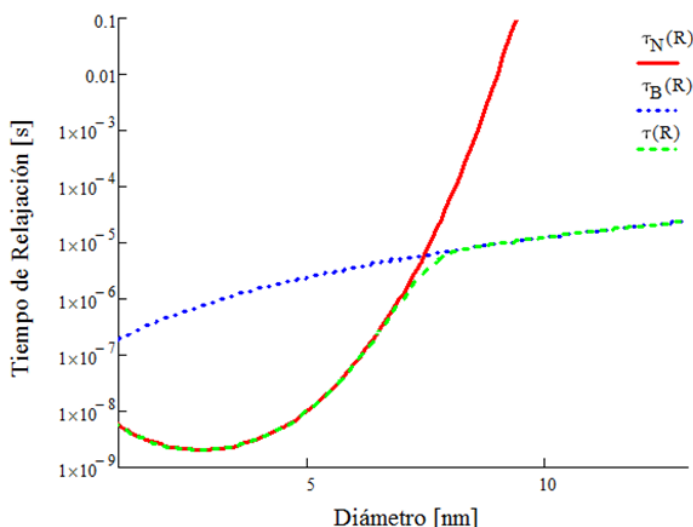


Figura 6: Tiempo de relajación de Néel, Brownian y resultante frente al diámetro de la NP

3.3.3. Relación del principio físico con el tipo de NPM

Los mecanismos de relajación Néel (τ_N) y Brownian (τ_B) (Ma *et al.*, 2004) y las pérdidas por histéresis (Hergt, Dutz and Röder, 2008) son los principales fenómenos físicos que contribuyen al calentamiento de las NPMs. La diferente naturaleza de estos efectos hace que solo uno de ellos predomine frente al resto, siendo las características físicas asociadas a las NPMs, el factor que lo determina.

A nivel de NP, uno de los factores más influyentes en el rendimiento térmico es su tamaño (ver Figura 7). De este depende el número de dipolos magnéticos o dominios que alberga en su estructura. A un menor tamaño de la NPM menor es el número de dipolos, alcanzando un mínimo en partículas de un solo dominio. Dentro de las nanopartículas monodominio se encuentran las NPMs superparamagnéticas (SP) que se caracterizan por presentar remanencia y coercitividad nulas (Mornet *et al.*, 2004). El principal efecto que contribuye al calentamiento de este tipo de NPMs es debido al efecto de relajación Néel. Conforme se va aumentando el volumen de las NPMs, el efecto Brownian comienza a tener cada vez más relevancia, hasta que llega el punto que el volumen permite albergar varios dominios. Estas son las denominadas NPMs ferromagnéticas. Llegado al punto en donde las NPMs poseen varios dominios, la remanencia y la coercitividad dejan de ser despreciables, predominando el efecto de histéresis. Este tipo de NPMs son las denominadas multi-dominio.

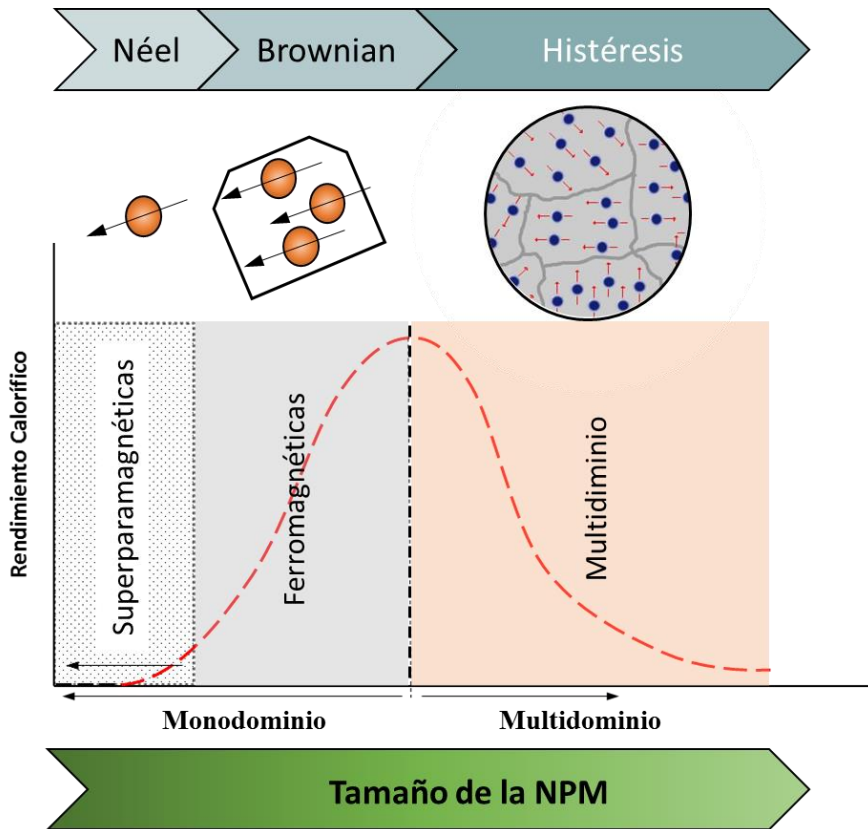


Figura 7. Relación entre el diámetro de la NP y el rendimiento calorífico obtenido

Además del tamaño de las nanopartículas, la saturación y anisotropía magnética (parámetro directamente relacionado con la forma de la NPM) juegan un papel muy importante en cuanto a su optimización térmica (Mehdaoui *et al.*, 2011; Nemati *et al.*, 2016).

Una de las características más interesantes de las NPMs-SPs es su comportamiento dual. Al presentar remanencia y coercitividad nulas, en ausencia de campo magnético se comportan como partículas paramagnéticas. En cambio cuando están sometidas a un campo magnético su comportamiento es parecido al ferromagnético (García Jimeno, 2012; Ningthoujam *et al.*, 2012). Esta propiedad resulta muy ventajosa en aplicaciones médicas ya que se evita las aglomeraciones de nanopartículas al verse atraídas unas con

otras debido a la remanencia residual (ver Figura 8) (Thanh and Hervault, 2014). De esta forma las NPMs-SPs pueden circular libremente por el espacio intersticial.

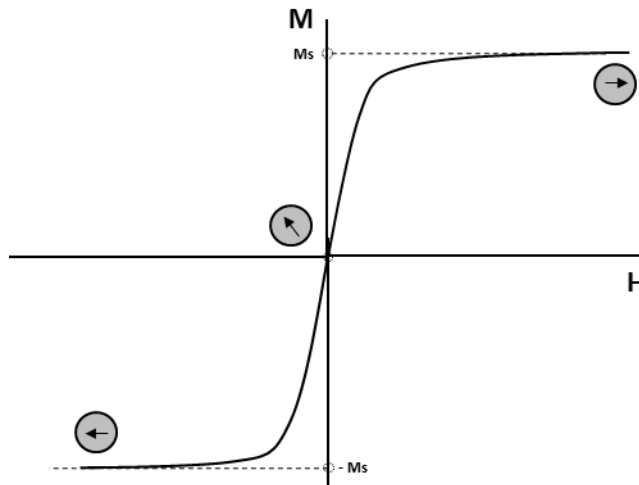


Figura 8. Curva de magnetización y de orientación magnética atómica frente al campo magnético de excitación

3.3.4. Interés de las NPMs en la lucha contra el cáncer

Las NPMs suspendidas en una sustancia biocompatible, como puede ser H_2O , se mantienen dispersas formando un coloide. Dicho coloide puede ser distribuido en los tejidos enfermos del paciente, permaneciendo latente hasta que se le aplique un CMA. Cuando el CMA actúa sobre el conjunto las NPMs se activan transformando la energía del campo en forma de calor. Teóricamente la energía generada por un CMA a 400 kHz puede actuar sobre un tejido que se encuentre a una profundidad de 15 cm aprovechando el 99% de la energía. (Lee *et al.*, 2011). Este mismo principio se puede utilizar para conseguir un calentamiento focalizado que ayude a realizar una terapia de hipertermia.

El tamaño nanoscópico de estas NPMs, mucho más pequeño que las células, abre la posibilidad de la interiorización de nanomateriales. Para facilitar la internalización se han utilizado una serie de ligandos, como pueden ser péptidos, anticuerpos, pequeñas moléculas, carbohidratos..., que facilitan el acceso desde la corteza celular (Hauser *et al.*, 2015). También se ha comprobado que las NPMs internalizadas permanecen incluso después de su replicación, distribuyéndose estadísticamente en torno a un 50% (Jordan *et al.*, 1999). Sin embargo, el hecho de que se produzca una internalización, no implica una mayor agresividad en el tratamiento. Las experiencias llevadas a cabo por Rabin demostraron que la concentración máxima de NPMs tolerable, en el interior de una célula, es insuficiente para provocar un calentamiento notable que permita alcanzar la

temperatura de hipertermia. El incremento de temperatura máximo registrado para una sola NPM no supera los 10^{-5}°C , necesiéndose una concentración muy elevada de NPMs para lograr un aumento significativo de la temperatura global. Se cifra que en ausencia de perfusión sería necesario una acumulación de NPMs que debería tener un diámetro de unos 200 μm , lo que sobrepasaría la dimensión de una sola célula (Rabin, 2002).

Como ha sido demostrado, al contrario que ocurría con las NPs de oro, para conseguir una potencia calorífica suficiente como para alcanzar la temperatura de hipertermia, se necesita una concentración relativamente alta. En el caso de que estas se administren de forma sistémica, muchas de las NPMs no llegarían al tejido enfermo (Attaluri *et al.*, 2011). Además, las que llegaran se acumularían de forma indeterminada, concentrándose mayoritariamente en zonas con elevada permeabilidad vascular y perfusión. Por esta razón resulta ineficiente esta vía de administración, quedando descartada en este caso (Cervadoro *et al.*, 2013). En cambio, dichas NPs pueden ser dirigidas de forma directa, inyectándolas sobre el propio tumor. Para el posicionamiento y guiado del nanofluido (NF) se puede utilizar imagen biomédica, que ayudaría a depositarlo en la zona precisa a tratar (Hauser *et al.*, 2015). Mediante esta técnica se permite alcanzar casi cualquier parte del cuerpo, presentando un postoperatorio mínimo o inexistente. Además una vez inyectado el coloide, las NPMs se distribuyen a través de los espacios intersticiales del tumor, lo que permite también una mejor distribución del calor. Esta técnica ha sido ensayada en mamíferos (ratones) (Hilger, Hergt and Kaiser, 2005; Williams and Sebastine, 2005), y en humanos, tratando tumores en ensayos clínicos de fase I, con pacientes con cáncer de próstata (Johannsen *et al.*, 2005) y cáncer cerebral (Thiesen and Jordan, 2008).

Una variante a esta técnica es la expuesta por Creixell *et al.* (Creixell *et al.*, 2011). En este caso la muerte celular no se asocia a un incremento de temperatura sino al movimiento mecánico de la NPM. En los experimentos reportados, una vez que las NPMs alcanzaron el interior celular se sometieron a un CMA de muy baja frecuencia e intensidad moderada (20 Hz a 30 mT) (Zhang *et al.*, 2014). Las NPMs al verse sometidas a un campo oscilante se orientan en el campo en un sentido y en otro, erosionando ciertas partes vitales de la célula hasta producir su muerte (Hauser *et al.*, 2015) Según lo demostrado por Creixell, dicha desnaturalización logra una muerte asociada al fenómeno de apoptosis (ver Figura 9).

3.4. Rendimiento energético de las NPs

3.4.1. Medida del calentamiento de las NPs.

Como ya se comentaba en el apartado 3.1. del presente capítulo, la hipertermia y la liberación controlada están asociadas al calentamiento producido por las NPs al ser excitadas por un CMA. El incremento de temperatura aportado por cada una de las NPs, contribuye a un calentamiento que puede ser aprovechado en el tratamiento de una hipertermia localizada. Entender el comportamiento físico de las NPs ha sido clave en la optimización de su estructura a fin de obtener un mejor rendimiento térmico. La

cuantificación de los resultados ha servido para comparar los progresos obtenidos en las múltiples publicaciones.

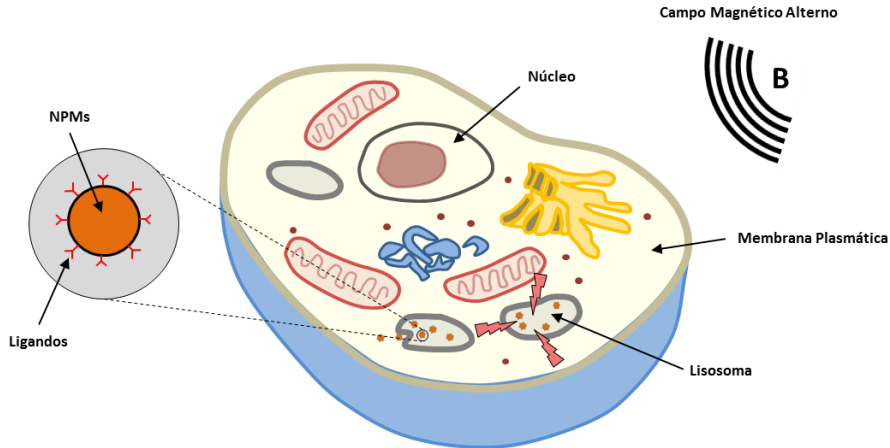


Figura 9. Descripción de las distintas etapas a las que se ve sometida la célula tumoral tras administrarse unas NPMs con anticuerpos específicos para la acumulación en la membrana del lisosoma y posterior radiación mediante un CMA

Uno de los términos más utilizados para la cuantificación es el ratio de absorción calorífico (Specific Absorption Rate, SAR) (Dutz and Hergt, 2014) o pérdidas específicas de potencia (Specific Lost Power, SLP) (Gonzalez-Fernandez *et al.*, 2009). Este parámetro se ha relacionado históricamente con la absorción de la energía en los tejidos humanos, cuando son expuesto por ejemplo a un campo de RF o a un equipo HIFU (Gong *et al.*, 2016). Aunque para otras aplicaciones este concepto es una referencia inequívoca, en éste caso no resulta así, al no estar la fuente de excitación directamente ligada al calor generado. Por ello, para hacer una comparación más rigurosa del rendimiento térmico entre distintas NPMs, se formuló el parámetro de pérdida de potencia intrínseca (Intrinsic Lost Power, ILP). Como se puede apreciar en la ecuación (16) el ILP es una magnitud que relaciona la densidad de potencia, la concentración, la frecuencia y la intensidad de campo (Kallumadil *et al.*, 2009).

$$ILP = \frac{P}{\gamma H^2 f} = \frac{SAR}{H^2 f} \quad (16)$$

donde P la densidad de potencia volumétrica, γ la concentración; H es la intensidad de campo electromagnético y f es la frecuencia a la que oscila el campo.

3.4.2. Estimación experimental del rendimiento

El método experimental del rendimiento térmico consiste en registrar durante un periodo de tiempo la respuesta térmica del coloide bajo la acción de la excitación. La respuesta térmica registrada se puede relacionar con el SAR. El SAR se define como la relación entre la potencia absorbida y la masa de la muestra irradiada. Este puede estimarse como (Huang *et al.*, 2009; del Pino and Pelaz, 2012; Fales, Yuan and Vo-Dinh, 2013):

$$SAR = \frac{c_s \cdot \rho_s \cdot V_s}{m_{Np}} \cdot \frac{\Delta T}{\Delta t} \quad (17)$$

donde c es el calor específico, ρ es la densidad de masa, V es el volumen, m la masa, siendo el subíndice s hace referencia a la suspensión de nanopartículas, el subíndice Np hace referencia a las NPMs y $\frac{\Delta T}{\Delta t}$ es la pendiente inicial en relación con la temperatura.

En la Figura 10 se muestra un calentamiento típico de un coloide. En trazo discontinuo se representa la máxima pendiente característica de la cual se extrae la $\Delta T/\Delta t$.

El calor específico c_s del coloide se puede estimar como (Buongiorno, 2006):

$$c_s \approx \frac{\emptyset \cdot \rho_{Np} \cdot c_{Np} + (1 - \emptyset) \cdot \rho_{Dis} \cdot c_{Dis}}{\emptyset \cdot \rho_{Np} + (1 - \emptyset) \cdot \rho_{Dis}} \quad (18)$$

donde \emptyset es la fracción de la suspensión del volumen ocupado por las NP y el subíndice Dis hace referencia al disolvente.

3.4.3. Maximización del SAR de las NPMs

La medida de la efectividad calorífica de las NPMs resulta crucial en aras de poder realizar un tratamiento efectivo de hipertermia o de liberación controlada. El primer factor a tener en cuenta está relacionado con el CMA. Su influencia queda descrita en la ecuación de Box-Lucas (Kallumadil *et al.*, 2009):

$$T(t) = A(1 - e^{-Bt}) \quad (19)$$

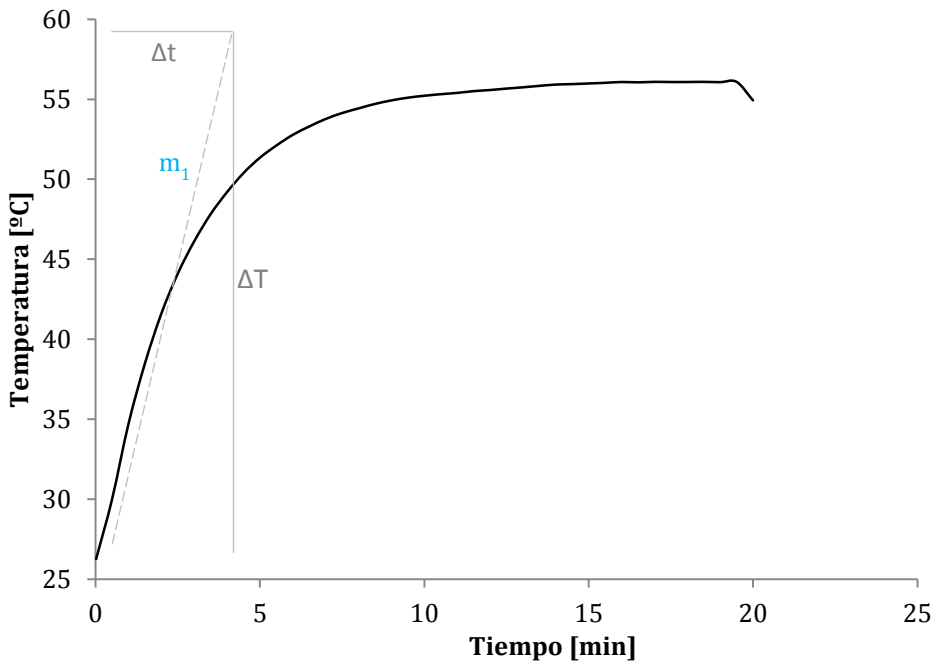


Figura 10: Curva de calentamiento típica de un coloide con NPs sometidas a una excitación

donde T es la temperatura, t el tiempo, A la temperatura de saturación y B es un parámetro relacionado con la curva de calentamiento. El producto $A \times B$ para $t = 0$ es también conocido como la tasa inicial de calentamiento y es equivalente a la $\Delta T/\Delta t$ usado en el SAR.

Además de la relación directa entre el rendimiento térmico, la frecuencia y la intensidad del CMA, existen otros parámetros que influyen en mayor o menor medida. Otro factor a tener en cuenta son las propiedades físico-químicas de los materiales que las conforman (Fortin *et al.*, 2007). En NPMs no SP una estrategia para aumentar el SAR consiste en aumentar el ciclo de histéresis. Por otro lado la optimización del SAR también está relacionada con la coercitividad ($H_c \approx K_{eff}/M_s$) que depende a su vez del ratio de aspecto, de su estructura cristalina y forma de la NP. La saturación magnética (M_s) es otro de los factores destacables en la efectividad térmica. La relación que existe entre las magnitudes H_c y M_s es inversamente proporcional, afectándose mutuamente. No obstante según los resultados aportados por Nemati et al. resulta mucho más efectivo un valor alto de H_c manteniendo el M_s , que al contrario (Nemati *et al.*, 2016).

3.5. Las NPs y la liberación controlada de fármacos

Hace relativamente pocos años, la nanotecnología pasó a formar parte de un área más en el mundo de la investigación médica. La capacidad de excitación mediante fuentes externas hace ideal las NPs para una terapia de hipertermia localizada. Su reducido tamaño permite alcanzar células enfermas, pudiendo ser utilizadas para la liberación de drogas y sustancias muy variadas, como los fármacos hidrófilos, hidrófobos, proteínas, bacilos, macromoléculas biológicas, etc.

En este campo las nanopartículas de sílice mesoporosas (NSMs) se presentan como una excelente opción (Zhang *et al.*, 2012), ya que presentan un volumen muy pequeño en una elevada área superficial y son capaces de ajustarse a un tamaño deseado. También han demostrado un excelente grado de biocompatibilidad, tanto *in vivo* como *in vitro*, resultando aptas para este tipo de aplicaciones. Las NSMs han sido estudiadas para la liberación de diferentes fármacos, es el caso de antiinflamatorios, antibióticos, elementos para el control de crecimiento, liberación génica y fármacos para el tratamiento del cáncer (Bouchoucha *et al.*, 2016).

Además de un buen sistema de liberación, se necesita que las NPs alcancen las células objetivo. Estas NPs pueden ser formuladas para ser dirigidas al sistema linfático, cerebro, arterias, pulmones, hígado, bazo, etc. (Hans & Lowman 2002). Actualmente se está trabajando con técnicas complejas, utilizando ligandos adheridos a la NP para alcanzar las células enfermas o bien por afinidad o porque sean sustancias químicas altamente demandadas por las células tumorales. De esta forma se puede conseguir la acumulación de un gran número de NPs, tanto en el interior, como en las zonas intersticiales de la célula. Como ejemplo se destaca el uso de anticuerpos o sus fragmentos, lectinas, lipoproteínas, hormonas, polisacáridos y algunos ligandos de bajo peso molecular tales como folato. También se pueden utilizar otras estrategias menos complejas para el guiado, en el caso de las NPMs. Aunque mucho más rudimentario, las NPMs pueden ser conducidas mediante campos magnéticos hacia la zona objetivo (Tehrani, Kim and Yoon, 2014).

Entre los diversos mecanismos de hipertermia y de liberación controlada, en la presente tesis se aborda el estudio de NPs sensibles al campo magnético (Tao and Zhu, 2014) y al campo eléctrico (Kumar, Zhang and Liang, 2012). El principio de funcionamiento en ambos casos es el mismo, utilizando la energía calorífica generada tras la excitación para la liberación del fármaco.

Objetivos de la Tesis

En el anterior capítulo se han expuesto los fundamentos sobre los cuales se basa la presente Tesis Doctoral. Esta consiste en conseguir una hipertermia mejorada para el tratamiento con sustancias nanoscópicas capaces de interactuar con campos electromagnéticos.

Los objetivos de la presente tesis son los siguientes:

- El primer objetivo de la tesis es el diseño y desarrollo de un equipo de laboratorio destinado a la interacción con sustancias nanométricas con aplicaciones médicas en el ámbito de la hipertermia y de la liberación controlada de fármacos utilizando la radiación lumínica.
- El segundo objetivo es el diseño y desarrollo de un equipo en las mismas condiciones que el anterior pero utilizando radiación electromagnética.
- El tercer objetivo tiene que ver con los múltiples factores que interviene en la terapia y la falta de accesibilidad a la medida de temperatura, sobre todo cuando la terapia tiene lugar en el interior de los tejidos. Por ello se plantea otro subobjetivo, la planificación de la terapia. Esta planificación debe de estar basada en un sistema virtual con el ánimo de optimizar todas las variables de la misma.
- El cuarto y último objetivo es validar los equipos anteriores mediante experimentación a varios niveles (celular, tejidos, etc) con distinto tipo de nanoparticulas.

Capítulo 2.

Equipo de Hipertermia Láser

1. Introducción

En este capítulo se presenta un equipo para aplicaciones de hipertermia óptica y de liberación controlada de medicamentos (Figura 11). Se trata de un equipo de bajo coste que incluye un láser de 808 nm (Gormley *et al.*, 2011) con una potencia máxima de 500 mW. Este equipo incorpora una lupa digital que sirve para el cálculo del área irradiada por el haz láser y una cámara termostática diseñada para el control de la temperatura ambiente del habitáculo durante el experimento. El equipo fue testeado en varios experimentos *in vitro*: por un lado se registró la temperatura de calentamiento con dos tipos de nanopartículas: nanobastones y nanoestrellas y por otro se probaron sistemas de liberación controlada de fármacos. Todos estos experimentos se detallan en la parte experimental de esta sección.

2. Descripción del Hardware del equipo

2.1. Descripción general

El equipo diseñado consta principalmente de dos bloques claramente diferenciados: la etapa de potencia y el sistema óptico. Por un lado, la etapa de potencia se encarga de suministrar la corriente necesaria al diodo láser. La fuente de corriente está controlada mediante un microcontrolador de 8 bits (PIC18F2550 fabricado por Microchip Technology Inc). Mediante tres botones dispuestos en la parte frontal del equipo y una

Capítulo 2 Equipo de Hipertermia Láser

pantalla LCD de 2 x 16 caracteres, el usuario puede seleccionar las distintas configuraciones de un experimento. Por otro lado, el sistema óptico incorpora el mencionado diodo láser y un subsistema de visión cuya principal función es la medida del área irradiada por dicho láser. En la Figura 12 se muestra el diagrama de bloques del equipo completo y una imagen del sistema de control.

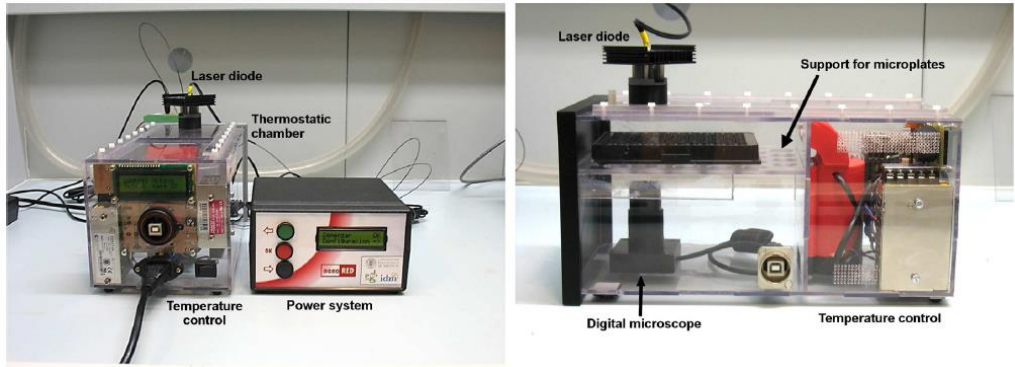


Figura 11. Vista frontal y lateral del equipo desarrollado

Adicionalmente, el equipo incorpora una cámara termostática (Figura 11 derecha). Esta cámara ha sido diseñada para dar soporte al resto de elementos (sistema óptico, elementos de medida de temperatura, sistema de visión, centrado de la muestra). Gracias a la ventaja y polivalencia que presenta este subsistema, esta cámara termostática también se ha utilizado como accesorio del equipo de excitación electromagnética. Para más detalles en relación a la cámara termostática puede consultar el capítulo 4.

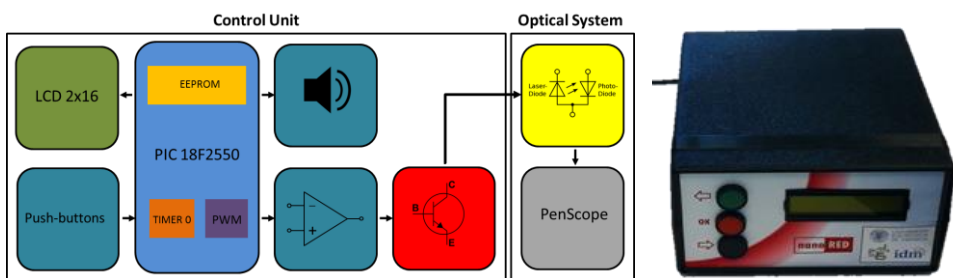


Figura 12: Diagrama de bloques del y aspecto exterior del equipo

2.2. Diseño del sistema óptico

El sistema óptico utilizado es esencialmente el que condiciona el resto de las especificaciones del sistema. La principal función del aplicador óptico es la de emitir una determinada densidad de potencia mono-modo infrarroja (IR) sobre la muestra. Dicha potencia debe ser lo suficientemente grande para que este sea capaz de excitar las NPs-Au suspendidas en la muestra. La magnitud de la densidad de potencia radiada depende principalmente de la potencia de salida del diodo láser y del ajuste del enfoque.

2.2.1. Emisor láser

El láser que se ha utilizado en esta aplicación (Figura 12 bloque superior derecho) es un diodo láser LDM-0808-500m-92 distribuido por Roithner Lasertechnik GmbH. La longitud de onda nominal radiada es de 808 ± 10 nm (rango infrarrojo) a una potencia nominal de 500 mW con una luz coherente. Los diodos láser consiguen esta coherencia limitando la oscilación en un solo modo, consiguiendo además muy baja distorsión. Sin embargo, la divergencia de la luz emitida por el diodo láser resulta ser muy pronunciada. En concreto este diodo presenta una divergencia en torno 40° en el plano normal ($\theta_{\perp} = 40^\circ$) y 10° en el plano paralelo ($\theta_{\parallel} = 10^\circ$). Como resultado, la luz se propaga cónicamente, tomando su sección transversal una forma elíptica.

Con el fin de mejorar la divergencia del haz emitido, se ha colocado un colimador (Roithner Laser Technik RLY-133G) a la salida del láser. El colimador está compuesto por tres lentes de vidrio montadas sobre una superficie roscada de métrica M 9 x 0.5 que permite un ajuste de precisión. Su carcasa tiene unas dimensiones de 9 x 13 mm, adoptando una longitud focal de 8.2 mm (Figura 13). Las lentes están especialmente tratadas para obtener un alto rendimiento para radiación IR.

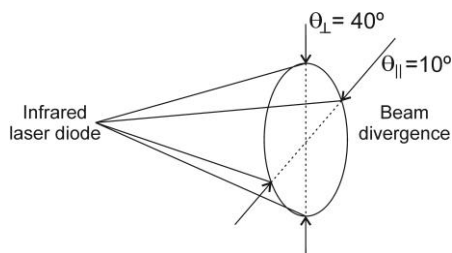


Figura 13: Cono de divergencia del haz del láser

La ventana del colimador es de 5 mm de diámetro. Con el fin de minimizar la potencia radiada fuera de la lente se debe ajustar la distancia focal f_{MAX} al diodo (ver Figura 13):

$$f_{MAX} = \frac{D}{2 \cdot \operatorname{tg}(\theta_{\perp}/2)} \quad (20)$$

donde D es el diámetro de la lente.

Por lo que para $D = 5 \text{ mm}$ y $\theta_L = 40^\circ$ se obtiene una $f_{MAX} = 6.86 \text{ mm}$ (ver Figura 14).

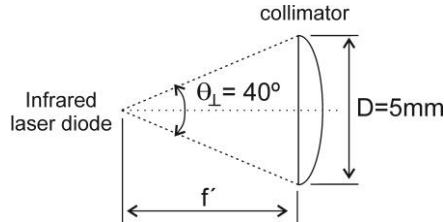


Figura 14: Esquema de configuración del colimador

2.2.2. Sistema de visión

El sistema de visión, a través de la lupa digital, juega un papel muy importante en la calibración del dispositivo láser. En concreto, dicho sistema se utiliza para estimar la densidad de potencia superficial radiada por el láser. El procedimiento básico se muestra a continuación.

El haz del diodo láser, después de pasar por el colimador, se dirige a una superficie traslúcida de color blanco. Esta superficie, dispuesta a una distancia igual a la que se dispondrán las muestras experimentales, deja pasar parte de la luz pudiéndose observar la huella en la cara reversa de la superficie. En esta misma cara una rejilla calibrada con divisiones numeradas (ver Figura 15) permite tomar medida de los ejes de la elipse proyectada en la capa traslúcida. La lupa digital (Cacolms, manufactured by Velleman nv), tiene la funcionalidad de captura de imagen, pudiéndose gestionar desde un computador personal (PC). La imagen resultante puede ser analizada para obtener el área iluminada del haz láser. El área del haz láser S puede ser calculada tomando como medida los dos ejes principales de dicha elipse:

$$S_{irr} = \pi \cdot a \cdot b \quad (21)$$

donde a y b son las longitudes de los semiejes de la elipse (ver Figura 15).

Para este cálculo, la densidad de potencia radiada por el láser se puede estimar como:

$$L = \frac{P_{láser}}{S} = \frac{P_{láser}}{\pi \cdot a \cdot b} \quad (22)$$

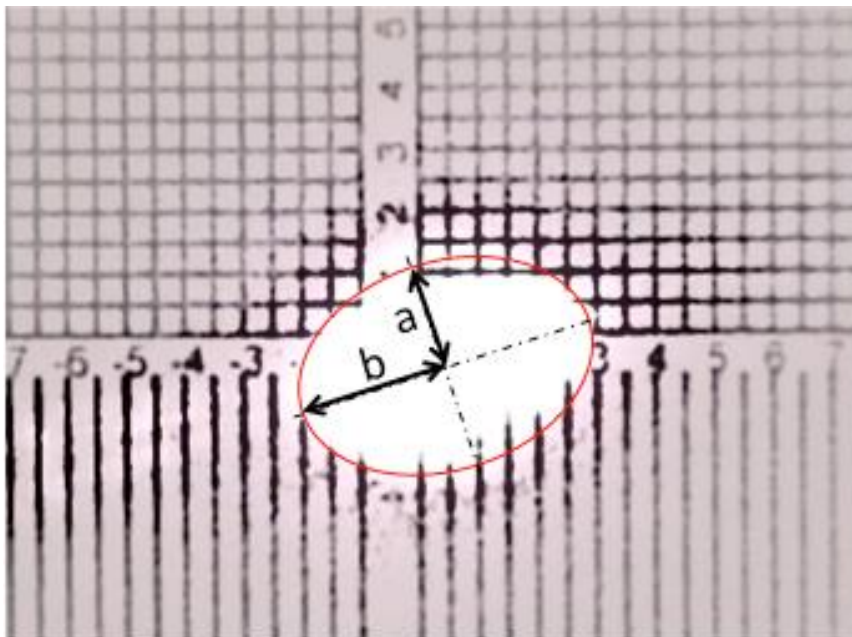


Figura 15 Rejilla calibrada (0.5mm/div.) iluminada por el láser

La densidad de potencia máxima irradiada se ha calculado teniendo en cuenta la potencia nominal del láser ($P_{\text{láser}} = 500 \text{ mW}$) lo que resulta un $L = 4.24 \text{ W/cm}^2$.

2.3. Etapa de potencia

La etapa de potencia está constituida principalmente por dos bloques: un convertidor tensión corriente (ver los dos bloques de la parte derecha inferior de la etapa de potencia en la Figura 12) y el controlador (ver resto de bloques de la etapa de potencia en la Figura 12). El diodo láser está alimentado por una corriente proporcionada por el convertidor tensión corriente, el cual incluye: un seguidor de tensión, un filtro paso bajo, un amplificador de transimpedancia y un amplificador de corriente. Este convertidor es controlado mediante una modulación de ancho de pulso (PWM) generada por el propio microcontrolador.

2.3.1. Convertidor tensión-corriente

El esquema electrónico del convertidor tensión-corriente se muestra en la Figura 16. La entrada del PWM pasa en primer lugar a través del seguidor de tensión y un filtro paso

bajo RLC que actúa como integrador, obteniendo una tensión V_1 proporcional al ancho de pulso de la entrada PWM. Esta tensión sirve como referencia al amplificador de transimpedancia para generar la corriente de excitación del láser.

El amplificador operacional (AO) utilizado para el seguidor de tensión y el amplificador de transimpedancia es el MCP607, fabricado por Microchip Technology Inc. Se trata de un AO rail-to-rail de tecnología CMOS que presenta una alta impedancia de entrada (del orden de $T\Omega$) y un amplio ancho de banda (sobre 100kHz), haciéndolo muy apropiado para esta aplicación. En cuanto al filtro RLC, se comporta como un filtro paso bajo con una frecuencia de corte de 503 Hz.

El amplificador de corriente está compuesto principalmente por dos transistores bipolares en configuración Dárlinton, trabajando de forma lineal. La alta impedancia del AO MCP607 aísla el amplificador de transimpedancia de la salida del filtro RLC. Esto evita la fuga de corriente y se minimiza el rizado del filtro. Además la alta impedancia de entrada del AO garantiza una misma tensión para ambas entradas, es decir V_1 . La salida de corriente excita con una corriente la entrada de los transistores Darlington generando una tensión V_L sobre la resistencia R_2 . La realimentación negativa del AO fuerza que la entrada V_L sea igual que V_1 , haciendo que la corriente a través del láser sea proporcional a V_1 que está relacionado también con la tensión en R_2 . El valor de R_2 se ha escogido para que el AO trabaje en modo lineal en rango de corriente admisible por el láser.

La parte más a la derecha del esquema (ver Figura 16) muestra el circuito de medida de la radiación láser. Este circuito está compuesto por un fotodiodo (encapsulado junto con el diodo láser) y un AO. La radiación del láser excita al fotodiodo generando una corriente que circula a través de R_3 . Esta corriente genera una tensión en la patilla positiva del AO que se transmite al microcontrolador, proporcionando una señal de realimentación.

2.3.2. Función de transferencia del sistema

El microcontrolador incluye un módulo CCP (captura, comparador y PWM) que permite el control del ancho de pulso de alguno de los pines de salida. El ancho de pulso o el ciclo de trabajo del PWM es proporcional a la intensidad de corriente en el diodo láser. Para cambiar este ancho de pulso se debe acceder a un registro de 8 bits que permite hasta 256 estados distintos ($N_{res} = 256$). Sin embargo para mantener la corriente que circula tan solo han sido necesarios 107 valores.

El convertidor tensión-corriente responde a la siguiente función de transferencia:

$$I_{LD} = \frac{V_1}{R_2} \quad (23)$$

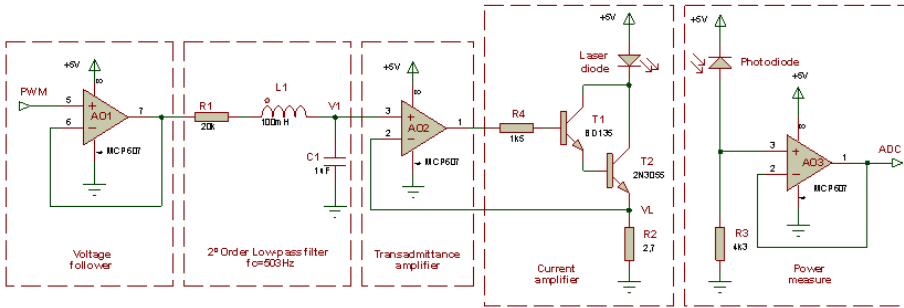


Figura 16: Etapa de corriente para el diodo láser y de acondicionamiento de señal del fotodiodo

donde I_{LD} es la corriente que atraviesa el diodo láser, R_2 ha sido escogida para que la máxima corriente proporcionada por la fuente no exceda del valor nominal de la corriente máxima ($I_{NOM} = 654 \text{ mA}$). En este caso se ha utilizado una resistencia $R_2 = 2.7 \Omega$ pudiendo alcanzar una corriente máxima $I_{MAX} = 1.1 \text{ A}$. Por mediación del sistema de control se puede tomar distintos valores de corriente en función del valor que adquiera el registro del PWM:

$$I_{LD} = \frac{n \cdot I_{MAX}}{N_{res}}, 1 \leq n \leq N_{res} \quad (24)$$

donde n representa el valor seleccionado por el programa.

El valor de n en teoría puede variar desde 1 a N_{res} . Sin embargo para ajustarse a las condiciones de trabajo del diodo láser y trabajar en la parte de respuesta lineal (ver Figura 17) el programa limita el acceso pudiendo ser seleccionado valores entre $46 \leq n \leq 152$. Estos valores corresponden a una corriente comprendida entre 198 y 653 mA. En este rango se asume una respuesta lineal del láser emitida de acuerdo la siguiente ecuación:

$$P_{LD} \approx 1.07 \cdot I_{LD} - 0.2 \quad (25)$$

Tomando las dos ecuaciones anteriores (24)(25) se obtiene una nueva ecuación que relaciona la potencia con el valor seleccionado del registro PWM:

$$P_{LD} \approx \frac{1.07 \cdot n \cdot I_{MAX}}{N_{res}} - 0.2 \quad (26)$$

Finalmente considerando la ecuación anterior y la ecuación (21) se puede obtener la densidad de potencia en relación con el valor del registro del PWM:

$$L_{step} \approx \frac{1}{\pi \cdot a \cdot b} \cdot \left(\frac{1.07 \cdot n \cdot I_{MAX}}{N_{res}} - 0.2 \right) \quad (27)$$

donde a y b se miden en la etapa de calibración descrita anteriormente.

En el uso experimental, el usuario selecciona la densidad de potencia directamente en el equipo, pudiendo seleccionar entre una densidad de potencia máxima $L = 4 \text{ W/cm}^2$ que se corresponde a una intensidad $I_{LD} = 627 \text{ mA}$ ($n = 146$) y una densidad de potencia mínima de 0.098 W/cm^2 que se corresponde a una corriente $I_{LD} = 198 \text{ mA}$ ($n = 46$).

3. Descripción del firmware del equipo

3.1. Herramienta de desarrollo

El código del microcontrolador se ha desarrollado bajo la plataforma de programación que facilita el propio fabricante. Para ello, Microchip suministra MPLAB. Se trata de un entorno gratuito diseñado para poder trabajar con todos sus microcontroladores. Este entorno posee distintos compiladores que se encargan de traducir el programa a un archivo binario de programación. De entre los distintos lenguajes de programación, el μC se ha programado empleando el lenguaje ANSY C.

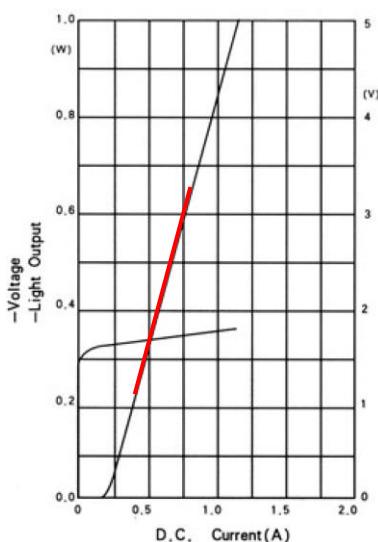


Figura 17: Curva de rendimiento del láser con respecto a la tensión y la corriente

3.2. Descripción general firmware

El firmware del equipo está diseñado para proporcionar un entorno amigable con el usuario. Consta de un sistema de menús que permiten los ajustes necesarios para la realización de los experimentos (ver Figura 18). El diagrama de flujo del firmware se divide en dos secciones, el menú de operación y el menú de configuración. A través del menú de operación se inicia la ejecución del experimento. Una vez iniciado, en pantalla se muestra el porcentaje de tiempo transcurrido y la densidad de potencia registrada por el circuito de medida. De esta forma el usuario puede verificar si la potencia demandada se corresponde con la ofrecida por el equipo. En cuanto al menú de ajustes de usuario, en primer lugar se accede a la configuración temporal del experimento. Entre los parámetros accesibles se encuentra la duración temporal del pulso, indicando tanto el periodo como el régimen de funcionamiento de la señal y el tiempo del experimento, pudiéndose ajustar entre 1 segundo a 60 minutos. La corriente de salida del equipo es ajustable desde el siguiente menú, para ello el usuario selecciona el nivel de corriente deseado ayudándose de los cursores frontales. Otro de los elementos que incorpora el software es la posibilidad de accionar un zumbador que proporciona una alarma sonora una vez acabado el experimento. Todos estos parámetros y opciones pueden ser almacenados y recuperados desde 10 memorias internas. También se ha implementado una rutina de error que alerta a través de la pantalla LCD, de posibles anomalías en el actuador láser.

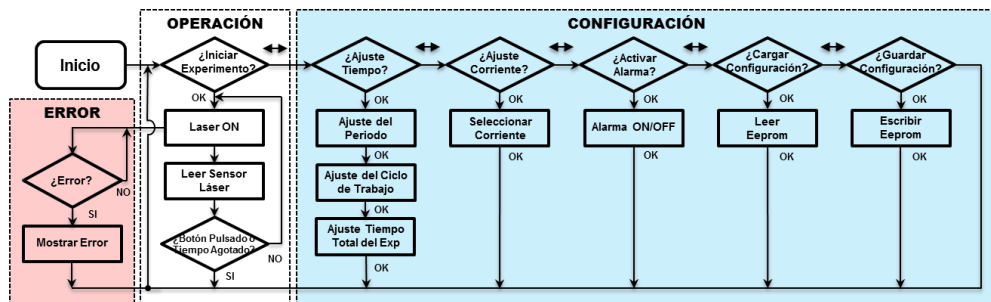


Figura 18: Diagrama de flujo del firmware

4. Resultados experimentales

La sección experimental se ha dividido en dos apartados. El primer apartado estudia la posibilidad de generación calórica excitando a dos tipos distintos de NPs-Au, nanobastones y nanoestrellas. En los experimentos se han registrado las curvas de calentamiento a varias potencias ópticas, con el propósito de obtener una estimación del ratio específico de absorción (SAR). El segundo apartado está enfocado a experiencias de liberación controlada de fármacos. En este caso también se registraron las respuestas de temperatura y el porcentaje de liberación registrado por la muestra irradiada con respecto a la no irradiada.

4.1. Rendimiento térmico de las Au-NPs

4.1.1. Nanobastones de oro

Síntesis

Los nanobastones sintetizados en esta experiencia absorben longitudes de onda en la banda entre 700-800 nm. El procedimiento de síntesis se realizó siguiendo el método de El-Sayed descrito en la literatura (Leontidis *et al.*, 2002; Pérez-Juste *et al.*, 2005; Ali, Snyder and El-Sayed, 2012):

1. La disolución de crecimiento fue preparado a 27 °C. Se añadió 5ml de HAuCl₄ (5,0 ml, 1,0 mM) en bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB).
2. Después se añadieron 250 µl de AgNO₃ 4 mM y se agitó la disolución.
3. A continuación, se añadió HCl al 37% para obtener un pH 1-1.15.
4. 70 µl de ácido ascórbico (78.8 mM) se añadieron hasta conseguir una disolución incolora.
5. Inmediatamente se añadió 15µl de NaBH₄ 0.01 M enfriado con hielo dejándolo reaccionar 6h.
6. Finalmente la disolución fue centrifugada durante 15 min a 14500 rpm. Se eliminó el sobrenadante y el precipitado se mezcló en agua y se centrifugaron de nuevo a la misma velocidad y en el mismo tiempo.

H₂AuCl₄, NaBH₄, AgNO₃, ácido ascórbico, y bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) se adquirieron de Sigma-Aldrich. El ácido clorhídrico se adquirió de Sharlab.

Caracterización

La forma y el tamaño de las NPs-Au sintetizadas se caracterizaron por las técnicas de espectroscopia de resonancia de plasmón superficial y mediante el microscopio de transmisión electrónico (TEM). La longitud media de los nanobastones obtenidos fue de 25 nm y 6 nm de diámetro. Todos los estudios fotométricos fueron realizados con el espectrómetro UV-vis V-630, fabricado por Jasco Deutschland GmbH. Para obtener el gráfico de la Figura 19 se sonicó 1ml de la muestra durante 5min. En tal gráfico se puede apreciar dos bandas de plasmones superficiales a 520 nm y 800 nm.

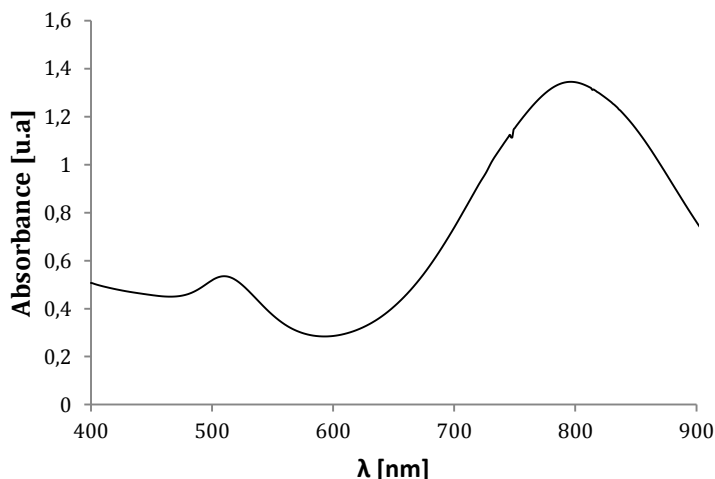


Figura 19: Espectro de absorción de los nanobastones de oro obtenida mediante espectrofotometría

Las mediciones con el TEM se realizaron con el microscopio JEM-1010, fabricado por JOEL Ltd. Las muestras se prepararon mediante la colocación de pequeñas gotas de nanobastones de oro dispersas en el agua, en rejillas de cobre recubiertas de formvar, permitiendo que el disolvente se evaporara lentamente a temperatura ambiente. La rejilla seca se examinó bajo el TEM obteniendo dos imágenes que se pueden apreciar en la Figura 20.

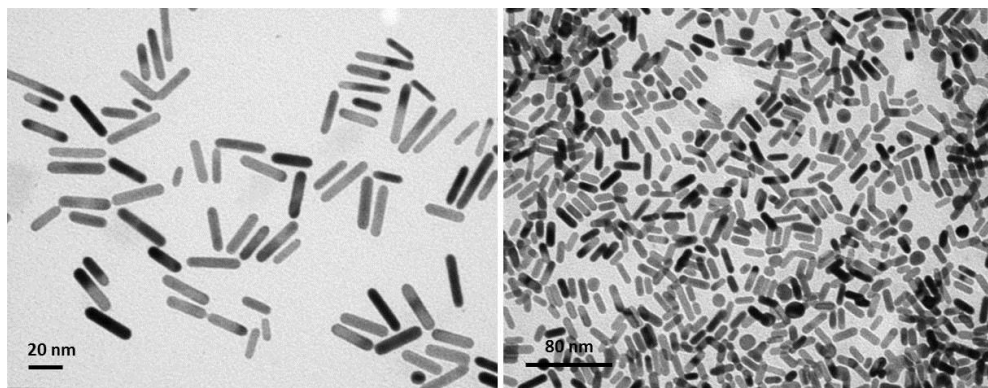


Figura 20: Detalle de la morfología y tamaño de los nanobastones sintetizados

Calor inducido por el láser

Aproximadamente 600 μl de una suspensión de oro fue obtenido como resultado del proceso de síntesis mencionado en el apartado anterior. Este volumen fue dividido en tres partes iguales (200 μl cada una), y cada parte fue vertido en un pocillo diferente. La concentración de la solución fue estimada midiendo el espectro de extinción a 400 nm (Rodríguez-Fernández *et al.*, 2005; Scarabelli, Grzelczak and Liz-Marzán, 2013), resultando 38.4 $\mu\text{g/ml}$.

El diodo láser fue posicionado a 1 cm de la muestra a calentar. Esto implica que aproximadamente el 30.6% del volumen de la solución estaba irradiado por el haz láser. Cada muestra fue expuesta a cinco densidades de potencia y tres repeticiones con un tiempo de exposición láser de 15 min y un tiempo de enfriamiento de 4 min. Las potencias a la que se expuso las muestras fueron de: 0.1, 1, 2, 3 y 4 W/cm^2 .

Durante el tiempo de excitación láser y el enfriamiento, la temperatura del coloide se registró cada 20 s, usando una cámara termográfica (Testo 875, manufactured by Testo AG). En la Figura 21 se puede apreciar una instantánea donde se recogen los datos térmicos en el último instante de irradiación láser, de una muestra con nanopartículas de oro (izquierda) y una muestra de agua destilada (derecha). Los valores de temperatura recogidos están graficados en la Figura 22. Como se puede apreciar los incrementos de temperatura oscilan entre 10 $^{\circ}\text{C}$ hasta 40 $^{\circ}\text{C}$, dependiendo de la radiación láser y del tiempo de exposición. El mayor incremento de temperatura se alcanza a los 10 min, cuando se excitan las nanopartículas con una densidad de potencia de 4 W/cm^2 . En cambio si el mismo láser, a la misma potencia, se aplica sobre agua destilada, el incremento de temperatura apenas alcanza 2 $^{\circ}\text{C}$.

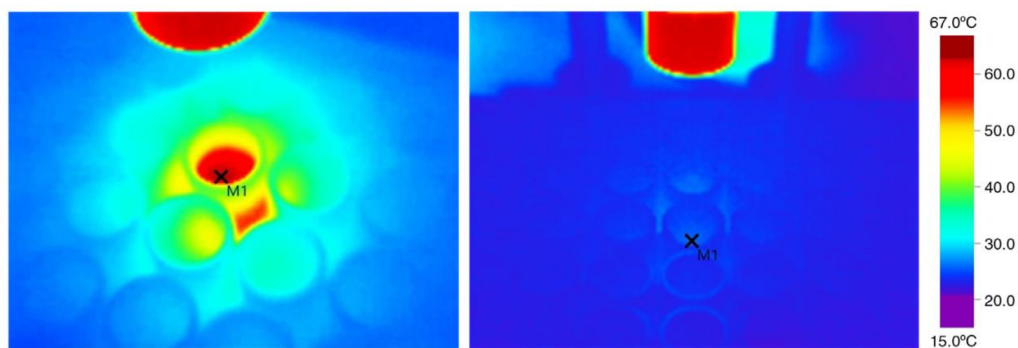


Figura 21: Imagen termográfica del calor máximo alcanzado tras la exposición láser del coloide (izquierda) y del agua destilada (derecha) tras un tiempo de exposición de 30 minutos. Donde $M1 = 64.6\text{ }^{\circ}\text{C}$ (gráfico izquierdo) y $M1\text{ H}_2\text{O}$ es de $25.6\text{ }^{\circ}\text{C}$ (gráfico derecho)

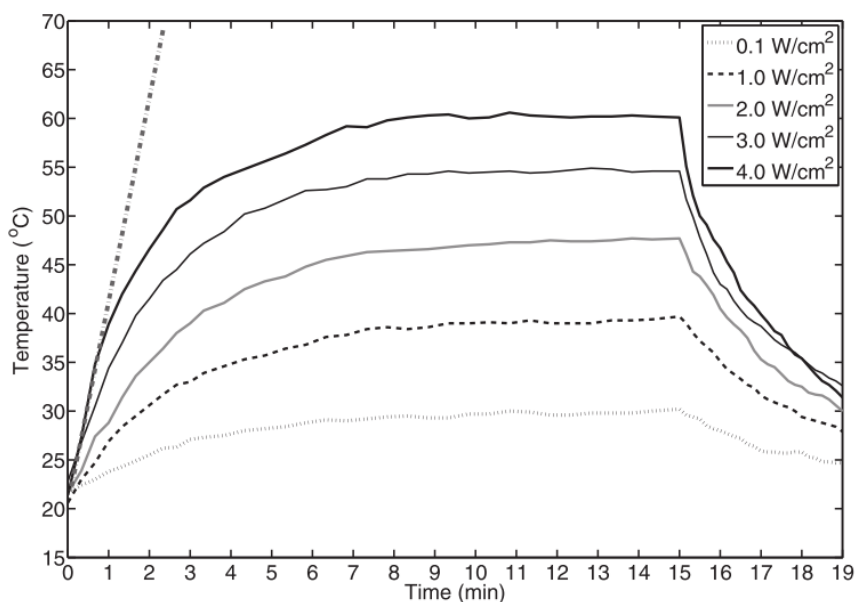


Figura 22: Temperatura media en función del tiempo tras la exposición a diferentes densidades de potencia láser. La línea recta indica la máxima pendiente registrada por el perfil térmico a 4 W/cm^2

4.1.2 Nanoestrellas de oro

Síntesis

Las nanoestrellas de oro fueron sintetizadas por el método de sembrado y crecimiento utilizando polivinilpirrolidona (PVP, peso molecular = 10,000) y N,N - dimetilformamida (DMF) (Guerrero-Martínez *et al.*, 2011) con modificaciones menores:

1. 50 μ l a 166 mM de solución acuosa de HAuCl_4 fueron mezclados con 15 ml a 20 mM de solución de PVP en DMF a 25 $^{\circ}\text{C}$.
2. 5 min más tarde, se dispersaron 10 μ l a 6.5 mM de semillas preformadas (15 nm nanoesferas cubiertas con PVP en etanol) y se dejó reaccionar 12 h sin agitar.
3. Después de la reacción, las nanopartículas de oro se recuperaron centrifugándolas a 9500 rpm durante 20 min.
4. Las nanopartículas de oro se lavaron en agua dispersándolas y centrifugándolas cinco veces.

Caracterización

El espectro de absorción de las nanopartículas de oro (ver Figura 23) muestra dos bandas de plasmón superficial a 560 nm y a 796 nm respectivamente. El primero corresponde a la resonancia de plasmón superficial localizada (LSPR) de núcleo electrónico, mientras que el segundo está asociado a resonancia plasmónica de superficie localizada de electrones de punta. En cuanto a su tamaño, las nanoestrellas de oro presentaron un núcleo de 40 nm con múltiples puntas, con longitudes en torno a 25 nm (Figura 24).

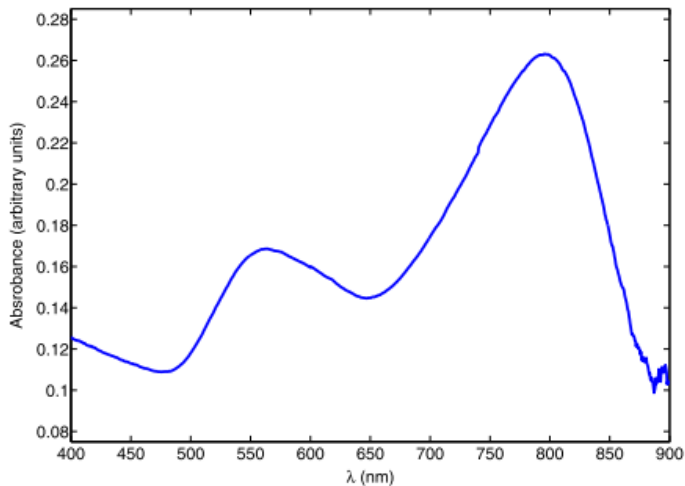


Figura 23: Espectro de absorción obtenido mediante espectrofotometría de las nanoestrellas de oro

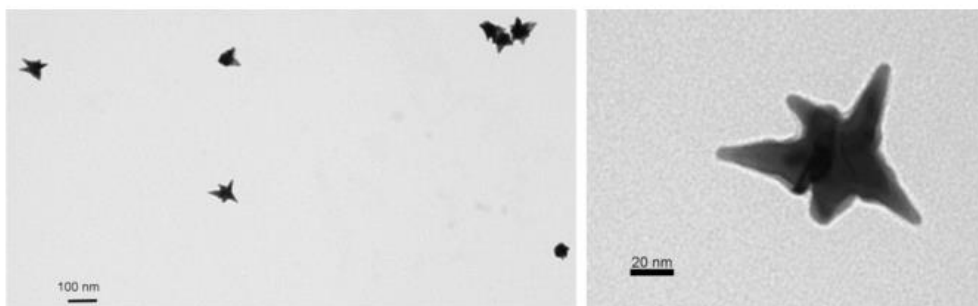


Figura 24: Imágenes TEM de las síntesis de nanoestrellas a dos escalas diferentes

Calor inducido por el láser

Los experimentos con las nanoestrellas de oro fueron realizados con la misma configuración del equipo láser que se utilizó con los nanobastones. En este caso se llenaron los pocillos con 250 μ l de la suspensión de nanoestrellas con una concentración igual a 188 μ g/ml. El aire dentro de la cámara termostática fue forzado a 37 $^{\circ}$ C. Las medidas de temperatura a las diferentes potencias láser fueron realizadas mediante un sensor de fibra óptica.

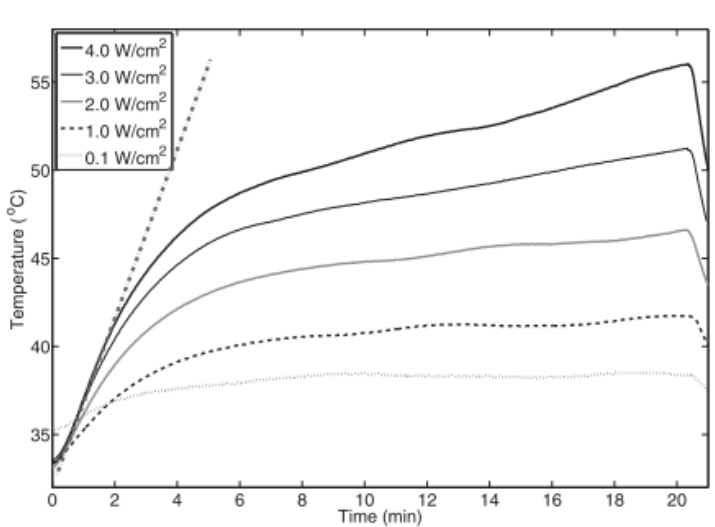


Figura 25: Temperatura media en función del tiempo tras la exposición a diferentes densidades de potencia láser. La línea recta indica la máxima pendiente registrada por el perfil térmico a 4 W/cm²

4.1.3 Estudio comparativo del rendimiento térmico de las NPs-Au

SAR vs densidad de potencia radiada

Con el fin de tener una visión más completa del rendimiento del equipo desarrollado, el SAR proporcionado por el nanofluido se ha evaluado en función de la densidad de potencia radiada (el método de obtención se describe anteriormente en el apartado 3.4.1. del estado del arte). La Figura 26 muestra que la relación entre el SAR y la densidad de potencia radiada es bastante lineal. Gracias a esto el usuario podría controlar de forma sencilla el calor proporcionado en la terapia por las NPs-Au, simplemente cambiando la densidad de potencia seleccionada.

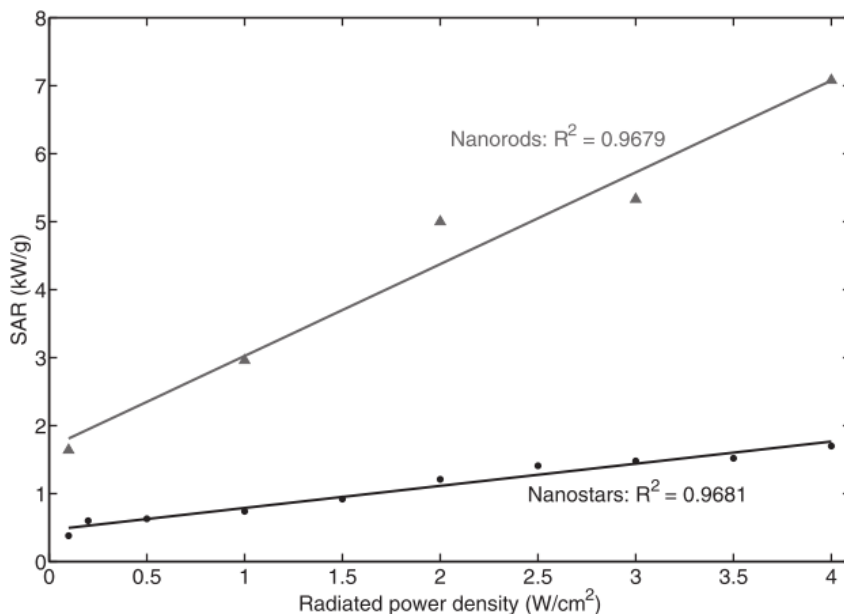


Figura 26: SAR estimado en relación con la densidad de potencia radiada. Se adjuntan dos rectas de ajuste cuadrático una realizada para los nanobastones y otra para las nanoestrellas

4.2. Estudio de sistemas de liberación controlada

4.2.1. Descripción del material híbrido de fotoliberación

En este apartado se muestran los experimentos de liberación controlada empleando nanoestrellas de oro recubiertas con una capa mesoporosa (AuNS@mSiO₂). Con la finalidad de probar las posibilidades de fotoliberación del equipo, se cargó en material mesoporoso con un colorante y se tapó el poro utilizando parafina. La parafina se comporta como una puerta molecular, que permanece cerrada en condiciones normales.

En cambio cuando la parafina alcanza la temperatura de fusión, se desprende liberando las porosidades. Aprovechando la resonancia de plasmón superficial de las NPs-Au, cuando son excitadas por el láser, se produce un calentamiento local que hace se funda la parafina, liberándose de forma controlada la sustancia albergada. En la Figura 27 se puede apreciar dicha composición, en la que se encuentra el núcleo de oro en el interior y la estructura mesoporosa recubriéndola.

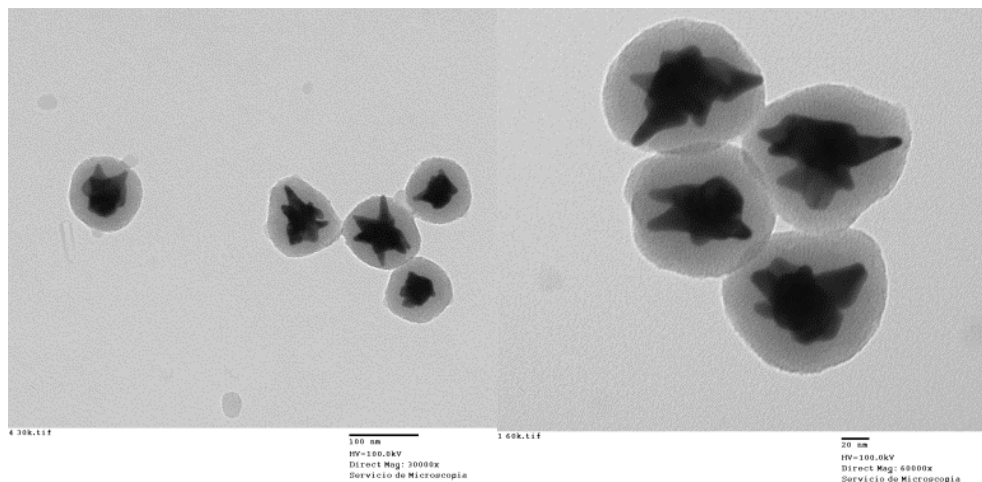


Figura 27: Detalle de la morfología y tamaño de las NPs AuNS@mSiO₂

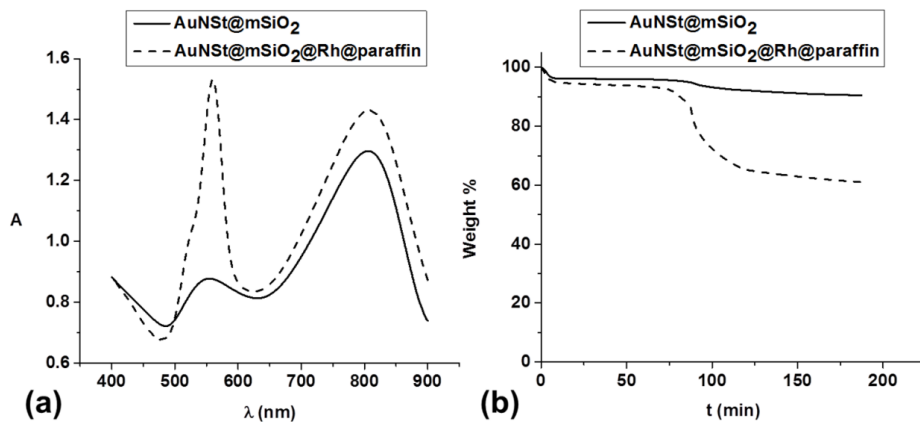


Figura 28: Espectros de extinción óptica (a) y rastros TGA (b) de NPs de AuNS@mSiO₂ y AuNS@mSiO₂@Rh@parafina

4.2.2 Síntesis y caracterización

El procedimiento de síntesis de las AuNS@mSiO₂ recubiertas de parafina requiere cuatro pasos:

1. *Síntesis de nanoestrellas de oro (AuNSt)*. El proceso de síntesis de las nanoestrellas es el mismo que se describió en el apartado 4.1.2. de la sección experimental anterior. La concentración de oro del coloide fue determinada a partir del espectro de absorción a 400 nm. Por otro lado la concentración de nanoestrellas de oro fue calculada usando el número de átomos por partícula. Este número puede ser estimado asumiendo que las nanoestrellas tiene una forma casi esférica, como se puede apreciar en el volumen extraído por imagen TEM (ver Figura 27).
2. *Proceso de revestimiento de sílice mesoporosa de nanoestrellas de oro (AuNSt@mSiO₂)*. Una solución acuosa de 50 ml a 6.6 mM de CTAB fue mezclada con 20 ml de etanol a 25 °C en un matraz redondo de 250 ml agitado magnéticamente a 800 rpm. Una vez la solución se hizo transparente y libre de burbujas, se añadió 60 µl de solución acuosa de amonio al 32%. Seguidamente, 1.5 ml de una dispersión de AuNSt (c(Au) = 5 mM) fue vertida en la solución sintetizada. Después de 5 min, un volumen predeterminado de TEOS (20-30 µl) fue añadido gota a gota. La cantidad de TEOS fue variada en dicha mezcla hasta obtener el tamaño deseado de las nanopartículas.
3. *Eliminación de surfactante de los poros*. Después de 24 horas las nanopartículas se recuperaron tras ser centrifugadas (10 min, 9500 rpm) y se limpiaron dos veces con etanol. Finalmente los restos de CTAB se limpiaron mediante un proceso de extracción empleando una solución de 50 ml NH₄NO₃ en etanol (6 mg/ml). La mezcla se agitó durante 8 horas y las partículas se recuperaron tras ser centrifugadas. Este proceso de extracción se repitió tres veces con el fin de lograr eliminar la mayor cantidad de CTAB de los canales mesoporosos.
4. *Carga de colorante y funcionalización de la superficie externa con la parafina*. La carga de la rodamina b (Rh) dentro de las nanopartículas AuNSt@mSiO₂ se llevó acabo utilizando parafina como puerta molecular. Para su síntesis se el siguió procedimiento descrito por Aznar et al (Aznar et al. 2011). Para ello se dispersaron 2 mg de nanopartículas AuNSt@mSiO₂ en 1 ml de acetonitrilo. Posteriormente, se añadieron 100 µl de solución Rh en acetonitrilo (1 mg/ml) y 5 µl de octadecilmtrimetoxisilano. La mezcla se agitó durante 12 horas a 25°C. Las nanopartículas se recuperaron tras ser centrifugadas y se secaron al vacío. A continuación, se dispersaron nanopartículas cargadas con rodamina en 5 ml de n-hexano y se añadieron 100 µl de solución de heneicosano en n-hexano (5 mg/ml). La mezcla se agitó durante 30 min y las nanopartículas se recuperaron por centrifugación y se secaron al vacío. La fracción total de materiales orgánicos se

estimó mediante mediciones de TGA. La cantidad de Rh cargado se determinó por espectrofotometría dispersando 1 mg de nanopartículas de AuNSt@mSiO₂@Rh@parafina en 1.5 ml de etanol. A continuación, se agitó la suspensión de nanopartículas a 60 °C durante 12 h, con el fin de extraer y transferir Rh al etanol. Finalmente, después de ser centrifugadas las nanopartículas, se utilizó la absorbancia a 545 nm del sobrenadante diluido para determinar la cantidad de Rh empleando una curva de calibración predeterminada.

4.2.3 Experimento de fotoliberación

Método

Antes de que se realizara el experimento de foto-liberación del fármaco, se dispersaron nanopartículas de parafina AuNSt@mSiO₂@Rh@ en 5 ml de solución acuosa SDS (1 mM) y se lavaron varias veces con agua centrifugándolas y volviéndolas a dispersar. Los experimentos de liberación se realizaron con el equipo láser NIR descrito anteriormente (Montes-Robles *et al.*, 2017) colocando el láser a una distancia de 1 cm por encima de la superficie del líquido. Se llenó un pocillo en la placa de 96 pocillos con 250 μ l de suspensión de nanopartículas a una concentración de 100 μ g/ml. De este modo se irradió el 30% del volumen total de la muestra a una densidad de potencia predeterminada (0.2 y 2 W/cm²). Además, se utilizó otro pocillo más en el que se añadió el mismo volumen con la misma suspensión a modo de control. Con el ánimo de obtener unas condiciones de temperatura más parecidas a la del cuerpo humano, la cámara termostática se ajustó a la temperatura de 37 °C. Tras cada intervalo de irradiación NIR, las muestras se centrifugaron (3 min, 9500 rpm) y la carga liberada del sobrenadante se determinó mediante la medición de la emisión de fluorescencia de la rodamina b a 573 nm (longitud de onda de excitación $\lambda_{exc} = 555$ nm). Los cambios de temperatura de control y las muestras irradiadas se monitorizaron utilizando el sensor de fibra óptica descrito en el apartado 4.1.2. Los espectros de extinción óptica de la suspensión de nanopartículas y sobrenadantes, tanto para la muestra de control como la muestra irradiada, se registraron después de los experimentos de foto-liberación.

Resultados de fotoliberación

La suspensión acuosa de nanopartículas de AuNSt@mSiO₂@Rh@parafina se irradió con láser NIR (808 nm) descrito anteriormente. La liberación acumulativa de Rodamina B se determinó usando espectroscopia de fluorescencia. Este sistema híbrido mostró un perfil de fotoliberación bien definido (Figura 29a). Alrededor del 40% del colorante liberado se obtuvo en los primeros 20 minutos, tras la irradiación de luz láser, a una densidad de potencia de 2 W/cm². Mientras que la muestra de control presentó una liberación insignificante. Ambos resultados pueden correlacionarse con el perfil de calentamiento inducido por luz NIR de la suspensión de nanopartículas (Figura 29b). La variación de la temperatura de la suspensión de nanopartículas bajo irradiación NIR fue 20 °C más alta que la temperatura de suspensión de nanopartículas de la muestra de control. Un aumento de la temperatura por encima del punto de fusión de parafina ($T_m =$

39 °C) provocó el desenclavamiento de la parafina de los poros, produciendo la liberación del colorante. Además, la cantidad de Rodamina B en la suspensión de nanopartículas de la muestra irradiada, fue menor que la de la muestra de control (Figura 29c), mientras que la cantidad liberada total de colorante en los sobrenadantes fue mayor en la muestra irradiada después de los experimentos de foto-liberación (Figura 29d).

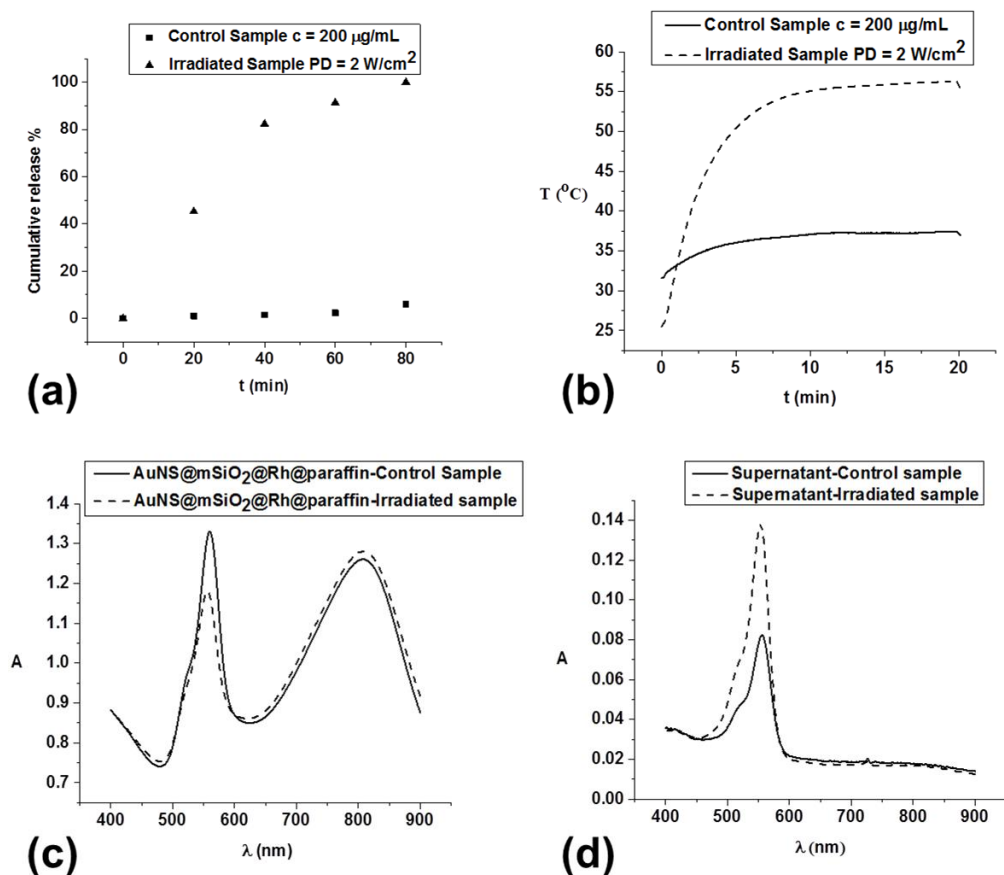


Figura 29: La liberación acumulada de Rh de suspensiones acuosas de AuNS@mSiO₂@Rh@parafina bajo irradiación con luz NIR y control (a). Calentamiento inducido por luz NIR de suspensiones de nanopartículas y control (b). Espectros de extinción óptica de suspensiones de nanopartículas y control (c). Sobrenadantes después de experimentos de fotoliberación de fármacos y control (d).

5 Discusión

En este capítulo se ha descrito un dispositivo destinado a experimentos aplicados a la hipertermia óptica y la fotoliberación de fármacos. El sistema diseñado ha sido

concebido para alcanzar principalmente dos objetivos: un bajo coste de producción y una configuración versátil. Las especificaciones de bajo coste se han logrado evitando sistemas superfluos que puedan encarecer el producto final. En cuanto a su versatilidad, el equipo a través de interfaz de usuario permite la configuración de los principales parámetros, como la potencia de salida, el tipo de emisión láser (continua o pulsada) o la zona a irradiar. Así mismo la zona irradiada puede ser supervisada gracias a la inclusión de un sistema óptico de lupa electrónica. Por último la integración de los elementos en la cámara termostática de policarbonato permite controlar la posición de todos los elementos así como la temperatura ambiente del habitáculo.

Los primeros ensayos realizados, han sido enfocados para la validación del equipo demostrando que la energía lumínica producida por el láser NIR, es capaz de excitar una suspensión de Au-NPs sin calentar directamente el disolvente (agua destilada). Para ello, una suspensión de nanobastones de oro, se irradió con el equipo láser alcanzando una temperatura de 64.6 °C, partiendo de una temperatura ambiente de 23 °C (ver Figura 22). Este incremento de temperatura contrastó con los 25.6 °C alcanzados cuando el equipo en las mismas condiciones irradió solo el disolvente. Un experimento similar, con la misma densidad de potencia radiada (4 W/cm²) se realizó con nanoestrellas de oro, partiendo en este caso de una temperatura ambiente similar al del cuerpo humano (37 °C). En este caso, la solución alcanzó 50,6 °C después de 10 minutos de exposición a la radiación láser (ver Figura 25).

Otro de los parámetros relevantes que se ha extraído de los resultados experimentales es el SAR. Esta magnitud es típicamente usada para evaluar el rendimiento calorífico en los tratamientos de hipertermia. El prototipo evaluado ha alcanzado valores SAR en el rango de 1.7 kW/g en el caso de las nanoestrellas de oro (ver Figura 26), siendo un valor suficientemente alto para la hipertermia óptica (Lee *et al.*, 2011). En el caso de los nanobastones se obtuvieron valores de SAR mucho más altos (entre 2 y 7 kW/g). Además, en ambos casos el SAR mantiene una relación lineal con la densidad de potencia seleccionada por el usuario. Este hecho es importante ya que implica una facilidad de regulación.

El siguiente experimento se realizó para demostrar las posibilidades de fotoliberación de fármacos. Controlando la intensidad lumínica NIR inducida y/o utilizando diferentes concentraciones en la muestra, se puede modular la liberación de la sustancia. El calentamiento (ΔT) de las suspensiones de nanopartículas a los 20 minutos de la irradiación con láser NIR disminuyó con las concentraciones de nanopartículas más bajas (30 °C para 200 µg/ml y 23 °C para 100 µg/ml) y con menores densidades de potencia láser (30 °C a 2 W/cm² y 8 °C a 0,2 W/cm²). La velocidad de calentamiento en el intervalo de tiempo inicial de la irradiación con láser NIR (1-10 s) también disminuyó al reducirse la concentración de nanopartículas y la densidad de potencia del láser. Esta magnitud está positivamente correlacionada con la capacidad de calentamiento SAR que puede calcularse conociendo la capacidad calorífica específica de la muestra y la cantidad de nanopartículas (Abadeer and Murphy, 2016).

Como mejora del equipo se podría integrar en el microcontrolador la funcionalidad de supervisar las condiciones ambientales del experimento, y la posibilidad de conectarlos a una computadora externa. Esto permitiría realizar un control mucho más complejo en el que se podrían incluir funciones de control automático de la densidad de potencia radiada o el control de la temperatura en bucle cerrado utilizando cámaras termográficas (O'Neal *et al.*, 2004).

En el campo de la hipertermia óptica la bibliografía recoge mucha diversidad de equipos, muestra de ello se describen tres ejemplos:

- En una de las publicaciones (O'Neal *et al.*, 2004) se ha utilizado un láser NIR de 808 nm de diodo láser con una potencia máxima de 800 mW de la firma Power Technologies. El sistema se complementa con una sonda de fibra óptica de 600 μm y una lente colimadora que le permite una potencia máxima de 4 W/cm^2 . Entre sus características destaca una gran estabilidad de potencia, en torno al 1% y una frecuencia de modulación de pulso de 1 hasta 30 kHz.
- Otra de las publicaciones (Gormley *et al.*, 2011) utiliza un láser de la firma Oclaro con un diodo láser de 808 nm y una potencia de 6 W. Este láser se hace pasar por una lente colimadora, consiguiendo un spot de 7 mm de diámetro con una potencia de 1.8 W/cm^2 .
- El láser TI: Zafiro también se ha utilizado en varias publicaciones (Huang *et al.*, 2008; Manuchehrabadi *et al.*, 2013). Este tipo de láser permite ser sintonizado a una longitud de onda en el rango infrarrojo. En concreto se ha utilizado un láser de la firma Spectra Physics. Entre sus características de destaca el spot de 7 mm que permite una potencia de 1.6 W/cm^2 .

Realizando un estudio comparativo de los equipos mencionados con respecto al desarrollado en este capítulo se puede comprobar que en los comerciales suelen estar sobredimensionados, encareciéndose el producto final. Entre otras, se ha podido comprobar que las sondas de fibra óptica no son estrictamente necesarias. La solución adoptada en este trabajo presenta un diodo láser que se encuentra directamente sobre la muestra, trasladando la corriente de excitación hasta el cabezal mediante un simple cableado. La etapa de control del láser se ha ajustado a las características del láser utilizado. Dicha adaptación permite un precio mucho más ajustado, obteniéndose un producto funcional de coste mucho más reducido que los más de 1000€ que cuesta el equipo láser ofrecido por Power Technologies. En cuanto a la potencia láser se ha podido comprobar que los 500 mW utilizados resultan más que suficiente para la aplicación en cuestión. Esta potencia contrasta con los 6 W utilizados de la publicación (Gormley *et al.*, 2011). Los diodos láser solo pueden trabajar a una longitud de onda determinada. En este caso el láser de TI: Zafiro permite ajustarse al pico de la LSPR de la NPs-Au. No obstante se ha podido comprobar en las distintas experiencias que las NPs-Au pueden ser fácilmente sintonizables, adaptándose adecuadamente a la longitud de onda del láser.

De no ser así, debido a que la NP tenga una LSPR muy alejada, una solución podría ser utilizar cabezales ajustados a la longitud de onda requerida.

Capítulo 3

Equipo de Hipertermia Electromagnética

1. Introducción

El reducido tamaño que presentan las NPMs y la buena capacidad de suspensión en disolventes acuosos, permiten que estas sean fácilmente distribuidas en el interior del tumor, alcanzando zonas estratégicas (ver Capítulo 5). Al ser excitadas con un campo magnético alterno (CMA) adecuado, liberan energía en forma de calor, pudiéndose utilizar para incrementar la temperatura dentro de los tejidos tumorales. En todo caso, para alcanzar la temperatura de hipertermia, se necesita un elevado rendimiento térmico. Entre los distintos factores que influyen en su rendimiento térmico, destacan las características morfológicas. Para verificar dicho rendimiento, las NPMs sintetizadas deben ser excitadas con una intensidad de campo electromagnético y frecuencia adecuados (Oliver and Cobos, 2015).

Los equipos comerciales empleados para la excitación de NPMs suelen estar derivados de otro tipo de aplicaciones, como puede ser el templado o la soldadura de metales (Khot *et al.*, 2013). También existen equipos expresamente diseñados para esta aplicación, ofreciendo accesorios adaptados para la medición de muestras y el desarrollo de experimentos *in vitro*, como por ejemplo el equipo magnetherm (nanoTherics), el DM100 (nB NanoScale Biomanetics) o el MFG-1000 (Hebe AB) (Ortega and Pankhurst, 2014). No obstante, dichas soluciones suelen resultar extremadamente caras, lo que

resulta inaccesible para muchos de los laboratorios de investigación con un escaso presupuesto. Por otro lado, estos equipos suelen estar sobredimensionados, ofreciendo una intensidad de campo mucho más elevada de la que se utilizaría en terapia.

En el presente capítulo, se detalla una solución completa de un equipo para ensayos de hipertermia y liberación controlada *in vitro* y *ex vivo*. Para ello, en primer lugar, se ha realizado un estudio de las limitaciones biológicas al campo electromagnético, que sirven como referencia para establecer las especificaciones máximas del equipo. A continuación, el capítulo se centra en una descripción y desarrollo del equipo, fundamentando dicha solución en un estudio teórico previo, justificando la función de cada uno de los componentes utilizados. Finalmente, para su validación se han realizado dos baterías de experimentos: la primera está relacionada con pruebas de estrés y análisis térmico del equipo en funcionamiento, la segunda batería de experimentos está diseñada para verificar el comportamiento del equipo en experimentos reales con NPMs a varias concentraciones.

Aunque la base del discurso del presente capítulo está centrada en un desarrollo de un equipo para experimentos *in vitro*, se ha querido ir más allá. Es por ello que también se plantea la posibilidad de escalar el equipo para conseguir un dispositivo apto para el tratamiento con pacientes humanos. Este estudio refleja los diferentes problemas que se plantean en su aplicación práctica, mostrando las posibles estrategias y soluciones.

1.1. Limitaciones biológicas

Cuando un material conductor se ve sometido al movimiento relativo de un CMA, causa una circulación de electrones llamadas corrientes de Foucault. Dicha corrientes producen una serie de pérdidas de energía que se transforman en calor por el efecto Joule. Este efecto también tiene lugar en los tejidos expuestos al campo. Por ello, cuando un paciente se expone a un CMA es conveniente adoptar una serie de precauciones. Un criterio relacionado con esta limitación, consiste en garantizar que el producto intensidad de campo (H) por frecuencia (f) no supere el límite establecido $C = 5 \times 10^9 A m^{-1} s^{-1}$ (Hergt and Dutz, 2007) (ver Figura 30):

$$H \cdot f < C \quad (28)$$

En multitud de publicaciones se trabaja con CMA inapropiados, superando las intensidades de campo y frecuencias admitidas por los tejidos (Khot *et al.*, 2013; Martinez-Boubeta *et al.*, 2013). Una vez superadas estas limitaciones, el CMA deja de ser despreciable produciendo efectos que deben tenerse en cuenta. Este límite también depende de la geometría de la bobina con respecto al cuerpo, un factor que no fue explícitamente tenido en cuenta y por lo tanto puede ser excesivo, como se refleja en el ensayo clínico realizado en fase I por el equipo de Johannsen, en donde del CMA se

limita a 100 kHz y 5 kA/m, debido a las sensaciones manifestadas por los pacientes (Johannsen *et al.*, 2005). Estudios posteriores demostraron que las amplitudes máximas toleradas dependen de la zona de aplicación, siendo de 3-5 kA/m para la zona de la pelvis, hasta 8.5 kA/m para el tórax y entre 3.8-13.5 kA/m para la cabeza. Tomando como referencia estos resultados, se estipula que el producto amplitud-frecuencia no debe sobrepasar los $1.35 \times 10^9 \text{ A m}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (Kashevsky *et al.*, 2014).

Por otro lado, de la ecuación (15) se puede extraer que la potencia calorífica es directamente proporcional a la amplitud del campo y a la frecuencia. No obstante, no debe superarse la amplitud de campo magnético de $5 \times 10^9 \text{ A m}^{-1} \text{ s}^{-1}$, siendo este el límite para la aplicación del CMA de forma segura, cuando se aplica en pacientes humanos (Hergt and Dutz, 2007). Como se puede apreciar en la Figura 30, el *Factor HF* indica la relación de la intensidad del CMA admisible en dependencia de la frecuencia aplicada.

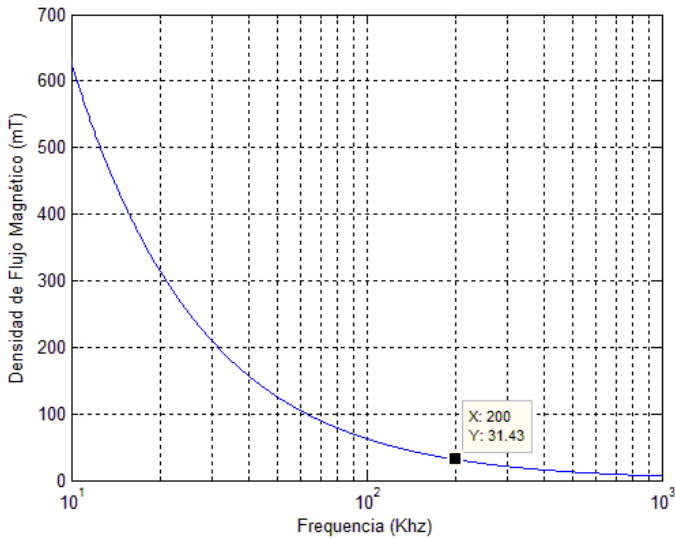


Figura 30. Factor HF; Representa la máxima densidad de campo magnético tolerable por el cuerpo humano en relación a la frecuencia del campo magnético alterno.

1.2. Limitaciones constructivas

El aplicador es otro de los elementos esenciales en la fase experimental y en los ensayos clínicos. A través del inductor se genera el CMA, capaz de excitar las NPMs. Para conseguir una adecuada excitación es necesario que por este circule una corriente alterna, de unas determinadas características. No obstante, no es admisible cualquier intensidad de campo y/o frecuencia. Por un lado el campo debe adaptarse a las propiedades físicas de las NPMs, y por otro debe de ceñirse a unas limitaciones biológicas y constructivas.

En cuanto a las limitaciones constructivas, el diseño del inductor juega un papel muy importante, por ello también se ha realizado un estudio comparativo entre varias topologías, destacando los pros y contras de cada una de ellas.

Alcanzar las intensidades de campo propuestas en el apartado anterior, no resulta muy complejo para un equipo destinado a ensayos *in vitro*. Sin embargo, el campo electromagnético se dispersa rápidamente cuando el inductor toma una mayor dimensión. Por esta razón el diseño del aplicador se complica sustancialmente ya que para que el campo sea capaz de alcanzar cualquier parte de un paciente humano, se necesitan unas dimensiones mínimas, muchísimo más grandes que las utilizadas en las pruebas *in vitro* (Ortega and Pankhurst, 2014). Precisamente por ello, debido a dicha dispersión, el equipo debe suministrar corrientes eléctricas más elevadas, para alcanzar la misma intensidad de campo. En cuanto a la corriente (I) soportada por un conductor, existe una relación directa entre su área transversal (S) y su densidad de corriente (J). Esta relación queda descrita por la ecuación (29).

$$I = \int_S J \cdot dS \quad (29)$$

Sin embargo, esta ecuación no es válida cuando se trabaja a una frecuencia que presenta una profundidad de penetración superior a la del radio del conductor. En esta aplicación la frecuencia de trabajo depende de los fenómenos de relajación de las NPMs, descritos anteriormente (ver apartado 3.3.2. del estado del arte). Según lo aportado, el rango de frecuencias al que responden, suele estar comprendido entre 100 a 1000 kHz. En este rango el efecto pelicular (Skin) comienza a resultar considerable y la corriente tiende a circular por la parte más superficial del conductor (Sullivan, 1999). De esta forma se reduce drásticamente la sección útil del conductor, lo que implica un aumento de su resistencia.

El efecto Skin queda descrito según la ecuación (30), en donde la profundidad de penetración (δ) disminuye al aumentar la frecuencia. En este caso, δ indica el espesor del cable por el que circulará la corriente, a la frecuencia de trabajo (f_s). Considerando un conductor con una sección transversal circular, si δ es inferior al radio del mismo, se produciría una pérdida de la sección útil del conductor, lo que contribuiría a un incremento de la resistencia. Tomando en cuenta el rango de frecuencias citado anteriormente, el resultado de la profundidad de penetración estaría comprendido entre 209 a 66 μm .

$$\delta = \sqrt{\frac{\rho_{cu}}{\pi \cdot f_s \cdot \mu_0}} \quad (30)$$

donde ρ_{cu} es la resistividad del cobre a temperatura ambiente y μ_0 es la permeabilidad en el vacío.

Para resolver este problema se dispone de varias opciones:

- *Hilo de Litz.* Una alternativa consiste en utilizar un conductor multifilar con hebras aisladas entre sí, con un radio de sección inferior a δ (Sullivan, Zhang and Sci, 2014). Existen varias características a tener en cuenta cuando se diseña un cable de Litz. En primer lugar, el radio del área transversal del hilo debe ser inferior a la profundidad de penetración. A continuación se debe seleccionar el número de hebras dependiendo del área transversal útil necesaria. El tipo de acabado del cable también es un factor importante, muchos de los fabricantes proporcionan acabados trenzados o enrollados, para evitar el efecto de proximidad. Por último, existe una gran variedad de tipos de aislantes, de entre los cuales se ha de seleccionar el más adecuado. Entre sus especificaciones se puede seleccionar la temperatura máxima de trabajo, el tipo de aislamiento frente a la tensión u otros agentes externos. Para resolver la complejidad de selección del cable, los fabricantes proporcionan en sus catálogos ecuaciones empíricas de cálculos para su diseño y adjuntan tablas ordenadas por frecuencias donde adjuntan los diámetros de los conductores en número de hebras y la resistencia por distancia, entre otros.

Además de la profundidad de penetración, también se debe considerar el efecto de proximidad. Este efecto es causado debido a la interacción electromagnética entre un cable y otro. Para solucionar este problema, el hilo de Litz suele venderse con un trenzado que lo contrarresta (Petkov, 1996).

- *Un solo conductor.* Otra opción consistiría es aumentar la sección del conductor hasta llegar a obtener una sección útil aceptable.
- *Conductor tubular.* La tercera de las opciones es utilizar un inductor tubular. Este presenta una ventaja con respecto al inductor simple y es que al estar hueco el conductor presenta dos superficies, la exterior y la interior. Gracias a esto la profundidad de penetración se puede considerar 2δ (Garaio *et al.*, 2014; Oliver and Cobos, 2015)

En cuanto a la capacidad de refrigeración, las dos primeras alternativas podrían resultar inviables debido a la escasa posibilidad de disipación térmica. Las pérdidas por el efecto Joule acabarían produciendo un calentamiento del conductor que desencadenaría una pérdida de rendimiento. Consecuentemente, la resistencia del material aumentaría (ver ecuación (31), lo que supondría la necesidad de aumentar la tensión de excitación en el caso de que se quiera mantener la misma corriente. Por otro lado, el aumento de calor podría afectar al aislamiento de las hebras en el caso del hilo de Litz. Por último si este calor se deriva al aplicador, podría provocar un aumento de la temperatura en la muestra

simplemente por radiación y/o convección térmica. Para solucionar este problema la tercera de las opciones es la más aceptada. Esta opción permite una refrigeración líquida por el interior del conductor que podría ser capaz de refrigerar el exceso de calor producido, manteniendo el aplicador a una temperatura segura.

$$\rho_{cu} = 1.724 \cdot [1 + 0.0042 \cdot (T - 20) \cdot 10^{-8}] \quad (31)$$

Para completar la configuración del inductor, además de los parámetros citados, también es necesario determinar el número de vueltas (N) y longitud del inductor (l_{Ind}). A modo de ejemplo, la ley de Biot-Savart descrita en la ecuación (32) resuelve el caso particular de un inductor con forma de solenoide. Como se puede apreciar, la inducción obtenida (B_{Coil}) es directamente proporcional al número de vueltas y la corriente (I_{Coil}) del inductor. En cambio el radio (r_{Ind}) y la longitud se comportan de forma inversamente proporcional. Para el diseño es conveniente seleccionar adecuadamente la sección del conductor y N , teniendo en cuenta que el incremento de longitud del cable produce un aumento de la resistencia y su correspondiente empeoramiento del factor de calidad Q .

$$B_{Coil} = \frac{I_{Coil} \cdot \mu_0 \cdot N}{2 \cdot \sqrt{r_{Ind}^2 + \left(\frac{l_{Ind}}{2}\right)^2}} \quad (32)$$

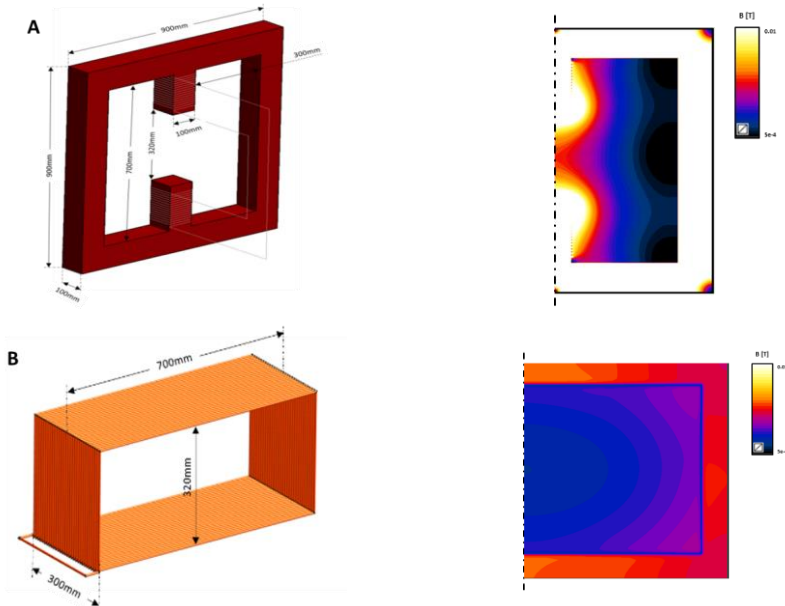
1.2.1. Estudio de distintas configuraciones de inductores

Es posible que el inductor tome una forma distinta a la propuesta en la Ecuación (32), o que la zona a aplicar se encuentre en un punto distinto al que resuelve dicha ecuación. Para obtener un resultado más aproximado de la distribución del campo, se puede utilizar una simulación por elementos finitos (FEM) que resuelva espacialmente dicho problema. Este tipo de simuladores aplican una solución discreta de las ecuaciones de Maxwell.

Debido a la importancia que tiene el inductor en el resto del diseño del equipo, se ha realizado un estudio mediante una herramienta FEM (Sim4Life ZMT, Zurich, Switzerland) de distintas morfologías (ver Figura 31 izquierda). Dichos inductores permiten una apertura mínima de 700 x 320 mm (espacio mínimo para albergar un paciente humano), un inductor con 30 vueltas y una separación entre espiras de 10 mm. Este inductor se ha simulado haciendo pasar una corriente virtual alterna a través de sus espiras de 100 kHz y 100 A. Los resultados gráficos de las simulaciones se muestran en la Figura 31 derecha. Como se puede apreciar, el inductor A (Gneveckow *et al.*, 2004) es el que más focalizado tiene su campo. Esta focalización se debe al material ferromagnético, que es capaz de guiar el campo a través de él (ver Figura 32). Sin

embargo esta configuración presenta varios inconvenientes. En primer lugar, el material ferromagnético no permite trabajar a cualquier frecuencia, ya que este se comporta como un filtro en frecuencia fuera de su rango de diseño. En segundo lugar, los materiales ferromagnéticos son susceptibles a la saturación magnética, no admitiendo una inducción mayor que la de saturación. A esto se le puede sumar el elevado precio ya que se trata de un material ferromagnético de gran volumen y debe fabricarse bajo demanda. En cuanto a los inductores B y C, el campo se distribuye de forma más uniforme en su interior, lo que permite que este sea capaz de alcanzar, sin desplazamiento alguno del paciente, cualquier parte en su interior. Por último, la distribución del campo del inductor D se concentra muy próxima al centro de inductor, lo que permitiría focalizar el campo en distintas zonas, si se moviera el aplicador.

La Figura 32 muestra en un gráfico que relaciona la sección transversal del inductor con la inducción registrada en simulación. Este gráfico confirma que el inductor A es el que mayor intensidad de campo ofrece, siendo muy superior a las intensidades obtenidas por los demás inductores. Además, también se puede apreciar la uniformidad de los campos inducidos por B y C y que la intensidad de campo registrada en mucho menor que en A. Por último, el modelo D es el que menor profundidad de penetración alcanzaría. Este podría ser utilizado por ejemplo en aquellos tumores más superficiales.



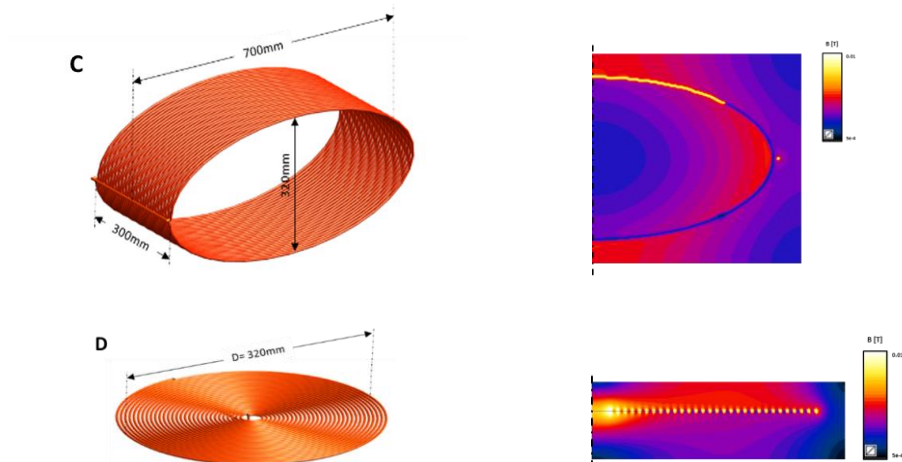


Figura 31. Vista 3D de distintos inductores estudiados. Todos ellos tienen 30 espiras separadas por 10 mm(izquierda). (A) Inductor con núcleo ferromagnético; (B) Inductor helicoidal de base rectangular; (C) Inductor helicoidal de base Elipsoide; (D) Inductor en forma de espiral (D). Corte transversal del EMF producido por distintos tipos de inductores (derecha). (A) Inductor con núcleo ferromagnético; (B) Inductor helicoidal de base rectangular; (C) Inductor helicoidal de base elíptica; (D) Inductor en forma de espiral.

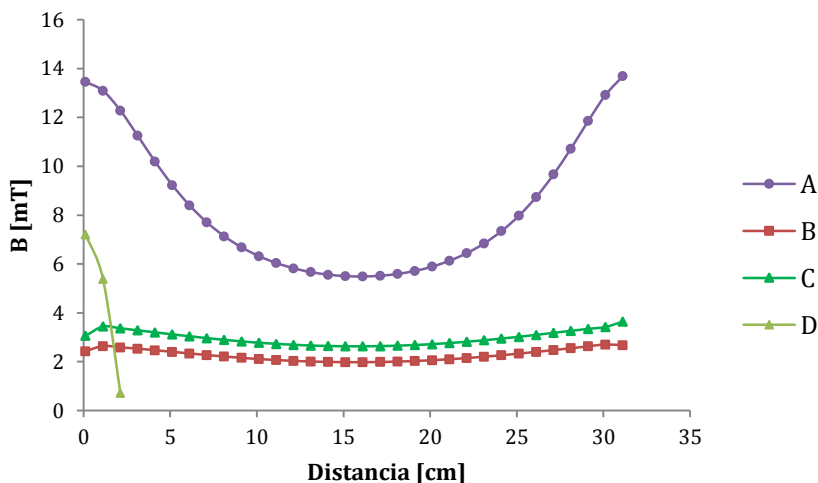


Figura 32: Comparación de la inducción electromagnética obtenida a lo largo de la apertura de 320mm de los distintos aplicadores estudiados.

2. Descripción del hardware del equipo

2.1. Especificaciones básicas

Un equipo de inducción consta principalmente de una etapa de RF y un aplicador que puede estar formado simplemente por un inductor o compuesto por un inductor más un núcleo ferromagnético. La etapa de RF es la encargada de generar la señal de corriente alterna de excitación que finalmente se transforma en un CMA al pasar por el inductor. Como ya se pudo comprobar en el apartado anterior, la forma del inductor es muy importante, repercutiendo en la distribución espacial e intensidad del campo. Por ello su forma se debe de adaptar a los experimentos que se quieren realizar, ajustándose al volumen de trabajo. En el apartado 1.2.1. del presente capítulo se han mostrado distintas topologías, todas ellas enfocadas a permitir en su interior un volumen equivalente al de un paciente humano. Sin embargo, este apartado se ha centrado en el diseño de un equipo de inducción para experimentos *in vitro*. Debido principalmente a la forma de las distintas probetas y recipientes, en este caso se ha seleccionado un inductor del tipo solenoide de 5 cm de diámetro interior.

En cuanto a la intensidad de campo máxima, se han tenido en cuenta las limitaciones biológicas expuestas anteriormente (ver apartado 1.1. del presente capítulo), ajustándose a una intensidad de campo de 12 kA/m, lo que equivale aproximadamente a 15 mT. Otro de los parámetros importantes en el diseño es la frecuencia del CMA. Para ello se ha elegido trabajar a 200 kHz (Cano *et al.*, 2011). Aunque teóricamente según Rosensweig, la potencia calorífica de las NPMs está linealmente relacionada con la frecuencia del campo (Kim *et al.*, 2009), trabajar a una frecuencia muy alta supone un encarecimiento de los componentes. Por este motivo se ha llegado a un compromiso, alcanzando una frecuencia lo suficientemente elevada para producir una excitación adecuada pero sin que suponga un encarecimiento de los componentes excesivo.

El trabajo que se muestra a continuación ha consistido en la caracterización y diseño del inductor, partiendo de las especificaciones citadas. A partir de estas especificaciones se han derivado las demás características de la etapa de RF. Todo el proceso de diseño e implementación se detalla de forma lógica en los siguientes apartados.

2.2. El circuito tanque

Los elementos de conmutación lineales, por el hecho de trabajar en zona óhmica, son capaces de proporcionar formas de onda suaves a frecuencias relativamente altas. Sin embargo, trabajando en dicha zona, las pérdidas son relativamente altas y la capacidad de disipar el calor excedente suele ser un problema, sobre todo cuando se trabaja con potencias muy elevadas. Debido a la corriente y potencia que se demanda en esta aplicación, resultaría inviable trabajar en dicha zona. En cambio trabajar en conmutación libera al interruptor de una gran carga, disipando potencia tan solo cuando se produce la

fase de conmutación. Teóricamente, si dicha conmutación se realiza en un estado en el que la tensión entre los terminales principales del interruptor (*ZVS*; *zero voltage switching*) o la corriente son nulos (*ZCS*; *zero current switching*), las pérdidas por disipación también lo son. Aunque este es un caso hipotético y nunca puede suceder, debido principalmente a la aparición de capacidades parásitas, sí que se pueden alcanzar niveles de disipación que permitan manejar potencias muy elevadas, lo que supone una estrategia muy interesante.

En conmutación, los interruptores trabajan coordinadamente ofreciendo una señal cuadrada a su salida. No obstante, este tipo de señal resulta inapropiado para esta aplicación, debido principalmente a dos motivos: el primero está relacionado con el tipo de onda ya que se demanda una corriente suave y sinusoidal; el segundo problema está relacionado con la impedancia que presenta el inductor de trabajo en frecuencia. A diferencia de una carga puramente resistiva, una carga inductiva introduce un desfase entre la corriente y la tensión. Esto provoca una merma del rendimiento en el inductor y consecuentemente en la inducción. El problema es que los elementos puramente resistivos no son susceptibles de proporcionar un campo electromagnético. En cambio, los elementos inductivos sí que lo permiten. Esto se debe a que los inductores presentan un comportamiento reactivo variando su impedancia en relación con la frecuencia. Para conseguir que a través de este circule una elevada corriente es necesario trabajar en resonancia, o lo que es lo mismo, asociar a la bobina una capacidad consiguiendo que el conjunto resuene a una determinada frecuencia. Este conjunto es el denominado *circuito tanque*.

El circuito tanque puede adoptar básicamente dos topologías, la serie y la paralelo. En el modo serie el condensador se encuentra en serie con la bobina y la resistencia (ver Figura 33 izquierda). La resistencia en realidad no es un elemento deseado, aparece de forma parásita a la bobina y al condensador y se representa como una resistencia equivalente. En el modo paralelo el condensador se encuentra en paralelo con la bobina y la resistencia (ver Figura 33 derecha). El circuito tanque serie se comporta como una fuente de corriente y debe de alimentarse por una fuente de tensión. Caso contrario ocurre en el circuito tanque paralelo, en donde se obtiene una fuente de tensión, alimentado por una fuente de corriente.

Entre ambas topologías el circuito resonante serie es la que mejor se adapta a esta aplicación. La máxima corriente se consigue cuando el desfase es nulo, compensando el efecto reactivo del inductor mediante una batería de condensadores. La frecuencia de resonancia se puede extraer de la ecuación (33). En el gráfico de la Figura 34 (superior) se puede apreciar como el módulo de la corriente se hace máximo a dicha frecuencia (Semiconductor, 2000). Por otro lado, cuando este circuito se encuentra trabajando en resonancia se comporta como un filtro pasabanda, dejando pasar la frecuencia fundamental y atenuando el resto. En cambio para frecuencias distintas a la de resonancia, el sistema se comporta de forma diferente. Este adquiere un comportamiento capacitivo cuando la corriente adelanta a la tensión, e inductivamente si ocurre al contrario (Esteve, 1999). Este comportamiento se puede apreciar en el diagrama de fase

(ver Figura 34 Inferior). Donde el sistema pasa de 90° a -90° dependiendo del desfase entre la corriente y la tensión.

$$\omega_s = \frac{1}{\sqrt{LC}} \text{ [rad/s]} \quad (33)$$

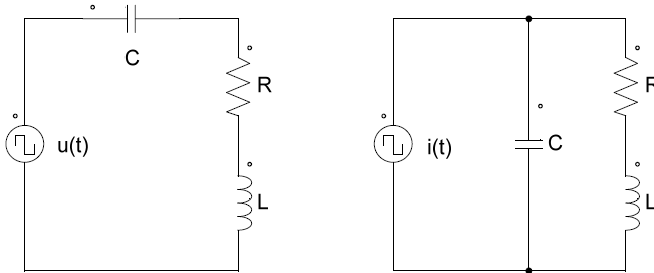


Figura 33. Circuito tanque serie (izquierda) y paralelo (derecha)

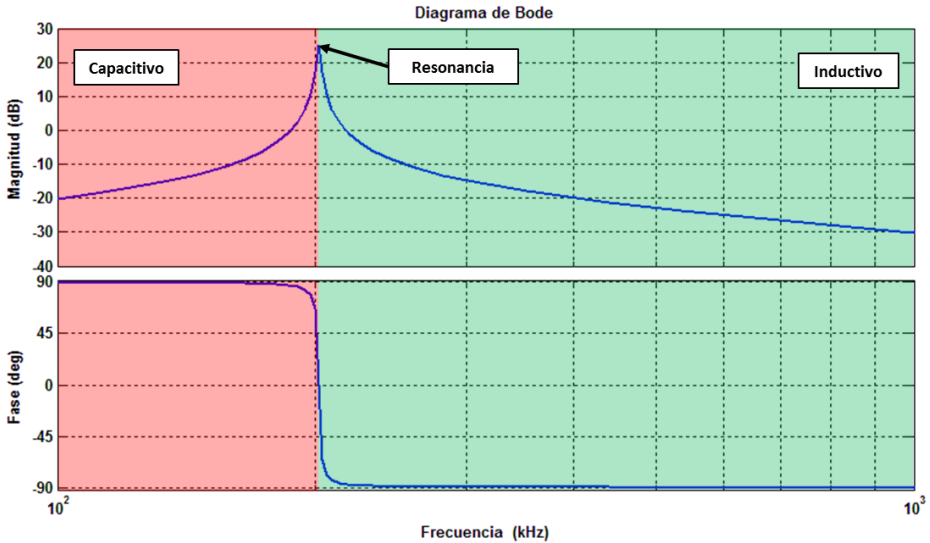


Figura 34. Diagrama de bode de la evolución de la corriente en magnitud (superior) y en fase (inferior)

El solenoide helicoidal sin núcleo ferromagnético es una de las morfologías más utilizada para el diseño del inductor de trabajo. Mediante la Ley de Biot-Savart se puede obtener una relación entre las dimensiones del inductor el campo, la intensidad y el número de vueltas. (ver ecuación (32)(Pathak, 2001):

En la Figura 35 se presenta un corte transversal de la distribución del campo. Los anillos de color cobre representan el conductor tubular por el que circula la corriente. La intensidad de campo está representada mediante una gradación de colores y con una escala asociada en dB con respecto a 36.9 mT. Como se puede apreciar el área de trabajo de dicha sección transversal, la intensidad de campo se mantiene constante, dispersándose rápidamente cuando se aleja de la misma.

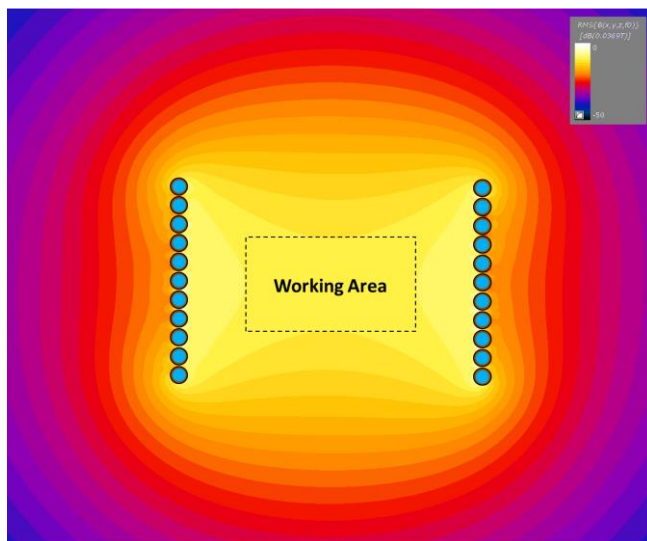


Figura 35. Distribución gráfica del campo electromagnético a lo largo de un plano transversal de un inductor con forma de solenoide (Simulación realizada con la herramienta FEM Sim4Life)

Alcanzar la intensidad de campo suficiente en el interior del inductor de trabajo, depende del dimensionado del inductor y por lo tanto de la corriente que se le debe suministrar. Como ya se comentó anteriormente, aumentar la longitud del inductor o la frecuencia de trabajo afecta negativamente al diseño y tiene como consecuencia un incremento de la resistencia asociada.

Para el cálculo de la resistencia en el caso particular de un inductor tubular, es necesario en primer lugar obtener la sección útil del conductor (S_{util}) (ver ecuación (34)). Una vez conocida la sección útil y la longitud del tubo, ya se puede obtener la resistencia asociada (R_w) empleando la ecuación (35). Otro dato interesante es la obtención de potencia disipada (P). Para este cálculo además de conocer R_w se requiere el dato de la intensidad

que ha de atravesar el inductor. Este dato se puede extraer de la simulación del inductor o deducirlo de la ecuación (32). Finalmente la potencia necesaria del inductor se puede deducir de la ecuación (36).

$$S_{util} = \pi \cdot \delta \cdot (d_{ext} + d_{int}) \quad (34)$$

$$R_w = \rho_{cu} \frac{l_{tubo}}{S_{util}} \quad (35)$$

$$P = I_w^2 R_w \quad (36)$$

Entre los datos más relevantes del diseño, aparte de los anteriormente citados es importante conocer el valor de la inductancia y de la capacidad del inductor de trabajo. La inductancia se define como la relación entre el flujo magnético y la intensidad de la corriente que circula por una bobina con N vueltas. Este parámetro indica la energía que es capaz de almacenarse en la bobina o lo que es lo mismo, la oposición al cambio de corriente que genera. La forma del inductor influye claramente sobre dicha magnitud, resultando muy complejo determinarla analíticamente. Sin embargo, existen muchas fórmulas empíricas que sirven para obtener una aproximación de esta magnitud, sirviéndose de la relación que existe entre el radio y la longitud de un inductor con forma de solenoide (Wheeler, 1928). La ecuación (37) es un claro ejemplo, esta soluciona el problema para el caso en particular de un inductor con más de una capa. No obstante el error cometido en torno al 1% o incluso mayor, no resulta demasiado fiable. Por ello una alternativa más eficaz, consiste en realizar una medida experimental empleando un montaje RLC o midiéndolo directamente con un inductómetro.

$$L_{Ind} = \frac{8\pi\mu_0 N^2 r^2}{6r + 9b + 10c} \quad (37)$$

donde r y l son el radio y longitud del inductor, c es el espesor del arrollamiento y N el número de espiras por capa.

Por otro lado, el valor de la capacidad viene dado por el fabricante y resulta mucho más sencillo de adaptar a la frecuencia de trabajo, una vez obtenida la inductancia experimentalmente. Esta capacidad se puede ajustar despejándola de la ecuación (33) como se muestra a continuación:

$$C_w = \frac{1}{(2\pi f_c)^2 L_w} \quad (38)$$

2.3. Convertidor de potencia

2.3.1. Consideraciones preliminares

El generador de RF es el encargado de suministrar la corriente necesaria para excitar el circuito tanque. Su principal característica es la de generar una onda cuadrada de tensión a la frecuencia deseada. Para conseguir el campo magnético adecuado, se necesita hacer circular intensidades muy elevadas a través del inductor, siendo estas del orden del centenar de amperios, lo que supone un escenario muy exigente para los elementos de conmutación. En cambio los elementos de conmutación soportan mucho mejor una elevada tensión para una misma potencia. Esto implica en esta aplicación, la necesidad de utilizar un elemento de transformación. Este elemento además de la transformar la tensión y corriente, también cumple otra función como el aislamiento y filtrado de señales.

La energía inducida en el transformador depende de la configuración que adopte el convertidor, pudiendo trabajar en un solo cuadrante o en dos (véase Figura 36). De ambas configuraciones la que mejor se adapta a esta aplicación es la segunda ya que permite obtener a la salida del secundario una corriente simétrica de valor medio nulo y al mismo tiempo aprovechar mucho mejor la capacidad de magnetización del núcleo, reduciendo sus dimensiones y coste (Ferroxcube, 2013).

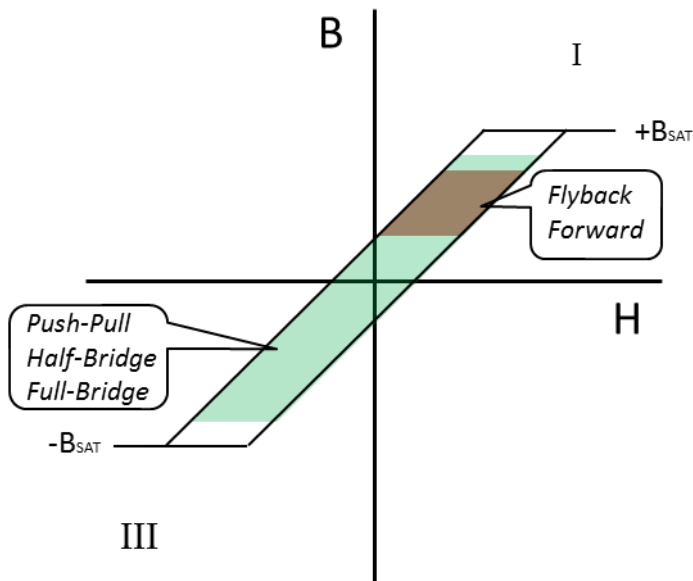


Figura 36. Comportamiento magnético del transformador dependiendo la configuración del convertidor

Para lograr una magnetización bidireccional existen tres configuraciones básicas que presentan una serie de ventajas e inconvenientes:

- *Configuración Push-Pull (P-P)*. Este convertidor está compuesto básicamente por dos etapas simples Forward que trabajan en contraposición (ver Figura 37 superior). El primario del transformador utiliza una bobina con toma intermedia conectada a la fuente de alimentación. A extremos del primario están dispuestos dos conmutadores Q1 y Q2, que trabajan haciendo circular la corriente por ambas bobinas alternamente. Debido a que los campos electromagnéticos inducidos quedan dispuestos en contraposición, en el núcleo se genera un flujo de inducción que oscila entre el primer y tercer cuadrante.
- *Configuración Half-Bridge (H-B)*. Mediante esta configuración se consigue también un flujo alterno. La principal diferencia es que en vez de disponer de dos bobinas en contraposición, la corriente se hace pasar en un sentido y en otro por la bobina del primario, consiguiendo un resultado similar. Para ello en uno de los extremos del primario se polariza con la mitad de tensión VDC procedente de la toma intermedia de dos bancos de condensadores. El otro de los extremos del primario se conmuta alternamente a masa y a la tensión VDC. (ver Figura 37 central). Una de las ventajas que presenta esta configuración, con respecto a las P-P es que los interruptores deben soportar la tensión de alimentación del bus y no los 2VDC, como en el anterior caso. En cuanto a la corriente, en este caso se está en clara desventaja respecto a la topología anterior ya que se necesita el doble de corriente para un mismo régimen de carga. Otro de los posibles inconvenientes es la posibilidad de destrucción de los interruptores si se conmutan estos al mismo tiempo. Esta situación produciría un cortocircuito entre el bus VDC y la masa haciendo circular corrientes demasiado elevadas para los interruptores.
- *Configuración Full-Bridge (F-B)*. Al igual que en el caso anterior este convertidor solo utiliza un bobinado de primario haciendo circular la corriente a través de él en un sentido y en otro. En este caso, dicha recirculación de corriente se realiza alternando el sentido de la corriente en ambos terminales del primario. Para ello se utilizan cuatro interruptores que se conmutan dos a dos. En la secuencia de operación se conmutan en primer lugar los interruptores Q1 y Q3 y en segundo lugar Q2 y Q4 (ver Figura 37 inferior). Una de las ventajas que presenta esta configuración al igual que la H-B, es que a extremos del interruptor solo debe soportar la mitad de tensión de alimentación. Además también presenta la ventaja del P-P ya que para un mismo régimen de carga necesita la mitad de corriente que en la configuración H-B. Como inconveniente, esta presenta el mismo problema que la topología H-B, en cuanto al peligro de destrucción de los conmutadores, si los transistores se activan incorrectamente.

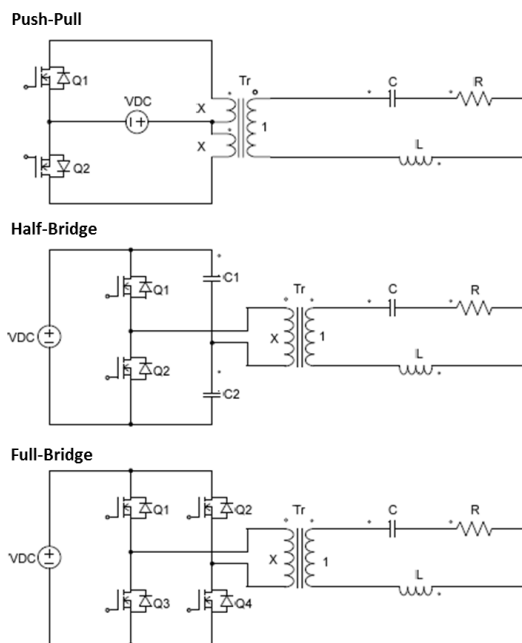


Figura 37. Distintos tipos de topologías básicas de convertidores resonantes aislados

Como se ha podido observar, las tres configuraciones descritas presentan ventajas e inconvenientes y pueden resultar más o menos apropiadas para una aplicación u otra. El presente trabajo se ha centrado en la topología H-B debido a su reducido coste y la simplicidad. Frente a las otras topologías, esta utiliza un primario con bobinado simple y tan solo dos interruptores. Además dicha configuración corrige por si sola el problema de desbalanceo que podría suceder en las otras configuraciones. Esto es debido al filtrado que proporciona el divisor capacitivo presente. En cuanto a la corriente de carga, esta puede ser regulada mediante un transformador, lo que evitaría una elevada corriente en circulación a través de sus interruptores.

En la Figura 38 se muestra un esquema general del convertidor desarrollado. A grandes rasgos este convertidor está compuesto por los elementos anteriormente descritos y los distintos bloques necesarios para su funcionamiento. A continuación cada uno de estos bloques se ha desarrollado individualmente justificando razonadamente la selección de los componentes.

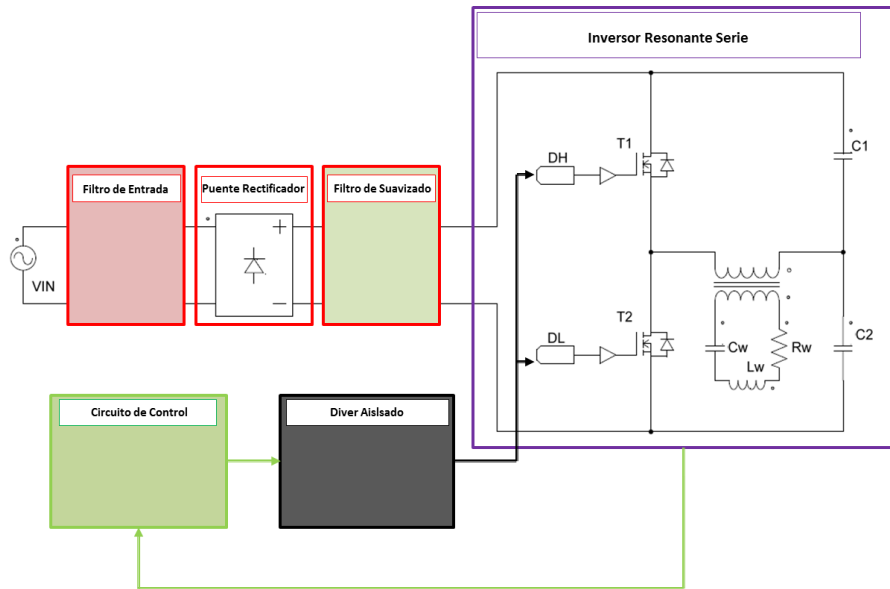


Figura 38. Esquema básico del inversor

2.3.2. Filtro de entrada

Las interferencias electromagnéticas (EMIs) generadas por el equipo puedan afectar a otros equipos próximos a su entorno, por ello existe una normativa vigente que regula las emisiones máximas. Según el estándar de regulación de equipos industriales, de medicina y de aplicaciones científicas para establecimiento no domésticos, el pico máximo de señal interferente debe ser inferior a 80 dB μ V para las frecuencias de 150 a 500 kHz (norma EN 55011 clase A). Para lograr reducir o eliminar estas EMIs se puede trabajar en dos frentes. La primera alternativa consiste en actuar sobre el agresor, detectando la fuente de ruido y tomando las medidas oportunas para eliminarla. Esta opción en muchas ocasiones no es posible, por lo que se tiene que recurrir a una medida paliativa, por ejemplo la utilización de filtros (Nan and Yugang, 2007).

Uno de los principales elementos generadores de EMIs, son las fuentes conmutadas. El principal problema que presentan estos dispositivos, es que las conmutaciones rápidas en potencia producen picos de tensión y corriente muy elevados. Dichas EMIs dependiendo de la vía de transmisión, pueden ser conducidas o radiadas de un equipo a otro e incluso afectar al propio equipo. En este trabajo, debido a la potencia y finalidad se puede encontrar una combinación de ambas. Como se puede apreciar en la Figura 38, la parte de potencia compuesta por el puente rectificador y el convertidor de potencia, es un claro ejemplo de fuente agresora. En cambio, el circuito de control tiene que convivir

a escasos centímetros de su agresor, por lo que resulta importante que este no se vea afectado por las EMIs generadas (Hesener, 2010).

La principal función del filtro de entrada es evitar las EMIs conducidas y para ello su diseño debe de adaptarse al tipo de interferencia. Debido a la naturaleza de las interferencias generadas, estas se pueden transmitir en modo común o en modo diferencial. Las EMIs en modo común se transmiten a través de los conductores y derivan a tierra por mediación de capacidades parásitas (ver Figura 39 izquierda). En cambio las EMIs en modo diferencial fluyen por el mismo circuito por el que circula la potencia, diferenciándose de las anteriores porque no se acoplan a tierra (ver Figura 39 derecha).

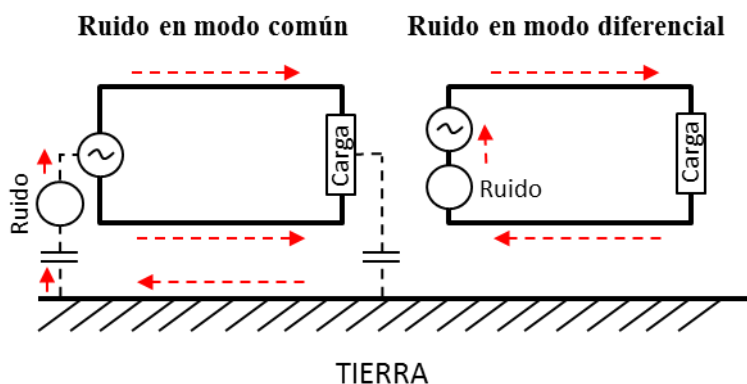


Figura 39. Esquema de ruido en modo común (izquierda) y en modo diferencial (derecha)

Debido a la gran diferencia de frecuencia entre la red y la frecuencia de trabajo de la aplicación el diseño del filtro se simplifica, admitiendo una implementación de filtros pasivos en línea. Las redes supresoras de EMIs están compuestas básicamente por choques inductivos de potencia y condensadores que actúan en conjunto. No obstante la configuración de los elementos es distinta, dependiendo si la EMIs es en modo común o en modo diferencial. A modo de referencia el fabricante Wüth Elektronik propone en una nota de aplicación una solución mixta en donde se combinan ambos tipos de filtros, junto con un sistema de protección de daño eléctrico (ver Figura 40).

A continuación se describe dicha solución de forma separada:

- **Protección frente a daño eléctrico.** En el caso de que cualquier componente falle existe la posibilidad que se produzca una elevada corriente. Para evitar la sobrecarga de la red y un daño mayor en el equipo, el diseño incluye un fusible (F) en serie, que deja en circuito abierto el sistema en caso de sobrecorriente.

También se incluye un elemento supresor de transitorios, que cumple la función de derivar a masa picos de tensión elevada procedentes de la red.

- **Filtro EMI en modo diferencial.** El circuito supresor de EMIs diferencial está compuesto por un par de inductancias de choque diferencial L_{MD} (WE-TI HV) y dos condensadores (C_X). Las EMIs diferenciales producidas por la fuente conmutada (V_{SMPS}) circulan aguas arriba hasta alcanzar los condensadores C_X . Estos condensadores se comportan como un cortocircuito para frecuencias elevadas, conduciendo de un terminal al otro las interferencias producidas. Al contrario ocurre con las señales de ruido diferenciales, cuando se encuentran con los choques inductivos. Estas presentan una alta impedancia bloqueando su paso hacia la red.
- **Filtro EMI en modo común.** Este circuito está compuesto por un choque inductivo diferencial L_{MC} (WE-CMB) y dos capacidades conectadas a la tierra del circuito (C_Y). Las EMIs en modo común procedentes de la red se transmiten por ambos conductores a la vez. A lo largo de su recorrido, las EMIs de alta frecuencia se encuentran con dos impedancias distintas: una de elevada magnitud, formada por una bobina de choque diferencial y otra de baja magnitud, formada por unas capacidades a tierra.

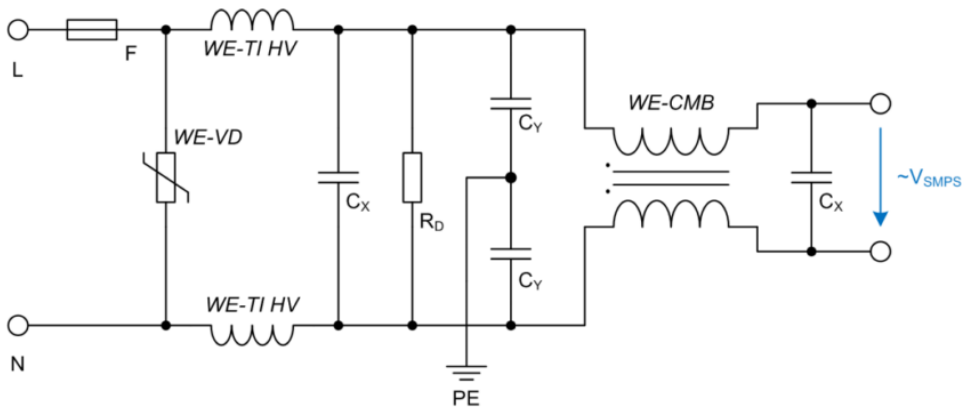


Figura 40: Esquema del filtro de entrada (Stefan Klein (Würth Elektronik), 2013)

El circuito descrito también puede ser implementado tomando una distribución distinta, como se refleja en la Figura 41. No obstante ambos sirven como redes supresoras EMIs tanto para interferencias que provengan de la red, como para evitar el volcado de las mismas a la red. En dicha figura se puede apreciar de forma clara el camino de menor impedancia, por el que circularían las interferencias en modo común. Por otro lado, gracias a los choques en modo común se consigue tener en ambos inducidos, pero en

sentido contrario la misma inducción, lo que genera una interferencia destructiva que contribuye a su mitigación.

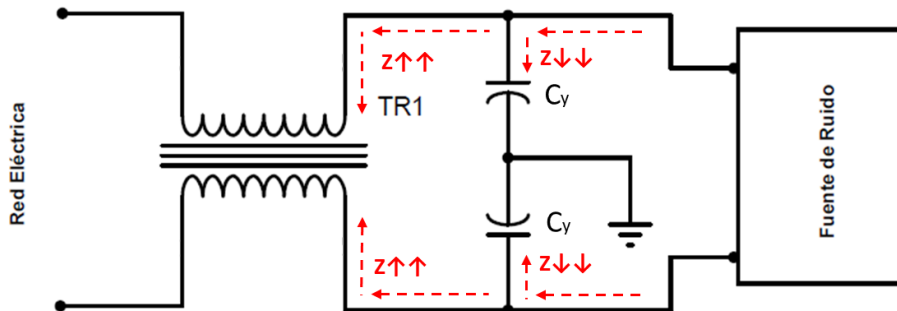


Figura 41. Filtro en modo común

Implementación del filtro de entrada EMI

El rango de frecuencias del filtro está relacionado con las frecuencias no deseadas. En este caso dichas frecuencias se derivan de la conmutación de los interruptores del inversor. Estos transistores oscilan al doble que la señal cuadrada generada de 200 kHz. Por esta razón, para evitar problemas, es conveniente implementar un filtrado que elimine el ruido a partir de esta señal hasta unos 50 MHz. Para conseguir este filtrado se requiere de un inductor en modo común diseñado para trabajar a dichas frecuencias. Este tipo de inductores ofrece una mayor impedancia para frecuencias elevadas. Por otro lado, la atenuación de la señal a baja frecuencia solo es debida a las pérdidas de la resistencia parásita de la bobina.

Para el diseño del choque de potencia se deben tener en cuenta tres factores: la corriente de entrada, la impedancia y la frecuencia. La corriente de entrada a través de conductor, generalmente de cobre, produce un aumento de temperatura, que como se explicará más adelante puede afectar al filtro. Una selección adecuada del conductor, y el número de hilos, ya sea unifilar o multifilar, son efectivos para mejorar el comportamiento térmico. Realmente para este tipo de filtros ($f_s = 50$ Hz) queda descartado el hilo multifilar ya que el hilo unifilar produce por sí mismo un rechazo. Este rechazo se debe al efecto Skin, por el que la impedancia aumenta cuando la profundidad de penetración asociada a la frecuencia interferente es mayor que la del radio del conductor. El material del núcleo también es un elemento a tener en cuenta, cada fabricante proporciona un catálogo de materiales con unas respuestas en frecuencia. La supresión de EMIs requiere de un material con una impedancia de rechazo, adaptada a la supresión de interferencia que se

quiera eliminar. Por ejemplo, las ferritas compuestas de Manganeseo Zinc, son ideales para EMIs en el rango de 10 kHz a 50 MHz y las ferritas compuestas por Niquel Zinc, están diseñadas para supresión de EMIs de 10 a 50 MHz, debido a su baja permeabilidad a bajas y medias frecuencias.

Teniendo en cuenta los datos anteriores y los parámetros intrínsecos de los materiales ferromagnéticos, resulta muy sencillo realizar el diseño de un choque de potencia. Los pasos a seguir son:

1. Seleccionar el tamaño del cableado, para ello es muy común utilizar una intensidad por área transversal de sección de 400 A/cm².
2. Calcular la inductancia mínima que servirá como referencia posteriormente.

$$L_{Min} = \frac{Z}{2\pi \cdot F_s} \quad (39)$$

3. Seleccionar el tamaño de la ferrita, normalmente un toroide.
4. Calcular el máximo número de vueltas posible (N) dentro de la circunferencia interior (CI).

$$CI = \pi(D_{nucleo} - D_{cable}) \quad (40)$$

$$N = \frac{160^\circ}{360^\circ} \cdot CI \cdot \frac{Vueltas}{D_{cable}} \quad (41)$$

donde D es el diámetro y N se redondeará a un número entero inferior.

5. Determinar la mínima inductancia para el número de vueltas calculado:

$$L = \left(\frac{N}{1000}\right)^2 \cdot A_L - X\% \quad (42)$$

donde A_L es el factor de inductancia y X es la tolerancia sujeta a esta magnitud.

Para que el diseño sea correcto, la inductancia calculada en la Ecuación (42) debe ser mayor que L_{MIN}. De no ser así existen dos alternativas: seleccionar un material con un mayor factor de inductancia o seleccionar un núcleo de mayor tamaño. Otro factor crítico en el diseño es la temperatura de trabajo. Esta no debe sobrepasar la temperatura de Curie, que suele estar comprendida entre 120 y 175 °C. En el caso de sobrepasarse el núcleo quedaría inutilizado perdiendo su comportamiento magnético (Stefan Klein (Würth Elektronik), 2013).

Muchos fabricantes disponen de un amplio catálogo de choques ya caracterizados. En la Figura 42 se puede apreciar un choque que presenta una gran atenuación a una frecuencia

dada, perdiendo su efectividad a frecuencias superiores. Por ello, como se muestra a continuación, es conveniente asociarlo con una red de condensadores X e Y como se muestra a continuación.

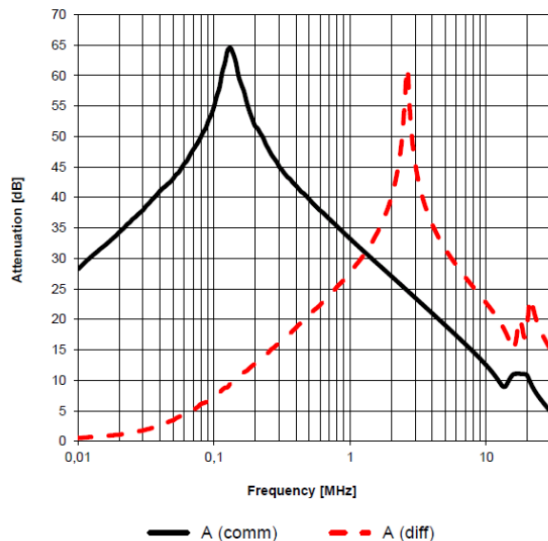


Figura 42: Curva de atenuación de un choque en modo común y su respuesta en modo diferencial de Würth Elektronik (Stefan Klein (Würth Electronik), 2013)

Para el diseño de los condensadores en Y se debe tener en cuenta que el filtro es de segundo orden y tiene una caída de 40dB por década. De la respuesta de dicho filtro se puede obtener la capacidad C_Y tomando de las hojas de características el valor de la inductancia L_{MC} usada:

$$C_Y = \frac{1}{(2\pi \cdot f_c)^2 \cdot L_{MC}} \quad (43)$$

El valor obtenido de la ecuación (43) debe ser dividido entre dos para su implementación en el circuito (ver Figura 42). Además se ha de tener en cuenta que las corrientes parásitas han de estar comprendidas entre 0.25 a 3.5 mA por lo que no es aconsejable capacidades superiores a 4.7 nF.

Debido a las imperfecciones en las señales, los inductores en modo común también pueden presentar un flujo diferencial que podría llegar a saturarlos. Por ello, es conveniente incorporar condensadores en X que sirvan el filtrado (ver Figura 42). Los condensadores en X se acoplan con la inductancia parásita del choque, evitando en gran

medida las EMIs en modo diferencial. La inductancia diferencial se calcula mediante la ecuación (44). No obstante, puede que el valor de la inductancia parásita sea muy pequeño y por lo tanto el filtro se desplace a frecuencias superiores a la de interés. De ser así resulta conveniente adaptar el filtro a una frecuencia inferior, utilizando choques diferenciales (ver ecuación (44)). En el diseño se debe tener en cuenta que la inductancia calculada es equivalente a dos inductancias en serie. Por este motivo al igual que ocurría con la capacidad C_Y , L_{DM} debe ser dividida en dos. Para su selección en catálogo otro dato importante es la corriente que debe soportar.

$$L_{MD} = \frac{1}{(2\pi \cdot f_c)^2 \cdot C_X} \quad (44)$$

Como se puede apreciar en la Figura 43, cuanto menor es la capacidad mayor es la impedancia con respecto a la frecuencia. Cuando se está trabajando con cargas diferenciales equivalentes de muy baja impedancia, puede darse el caso que la impedancia de la capacidad a una determinada frecuencia y potencia sea mayor que la de la carga, perdiendo el efecto supresor (Williams, 2007). Para evitar este problema y adaptarla a todo el rango de frecuencias se suelen utilizar capacidades de distintos valores.

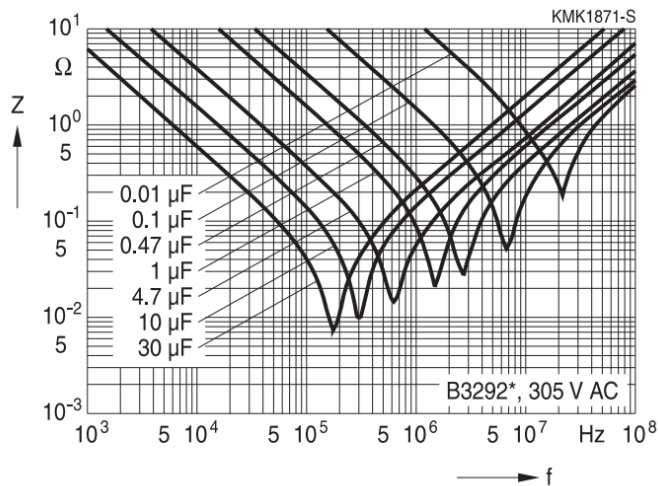


Figura 43: Impedancia de la capacidad Z con respecto a la frecuencia f (Ag, 2009)

Implementación del filtro de entrada

En la Figura 44 se muestra el esquema del circuito del filtro de entrada. Este filtro está compuesto por un par de inductancias de choque de la marcha Würth Eletronik. Por un lado se ha implementado un choque diferencial de la serie WE-FI (Ref: 7447016) (L01) y un choque en modo común de la serie WE-CMBNC tamaño M (Ref: 7448030509) (L02) de 5 A. Al filtro diferencial se le han asociado tres capacidades de película de polipropileno de clase X2 serie MKP especialmente diseñadas para la supresión de EMIs (CX1, CX2 y CX3). Mediante estos condensadores se consigue un filtrado diferencial con una frecuencia de corte de 10 kHz y una buena respuesta en frecuencia.

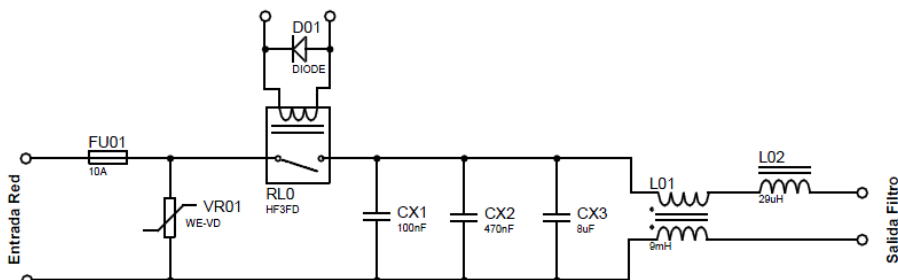


Figura 44: Esquema del filtro de entradas

Al diseño se le ha incluido, a modo de protección, un fusible de 10 A (FU01) y un varistor (VR01) de la serie WE-VD de 10 mm de Würth Eletronik que es capaz de disipar hasta 0.4 W de potencia y un transitorio de tensión de hasta 620 V. Por último, para poder controlar la activación/desconexión del circuito se ha colocado un relé HF3FD (RL0) de 10 A.

El resultado final de la implementación se puede apreciar en la Figura 45.

2.3.3. Rectificador de señal AC y filtro de suavizado

El circuito de rectificación está basado en un puente de diodos. Gracias a este elemento se consigue una rectificación de la señal AC. Para ello la tensión alterna pasa por el puente de diodos rectificándose en una tensión pulsada con el doble de frecuencia que la de entrada. Para la excitación de los diodos es necesario una tensión de codo de aproximadamente 0.7 V. En esta configuración, en cada semiperiodo actúan dos diodos,

por lo que al paso se pierden 1.4 V. No obstante esta tensión resulta insignificante con respecto a la tensión máxima alcanzada, que en este caso es de 325 V.

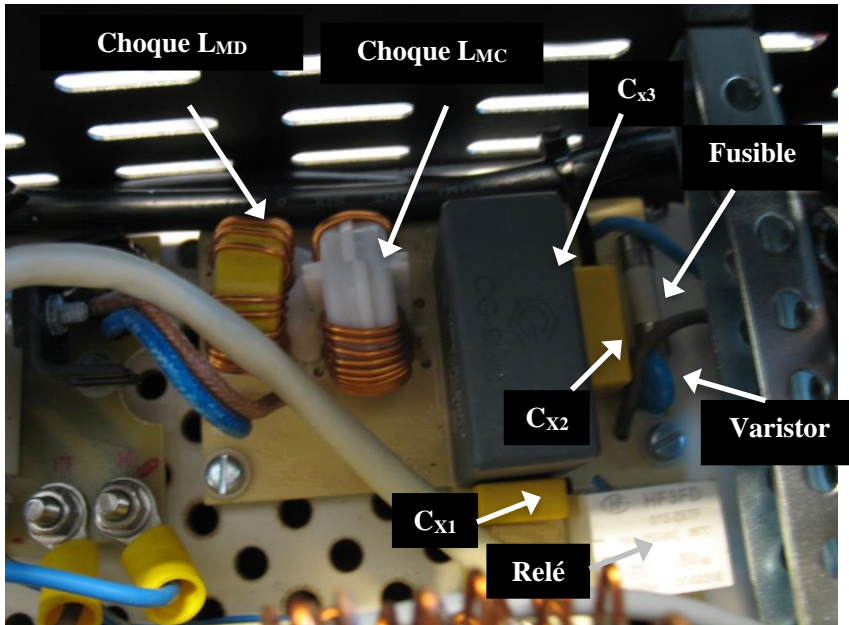


Figura 45: Detalle del filtro de entrada

En este punto la señal resultante dista mucho de una señal continua. Para mejorar el aspecto y que esta se parezca más a una señal continua, se necesita colocar a la salida un filtro de suavizado. Para ello se ha dispuesto de un condensador C (ver Figura 46) que se ha situado en paralelo con la carga. Para el dimensionado de este, puede recurrirse a la ecuación (45), teniendo en cuenta que la frecuencia pulsante es el doble que la de la red, es decir de 100 Hz.

$$R_{carga} \cdot C \gg 1/f_{RED} \quad (45)$$

Para el cálculo de la tensión de rizado se puede emplear la ley de Ohm:

$$I(t) = C \cdot \frac{dV(t)}{dt} \rightarrow \Delta V = \frac{I}{C} \cdot \Delta t = \frac{I_{carga}}{2f_{RED}C} \quad (46)$$

donde ΔV es la tensión máxima que se permite y Δt es el periodo de pulsación de la señal.

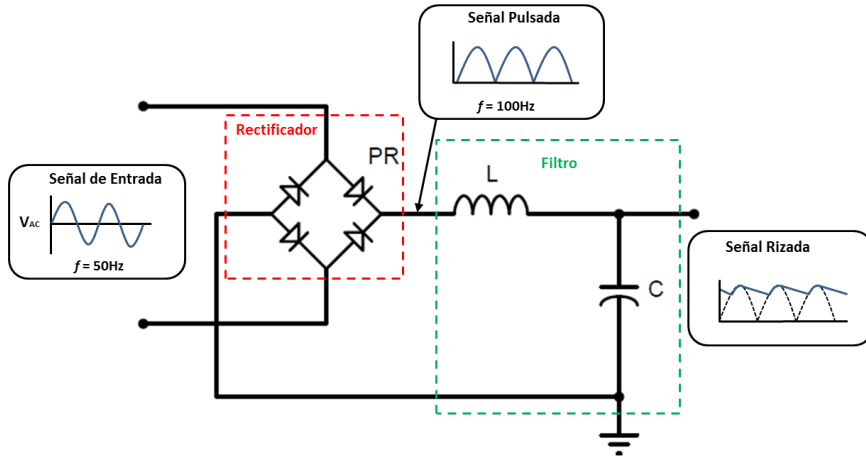


Figura 46: Puente rectificador a onda completa y filtro

Una de las principales ventajas que presenta este tipo de rectificadores es su sencillez, su reducido precio y la robustez que ofrecen. Los puentes rectificadores están muy optimizados y son elementos que no suelen dar problemas. Su frecuencia de conmutación está adaptada a las frecuencias de red y además permiten trabajar con potencias elevadas.

Implementación del rectificador y filtro de suavizado

Debido a la elevada corriente que circula a través del circuito de potencia, para minimizar las oscilaciones de tensión, se necesita una capacidad alta. En vacío, esta capacidad se comporta como un cortocircuito y si se conectara directamente a la red, provocaría una elevada corriente que podría llegar a saturarla. Para evitar esta situación la conexión a red se hace en dos pasos: en primer lugar se conecta el circuito a través de dos resistencias (R100 y R200) que limitan la corriente de entrada. De esta forma la tensión va aumentando en los bornes del condensador sin saturar la red, hasta alcanzar el 90% de la tensión de trabajo. Una vez cargado, el relé RL1 conmuta quedando el circuito conectado a la red directamente. A partir de este momento el circuito de potencia está listo para empezar a trabajar. Más adelante se explica de forma detallada cómo está gestionado este proceso para que el equipo pueda operar sin problema alguno (ver el apartado 2.3.8.).

Para evitar que el condensador de elevada capacidad quede cargado tras la desconexión del equipo, se ha provisto al sistema de una red de descarga. Este sistema está compuesto por un relé (RL2) que conmuta derivando la carga del condensador a la resistencia R1. De esta forma dicha carga se va disipando en forma de calor hasta su extinción. Por otro lado inmediatamente después de iniciar el equipo, el μC envía una señal de activación al relé dejando el condensador libre de la carga resistiva. En este punto el condensador queda listo para comenzar otra vez su carga, según lo descrito en el párrafo anterior. Esta función garantiza la descarga de la capacidad, evitando un riesgo potencial de seguridad.

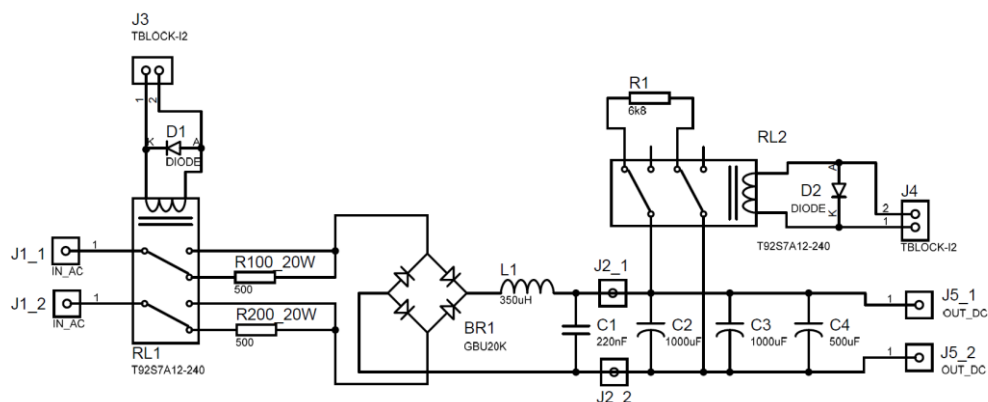


Figura 47: Detalle del circuito rectificador, filtro de suavizado y sistema de carga controlada

El circuito resultante se puede apreciar en la Figura 48. Este consta de un puente de rectificación basado en el integrado GBU20K, capaz de suministrar una corriente de hasta 20 A y soportar una tensión entre sus terminales de hasta 560 V_{RMS} . La señal rectificadora a doble onda pasa por el filtro en L formado por L1 y C1 (ver Figura 47). Finalmente el banco de capacidades de 2.5 mF constituido por las capacidades C2, C3, C4 suaviza el rizado de la señal, consiguiendo una variación de la tensión inferior al 5%.

2.3.4. Interruptor de potencia

Los interruptores de potencia son los encargados de generar una tensión alterna (100 a 300 kHz) a partir de un bus de continua. Para conseguirlo, el sistema necesita de unos interruptores que sean capaces de trabajar al doble de la frecuencia requerida. Entre las distintas tecnologías de fabricación, los transistores BJT e IGBT no ofrecen una buena respuesta al rango demandado de frecuencias. En cambio el transistor MOSFET de potencia puede trabajar sin problemas en este rango. Esto es debido a que la conmutación se produce en ausencia de portadores minoritarios, estando delimitada por el tiempo

necesario para que se complete el tránsito de electrones a través de la región de deriva y hasta que se consigue cargar y descargar las capacidades de puerta parásitas.

La puerta del transistor MOSFET de potencia tiene asociadas varias capacidades parásitas debido a la superposición entre unos materiales y otros. El fabricante en sus hojas de características suele indicar la capacidad de puerta surtidor C_{GS} , que es la suma de C_p , C_{N+} y C_o . Este es el valor de capacidad que se necesita cargar para alcanzar la tensión de codo $V_{GS(th)}$, antes de que la corriente circule entre los terminales Surtidor-Drenador. A parte de esta capacidad y la que aparece entre el drenador y la región P-Base (Ochi, 2002), la capacidad entre la Puerta-Drenador C_{GD} también llamada de ‘Miller’ es el factor más limitante en cuanto a la velocidad de conmutación. En la Figura 49 se muestra un modelo simplificado de las capacidades descritas.

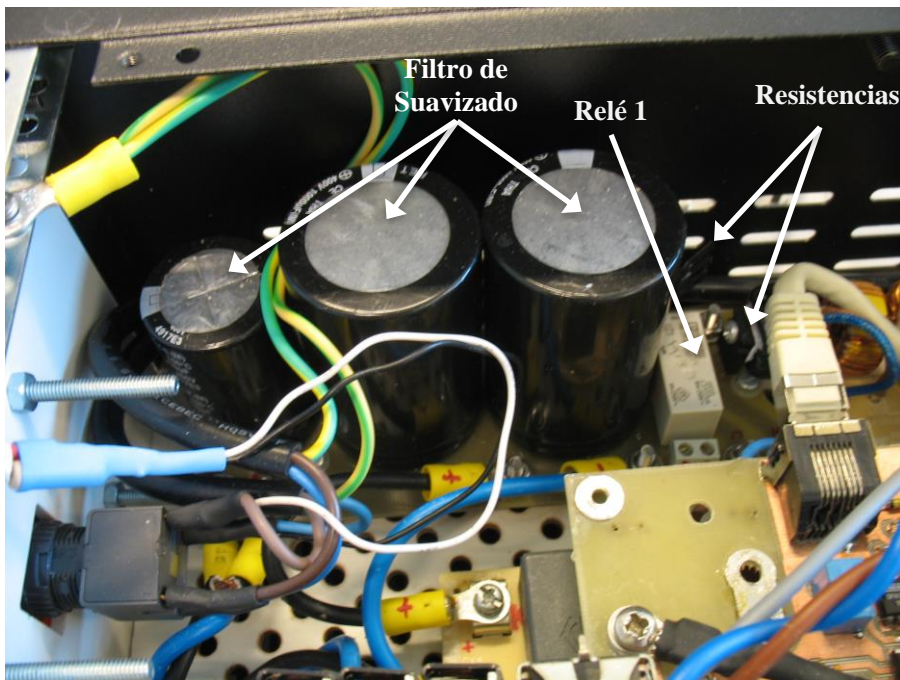


Figura 48: Filtro de suavizado y sistema de carga

El driver elegido para la conmutación del transistor de potencia ha de suministrar una señal de excitación que sea capaz de activar y desactivar el transistor ajustándose a un tiempo inferior al 3% del periodo de conmutación. Tanto la resistencia interior del transistor (R_{Gint}), la exterior (R_{Gext}) como la del driver (R_{dr}), juegan un papel muy importante en la corriente suministrada a la puerta, siendo uno de los factores decisivos e influyentes en la velocidad de conmutación máxima. En el diseño se debe escoger una

combinación de las mismas, que se adapte a las especificaciones. Para dimensionar adecuadamente R_{Gext} se muestra a continuación cómo influyen las capacidades parásitas y los tiempos requeridos para la conmutación.

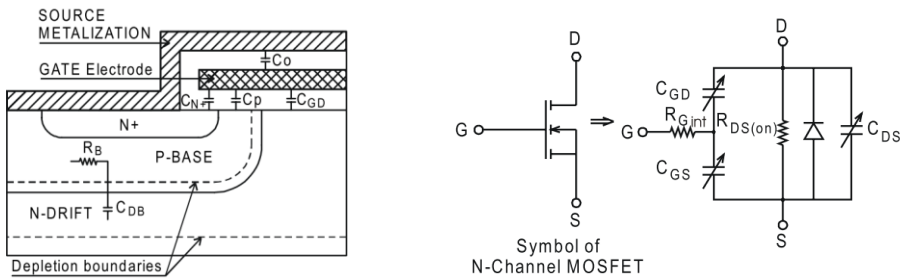


Figura 49: Esquema físico de los distintos materiales que componen el transistor (izquierda) y modelo equivalente del transistor de potencia (derecha) (Pathak, 2001)

Cuando el driver aplica una tensión V_p sobre el terminal de puerta, comienza el transitorio de encendido del transistor (ver Figura 50). En este instante la tensión V_{GS} aumenta exponencialmente debido al proceso de carga de las capacidades C_{GS} y C_{GD} con una constante de tiempo $T1 = (R_{DR} + R_{Gext} + R_{Gint}) \cdot (C_{GS} + C_{GD})$. Una vez alcanzado la tensión $V_{GS(th)}$, es decir que a partir de t_1 , la corriente I_D comienza a crecer linealmente hasta alcanzar el máximo en t_2 . El área A1 representa la carga de los condensadores C_{GS} y C_{GD} . Durante este intervalo temporal la corriente de puerta sigue decreciendo y la tensión entre la puerta-surtidor continua aumentando exponencialmente, mientras que la tensión V_{DS} permanece sin cambios. Durante el intervalo entre t_2 a t_4 la tensión V_{GS} y la corriente de puerta se mantienen constantes, representando el área A2 la carga del condensador C_{GD} . A su vez la tensión V_{DS} se va reduciendo hasta alcanzar la tensión determinada por $I_D R_{DS(ON)}$. El periodo entre t_2 y t_4 representa el tiempo necesario para cargar Q_{CG} correspondiente a la capacidad de ‘Miller’ C_{CG} . Más allá de t_4 la tensión V_{GS} comienza a crecer exponencialmente según la constante de tiempo $T2 = (R_{DR} + R_{Gext} + R_{Gint}) \cdot (C_{GS} + C_{GDh})$.

No obstante, este comportamiento representa una respuesta ideal del transistor y pueden encontrarse pequeñas discrepancias en su respuesta real. Una de ellas es debida al considerar que el diodo ‘D’ no es ideal, ofreciendo un pico de tensión V_{GS} en el intervalo de t_2 a t_3 y una corriente I_D que se normaliza a partir de t_3 (ver Figura 50 trazos rojos).

El periodo de conmutación de apagado comienza cuando la señal del driver V_{DR} pasa a ser 0 V (ver Figura 51). En el primer periodo de tiempo, es decir entre 0 a t_1 , la tensión V_{GS} comienza a decrecer según la constante de tiempo $T2 = (R_{DR} + R_{Gext} + R_{Gint}) \cdot (C_{GS} + C_{GD})$. Este es el tiempo necesario para descargar la capacidad C_{ISS} . Por otro lado, durante el mismo periodo de tiempo, la corriente I_G fluye a través de las capacidades C_{GS}

y C_{GD} , manteniéndose I_D sin variaciones. En el intervalo t_1 a t_2 V_{DS} empieza a aumentar hasta que alcanza el valor estacionario que coincide con el valor de tensión de continua del Bus. El siguiente intervalo temporal, de t_3 a t_4 , corresponde al tiempo de descarga de la capacidad de Miller, que hace que se mantenga V_{GS} constante. En el siguiente intervalo, la tensión V_{GS} se descarga exponencialmente según la constante de tiempo $T1 = (R_{DR} + R_{Gext} + R_{Gint}) \cdot (C_{GS} + C_{GD})$ hasta alcanzar $V_{GS(th)}$. Finalmente a partir de t_4 la capacidad C_{GS} se descarga a través de las impedancias externas de puerta y de surtidor. En este intervalo de tiempo el transistor se encuentra en zona lineal de trabajo cayendo la corriente I_D hasta 0 A.

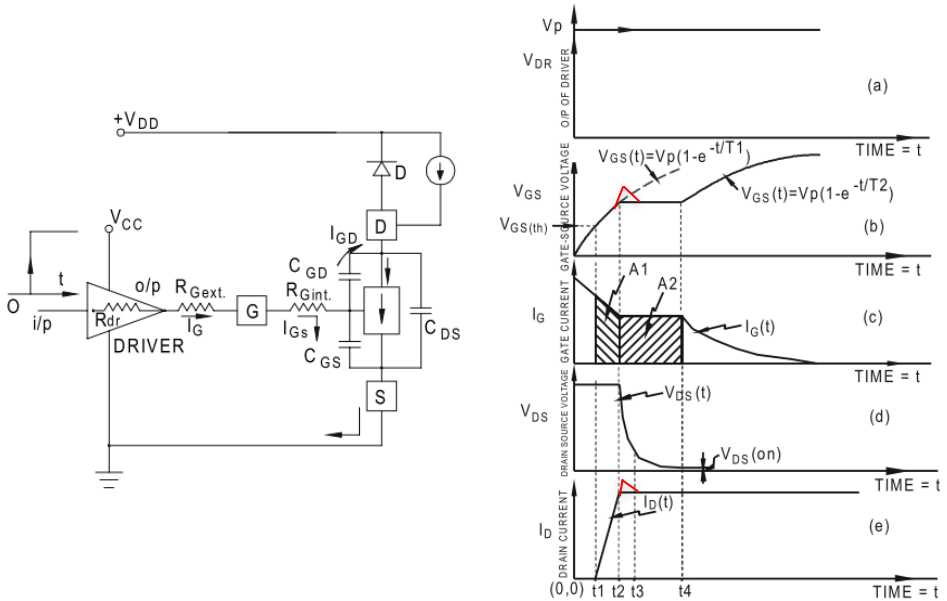


Figura 50: Circuito de disparo (izquierda) y curvas de encendido del transistor de potencia (derecha) (Pathak, 2001)

Los fabricantes, en las hojas de características no suelen mostrar los valores C_{GD} , C_{GS} y C_{DS} . Esto es debido a que estos parámetros dependen de otras variables. Este es el caso de las capacidades C_{GD} y C_{DS} que están en función de V_{DS} y solo sería válido si se operara en las mismas condiciones que las realizadas en el test. No obstante se puede obtener un valor orientativo según la siguiente relación:

$$\begin{aligned}
 C_{GD} &= C_{RSS} \\
 C_{GS} &= C_{ISS} - C_{RSS} \\
 C_{DS} &= C_{OSS} - C_{RSS}
 \end{aligned}
 \tag{47}$$

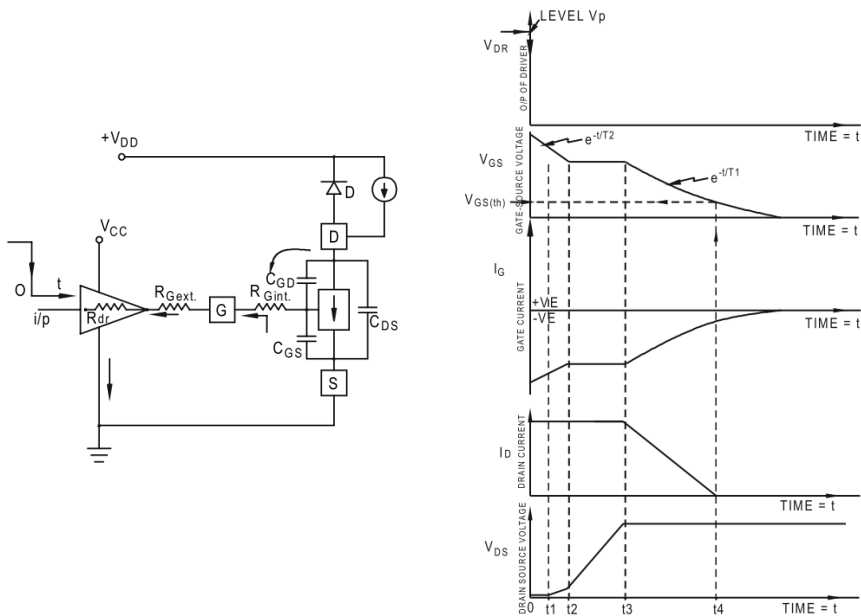


Figura 51: Circuito de disparo (izquierda) y curvas (derecha) de encendido a apagado del transistor de potencia (Pathak, 2001)

Una vez entendido todo el proceso transitorio de disparo, se puede entender porque se necesitan una serie de tiempos para la conmutación y como afectan estos a la frecuencia máxima de trabajo. Para que el diseñador disponga de dichos tiempos, el fabricante suele aportar en las hojas de características los tiempos de conmutación tanto de encendido ($t_{on} = t_{d(on)} + t_r$) como de apagado ($t_{off} = t_{d(off)} + t_r$), registrando la respuesta de los terminales V_{GS} y V_{DS} . Estos tiempos de respuesta (ver Figura 52) se corresponden de forma simplificada con los tiempos descritos más arriba.

Implementación del transistor de potencia

Para este diseño se ha seleccionado el transistor IXFK80N60P fabricado por IXYS que es capaz de soportar una tensión entre sus bornes de hasta 600 V y una corriente máxima de 80 A. Como se verá en el apartado 2.4.7. del presente capítulo, es necesario que el transistor sea capaz de soportar una elevada tensión V_{DSS} , debido principalmente a los transitorios de tensión cuando el dispositivo conmuta a apagado. En cuanto a la corriente máxima, este MOSFET permite manejar una carga muy elevada. Aunque la corriente demandada no resulta tan elevada, se ha querido

sobredimensionar para que el equipo soporte sin problemas experimentos de larga duración. De esta forma se evita el calentamiento de estos componentes. Además de esta medida los transistores se han fijado en dos disipadores independientes de aluminio, unidos a un ventilador que fuerza el aire a través de las aletas de refrigeración. El resultado de dicha composición se muestra en la Figura 53.

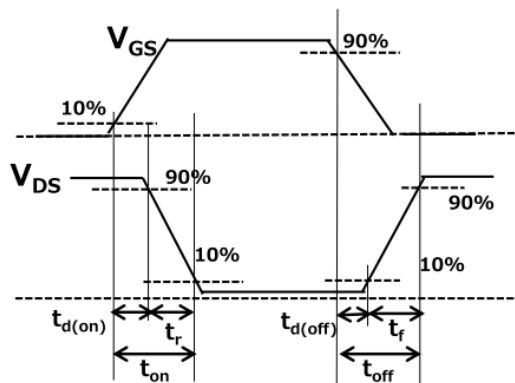


Figura 52: Tiempo transitorio de respuesta de un transistor (Toshiba Corporation, 2016)



Figura 53: Detalle del transistor de potencia junto con el disipador

2.3.5. Circuito de disparo

El método más sencillo para la activación de puerta de un transistor, es la unión directa entre los elementos de control y los de potencia. El problema surge cuando las tensiones y corrientes entre la parte de potencia y la de control son muy diferentes. De haberlas, es posible que pequeñas variaciones de tensión o corrientes derivadas del circuito de potencia puedan afectar al de control, llegando a originar desde simples interferencias, hasta la destrucción de los propios componentes del sistema. Adicionalmente es común que la referencia del transistor, el terminal ‘Surtidor’ en el caso del MOSFET, no esté referido a la misma masa del circuito, es el denominado efecto *booststrap*. Por ello, para evitar el *booststrap* es necesario que los driver estén aislados, pudiéndose referenciar así al surtidor correspondiente. Por último, debe considerarse que la potencia de disparo deja de ser despreciable (≈ 25 W).

El driver se presenta como un elemento de intermediación entre el circuito de control y el de potencia. Este dispositivo, además de generar la tensión y corriente necesaria para que el transistor de potencia trabaje en zona óptima, deben aislar el circuito de control de las altas tensiones y corrientes del circuito de potencia. También es conveniente que estén diseñados para minimizar las inductancias y capacidades parásitas del sistema de potencia (Scoggins, 2007). Por ello, es aconsejable que dicho circuito de disparo cumpla una serie de reglas de diseño (Ceglia *et al.*, 2005):

1. El driver de potencia está diseñado para ofrecer transitorios de tensión y corrientes muy rápidas. Para garantizar una buena respuesta es conveniente incorporar en el diseño, condensadores con una baja ESR (Resistencia Eléctrica Serie) y ESL (Inductancia Eléctrica Serie). Por ello es muy común utilizar condensadores cerámicos monolíticos de montaje superficial.
2. Dicha capacidad debe colocarse lo más cerca de los pines de alimentación y masa del integrado de conmutación.
3. El valor del condensador debe ser al menos 50 veces superior al condensador de entrada C_{ISS} .
4. Deben evitarse resistencias R_{Gext} que aporten una componente inductiva, como las resistencias bobinadas. Es preferible que dichas resistencias sean de película de carbón o de película metálica.
5. Debe minimizarse el camino formado entre la salida del driver, la resistencia R_{Gext} y el terminal de puerta del transistor a masa. Con esto se consigue evitar formar bucles que aumenten la inductancia parásita del circuito.

Además de estas consideraciones, en este diseño se ha utilizado un doble aislamiento galvánico, para conseguir que el circuito de potencia quede al mismo tiempo aislado del circuito de disparo y del circuito de control. Esta estrategia ha servido para elevar el nivel de seguridad ante posibles interferencias conducidas, evitando que cualquier deriva afecte al circuito de control.

El diseño del driver parte de las especificaciones del equipo y de las características del transistor. En primer lugar, se debe conocer el comportamiento de la corriente y la tensión del driver a la frecuencia demandada. En la Figura 54 en trazo negro finito se muestra una curva de corriente típica de disparo de un transistor. Esta se caracteriza por un pico de ascenso rápido en donde se alcanza la máxima corriente I_{MAX} . Una vez cargadas las capacidades parásitas de puerta, la corriente comienza a decaer de forma exponencial decreciente. No obstante para dimensionar adecuadamente la potencia de disparo necesaria se debe considerar el peor caso y por ello se considera que la corriente desciende siguiendo el trazo rojo. Tomando como patrón dicha forma de corriente y conociendo I_{MAX} (ver ecuación (49)) se puede calcular la corriente I_{RMS} empleando la siguiente ecuación (Ceglia *et al.*, 2005):

$$I_{RMS} = \sqrt{\frac{1}{2\pi} \int_0^\pi \left[\left(\frac{I_{MAX}}{\pi} \omega t \right)^2 \right] + \int_\pi^{2\pi} [I_{MIN}]^2} = \frac{I_{MAX}}{\sqrt{6}} \quad (48)$$

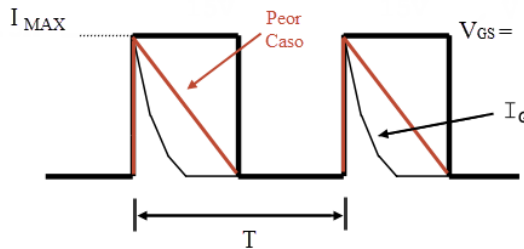


Figura 54: Intensidad tensión de carga demandada a la fuente de alimentación del driver

La corriente máxima soportada por todos los elementos y en especial por la fuente de alimentación I_g se deriva de la carga necesaria de puerta (Q_g). Como regla de diseño se puede ajustar a un 1% ($t_r = 0.5\%$ y $t_f = 0.5\%$) de la frecuencia de trabajo, aunque también sería tolerable un valor menos restrictivo, considerándolo válido hasta un 3%:

$$I_g = \frac{Q_{g(on)} \cdot f_s}{\leq 3\%} \quad (49)$$

Además la fuente debe de ser capaz de suministrar una tensión superior a la tensión del umbral de activación de puerta $V_{GS(th)}$, ajustándose a un valor inferior de tensión $V_{GS(MAX)}$, para no dañar el integrado.

Otro de los parámetros importantes en el diseño es la resistencia externa (R_{Ext}) (ver Figura 51). El valor de la resistencia queda definido por la alimentación de la tensión de puerta y por la corriente máxima calculada. Con ello lo que se pretende controlar es la pendiente máxima de carga de la capacidad de entrada del transistor, tratando de evitar una sobrecarga en el driver y en el transistor.

$$R_g = \frac{2 \cdot V_{GS}}{3 \cdot I_g} \quad (50)$$

En este caso la tensión que excita a la puerta del transistor, V_{GS} toma un valor de $\pm V_{cc}$. Esto es debido a que dicha tensión es fruto de dos etapas, una inversora y otra no inversora trabajando con un desfase de 180° . Esta configuración permite una tensión simétrica a partir de una fuente de tensión simple. Conociendo el valor de alimentación y el resto de parámetros, se puede obtener la potencia necesaria de la fuente de alimentación.

$$P_g = Q_{g(on)} \cdot V_{cc} \cdot f_s \quad (51)$$

Una vez conocidos todos estos datos, el siguiente paso se centra en el diseño del transformador de impulsos. La principal función de este tipo de transformadores consiste en proporcionar un aislamiento galvánico entre el circuito de potencia y la etapa de disparo. Gracias a este elemento se consigue a la salida del secundario una fuente de alimentación flotante, resultando ideal para resolver los problemas de *bootstrap* anteriormente mencionados. Otra de las ventajas que presenta, es su comportamiento como filtro pasa-banda, debido a las propiedades ferromagnéticas del material del núcleo. Dependiendo del rango de frecuencias de trabajo, conviene seleccionar el tipo de material ferromagnético más idóneo. En la Tabla 1 adjunta se muestra una clasificación en frecuencias de varios núcleos ordenada por fabricantes.

Una vez definido el material del núcleo ferromagnético, se debe seleccionar el resto de especificaciones del mismo. Entre estas se destaca la morfología del núcleo, el número de vueltas y el grosor del cable, tanto en el primario como en el secundario. Con ello se pretende que el transformador de impulsos sea capaz de generar la tensión y corrientes necesarias para garantizar la correcta excitación y activación/desactivación del transistor (ver apartado 2.3.4. de este capítulo).

Tabla 1: Tabla para selección del material del núcleo de ferrita ordenada por fabricantes y por rango de frecuencias (Scoggins, 2007)

Fabricante	Rango de Frecuencias		
	10-200kHz	200-500kHz	500-1000kHz
<i>Ferroxcube</i>	3C90	3F3	3F35
<i>Epcos</i>	N67, N87	N49	N49
<i>ACME</i>	P4	P5	P51
<i>Mag Inc</i>	P	R	K
<i>Nicera</i>	NC-2H	2M	5M
<i>TDK</i>	PC40	PC50	PC50

En cuanto a la forma de la ferrita, las del tipo toroidal son una buena solución en este tipo de aplicaciones ya que presentan un flujo de dispersión reducido y menores problemas de emisiones EMI. Una vez decidido el tipo de núcleo, se debe decidir el número de vueltas del primario. Para su cálculo es importante tener en cuenta que la saturación electromagnética está relacionada con este parámetro, de forma que cuanto más vueltas menor es la corriente necesaria de excitación y por ello menor posibilidad de saturación. Según la ecuación (52) el número mínimo de espiras del primario está relacionado con la tensión de excitación (V_{exc}), la frecuencia de trabajo (f_s), la inducción máxima (B_{max}) permitida por el núcleo ferromagnético (ver hojas de características del mismo) y el área efectiva del núcleo (A_e). Dicho número se puede obtener empleando la ecuación (Garcerá, Figueres and Abellán, 1998):

$$N > \frac{V_{exc}}{Kc \cdot f_s \cdot B_{max} \cdot A_e} \quad (52)$$

donde Kc es un factor que depende del tipo de topología. Para este caso en particular, por tratarse de un puente completo (formado por dos semipuentes, el de la etapa inversora y el de la no inversora) es 2.

Una vez hallado el número de espiras del primario, el siguiente paso consiste en diseñar el número de espiras del secundario. En este caso como se requiere la misma tensión y corriente en el secundario, se ha escogido el mismo número de vueltas. Cabe destacar que esta relación de transformación es muy frecuente en este tipo de transformadores.

El siguiente paso en el diseño del transformador consiste en seleccionar el diámetro adecuado del conductor. Para ello se debe conocer la profundidad de penetración que ofrece el cable a la frecuencia de trabajo (ver ecuación (30) y de esta extraer la superficie útil del cable de un diámetro d dado:

$$S_{util} = \pi(d\delta - \delta^2) \quad (53)$$

Teniendo en cuenta la S_{util} resultante, para la selección del diámetro del conductor se recurre a una tabla de referencia AWG normalizada (ver Tabla 2). Atendiendo a dicha tabla y teniendo en cuenta la longitud del cable necesario, se puede deducir el diámetro útil mediante la ecuación (54). Una vez deducido se comprueba si el D_{util} puede soportar la corriente RMS. De no ser así habría que repetir el cálculo con una sección de cable que si se adapte.

$$D_{util} = 2 \sqrt{\frac{S_{util}}{\pi}} \quad (54)$$

Otra solución consiste en emplear hilo de Litz. En este tipo de hilos, si están bien diseñados, el radio de cada hebra es inferior a la profundidad de penetración, ofreciendo una sección transversal mínima. Además esto puede resultar interesante en aquellos casos en los que la ventana del transformador presente un índice de ocupación muy elevado, no permitiendo un diámetro mayor.

Por último, para garantizar que las pérdidas del transformador (ver ecuación (55) no superan el máximo permitido, se ha tenido en consideración las pérdidas en el cobre P_{cu} (ver ecuación (56) y las pérdidas del núcleo P_{core} (ver ecuación (57)).

$$P_{Total} = P_{cu} + P_{core} \quad (55)$$

$$P_{cu} = R \cdot I_{RMS}^2 = \rho \frac{MTL \cdot N}{A_{cu}} \cdot I_{RMS}^2 \quad (56)$$

$$P_{core}/cm^3 = \Delta B_{real}^{2.4} \cdot (K_H \cdot f_s + K_E \cdot f_s^2) \quad (57)$$

$$\Delta B_{real} = \frac{L \cdot \Delta I_{MAX}}{N \cdot A_e} \cdot 10^4 \quad (58)$$

donde MTL es la longitud media de cada vuelta (cm), ΔB_{real} es la variación de inducción real, K_H ($4 \cdot 10^{-5}$) y K_E ($4 \cdot 10^{-10}$) son coeficientes relacionados con el efecto de histéresis y las corrientes de Eddy respectivamente.

Tabla 2: Tabla normalizada AWG y corrientes máximas soportadas

Codigo AWG	Diametro del conductor (mm)	Ohmios por kilometro	Amperaje maximo para distancias cortas	Amperaje maximo para distancias largas
0000	11.684	0.16072	380	302
000	10.40384	0.202704	328	239
00	9.26592	0.255512	283	190
0	8.25246	0.322424	245	150
1	7.34822	0.406392	211	119
2	6.54304	0.512664	181	94
3	5.82676	0.64616	158	75
4	5.18922	0.81508	135	60
5	4.62026	1.027624	118	47
6	4.1148	1.295928	101	37
7	3.66522	1.634096	89	30
8	3.2639	2.060496	73	24
9	2.90576	2.598088	64	19
10	2.58826	3.276392	55	15
11	2.30378	4.1328	47	12
12	2.05232	5.20864	41	9.3
13	1.8288	6.56984	35	7.4
14	1.62814	8.282	32	5.9
15	1.45034	10.44352	28	4.7
16	1.29032	13.17248	22	3.7
17	1.15062	16.60992	19	2.9
18	1.02362	20.9428	16	2.3
19	0.91186	26.40728	14	1.8
20	0.8128	33.292	11	1.5
21	0.7239	41.984	9	1.2
22	0.64516	52.9392	7	0.92
23	0.57404	66.7808	4.7	0.729
24	0.51054	84.1976	3.5	0.577
25	0.45466	106.1736	2.7	0.457
26	0.40386	133.8568	2.2	0.361
27	0.36068	168.8216	1.7	0.288
28	0.32004	212.872	1.4	0.226
29	0.28702	268.4024	1.2	0.182
30	0.254	338.496	0.86	0.142
31	0.22606	426.728	0.7	0.113
32	0.2032	538.248	0.53	0.091

Implementación del circuito de disparo

El circuito de disparo está compuesto a su vez por dos circuitos idénticos que trabajan alternativamente (ver Figura 55). Gracias a este diseño se consigue un aislamiento entre ambos circuitos, entre la parte de control y la de potencia. Para garantizar su adecuado funcionamiento, se ha dimensionado para que pueda proporcionar la corriente, en el tiempo demandado por los transistores.

Para lograr un completo aislamiento entre el driver con respecto al resto, se han tomado las siguientes medidas en el diseño:

- *Aislamiento entre driver y la fuente de alimentación.* Para conseguir este aislamiento se han utilizado dos fuentes de alimentación aisladas modelo

SKA40A-15 de la casa MEAN WELL, que permiten un aislamiento de hasta 1500 V_{DC}. Estas fuentes presentan una tensión a su salida de 15 V, proporcionando hasta 2.67 A. Dicha tensión y corriente garantizan la adecuada activación del transistor (ver hojas de características del transistor IXFK80N60P).

- *Aislamiento entre el driver y el μC .* La señal de entrada procedente del microcontrolador (μC) se transmite hacia los drivers TC4421 (etapa inversora) y TC4422 (etapa no inversora) a través de un integrado de aislamiento digital ISO7420. Una de sus principales características es la capacidad de aislamiento, siendo capaz de soportar tensiones de pico de más de 4000 V y una tensión RMS de hasta 2500 V durante 1 minuto. Otra de las características importantes es la frecuencia de conmutación máxima, siendo capaz de trabajar hasta 1 Mbps. Por último se destaca la sencillez de conexión ISO7420 a los buffers TC4421 y TC4422 gracias a la compatibilidad de señales.
- *Aislamiento entre el driver y el transistor.* Para este aislamiento se ha utilizado un núcleo en forma de toroide TN32/19/13. El material escogido ha sido el 3F3 adaptándose perfectamente a la frecuencia de trabajo (ver Tabla 1). A dicho núcleo se le han arrollado tres vueltas de cable de 1 mm esmaltado, tanto en el primario como en el secundario. Como se ha podido comprobar, esta configuración no presenta problemas de saturación electromagnética. En cuanto a la sección del cable, se ha elegido dicho diámetro realizando la conversión a diámetro útil según las ecuaciones (53) y (54) expuestas anteriormente. Como resultado se ha obtenido un diámetro útil de 0.71 mm que según la Tabla 2 corresponde a una corriente mínima permitida de 1.2 A.

En cuanto a los buffers de potencia TC4421 y TC4422, se trata de integrados capaces de proporcionar una señal de tensión equivalente a la de la fuente de alimentación y una corriente de hasta 9 A. Mediante el trabajo alterno de estos buffers, se consigue una tensión simétrica tras ser filtrada por una capacidad de desacoplamiento cerámica de 1 μF . Dicha señal excita el primario del transformador de impulsos (*TR1* y *TR2*), consiguiendo excitar el núcleo en el primer y tercer cuadrante (ver Figura 36).

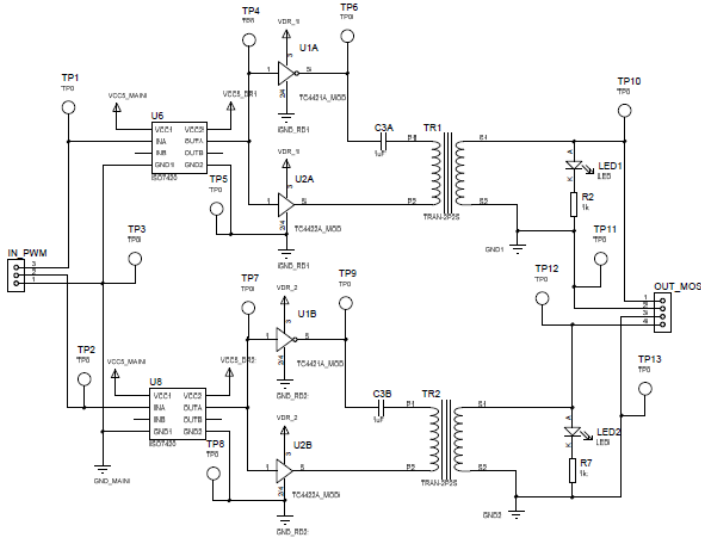


Figura 55. Circuito de disparo de los transistores

El resultado de la implementación se muestra en la Figura 56, en donde se puede apreciar su distribución simétrica y el posicionado de todos los elementos.

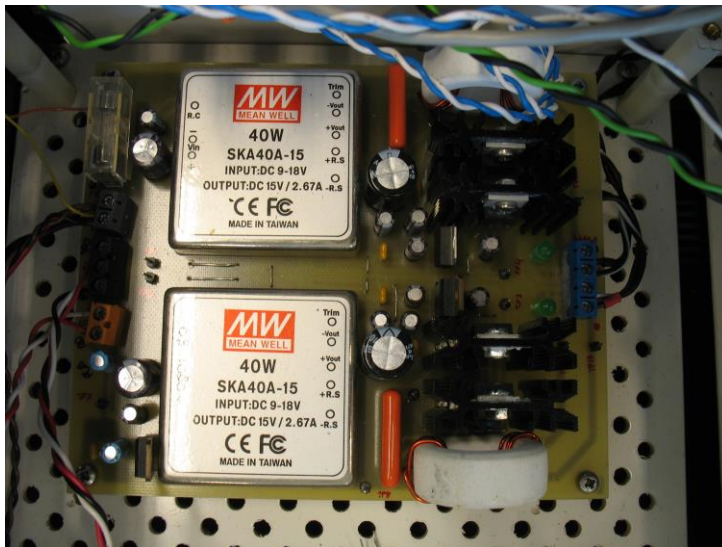


Figura 56: Driver aislado para los transistores de potencia

Tratamiento de la señal de disparo

Como se puede apreciar en la Figura 57, la señal resultante a la salida del transformador de impulsos dista mucho de ser ideal. Dicha señal ha sufrido un deterioro importante debido principalmente al estado de transición del transistor y a las inductancias y capacidades parásitas del circuito. Este problema se suele agravar debido principalmente a la inductancia parásita de los cables hasta alcanzar el transistor (ver Figura 58). Estas oscilaciones resultan negativas y pueden crear desde un estado de incertidumbre en la conmutación hasta la ruptura del aislamiento de puerta.

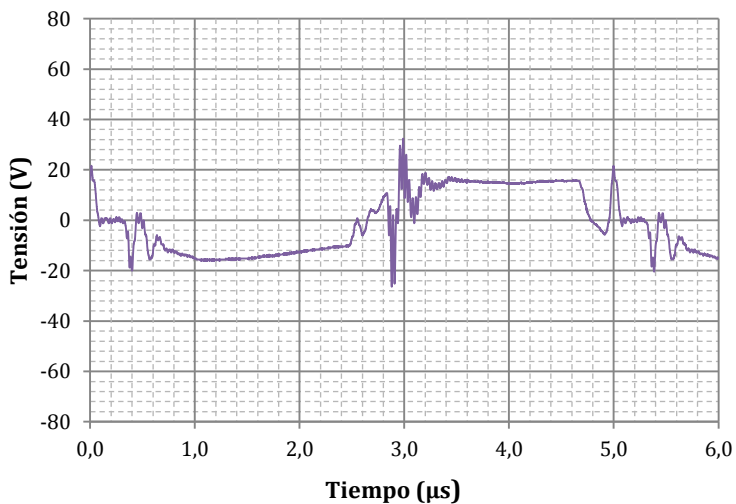


Figura 57. Señal de disparo a la salida del driver

Ante este problema, una buena solución consiste en utilizar filtros pasivos y limitadores de tensión (ver Figura 59). En primer lugar, la señal procedente del circuito de disparo pasa por tres resistencias de carbón en paralelo, que sirven como limitadoras de corriente. A extremos de estas se produce un pequeño recorte de la señal, como se puede apreciar en la Figura 60. La señal resultante pasa por una serie de diodos zener de 15 V que conducen a masa cualquier señal que exceda de dicha tensión. Como se puede apreciar en la Figura 59, cada rama de diodos zener está compuesta por dos diodos en antiparalelo, de esta forma se consigue filtrar tanto los ciclos negativos como los positivos.

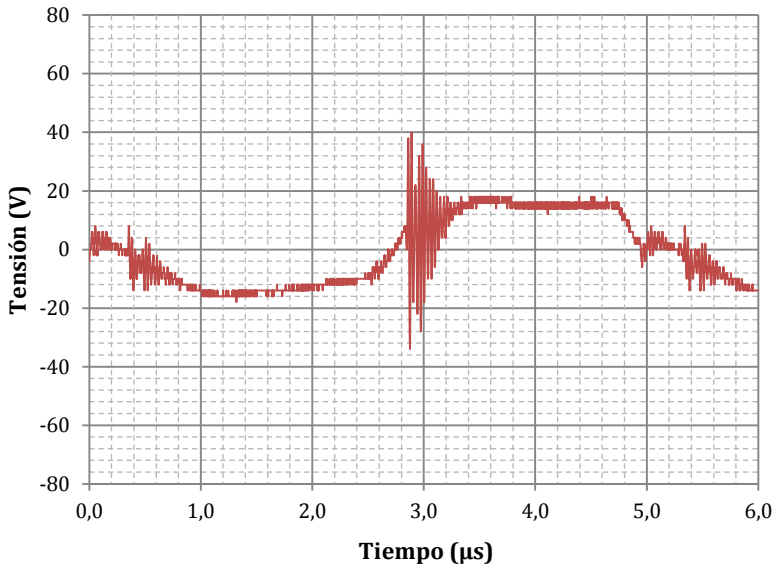


Figura 58. Señal de disparo a la entrada de la placa de adaptación del transistor

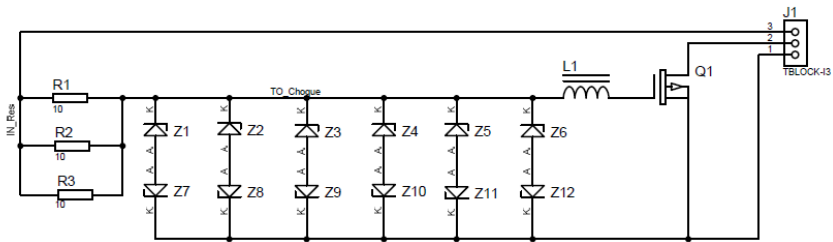


Figura 59. Circuito de filtrado de la señal de disparo

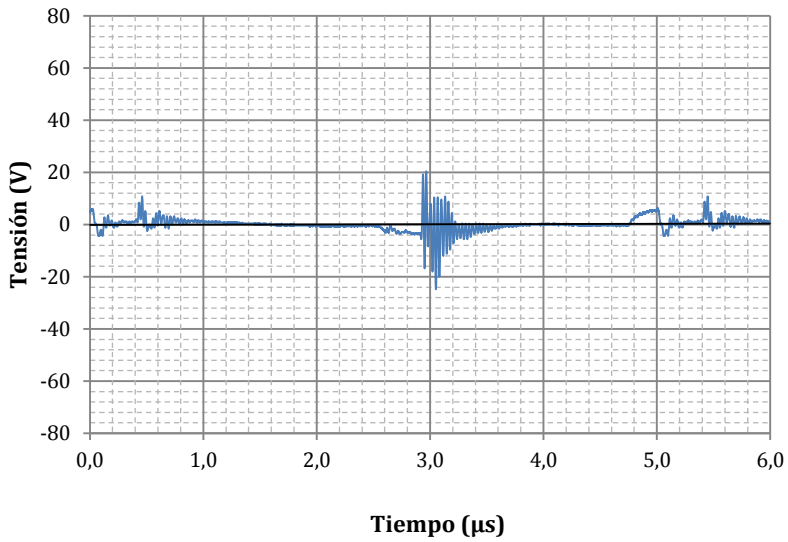


Figura 60. Señal en la resistencia

Finalmente la señal se hace pasar por una ferrita de choque que se comporta como un filtro pasa banda (ver Figura 61).

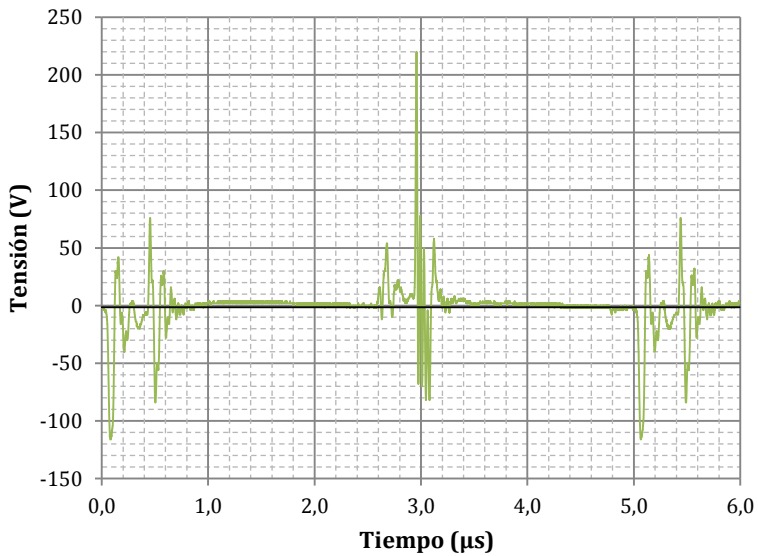


Figura 61. Señal filtrada por el choque

La señal resultante ya reconstruida se puede apreciar en la Figura 62.

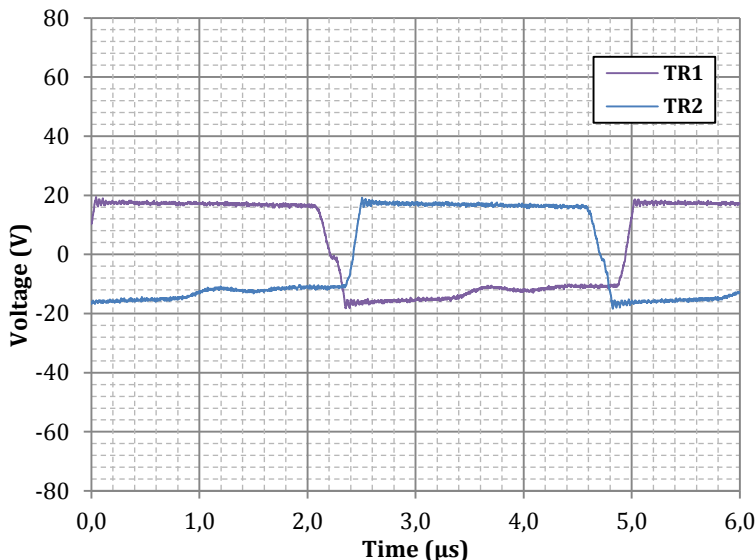


Figura 62. Señal de disparo reconstruida en los terminales GS del transistor

El circuito de reconstrucción de señal, está dispuesto sobre el transistor de potencia para minimizar los bucles de corriente. Las resistencias trabajan en paralelo y están unidas a un disipador metálico que a su vez sirve de elemento de fijación al disipador de aluminio. Otro de los aspectos que se ha tenido en cuenta en la selección de componentes es que estos no tengan un comportamiento inductivo. Por ello se han escogido resistencias de película de carbón (Severns and Reduce, 2006). En cuanto a los diodos zeners se han implementado cinco parejas en paralelo, siendo capaces de disipar una potencia de hasta 25 W. Además la placa se ha taladrado permitiendo que el aire forzado pueda fluir a través de los agujeros para refrigerar dichos diodos. Por último, el choque utilizado (*Wüth Elektronik; Ref: 742701712*) se encarga de filtrar las señales más elevadas de 1 MHz, disipando la energía al ambiente en forma de calor. Al final del capítulo se muestra un estudio térmico de este último para asegurar su correcto funcionamiento (ver apartado 4.1.2.).

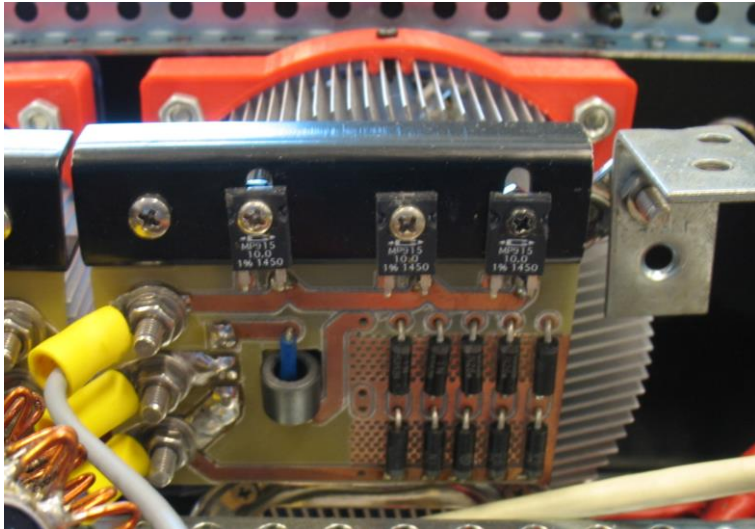


Figura 63: Circuito de reconstrucción de la señal de disparo

2.3.6. Transformador de potencia

El transformador está compuesto básicamente por un núcleo ferromagnético y por dos o más devanados. En su implementación práctica existen infinitas configuraciones, siendo imposible que los fabricantes las abarquen todas en su catálogo. Por ello también se incluye los componentes por separado, pudiendo realizar un diseño a medida para la aplicación en cuestión.

En este apartado se van a introducir todos los elementos a tener en cuenta para el diseño de un transformador de potencia, adaptado al equipo. Para ello el diseño se basa en una serie de ecuaciones que se describirán a continuación. Una vez expuesta la fase de diseño se muestran los resultados prácticos. Estos resultados muestran, por un lado, la caracterización del transformador y por otro, las pruebas de campo.

Diseño del transformador de potencia

La aplicación que se ha desarrollado está diseñada para obtener un gran campo en el inductor de trabajo, requiriéndose una elevada corriente. Trabajar con corrientes elevadas en los transistores del semipunto, implica utilizar transistores de muy alto amperaje lo que se traduce en un elevado coste. Una forma mucho más eficiente de diseño, consiste en utilizar un transformador que revierta dicha corriente en tensión,

manteniendo la potencia. De esta forma, el secundario del transformador ofrece una baja tensión y una elevada corriente y al contrario en el primario.

El transformador de potencia que se ha utilizado ha sido diseñado a piezas. En primer lugar, se ha seleccionado el núcleo ferromagnético. Los fabricantes de núcleos magnéticos disponen de un amplio catálogo de materiales, dependiendo de la respuesta en frecuencia, la temperatura de trabajo, disipación térmica, etc. Uno de los principales parámetros en la selección del núcleo, es el material del que está compuesto. Este debe de elegirse teniendo en cuenta la frecuencia a la que se vaya a trabajar (ver Tabla 1).

La forma del núcleo y sus dimensiones son también un factor decisivo en la configuración del transformador, afectando a su comportamiento. Estas características se pueden deducir o extraer de los datos de las hojas de especificaciones del fabricante. Por ejemplo Ferroxcube proporciona en sus hojas de características: las dimensiones del núcleo (ver Figura 64), la longitud efectiva (l_e), el área efectiva (A_e), el volumen efectivo (V_e), la permeabilidad relativa (μ_r) y el campo de saturación a una frecuencia determinada (B_{sat}). A partir de estos datos se pueden resolver de forma directa, otros parámetros que son útiles para el diseño del transformador, como puede ser el área de la ventana de bobinado (W_a), el área producto ($A_p [m^2]$), el área superficial del núcleo (A_t), la longitud por vuelta del núcleo (MLT) o la constante geométrica del núcleo ($K_g [m^5]$). A continuación se muestran las ecuaciones de un estudio teórico para un núcleo tipo E.

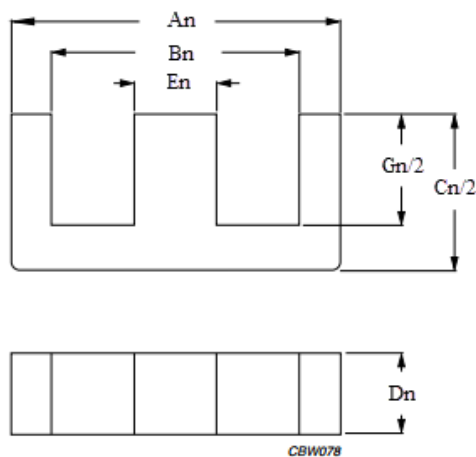


Figura 64. Dimensiones del núcleo E80/38/20 de Ferroxcube

El W_a hace referencia al área de ventana que queda libre en el transformador y se deduce de:

$$W_a = G_n \cdot \left(\frac{B_n - E_n}{2} \right) \quad (59)$$

El A_p es un parámetro que está relacionado con el área del núcleo y la superficie de bobinado. Este se puede calcular conociendo el A_e facilitado por el fabricante y el resultado de la W_a :

$$A_p = A_e \cdot W_a \quad (60)$$

El parámetro A_t relaciona el A_p con la superficie efectiva del transformador. Este parámetro resulta útil para los cálculos de la disipación térmica y puede calcular por mediación de la siguiente ecuación:

$$A_t = 39.2 \cdot A_p^{0.5} \quad (61)$$

La ecuación (62) relaciona el diámetro del cable con las dimensiones del carrete que permite el núcleo seleccionado. Esta ecuación es válida solo para la primera capa de un carrete cuadrado. Para las capas sucesivas se debe tener en cuenta el diámetro alcanzado por la capa del devanado anterior.

$$MLT = 2 \cdot (E_n + 2F_{carrete}) + 2 \cdot (D_n + 2F_{carrete}) + 2\pi d_{cable} [m] \quad (62)$$

El parámetro K_g se puede extraer directamente de los parámetros físicos del transformador, en relación con el MLT (63). Este valor se utiliza como patrón para determinar de forma rápida si el núcleo se adapta a las especificaciones de inducción electromagnética, frecuencia, tipo de señal, potencia de salida y regulación. Para que el diseño sea correcto se debe garantizar que $K_g > K'_g$ (64) y (65).

$$K_g = \frac{W_a \cdot A_e^2 \cdot K_u}{MLT} \quad (63)$$

$$K_e = 0.145 \cdot K_f^2 \cdot (f_s)^2 \cdot (B_m)^2 \cdot 10^{-4} \quad (64)$$

$$K'_g = 1.25 \cdot \frac{P_t}{2 \cdot K_e \cdot \alpha} \quad (65)$$

donde K_e es la constante eléctrica, f_s la frecuencia de conmutación, B_m es la variación real máxima del campo, que para el caso del H-B puede deducir de la ecuación (66), P_t la potencia aparente total que soporta el transformador (ver ecuación (67)), α el factor de regulación que habitualmente es 5 % y K_u es el factor de utilización y se suele tomar un valor de 0.4.

$$B_m = \frac{V_{pri}}{8 \cdot A_e \cdot N_1 \cdot f_s} \quad (66)$$

$$P_t = P_o \left(\frac{1}{\eta} + 1 \right) \quad (67)$$

A partir de los resultados anteriores se puede obtener la densidad de corriente mediante la ecuación (68). Esta magnitud se utiliza para el cálculo del área del cobre del primario, que se relaciona con la corriente del primario y se puede deducir mediante la ecuación (69).

$$J_{max} = \frac{P_t}{K_f \cdot K_u \cdot B_{real} \cdot f_s \cdot A_p} \quad (68)$$

$$A_{wp} = \frac{I_1(rms)}{J_{max}} \quad (69)$$

El siguiente paso en el diseño del transformador consiste en calcular las pérdidas del conjunto. Al igual que en el transformador de impulsos estas pérdidas están originadas por dos factores: las pérdidas del cobre (de primario y secundario) y las pérdidas del núcleo. Las pérdidas del cobre están relacionadas con la resistividad del cobre y se pueden obtener aplicando la ecuación (31). Esta ecuación tiene en cuenta la resistividad del material conductor (ρ) a la temperatura de trabajo (ver ecuación (31)), su área transversal efectiva (S_{pri}) y la distancia total de los cables. Aplicando la ecuación (71) se obtiene la potencia referida a los distintos núcleos de cobre. A continuación, empleando la ecuación empírica (72), se obtienen las pérdidas en el núcleo en un determinado volumen. Las constantes de dicha ecuación están relacionadas con el tipo de material y suele proporcionarlas el fabricante. En el caso de que el fabricante no las proporcione, alternativamente puede ofrecernos un gráfico con dichas pérdidas relacionadas con la frecuencia de trabajo y la inducción (ver Figura 65).

$$R = \rho \frac{L_{cable}}{S_{eff}} \quad (70)$$

$$P_{cu} = R \cdot I_{rms}^2 \quad (71)$$

$$P_N = k \cdot f^m \cdot B^n \quad (72)$$

El valor de pérdidas del núcleo por unidad de volumen se calcula mediante la ecuación (73). La potencia total resultante se obtiene de la suma de las potencias obtenidas por ambos devanados y las del núcleo (74). Finalmente empleando las ecuaciones (75) y (76) se obtiene el incremento de temperatura al que estará sometido el transformador trabajando en las condiciones de diseño.

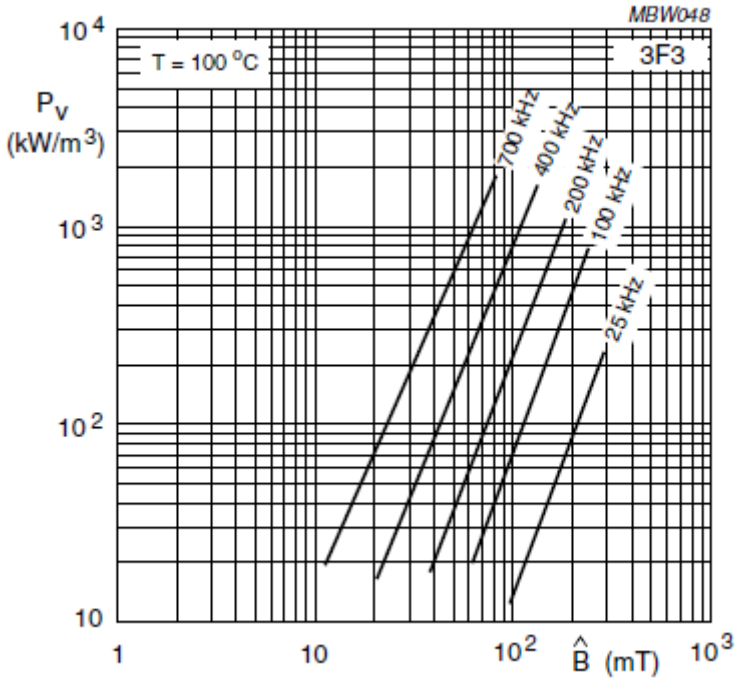


Figura 65. Potencia específica en función de la densidad de flujo y de la frecuencia de trabajo

$$P_V = P_N \cdot V_e \quad (73)$$

$$P_\Sigma = P_V + P_{cu} \quad (74)$$

$$\psi = \frac{P_\Sigma}{A_t} \quad (75)$$

$$T_\Delta = 450 \cdot \psi^{0.826} \quad (76)$$

Dependiendo de la temperatura ambiente a la que esté sometido el transformador y del incremento de temperatura que se obtenga, el resultado puede ser válido o no. En el caso que el incremento no sea válido, se requiere modificar el diseño para que se adapte a las

especificaciones. Para conseguir una menor pérdida se puede aumentar su sección o el número de vueltas, que influiría disminuyendo la corriente requerida. Por otro lado, también se podría seleccionar un núcleo de mayor volumen que ofrezca una mejor disipación. No obstante ambas opciones presentan inconvenientes, requiriendo un estudio previo que ayudaría a alcanzar las condiciones más óptimas del diseño. Por un lado utilizar un núcleo mayor implica un encarecimiento del diseño. Esto mismo ocurre si se aumenta el diámetro de los conductores, ya que el cobre suele ser caro, sobre todo cuando se trabaja con cables de hilo de Litz. Por otro lado emplear un mayor número de vueltas requiere una mayor tensión de excitación y más espacio, resultando inapropiado si el factor de ocupación (K_u) es demasiado elevado.

El factor K_u (ver ecuación (80)) permite asegurar que el volumen ocupado por los devanados (sin aislante) se adapta al espacio de la ventana del transformador. Para ello no se debe sobrepasar el 40%. Además de este factor también es importante que el cableado con aislante se adapte al hueco existente, asegurándose que el número de vueltas debe ser siempre un entero. A continuación se muestran las ecuaciones para su cálculo:

Para el número de espiras por capa:

$$N_{Esp} = floor\left(\frac{W_H}{d_{cable}}\right) \quad (77)$$

Para el número de capas:

$$N_{Cap} = ceil\left(\frac{N_{Deb}}{N_{Esp}}\right) \quad (78)$$

donde N_{Deb} es el número de vueltas total del devanado.

Para que este cálculo sea correcto se debe cumplir que la longitud ocupada por las capas de los devanados sea inferior a la anchura del núcleo.

Mediante la ecuación (79) se puede calcular el área del devanado primario y el secundario A_{cables} . La suma de ambas áreas se puede relacionar con el área del núcleo A_{nucleo} para obtener el factor de utilización K_u como se indica en la ecuación (79).

$$A_{cables} = d^2 \cdot N_{esperas} \cdot N_{capas} \quad (79)$$

$$K_u = \frac{A_{cables}}{W_a} \quad (80)$$

Tanto el factor de utilización, como el ancho que ocupan los devanados, son factores críticos en el diseño del transformador y es aconsejable que no superen 0.5. Al igual que ocurría con la restricción anterior, en caso de que se supere, el núcleo debería ser sustituido por uno de mayores dimensiones.

Caracterización experimental del transformador

Un transformador real puede modelizarse mediante tres componentes electrónicos: la inductancia de fugas o de dispersión (L_d), la inductancia de magnetización (L_{mg}) y un transformador ideal (ver Figura 66).

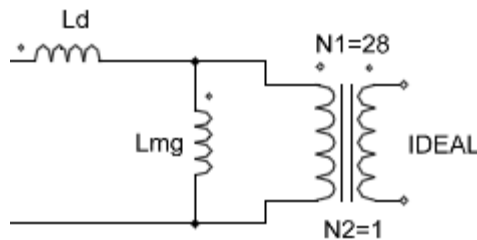


Figura 66: Modelo del transformador real

El factor de transformación está determinado por la relación de vueltas entre el primario y el secundario. Esta relación normalmente es conocida o bien porque esté especificada en las hojas de características del fabricante o porque se haya implementado artesanalmente. En cambio, las inductancias L_d y L_{mg} no son datos que el fabricante suele incluir. Una forma sencilla aunque aproximada de obtener la L_{mg} , se puede hallar mediante la siguiente ecuación:

$$L_{mg} = A_L \cdot N_1^2 \quad (81)$$

donde A_L es el factor de inductancia (dato proporcionado por el fabricante del núcleo), y N_1 son las espiras del primario.

El resultado teórico de L_{mg} supone un acoplamiento perfecto de los inductores con el núcleo magnético, que difícilmente suele ocurrir. En cambio a través de una serie de pruebas experimentales se puede obtener fácilmente, tanto esta magnitud como la inductancia de dispersión L_d .

El citado método consta de dos experiencias prácticas:

1. La primera experiencia parte de la suposición de que L_d es despreciable frente L_{mg} y que el secundario está en vacío y por ello no circula corriente a través de él. Partiendo de esta premisa tan solo se tiene en cuenta que la corriente circula por el primario. De esta forma lo que se pretende conseguir es que el secundario quede aislado del primario, no afectando en la medida. Para determinar la inductancia L_{mg} se utiliza un circuito auxiliar, tal cual se puede apreciar en la Figura 67. Este circuito está compuesto por una resistencia y una capacidad, que se conectan a los terminales del primario del transformador. Tomando la frecuencia de resonancia del sistema, se puede deducir la inductancia empleando la ecuación (82). La inductancia obtenida debe considerarse L_{mg} ya que en esta configuración L_d se considera nula (ver Figura 67 superior). Para determinar la frecuencia de resonancia se debe tener en cuenta que la impedancia en un circuito RLC paralelo es máxima a dicha frecuencia, obteniéndose por lo tanto un máximo de tensión en bornes del transformador.
2. El segundo de los ensayos tiene la finalidad de deducir la inductancia de dispersión. Para ello se supone que al cortocircuitar el secundario se cortocircuita también la L_{mg} , quedando únicamente la inductancia de dispersión (ver Figura 67 inferior). Al igual que en el caso anterior la inductancia L_d se deduce del resultado experimental y aplicando la ecuación (82). Para ello se debe de tomar como nula la inductancia L_{mg} .

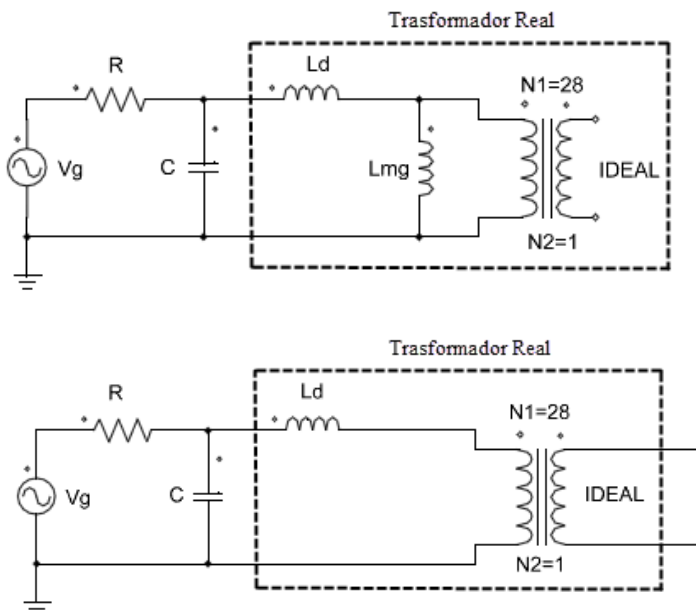


Figura 67. Esquema práctico de ensayo del transformador en vacío (superior) y en cortocircuito (inferior)

$$L_{mg} + L_d = \frac{1}{(2 \cdot \pi \cdot f_{res})^2 \cdot C} [H] \quad (82)$$

Se concluye que cuanto menor sea la inductancia de dispersión, en comparación con la inductancia de magnetización, mejor es el acoplamiento del transformador. Por ello, para conseguir mejorar el acoplamiento del primario con el secundario existen varias recomendaciones, todas ellas enfocadas en minimizar la inductancia de dispersión. Entre las distintas estrategias, se contempla la idea de utilizar núcleos con una permeabilidad magnética mayor, minimizar el número de vueltas, colocar los bobinados intercalados e incluso utilizar hilo de Litz.

Implementación del transformador de potencia

Para esta implementación se ha elegido el núcleo E80/38/20 de material ferromagnético 3F3 (ver Tabla 1) de la marca Ferroxcube. Este se ha implementado próximo al inductor de trabajo, con el ánimo de minimizar el conductor del secundario y su resistencia asociada. En el primario del transformador se han arrollado 28 vueltas de hilo de Litz compuesto por 660 hebras de calibre 38 AWG equivalente a un calibre total 10 AWG. Para conseguir una elevada corriente en el secundario tan solo se ha arrollado una vuelta de tubo de 6.4 mm de 0.8 mm de espesor.

En la Figura 68 se puede apreciar la respuesta de la permeabilidad con respecto a la frecuencia del campo inducido, dependiendo del material seleccionado. La frecuencia de corte del material 3F3 permite trabajar hasta 2 MHz, ancho de banda más que suficiente para esta aplicación (200 kHz).

En la Figura 69 se puede apreciar el resultado de la implementación del transformador. Como detalle, se destaca que dicha implementación se ha realizado en una carcasa aparte. Esto, además de permitir alejarlo de la etapa de RF aproximadamente 1 m, también sirve de gran utilidad para el usuario ya que permite su desplazamiento cómodamente dentro del área de trabajo. El circuito tanque se ha completado con una batería de 25 condensadores en paralelo (117.5 nF) de película metálica de polipropileno modelo B32633A2472J de la marca EPCOS®. El condensador resultante se ha emparejado en serie con la inductancia de trabajo de 5.3 µH resonando a una frecuencia de 200 kHz.

La unión de estas capacidades en serie resulta ideal para este tipo de aplicaciones ya que al disponerlas en paralelo se reduce sustancialmente su resistencia interna ESR. Además este tipo de capacidades no polarizadas es capaz de soportar grandes picos de tensión, lo que resulta muy aconsejable en resonancia.

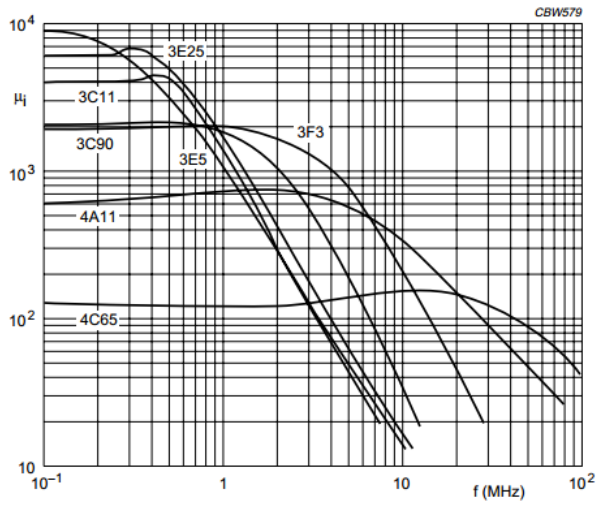


Figura 68. Permeabilidad en función de la frecuencia (Mcllyman, 2004)



Figura 69: Detalle del transformador de potencia

2.3.7. Circuito de potencia

Implementación del circuito de potencia

En la Figura 70 se puede apreciar el circuito de potencia. Este circuito representa básicamente un inversor resonante H-B adaptado para soportar las tensiones y corrientes necesarias para esta aplicación.

Mediante la conmutación de dos transistores MOSFET de canal N, descritos en el apartado 2.3.4. de este capítulo, se consigue una señal cuadrada. Para su conmutación, el driver descrito en el apartado 2.3.5., se conecta a través del conector J1 a unas resistencias de polarización y al cable que comunica con el filtrado de la señal de disparo. Gracias a estas resistencias (R10 y R20) se garantiza un estado bajo, en los momentos de indeterminación del driver. Estos estados son normales en la puesta en marcha y paro del inversor y deben evitarse ya que pueden provocar la destrucción de los transistores.

Cuando el circuito entra en conmutación, los desfases de tensión y corriente del sistema resonante producen fuera de la resonancia corrientes inversas que deben conducirse a la alimentación o a la masa del circuito. El diodo de recirculación parásito del transistor MOSFET puede encargarse de dicha función. No obstante, su respuesta de recuperación inversa suele ser lenta en comparación con la fase de apagado. Este dato se puede apreciar en las hojas de características del componente, en donde el tiempo t_{off} es de 41 ns frente al tiempo de recuperación inverso que es de 520 ns. Si se decidiera utilizar este tipo de diodos en el transitorio de apagado, el diodo de recirculación parásito bloquearía dicha corriente, provocando transitorios de tensión muy elevados que podrían llegar a destruir el transistor. Para evitar este problema se han implementado dos redes de diodos: una sirve para bloquear la corriente inversa y la otra para ofrecer un camino alternativo de la corriente. Por un lado, los diodos D10 y D20 se encargan de bloquear la corriente inversa, inutilizando el diodo interno del MOSFET. Por otro lado, la red de diodos D11-D12 y D21-D23 conducen las corrientes inversas proporcionando un camino alternativo a la corriente bloqueada por los transistores.

En cuanto al diseño de los diodos D10 y D20, un parámetro crítico en su diseño es la corriente directa de funcionamiento. Los diodos deben de ser capaces de soportar una corriente igual o superior a la demandada. Para ello se ha utilizado un diodo Schottky modelo STPS80170CW de ST[®] capaz de producir una conmutación rápida de hasta 80 A con una tensión umbral muy baja. En cuanto a la red de diodos D11-D12 y D21-D23, se ha implementado mediante tres diodos rápidos de 14 A en paralelo modelo STW45NM50 de IXYS, capaces de soportar una tensión inversa de hasta 600 V. Los 35 ns de respuesta inversa de estos diodos garantizan un camino más rápido que el ofrecido por el MOSFET, reconduciendo hacia ellos dicha corriente.

Por otro lado, se encuentra el banco de capacidades conectado directamente con el terminal J4. Dicho terminal junto con el terminal J3 están conectados a los bornes del primario del transformador (ver apartado 2.3.6 del este capítulo). El divisor capacitivo que forman se ha implementado con dos bancos de 5 capacidades modelo

Capítulo 3 Equipo de Hipertermia Electromagnética

B32673P4225K000 de la marca EPCOS® en paralelo, capaces de soportar hasta 450 V y una corriente directa I_{RMS} de hasta de 20 A (capacidades C101-C105 y C201-C205)

Por último, los condensadores C1-C3 tienen como función la estabilización del bus de continua a la salida del filtro de suavizado. De esta forma, se compensan las pequeñas inductancias parásitas que produce el cableado y sirven para filtrar las oscilaciones de alta frecuencia presentes.

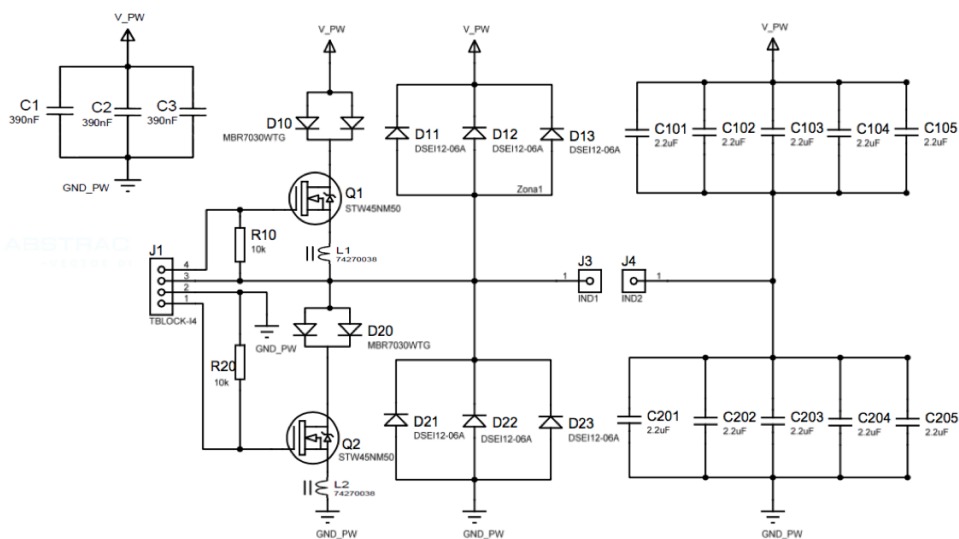


Figura 70. Circuito de potencia

En la Figura 71 se puede apreciar la distribución de los componentes citados anteriormente. El diseño de la PCB se ha realizado con un espesor de placa de 70 μm que permite según el estándar IPC-2221 una corriente de hasta 3.86 A/mm con un ΔT^a de hasta 10 $^{\circ}\text{C}$. En el diseño de la PCB se ha utilizado una separación de al menos 2 mm entre pistas, debido a la elevada tensión del BUS de continua (325 V). Con ello, lo que se pretende evitar son pequeños arcos eléctricos en operación (Jones, 2004). Por último, a modo de protección se ha instalado en la PCB un fusible de 10 A en la entrada del BUS de continua, para evitar daños mayores en caso de cortocircuito.

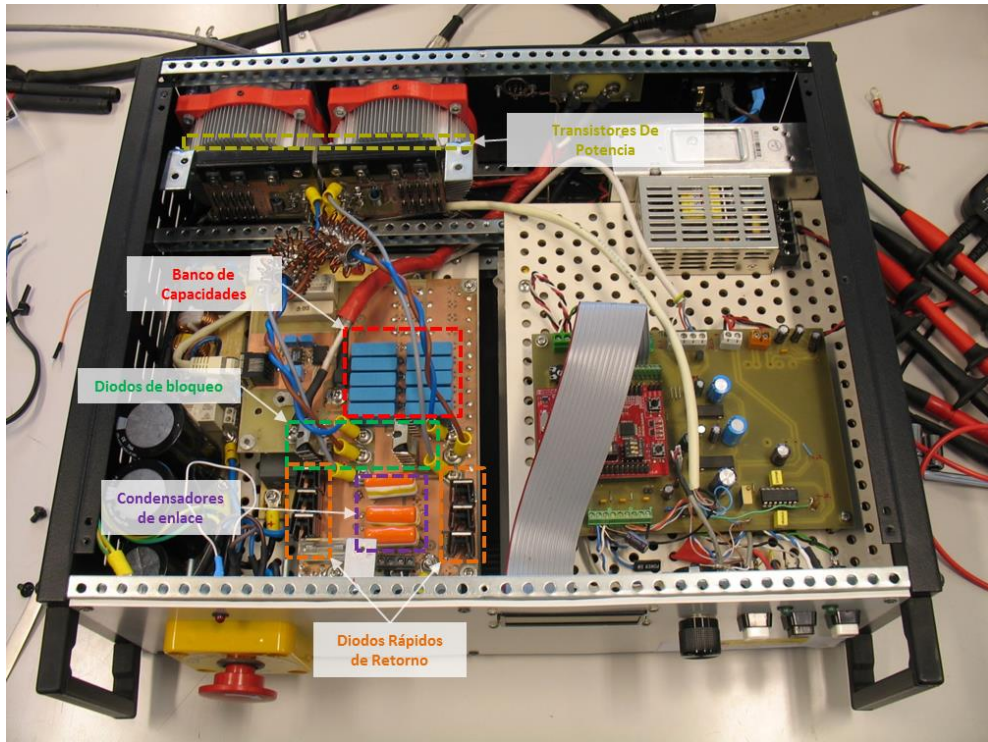


Figura 71: Detalle de distribución de elementos

Estrategia de ayuda a la conmutación

Los picos de tensión registrados en las conmutaciones a apagado/encendido debidos principalmente a capacidades e inductancias parásitas, pueden resultar peligrosas para la integridad de los componentes del circuito de conmutación. Como se puede apreciar en la Figura 72, los transitorios de conmutación del transistor son críticos, registrándose tensiones en torno a 400 V para el apagado y fuertes oscilaciones en el encendido. Estos transitorios producen una disipación de potencia elevada que puede resultar fatal si se repite a lo largo del tiempo.

Para solucionar este problema, se ha utilizado un filtro compuesto por un choque de potencia supresora de EMIs (*Wüth Electronic; Ref: 74270038*). Dicha ferrita apenas presenta una atenuación para frecuencias por debajo de 500 kHz. En cambio, su atenuación resulta considerable a partir de 1 MHz (ver Figura 73), transformando estas oscilaciones de alta frecuencia en forma de calor. En cuanto a su implementación, se ha dispuesto sobre el cable que une la placa con el surtidor (B. Maurice, 2011) (ver Figura 70 componentes L1, L2).

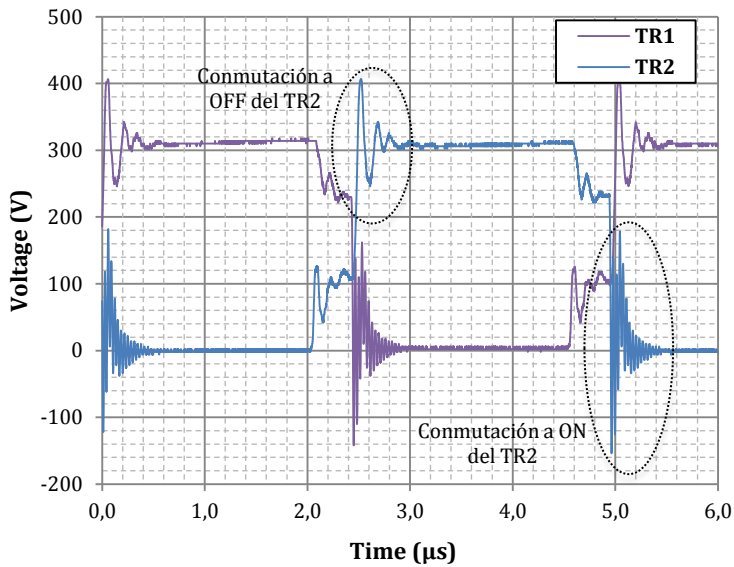


Figura 72. Señal de DS antes del filtrado

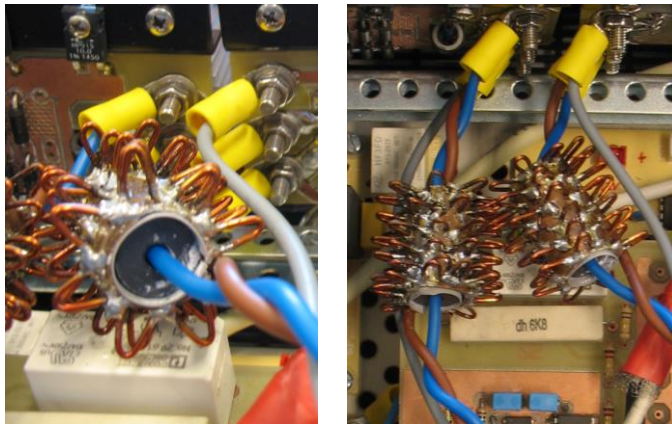


Figura 73: Ferrita de choque con disipador para el filtrado de la señal de potencia

Como se puede apreciar en la Figura 74 la señal filtrada queda libre de oscilaciones bruscas, ajustándose en gran medida al patrón ideal. A continuación, en el apartado 4.1.2., se realiza un estudio térmico de las ferritas para garantizar que estas no exceden su temperatura máxima de operación.

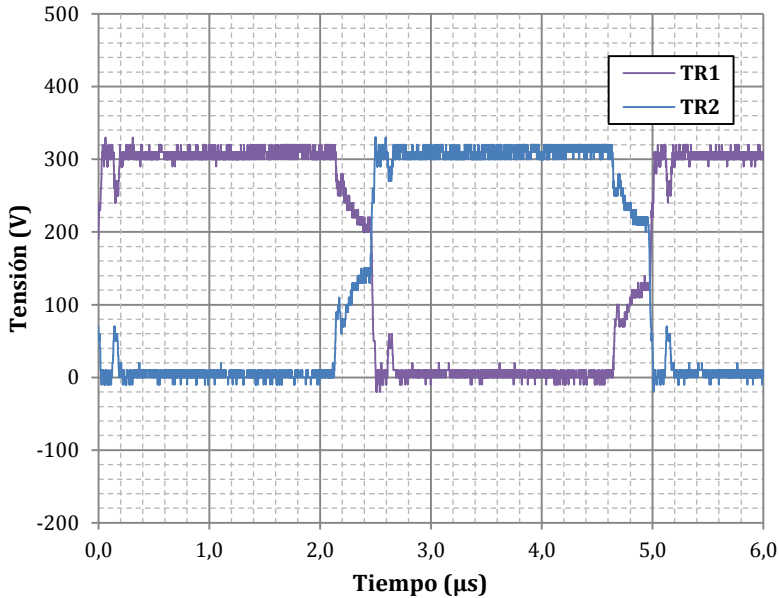


Figura 74. Señal de los transistores después del filtrado

2.3.8. Circuito de control del equipo

Implementación del circuito de control

El circuito de control (ver Figura 75) está basado en la placa de desarrollo Launch Pad XL C2000 de Texas Instruments. Esta placa incorpora un μC TMS320F2827 de 32 bits capaz de trabajar a una frecuencia máxima de 60 MHz. La principal tarea de esta placa es la de gobernar cada una de las partes del sistema.

A grandes rasgos, esta placa controla:

- *El interfaz de usuario.* Compuesto por una pantalla alfanumérica LCD 2x16 caracteres, un par de pulsadores y un potenciómetro. Gracias a estos, el usuario puede navegar por los distintos menús y ajustar los distintos parámetros de operación.
- *El circuito de maniobra.* Compuesto básicamente por tres relés. Gracias a estos se maneja la tensión de red conectando y desconectando el circuito de potencia y cargando y descargando el condensador de suavizado. Su activación y

desactivación se realiza excitando la bobina mediante un transistor BJT gobernado por una salida digital del μC .

- *El circuito de potencia.* Se controla mediante dos salidas digitales que enlazan con el circuito de disparo (ver apartado 2.3.5. de este capítulo). Estas líneas están conectadas a unos pines que están enlazados a un módulo PWM, facilitando la tarea de control y programación de frecuencia.
- *Sensor.* El sensor sirve para medir la tensión alcanzada en el condensador de suavizado y se conecta a través del puerto analógico (ADC) del μC . Para su implementación se ha utilizado un optoacoplador HCNR200 que garantiza un aislamiento efectivo de hasta 1414 V de pico. Básicamente este optoacoplador está compuesto por un fotodiodo y un diodo led. Conforme va aumentando la tensión en el filtro de suavizado, la intensidad lumínica del led aumenta, produciendo mayor corriente en el fotodiodo. Para convertir dicha corriente en tensión se ha utilizado un amplificador en configuración de transimpedancia. Este hace la función de filtro gracias a la capacidad C42. Este condensador forma un polo a una frecuencia de 159 Hz (ver ecuación 83)), frecuencia muy inferior a la de corte del amplificador operacional OPA137. Esto evita inestabilidades y oscilaciones a su salida (Graeme, 1996). A la salida del AO se ha incorporado un diodo zener de 3.3 V que sirve como limitador, evitando sobrepasar la tensión máxima de entrada del puerto ADC.

$$f_{\text{polo}} = \frac{1}{2\pi R_F C_F} [\text{Hz}] \quad 83)$$

El control del equipo, se ha realizado en bucle abierto ya que no resulta necesaria una configuración más compleja. A diferencia del caldeo ferromagnético, el bajo volumen de NPMs apenas altera el CMA y no se llegan a apreciarse desfases significativos entre la tensión y corriente. El control se simplifica sustancialmente traducándose en un descenso del precio final del equipo.

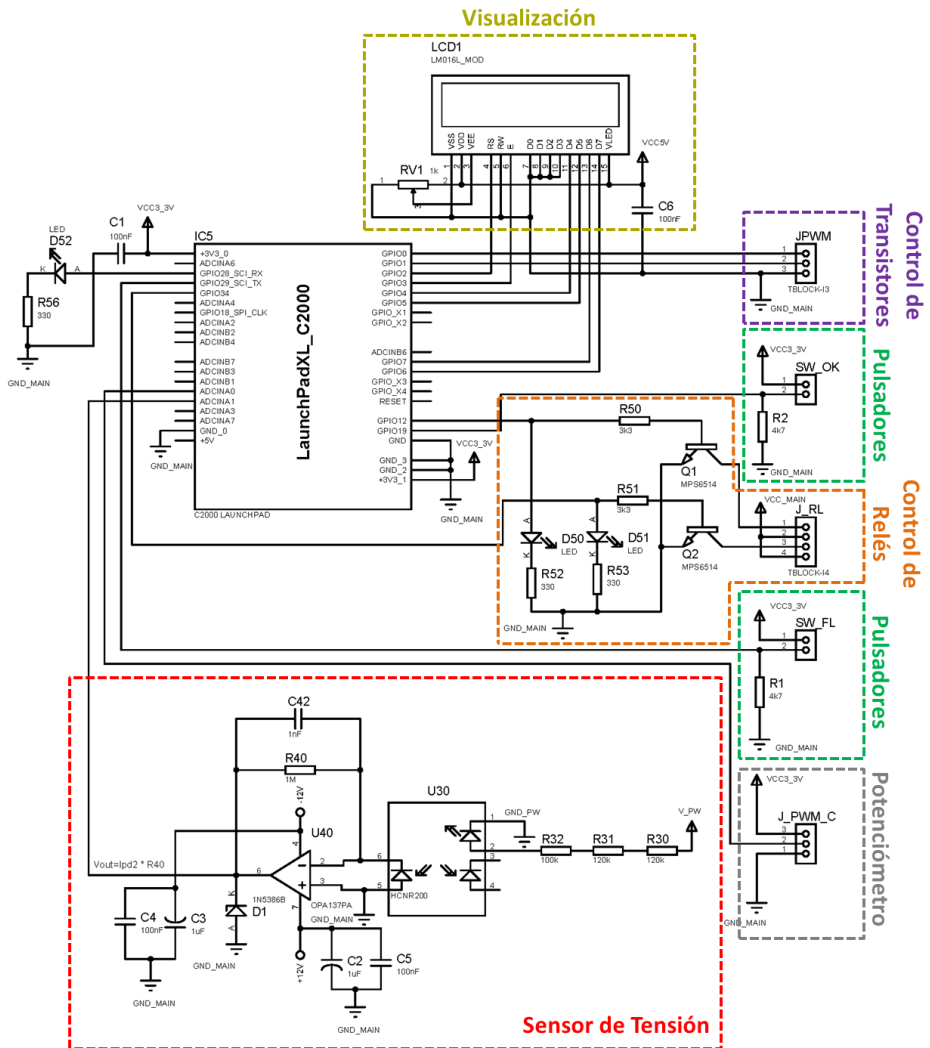


Figura 75: Esquema del circuito de control

En la Figura 76 se puede apreciar la disposición de las distintas partes del sistema de control.

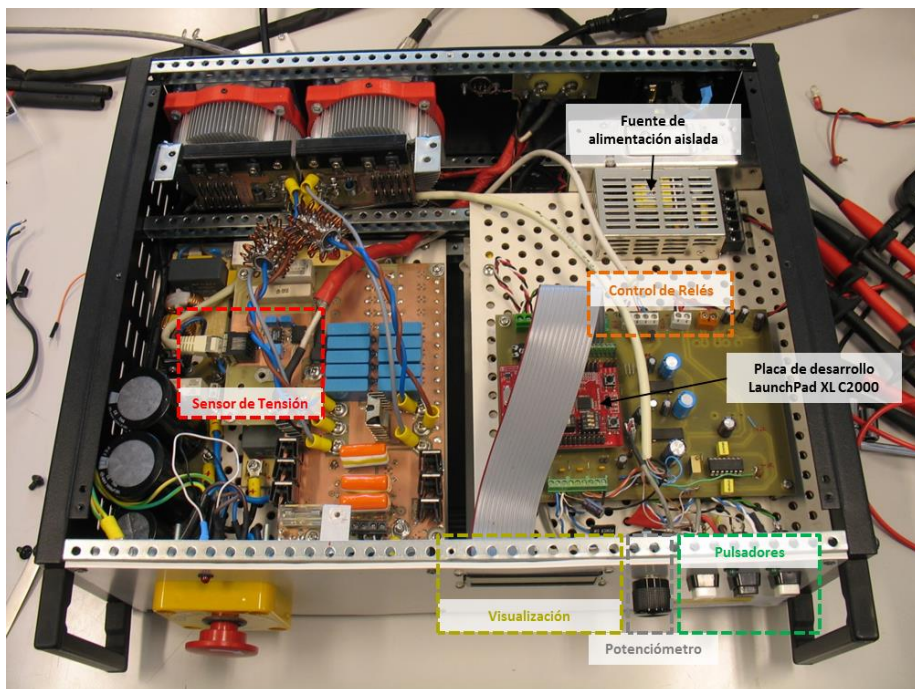


Figura 76: Detalle de la distribución del sistema de control

2.4. Respuesta en frecuencia del circuito tanque ante la etapa de excitación

Idealmente, un circuito tanque que trabaja a la frecuencia de resonancia logra un desfase nulo entre la tensión y la corriente. En la práctica, esto no sucede así ya que siguen existiendo pequeños desfases entre la corriente y la tensión. En el caso de un circuito tanque serie, si la frecuencia de trabajo es menor que la de resonancia, el sistema se comporta capacitivamente, adelantando la corriente a la tensión. Caso contrario ocurre si la frecuencia es superior a la de resonancia, en la que la corriente se retrasa con respecto a la de la tensión, comportándose el sistema de forma inductiva (Segura, 2012). Frente a esta situación se hace necesario disponer de unos interruptores que permitan soportar tensión en un solo sentido y corrientes en directo y en reverso.

2.4.1. Comportamiento en resonancia

Como se puede apreciar en la simulación de la Figura 77 (superior) la corriente y la tensión están en fase. A partir del instante t_1 el transistor Q_1 se mantiene en cortocircuito y el Q_2 en abierto. Este estado no cambia hasta el instante t_2 , en donde los dos transistores conmutan. Gracias a la condición de ZCS (*zero current switching*) ninguno de los

transistores sufre pérdidas en la conmutación. Al estar en fase ambas señales, tampoco se produce una circulación inversa de la corriente, por lo que los diodos de recirculación permanecen inactivos durante todo el ciclo (ver Figura 77 inferior).

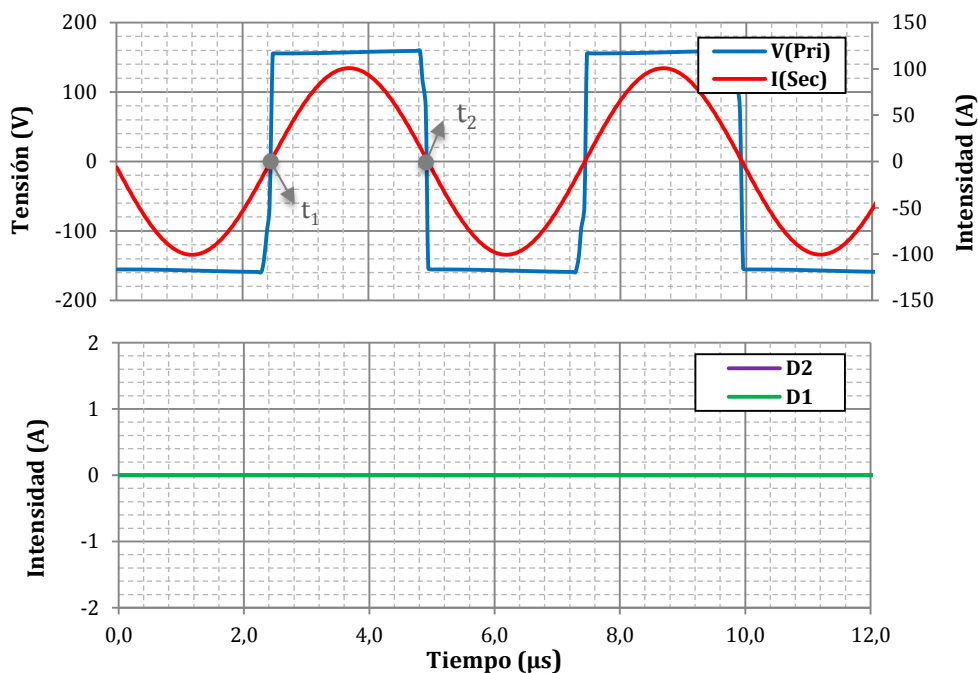


Figura 77. Simulación del comportamiento fase de la tensión y corriente

2.4.2. Comportamiento capacitivo

En Figura 78 (superior) se muestra el desfase que se produce entre la tensión y la corriente cuando el circuito se comporta de forma capacitiva. Partiendo del instante t_1 el interruptor Q_2 se mantiene en abierto, mientras que el Q_1 permanece cerrado. Por este último circula la corriente de forma directa hasta el instante t_2 . A partir de este instante la corriente cambia de sentido de forma suave debido al estado de ZCS, dejando de pasar por el interruptor y circulando en sentido inverso a través del diodo D_1 . En el instante t_3 , la conmutación a apagado de Q_1 se realiza suavemente debido a la condición de ZVS (*zero voltage switching*) ya que la corriente no circular a través de él. En cambio, la conmutación a encendido del transistor Q_2 y el apagado del diodo D_1 se producen de forma brusca. Esto es debido a que en el instante anterior a la conmutación, entre los terminales de Q_2 , se presenta una tensión equivalente a la de conmutación, que se combina con la disrupción de la corriente que circula a través de D_1 (ver Figura 78 inferior). El resultado es una disipación importante de potencia (Esteve, 1999). A partir de este instante y a lo largo de los instantes t_4 y t_5 ocurre el mismo proceso de forma complementaria al transistor y diodo de la otra rama.

La conmutación brusca de apagado de los diodos, genera grandes picos de tensión, siendo un foco importante de EMIs. Debido a la magnitud de los picos generados, la conmutación capacitiva debe evitarse ya que podría llegar a destruir hasta el propio transistor.

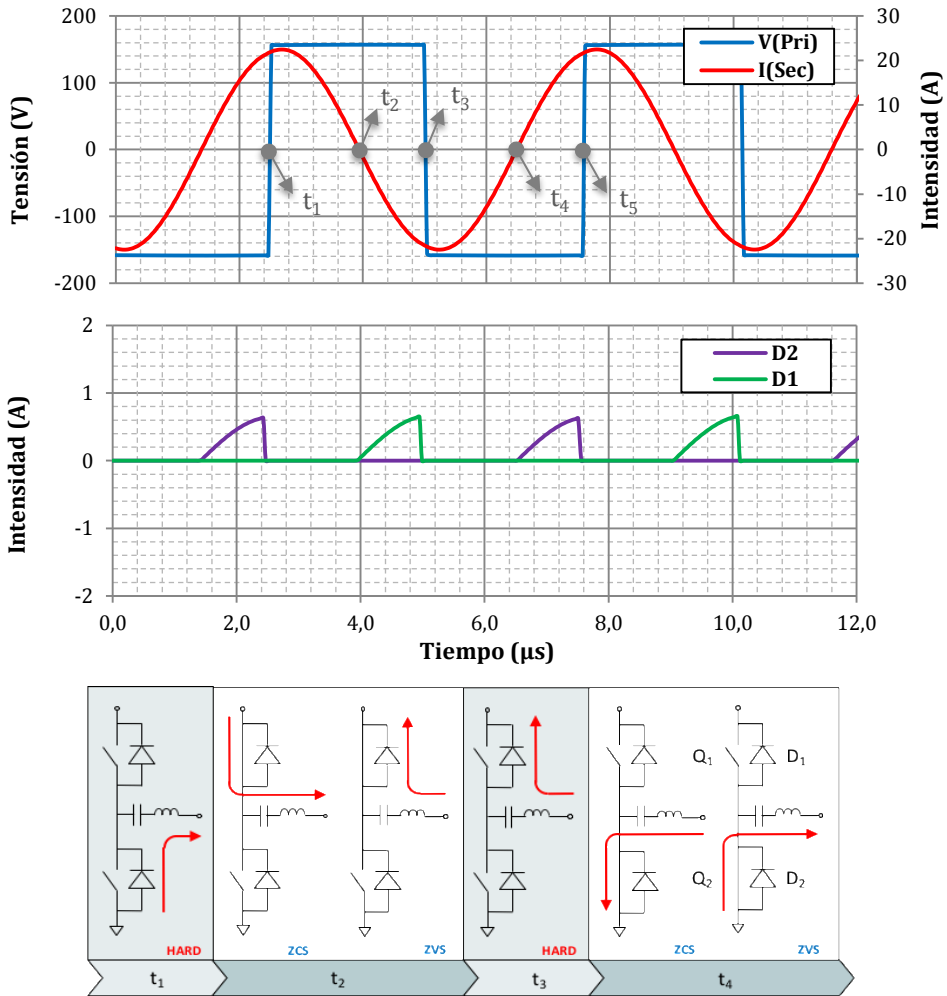


Figura 78. Diagrama temporal de la tensión y corriente a la salida del H-B para un comportamiento capacitivo (superior). Secuencia de conmutación de diodos y transistores (inferior)

2.4.3. Comportamiento Inductivo

El comportamiento inductivo se caracteriza por el retraso que presenta la corriente respecto a la tensión. Tomando como referencia la Figura 79 (superior), en el instante t_1 el transistor Q_1 se mantiene en abierto mientras que el Q_2 permanece cerrado. En este instante la corriente circula en sentido inverso a través del diodo D_1 . Esta situación se mantiene hasta que se alcanza el instante t_2 , donde la corriente cambia de sentido de forma suave gracias al estado ZCS, comenzando a circular a través de Q_1 . En el instante t_3 el transistor Q_1 se abre y la tensión comienza a crecer entre sus terminales, disipándose potencia hasta que la corriente que circula a través de él, se extingue por medio del diodo D_2 . Mientras que en Q_1 y D_2 se produce una conmutación brusca, el encendido de Q_2 se realiza de forma suave por el estado de ZVS, debido a que la corriente circula a través de D_2 . Esta secuencia se repite de forma complementaria para los transistores y diodos en el periodo de t_3 a t_5 .

Al igual que en el escenario anterior, el comportamiento inductivo también plantea una conmutación brusca de los transistores y diodos. No obstante, esta conmutación resulta menos agresiva que la capacitiva y es preferible en el caso de que no se produzca una conmutación resonante perfecta.

3. Descripción del firmware del equipo

3.1. Herramientas de desarrollo

El código de la placa del μC TMS320F2827 se ha desarrollado con la herramienta “Code Composer” proporcionada por Texas Instruments. Esta herramienta está derivada del entorno de programación en código abierto Eclipse (ver www.Eclipse.org) que se ha personalizado para los μC de Texas Instruments.

Este software permite la programación y depuración del μC a través de una conexión USB. Gracias a su compilador integrado, permite tanto la programación a bajo nivel, mediante instrucciones de ensamblador, como la programación en alto nivel empleando ANSI C.

3.2. Descripción del código del μC

En la Figura 80 se muestra el diagrama de flujo del firmware del equipo. El programa se ha estructurado en tres secciones: operación, configuración y error. Inicialmente, el micro configura todos los elementos del dispositivo, entre los que se encuentran los flags de configuración de los puertos de entrada/salida analógicos y digitales, del PWM y el temporizador. A partir de este punto, el programa se queda a la espera de recibir los datos de frecuencia de trabajo y el tiempo del experimento. Una vez que el usuario ingrese estos datos, por mediación de la botonera y el potenciómetro, el sistema queda listo para operar.

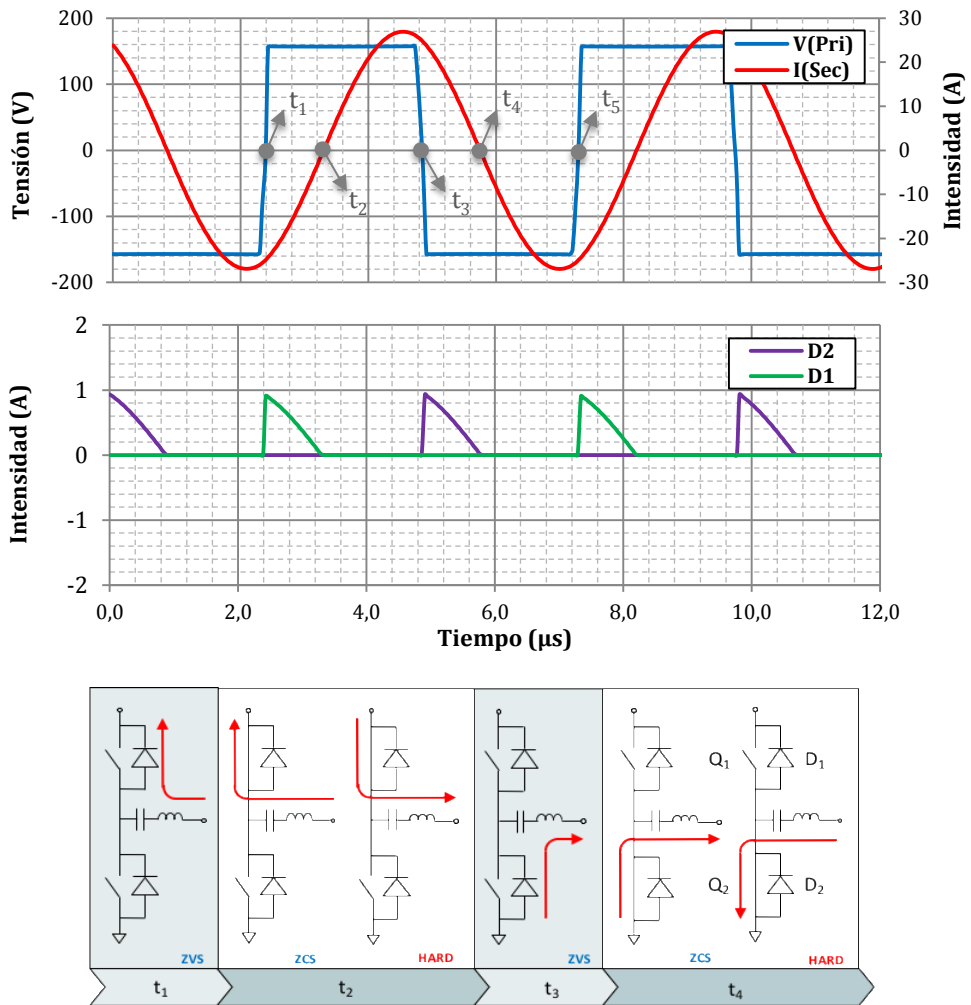


Figura 79. Diagrama temporal de la tensión y corriente a la salida del H-B para un comportamiento inductivo (superior). Secuencia de conmutación de diodos y transistores (inferior)

Llegado a este punto, el usuario tan solo tiene que apretar el pulsador central de la botonera y el sistema se prepara para comenzar el experimento. La primera tarea consiste en cargar el condensador (ver apartado 2.3.3. de este capítulo) hasta alcanzar la tensión de operación. A partir de este momento el equipo comienza a inducir realizando un

arranque suave. Dicho arranque consiste en ir incrementando la corriente que pasa por el inductor poco a poco. Esto se consigue operando inicialmente a una frecuencia superior a la de resonancia, para ir poco a poco reduciéndola hasta alcanzar la frecuencia de trabajo. Con ello, se consigue evitar el pico de corriente que se produce al pasar del estado de reposo al de máxima carga. Mediante esta técnica la corriente que circula por el inductor va aumentando tal cual se aprecia en la Figura 82. Una que vez que el inductor se encuentra funcionando a máxima potencia, el tiempo del experimento comienza a contar, hasta que finalice el tiempo programado o hasta que el usuario decida anularlo. Para que tenga lugar esta última operación el usuario tan solo tiene que pulsar el botón derecho del panel frontal.

En funcionamiento, pueden surgir diversos errores, todos ellos atendidos por una rutina de error que se encarga por un lado de mostrar en pantalla dicho error y por otro de realizar las operaciones oportunas para devolver a un estado seguro al sistema. Entre otros, la rutina principal verifica que todos los parámetros de ajuste están debidamente cumplimentados y que no existe un posible fallo de alimentación, comprobando que el tiempo de carga de los condensadores de suavizado es el adecuado.

Debido a que el equipo está en desarrollo, se ha provisto de un menú oculto de ingeniero (ver Figura 80 sombreado verde). En este menú se puede acceder a la variable de tiempo muerto entre activaciones de transistores. Este tiempo es necesario para evitar un solapamiento de señales entre ambos transistores, que podría provocar pérdidas importantes de potencia o en el peor de los casos llegar a la destrucción de los mismos. Por otro lado, se puede acceder a las funciones de activación manual de los relés, esto resulta muy útil para testear el proceso de carga y descarga del condensador de suavizado. Otra de las funciones actúa sobre el “modo arranque”. Activando y desactivando este parámetro, se actúa sobre el proceso de carga del condensador de suavizado. Esto es muy útil para probar el equipo a baja tensión, no teniendo que esperar a que dicho condensador alcance la tensión de operación. Por último, también se puede configurar el rango de frecuencia de operación, tanto superior como inferior, que permite el ajuste de usuario. Todos estos parámetros están protegidos bajo un código que restringe el acceso al mismo. Cabe destacar que los cambios realizados en este menú no se aplican de forma permanente por lo que reiniciando el equipo se restablecen los parámetros por defecto.

4. Resultados

El equipo implementado se puede apreciar en la Figura 81. Debido a las elevadas corrientes e intensidades que se manejan y para conseguir una mejor portabilidad, este equipo se ha integrado en una carcasa metálica. Para dotarlo de una mayor seguridad se ha dispuesto una seta de emergencia en la parte frontal, capaz de desconectar el circuito de potencia de forma manual. En la parte frontal también se encuentran los tres pulsadores, para moverse entre los distintos menús y un potenciómetro que se utilizan para seleccionar la frecuencia de trabajo. Además gracias a la pantalla LCD alfanumérica, el usuario puede visualizar los distintos menús de una manera amigable.

En cuanto al inductor de potencia, se ha implementado en una carcasa diferente. Su función principal es la de aislar el transformador de potencia junto con las capacidades y el inductor de trabajo. Adicionalmente, mediante esta carcasa se consigue una separación entre él y la etapa de RF. Además de esta forma se consigue alejar la refrigeración líquida del inductor de la etapa de RF, evitándose así posibles desastres en caso de fuga.

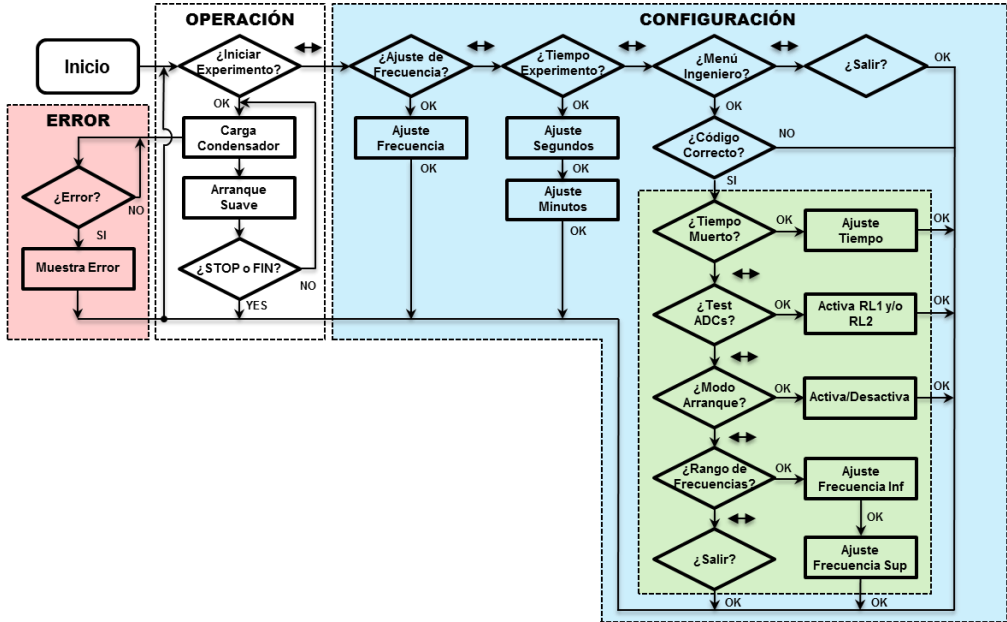


Figura 80: Diagrama de flujo del firmware del equipo de inducción electromagnética

Con el equipo diseñado se han realizado dos tipos de experimentos. El primer experimento se centra en la verificación de las especificaciones propuestas. El segundo trata de demostrar el potencial del equipo en pruebas de campo in vitro. A continuación se describen detalladamente cada uno de estos experimentos mostrando los resultados obtenidos.

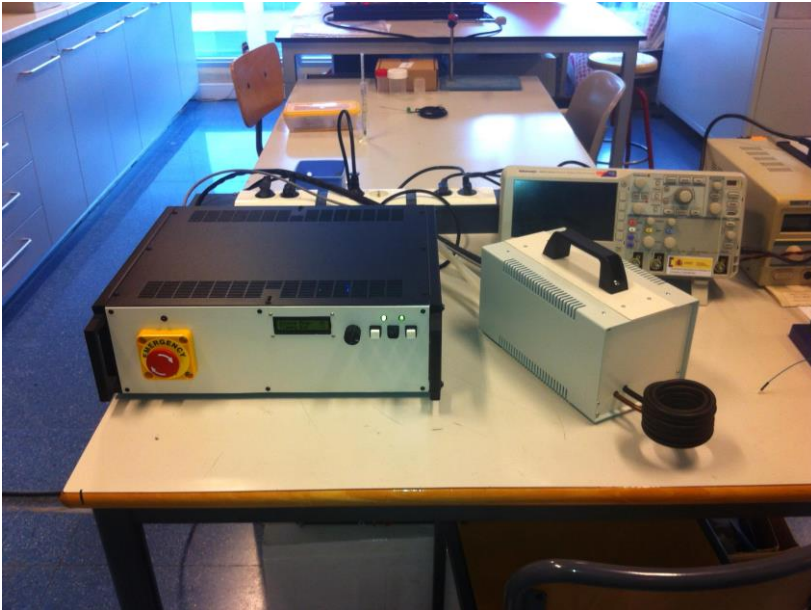


Figura 81: Aspecto exterior del equipo diseñado

4.1. Pruebas de verificación

El objetivo fundamental del prototipo diseñado es proporcionar en el inductor de trabajo una intensidad de campo electromagnético acorde a las especificaciones prefijadas. Además de esto, también se debe garantizar una robustez que permita la estabilidad térmica de todos sus componentes, para ello se requiere un correcto dimensionamiento de todos los componentes. En el diseño también se debe garantizar que el calor producido por la corriente del inductor afecte mínimamente a la muestra.

4.1.1. Caracterización del inductor en frecuencia

El poder calorífico de las NPMs está relacionado con la intensidad y la frecuencia del campo electromagnético. Teóricamente, a mayor intensidad de campo y/o a mayor frecuencia, mayor es el calor producido por el NF. No obstante se debe tener en cuenta que ambos aportan el efecto en conjunto y solo se aprecia el cambio si uno se mantiene y el otro aumenta o disminuye.

Muchos de los inversores resonantes comerciales poseen varios juegos de inductores y capacidades que les permite operar a distintas frecuencias. Cabe recordar que la máxima corriente a través del inductor de trabajo se produce a la frecuencia de resonancia y que fuera de ella, la corriente y consecuentemente la intensidad de campo decae. En este caso

el inversor resonante propuesto solo dispone de una frecuencia de resonancia, que está relacionada con la inductancia y la capacidad equivalente del banco de condensadores. En torno a dicha frecuencia (± 10 kHz) los cambios debidos a la variación de frecuencia apenas afectan al rendimiento calorífico del NF ya que son relativamente pequeños. En cambio en esta horquilla de frecuencias, la intensidad aumenta muchísimo, hasta alcanzar un máximo a la frecuencia de resonancia. De esta forma, a la par que se varía la intensidad de campo, se puede conseguir un mayor o menor poder calorífico en el NF.

En la Figura 82 se muestra un gráfico de test del equipo mostrando la forma de onda de la corriente generada a distintas frecuencias. Para ello se ha partido de la frecuencia de cuasi-resonancia (200.65 kHz) que se ha ido aumentando poco a poco a frecuencias superiores. Cabe destacar, que se ha evitado probar el equipo a frecuencias menores que la de resonancia para evitar los problemas asociados al comportamiento capacitivo. También se muestra en un gráfico superpuesto (gráfico superior derecho) el pico máximo de corriente relacionado con respecto a la variación de la frecuencia.

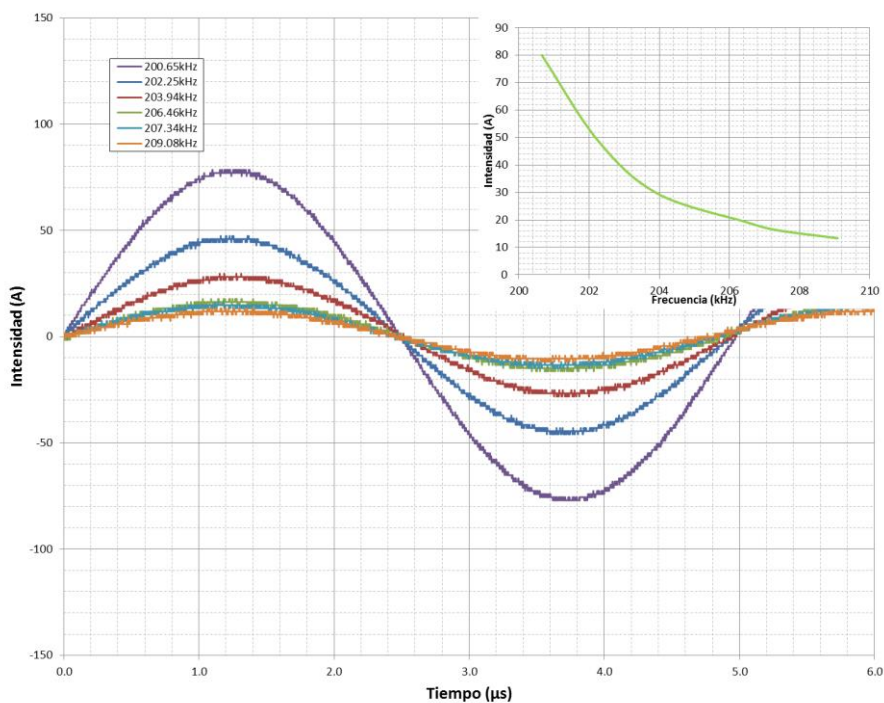


Figura 82. Estudio de la corriente en frecuencia en el inductor de trabajo

4.1.1. Corriente e inducción máxima

La corriente máxima a través del inductor se ha hallado indirectamente midiendo la tensión máxima v_c en bornes de la capacidad C_w (ver Figura 38). Tomando esta tensión y la impedancia de dicho condensador Z_c , se puede obtener la corriente que circula a través del inductor:

$$i_{MAX} = \left| \frac{v_c}{Z_c} \right| = \left| \frac{550V}{-6.747i\Omega} \right| = 81.52 A \quad (84)$$

Por otro lado, para estimar la inducción máxima (B_{MAX}) en la parte central del inductor se puede aplicar la ecuación de Biot-Savart. Cabe recordar que esta ecuación solo sirve en el caso particular de un inductor del tipo solenoide:

$$B_{MAX} = \frac{i_{MAX} \cdot \mu_0 \cdot N_{esp}}{2 \cdot \sqrt{r_{ind}^2 + \left(\frac{l_{ind}}{2}\right)^2}} = 15.92 mT \quad (85)$$

donde i_{MAX} es la corriente máxima que atraviesa el inductor, N_{esp} es el número de espiras, r_{ind} y l_{ind} son el radio del inductor y la longitud respectivamente.

4.1.2. Estudio térmico del equipo

Un aspecto importante a tener en cuenta en el desarrollo del equipo, es su estabilidad térmica trabajando a plena carga. Para ello se debe de comprobar que los componentes implementados se mantienen en condiciones óptimas de temperatura. De no ser así, los componentes más críticos deberían ser sustituidos para garantizar su correcto funcionamiento. Por ello, a continuación se muestra las pruebas térmicas que se han realizado, registrando los distintos puntos calientes del equipo.

La imagen de la Figura 83 recoge una instantánea de la situación térmica después de 30 minutos de funcionamiento a máxima potencia (esta figura se corresponde con la Figura 71). Como se puede apreciar, en dicha figura se presentan 4 puntos calientes que se corresponden a las ferritas de choque del módulo de tratamiento de señal del circuito de disparo (ver Figura 63) y a la ferrita de choque de filtrado de la señal de potencia (ver Figura 73). Quitado estos elementos, que se estudiarán a continuación, el resto de componentes no presenta ningún problema térmico, no superando en ningún caso los 40 °C, (ver la temperatura máxima en resto Figura 83 representada mediante el punto M1 con 36 °C).

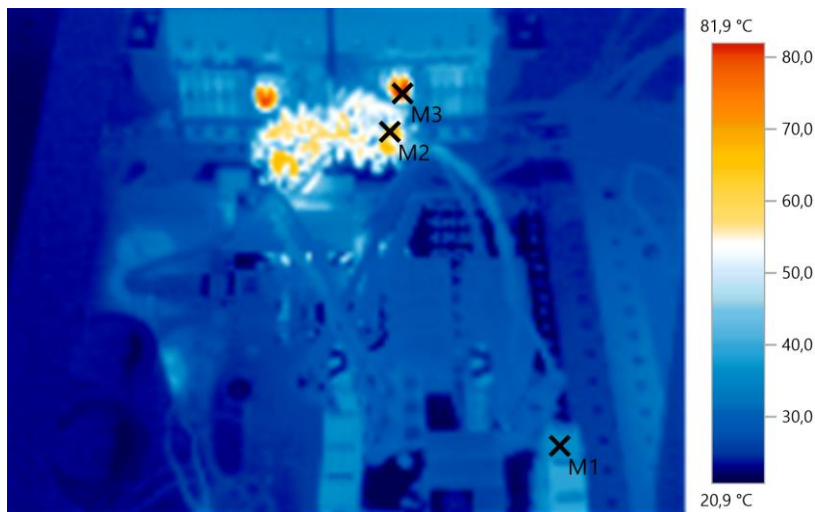


Figura 83: Imagen térmica del área de potencia tras 30 minutos de trabajo donde M1:36.7 °C, M2:69.5 °C (choque de filtrado de señal de potencia), M3:85.3 °C (choque de estabilización de la señal de disparo)

Para estudiar la evolución térmica en las ferritas anteriormente comentadas, es decir en los puntos M2 y M3 se ha tomado tres imágenes térmicas de temperatura a los 10, 20 y 30 minutos (ver Tabla 3). Como se puede apreciar, la potencia transformado en calor por la ferrita, localizada en el punto M2, mantiene una temperatura por debajo de 70 °C, siendo muy inferior a la temperatura máxima de trabajo que según el fabricante es de 105 °C. En parte esto es debido al disipador de cobre que se fabricó expresamente (ver Figura 73). En cuanto a la ferrita de choque utilizada para la reconstrucción de la señal de disparo, la temperatura alcanzada es de 85.3 °C, siendo el máximo de operación, según el fabricante, de 125 °C. Según estos datos existe un gran margen de operación, no obstante se ha estudiado su evolución temporal para ver si se produce una estabilización. En la Tabla 3 también se puede apreciar como en los 10 primeros minutos el sistema alcanza 83.5 °C y 67.1 °C en los puntos M2 y M3, suponiendo un incremento muy brusco. No obstante a partir del minuto 10 la temperatura comienza a estabilizarse, apreciándose incrementos de temperatura entre el minuto 20 y 30 de apenas 0.5 °C.

Otro de los elementos críticos en el diseño son los condensadores del circuito tanque, debido a la enorme corriente y tensión que circula a través de ellos. En la Figura 84 se puede apreciar que a máxima potencia, tras 30 minutos de funcionamiento, la mayor temperatura alcanzada se mantiene por debajo de 44 °C, manteniéndose en este caso también muy por debajo de la temperatura de operación (110 °C). No obstante para evitar posibles problemas de refrigeración, dentro de la carcasa se ha instalado un ventilador capaz de suministrar un flujo constante de aire.

Tabla 3: Evolución térmica de las ferritas de choque para el filtrado de la señal de disparo (M2) y el filtrado de la señal de potencia (M3)

Tiempo (minutos)	M2	M3
10	83.5	67.1
20	84.8	68.9
30	85.3	69.5

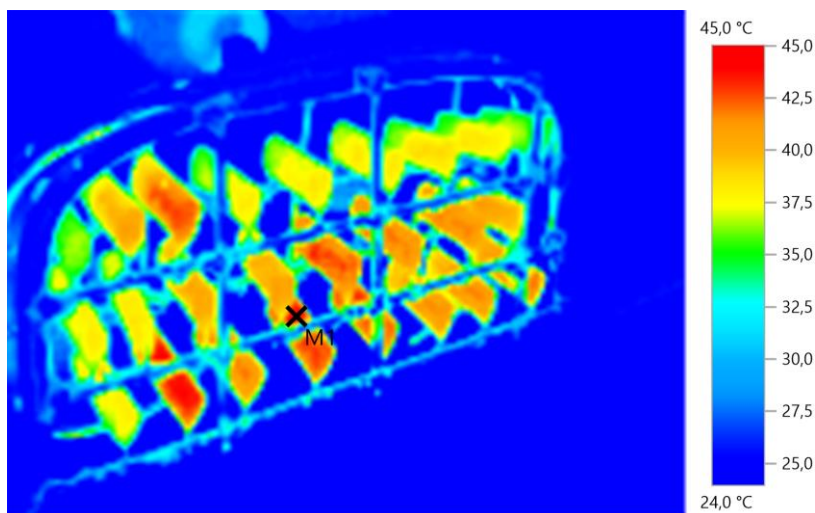


Figura 84: Máxima temperatura registrada en el banco de condensadores de potencia referenciada mediante el punto M1 (43.8 °C)

Por último se ha revisado también el circuito de disparo. Tal cual se puede apreciar en la Figura 85 la temperatura máxima registrada en el transformador de impulsos, punto M1 apenas sobrepasa los 40 °C, no representando riesgo alguno en la integridad del equipo.

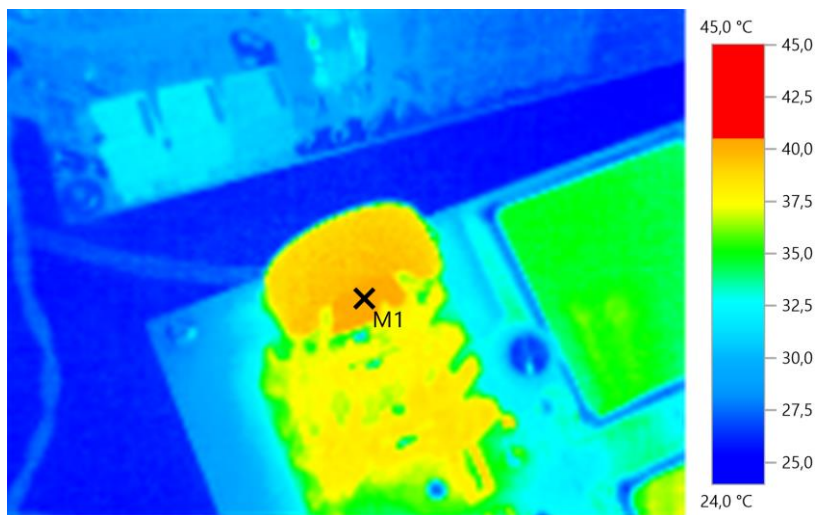


Figura 85: Temperatura máxima registrada en el driver de los transistores de potencia 40.3 °C (M1)

4.3. Pruebas in vitro con NPMs

Como se ha podido comprobar, el diseño y la implementación han sido exitosos. No obstante, el equipo no se puede validar si no supera las pruebas relacionadas con su aplicación práctica. Para ello, se realizaron experimentos de 20 minutos a máxima potencia en los que se registró la temperatura de una suspensión de NPMs diseñadas por el instituto de investigación (IDM). El experimento en sí constó de dos etapas: elaboración y caracterización de las NPMs y determinación del rendimiento térmico de las NPMs que a continuación se desarrollan en detalle.

4.3.1. Síntesis de las nanopartículas y caracterización

Síntesis

Las NPMs-SP de óxido de hierro utilizadas en este trabajo fueron obtenidas a partir del método de coprecipitación, aplicando algunas modificaciones al procedimiento descrito por Zhang *et al.* (Zhang *et al.*, 2011). En una síntesis típica, se hacen reaccionar 12 g de FeCl_3 con 6 de H_2O y 4.9 g de FeCl_2 con 4 de H_2O en 50 ml de agua destilada a 80 °C, sobre la que se hace pasar una corriente de argón. A continuación, se sube el pH de la reacción añadiendo 19.53 ml de amoníaco al 32%, dando lugar a la formación instantánea de un precipitado negro. Al cabo de 30 min se añaden 2.13 ml de ácido oleico y la reacción se deja agitando a 80 °C durante otros 90 min. El material obtenido se

centrifuga y se lava tres veces con agua destilada, seguido de tres lavados con etanol. Finalmente, las NPs se dejan secando en vacío. Una vez obtenido el material seco, se pesa y se vuelve a suspender en cloroformo a la concentración deseada, dando lugar a un ferrofluido de color negro.

El recubrimiento de oleico de las NPMs permite controlar el tamaño de las mismas durante la síntesis y facilita su dispersión en disolventes orgánicos como el cloroformo. Sin embargo, en los experimentos llevados a cabo en este trabajo fue necesario realizar un cambio de fase con el fin de suspender las nanopartículas en agua. Este proceso fue realizado utilizando el bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB), un surfactante catiónico que se intercala entre las cadenas alifáticas del ácido oleico, exponiendo los grupos polares y facilitando la suspensión de las nanopartículas en agua. (Fan, 2004)

Caracterización

Previo a la experimentación práctica, es de suma importancia realizar una buena caracterización de las NPMs sintetizadas. Mediante esta caracterización se puede conocer datos muy relevantes que influyen en su rendimiento térmico, como puede ser su composición química, morfológica y magnética:

- La técnica de difracción de rayos X (XRD) fue utilizada para determinar la estructura de las nanopartículas obtenidas, confirmando que el material resultante presenta una estructura de magnetita (Fe_3O_4) (ver Figura 86).

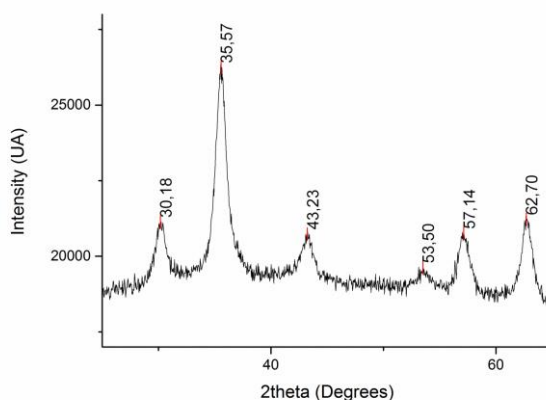


Figura 86: Patrón de difracción obtenido por la técnica XRD. Los números alineados en vertical indican los planos de difracción

- La microscopía de transmisión electrónica (TEM) confirmó la formación de nanopartículas con un tamaño variable entre, 3 y 20 nm de diámetro. La Figura

87 obtenida mediante microscopio electrónico de transmisión (TEM) muestra la morfología de dichas NPMs.

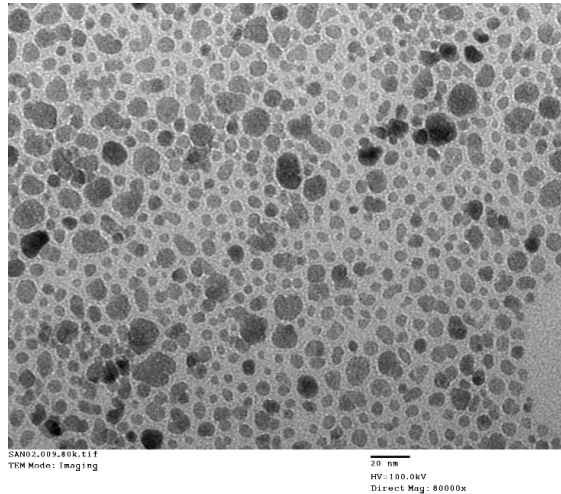


Figura 87: Imagen de las NPMs obtenida por la técnica TEM

- El tamaño hidrodinámico de las nanopartículas suspendidas en agua fue determinado mediante la técnica de dispersión de luz dinámica (DLS), dando un diámetro hidrodinámico medio de 19 nm (3 réplicas de 10 medidas cada una).
- Las medidas de magnetización, en función del campo muestran la curva de histéresis característica de los materiales superparamagnéticos, con una saturación de magnetización de 181 emu/g (ver Figura 88).
- La determinación de hierro de las suspensiones acuosas se realizaron mediante la técnica de espectroscopia de absorción atómica (AAS). Para ello, tras ser digeridas con ácido nítrico 1M a 55 °C durante 48h, se obtuvo su contenido utilizando un patrón estándar de hierro.

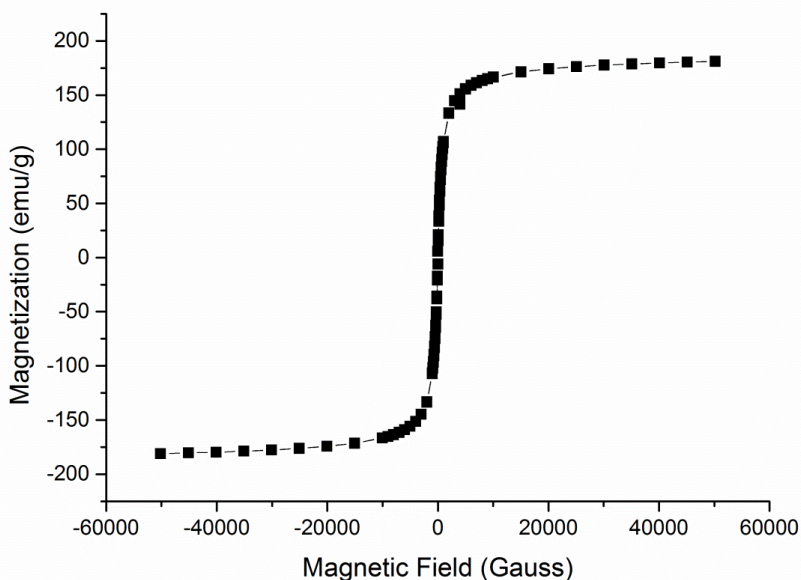


Figura 88: Curva de magnetización de las NPMs utilizadas

4.3.2. Determinación del rendimiento térmico de las NPMs

Las experiencias in vitro se realizaron empleando tres concentraciones distintas de hierro (4.4, 3.3 y 2.2 mg Fe/ml) suspendidas en agua destilada, partiendo de una concentración inicial de 4.4 mg Fe/ml (78.22 mM Fe). Por otro lado, también se midieron, como blanco, muestras de agua destilada. La cantidad de magnetita de las muestras preparadas fue calculada a partir de la concentración de hierro. Mediante la técnica AAS anteriormente descrita, se determinó la cantidad de hierro. A continuación dichas NPMs se excitaron con un CMA a una frecuencia de 200 kHz y una intensidad de campo máxima de 15.92 mT. Para garantizar estabilidad térmica del proceso, los experimentos se llevaron a cabo en una cámara termostática ajustada a 37 °C (ver Capítulo 4), manteniendo el inductor a la misma temperatura. Dicha refrigeración se realizó haciendo pasar líquido refrigerante por el inductor de trabajo. Para este cometido se utilizó un baño de recirculación de agua (Isotmp® modelo R28) con una potencia de refrigeración máxima de 500 W.

A continuación, en la Figura 89, se muestran los resultados registrados del calentamiento de 1 ml de suspensión a las concentraciones citadas anteriormente. El tiempo de inducción fue de 20 minutos, registrando durante aproximadamente 5 minutos el tiempo de enfriamiento tras el cese de la inducción.

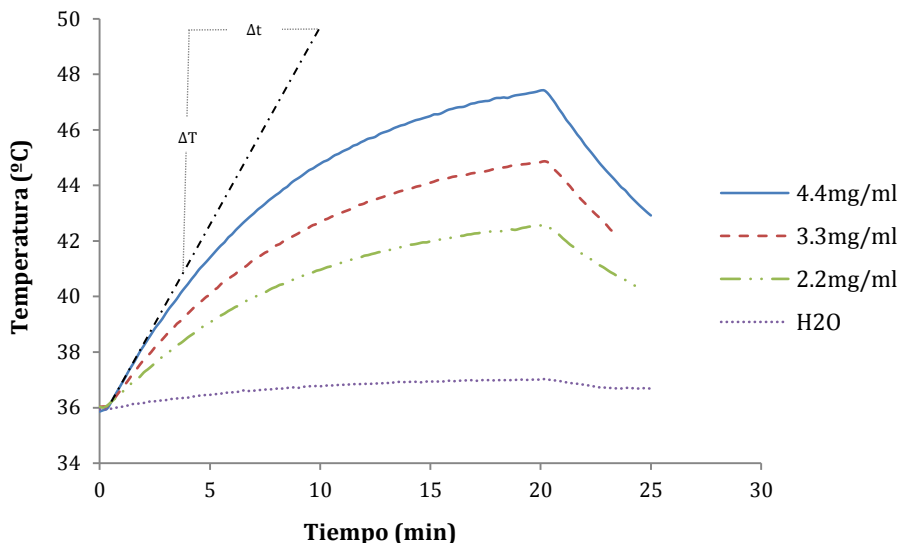


Figura 89: Respuesta térmica registrada a lo largo del tiempo

Con los valores de ΔT y la cantidad de hierro en cada muestra se calculó el valor de SAR, empleando las ecuaciones y procedimiento descrito en el capítulo de introducción (apartado 4.3.2.). Par obtener estos resultados se utilizó como capacidad calorífica del agua $4185 \text{ J} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{°K}^{-1}$ y la de la magnetita $670 \text{ J} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{°K}^{-1}$. Para la densidad del agua se tomó $1000 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ y de la magnetita $5180 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$.

La variación de la temperatura con respecto al tiempo se registró en periodos de 10s con un sensor de temperatura de fibra óptica. Para el cálculo del SAR se tomó la máxima pendiente de temperatura registrada (ver Figura 89). Los valores calculados de SAR, junto con el resto de valores del experimento se han registrado en la Tabla 4.

Tabla 4: Caracterización química y respuesta térmica de las distintas muestras utilizadas

Muestras	2.2 mg Fe/ml	3.3 mg Fe/ml	4.4 mg Fe/ml
Masa Hierro [kg]	2,20E-06	3,30E-06	4,40E-06
Masa Fe ₃ O ₄ [kg]	3,040E-06	4,560E-06	6,080E-06
ΔT_{max} [K]	0,13	0,19	0,25
SAR [W/g]	17,89	17,44	17,21

5. Discusión

En este trabajo se ha realizado el desarrollo de un equipo de hipertermia magnética para ensayos *in vitro*, basado en un inversor resonante. Una característica de este tipo de inversores, es que el sistema resuena a una determinada frecuencia, que está relacionada con los componentes LC del circuito tanque. Por ello, para variar la frecuencia de resonancia o bien se varía el valor de la capacidad o bien el de la inductancia. Para solucionar este problema, Oliver et al. propusieron una topología no resonante (Oliver and Cobos, 2015). Gracias a ello se puede trabajar a distintas frecuencias sin variar ningún componente del diseño. No obstante, con este tipo de topologías no se consigue hacer circular a través del inductor una gran corriente y por lo tanto el campo obtenido es muy débil. En cambio, un inversor resonante trabajando a la frecuencia de resonancia, presenta una impedancia mínima y gracias a ello las corrientes que circulan por el inductor son elevadas, consiguiendo intensidades de campo muy superiores. Varios diseños se han centrado en este tipo de inversores, consiguiendo variar la frecuencia de resonancia actuando sobre el valor total de la capacidad o la inductancia (Lacroix, Carrey and Respaud, 2008).

Dentro de la topología resonante son típicas dos configuraciones, la serie y la paralelo. Esta última fue utilizada por Garaio mediante un inversor LCC (Garaio *et al.*, 2014). Gracias a la disposición del banco de capacidades, se puede obtener una capacidad variable mediante la conexión y desconexión a masa de dichas capacidades. El problema que se plantea es que la onda de corriente adopta una forma cuadrada, siendo preferible corrientes sinusoidales que se obtienen mediante la configuración serie. La forma de corriente es muy importante y se deben ajustar los tiempos de relajación Néel y Brownian, para obtener un mayor rendimiento de las NPMs. Por ello, en este diseño, se adoptó dicha configuración, al igual que lo hicieron Tai y Cano et al. en sus publicaciones (Tai and Chen, 2008; Cano *et al.*, 2011).

Gracias a la sencillez que plantea la topología propuesta, compuesta por una etapa semipunte (Tai, Cheng-Chi, 2007) tan solo se deben actuar sobre dos transistores. Esto simplifica el problema, reduciendo notablemente el tiempo de diseño y el hardware de disparo, derivando en un equipo de muy bajo coste. Además el desarrollo se ha realizado tomando como referencia una placa de desarrollo de Texas Instruments que implica una mayor sencillez en la placa de control.

En cuanto a los resultados prácticos de calentamiento, el SAR registrado en la Tabla 4 (~ 17.5 W/g) es prácticamente el mismo que el obtenido en la publicación (Tao and Zhu, 2014) en el que obtuvieron un SAR de 16.9 W/g. En dicha publicación utilizan NPs similares (coprecipitación, tamaño entre 15-20nm) y condiciones de inducción similares (15mT de campo, 200 kHz, inducción de 20 min).

Capítulo 3 Equipo de Hipertermia Electromagnética

En cuanto a la capacidad de aislamiento del inductor frente a la muestra, se ha podido comprobar que en un experimento de 30 minutos, induciendo una muestra de agua destilada a máxima potencia, la temperatura alcanzada apenas varía, elevándose tan solo 1 °C con respecto a la temperatura inicial. Esto indica que el calentamiento inducido en las muestras con NPMs se debe principalmente al CMA generado y que el refrigerador líquido es capaz de disipar el calor producido en el inductor.

En el campo de la hipertermia magnética existen varios equipos comerciales que se han utilizado en distintas publicaciones:

- Un ejemplo de ello es el equipo de Ambrell (Khot *et al.*, 2013). En su versión más básica el equipo es capaz de ofrecer una potencia de 1.2 kW a una frecuencia de 150-400 kHz. Esto permite en el inductor una corriente máxima de 400 A. Para la refrigeración se necesita de un baño de agua termostático que sea capaz de eliminar el calor excedente del inductor y de los elementos de potencia. Para poder trabajar en resonancia a las frecuencias prefijadas se puede combinar los 3 inductores con las distintas capacidades, consiguiendo una sintonización en el rango de 148 a 356 kHz. La inducción máxima supera los 100 mT y se puede alcanzar con el inductor de menor diámetro ($\varnothing = 2.5$ mm), trabajando a la frecuencia más baja. En cuanto a su precio de comercialización, la versión más básica ronda los 8600€.
- Magnetherm es otro ejemplo comercial que se ha utilizado para realizar experimentos *in vitro* (Presa *et al.*, 2012). Este dispositivo permite depositar en su interior placas de cultivo de hasta 35 mm. Para su funcionamiento requiere de otros equipos accesorios entre los que se encuentra un generador de ondas, una fuente de alimentación de unos 700 W y un osciloscopio. Dicho equipamiento no es muy común en un laboratorio de química por lo que al final se acaba engrosando el precio inicial del equipo. El sistema permite trabajar a ciertas frecuencias fijas, en este caso se sustituye la capacidad para conseguir resonar a una frecuencia en el rango de 110 a 987 kHz, alcanzando un campo máximo de 25 mT.
- Otra de las opciones es el equipo DM100 de nb Nanoscale Biomagnetics (Asín *et al.*, 2012). Este equipo destaca por su acabado y diseño. Se comercializa en un conjunto controlador aplicador. El aplicador dispone de multitud de opciones para los distintos experimentos. Una de las ventajas que presenta dicho equipo frente al resto es la posibilidad de variar la frecuencia sin necesidad de cambiar ningún elemento hardware. Esto permite trabajar en un rango útil de frecuencias fijas entre 250 y 610 kHz, manteniendo una inducción máxima de 30 mT en la mayoría de frecuencias. Este equipo además ofrece la posibilidad de mostrar gráficos en

tiempo real del experimento, controlando el campo, la frecuencia de trabajo y la temperatura de las muestras. Todos estos gráficos pueden ser reportados al finalizar el experimento, facilitando enormemente la labor de postprocesado de datos.

Realizando un estudio comparativo del dispositivo desarrollado con respecto a los casos citados, se puede observar que este presenta una topología similar a la presentada por Ambrell. Dicho equipo está compuesto por una etapa de potencia y controlador integrados en una caja y un aplicador donde se encuentra el inductor. Estos dos dispositivos dotan al sistema de cierta autonomía, no siendo necesarios equipos accesorios, como en el caso de Magnetherm. Aunque en este documento se presenta el equipo trabajando a una sola frecuencia, el hecho de conocer los datos técnicos de diseño permite implementar tantos inductores como sea necesario. En cuanto a la frecuencia de trabajo, simplemente cambiando la capacidad asociada al inductor se puede operar dentro del rango útil de frecuencia. En cuanto al equipo presentado por la firma nb Nanoscale Biomagnetics, puede servir como referencia para la implementación de mejoras, mostrando el gran recorrido de evolución que podría alcanzar el desarrollo en futuras versiones.

Como aspecto positivo, se destaca la capacidad de personalización tanto de accesorios como del propio equipo y el coste mínimo. Este documento, en el que se detallan todos los pormenores técnicos y pruebas de campo, se trata de una gran herramienta de desarrollo de un equipo de hipertermia magnética. Y como se ha podido comprobar resulta muy útil para la caracterización y experimentación *in vitro* y *ex vivo* con NPMs.

Capítulo 4

Cámara termostática para hipertermia y fotoliberación

1. Introducción

El SLP (specific loss power) es un parámetro indicativo de la potencia calorífica asociada a las NPs y a los elementos físicos que interaccionan con ellas. La medida del rendimiento es un dato que sirve para su caracterización y comparación con NPs de otras publicaciones (Attaluri *et al.*, 2013). Como puede verse reflejado en el capítulo 5, este dato también resulta de gran interés para una planificación de la terapia, ayudando a la deducción de variables muy importantes en el tratamiento, como la dosis, volumen, características del campo magnético etc.

Los materiales y métodos empleados en la medida del SAR juegan un papel muy importante en la calidad de los resultados obtenidos. El principal motivo de error se debe a que el NF se encuentra casi siempre en un ambiente no adiabático (Wildeboer, Southern and Pankhurst, 2014), en donde el balance de potencia disipada (P) es debido a la densidad de potencia generada (P_g) que es disipado a través del entorno por pérdidas de conducción Q_{cond} , convección Q_{conv} y radiación Q_{rad} :

$$P = Q_{cond} + Q_{conv} + Q_{rad} + \frac{dP_g}{dt} \quad (86)$$

Por esta razón, el volumen de la suspensión, la densidad, el calor específico del medio, la potencia suministrada por el aplicador e incluso la posición del sensor, son factores a tener en cuenta en las medidas (Wang, Huang and Borca-Tasciuc, 2013). Actualmente no existe un método unificado que garantice una correcta medida del SAR. No obstante, las directrices propuestas por Attaluri et al. podrían servir como referencia en la búsqueda de un medio semiadiabático que sirva como referencia en la fase de experimentación (Attaluri *et al.*, 2013).

En este capítulo se muestra un equipo basado en dichas directrices. Para ello, se ha utilizado un recinto capaz de controlar las condiciones ambientales durante el desarrollo de las experiencias. De esta forma se puede obtener una buena reproducibilidad, aspecto crucial en la fase experimental (Barry N, Taylor; Chris E, 1994). El sistema que se presenta a continuación, se ha diseñado expresamente para conseguir un habitáculo termorregulado. Para ello, el sistema dispone de una resistencia calefactora y un sistema de ventilación capaces de controlar la temperatura durante todo el experimento. A continuación se detallan todos los elementos de dicho sistema.

2. Descripción del sistema

2.1 Hardware del equipo

A nivel estructural, el equipo presenta una carcasa exterior fabricada en policarbonato transparente que le confiere la solidez necesaria y que resulta muy útil en el posicionamiento de todos los elementos del experimento. El habitáculo se divide principalmente en dos áreas: por un lado la zona termo-regulada, donde se realizan los experimentos y por otro, contigua a esta última, la zona de control térmico, compuesta por una tobera y toda la electrónica necesaria para su control (véase Figura 90). A continuación se detallan ambas partes por separado.

2.1.1 Zona termo-regulada

El recinto termostático está especialmente diseñado para poder trabajar tanto con el equipo de hipertermia laser, como con el de inducción electromagnética. Además cuenta con distintos accesorios para su acondicionamiento. Uno de estos es la portilla corredera diseñada para hipertermia láser (Montes-Robles *et al.*, 2017). Esta sirve de base para al anclado del cabezal láser y su disipador de aluminio. Además dispone de una apertura accesible desde el disipador térmico para dar entrada a la sonda de temperatura (ver Figura 91). El diámetro de apertura es de 1mm, por lo que permite sondas de temperatura tanto del tipo termopar como de fibra óptica. Este recinto queda cerrado mediante una tapa lateral accesoria. Para este propósito se han fabricado dos tipos de tapas: una

diseñada para experimentos con un solo pocillo y otra para experimentos con placas multi-pocillo. La tapa mono-pocillo dispone de un cubículo para albergar un recipiente de planta cuadrada de 1 cm de lado. Como se puede apreciar en la Figura 91 el láser queda totalmente alineado con este. La otra tapa lateral es lisa, dejando todo el habitáculo libre para los experimentos con placas multi-pocillo (placa Elisa de 96 pocillos) (ver Figura 99). El kit de accesorios para este tipo de experimentos se completa con una bandeja, que da soporte a la placa Elisa y una lupa CCD.

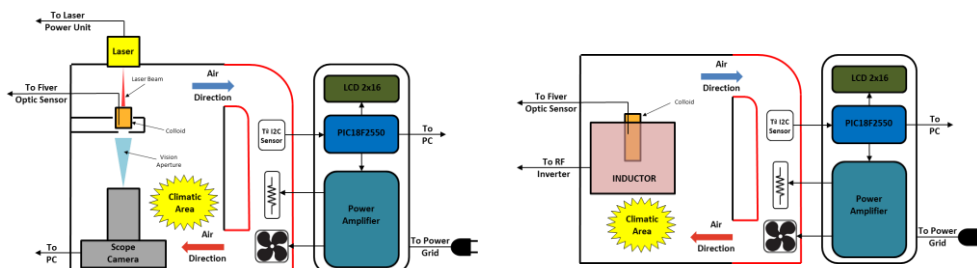


Figura 90. Esquema de la cámara termostática adaptada para experimentos láser (izquierda) y para experimentos electromagnéticos (derecha)

Ha de tenerse en cuenta que la longitud de onda del espectro infrarrojo no es visible por el ojo humano, pero sí para una cámara sin filtro IR. La lupa CCD instalada en el habitáculo, ayuda a determinar el área irradiada del láser y el posicionamiento de la placa multi-pocillo. La delimitación del área irradiada se puede realizar según el procedimiento descrito en el capítulo 2 apartado 2.2.2. En cuanto al procedimiento de centrado el usuario debe colocar en el reverso de la placa Elisa una plantilla en papel con las posiciones de cada uno de los pocillos. Cuando el usuario quiere trabajar con un pocillo en cuestión, tan solo tiene que ver centrado en el objetivo de la lupa CCD la letra y número (ver Figura 92 izquierda). Activando la luz láser una vez alineado, se puede comprobar su alineación (véase Figura 92 derecha). Para su visualización el usuario ha de iniciar la aplicación asociada a la lupa en su PC.

La polivalencia de este diseño le permite trabajar también con el equipo de inducción electromagnética. Para su acondicionamiento deben ser retirados todos los accesorios mencionados anteriormente, sustituyendo la portilla corredera anterior por una completamente lisa. A esta también se le ha provisto de un orificio de 1 mm de diámetro para la inserción de una sonda de temperatura. En cuanto la apertura lateral, queda totalmente libre, encajando a la perfección con la carcasa del inductor. De esta forma el habitáculo queda completamente cerrado (ver Figura 93).

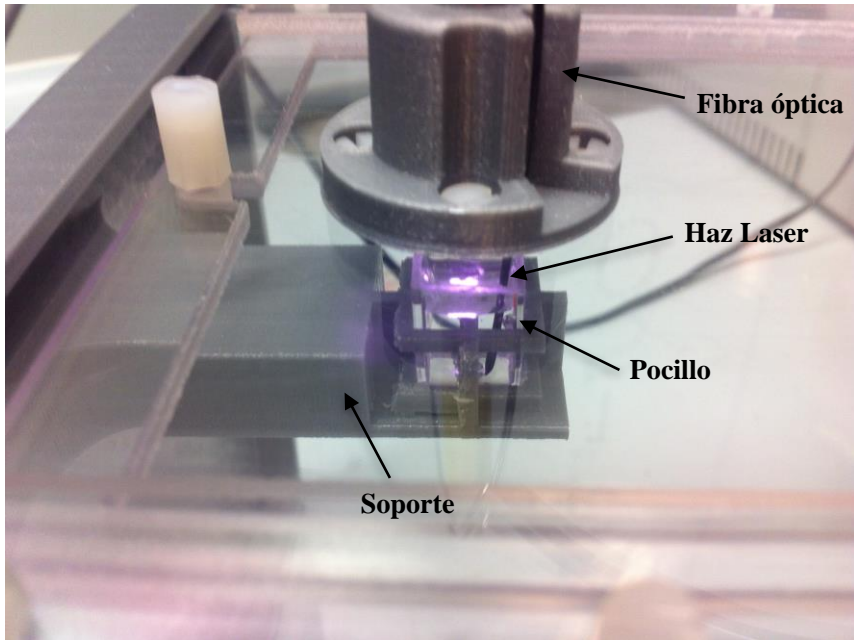


Figura 91: Detalle del accesorio para la irradiación de un solo pocillo

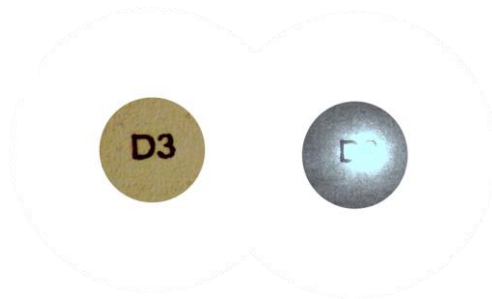


Figura 92. Posicionado en el pocillo "D3" de la placa Elisa (izquierda) y posterior comprobación del alineamiento con el láser activado (derecha). Ambas para experimento láser

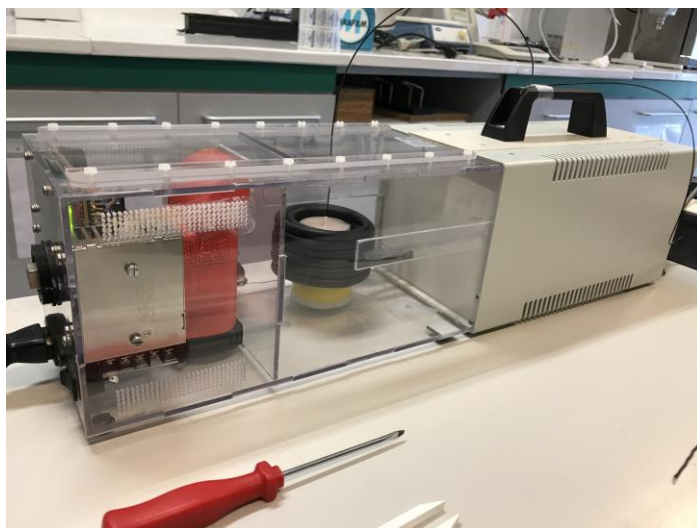


Figura 93: Cámara termostática instalada en el equipo de inducción

2.1.2 Área de control térmico

El sistema de climatización está diseñado para trabajar a temperaturas superiores a la de ambiente. Para conseguir el incremento de temperatura, se han dispuesto dos resistencias de potencia en serie, instaladas transversalmente dentro de la tobera. Ambas resistencias están unidas a unos disipadores metálicos que garantizan una buena transmisión térmica con el aire. Con la ayuda de un ventilador situado justo debajo de las resistencias, el aire es forzado recirculando dentro del habitáculo. Para completar el ciclo térmico, el aire frío entra por la parte superior, se calienta en la tobera y sale despedido por la parte inferior. En cuanto a la monitorización de temperatura, se ha instalado un sensor en la parte superior de la tobera. Se trata de un sensor DS1631 de Maxim Integrated que se comunica con el microcontrolador (μC) a través del bus I2C.

Como se puede apreciar en la Figura 94, todo el sistema está controlado por el μC PIC18F2550 fabricado por Microchip. El usuario, desde el exterior fija mediante el potenciómetro RV1 la temperatura de consigna deseada. El μC lee dicha tensión, convirtiéndola en un valor digital a través del puerto ADC. Este valor digital junto con los datos procedentes del sensor de temperatura, se utilizan para gestionar los actuadores de potencia.

En la Figura 95, se puede apreciar la configuración de las distintas etapas de potencia necesarias para el enlace entre el μC y los actuadores. Por un lado las etapas “Ventilador 1”, “Ventilador 2” están basadas en el transistor MOSFET de canal N modelo ZVN4306A que es capaz de soportar una corriente de hasta 1.1 A. Por otro la etapa

Capítulo 4 Cámara termostática para hipertermia y fotoliberación

“Resistencia” está basada en el transistor MOSFET de canal N modelo BUZ11 que permite hasta 30 A. Además, se ha incluido un filtro LC que sirve de suavizado de la señal para evitar picos muy pronunciados de corriente.

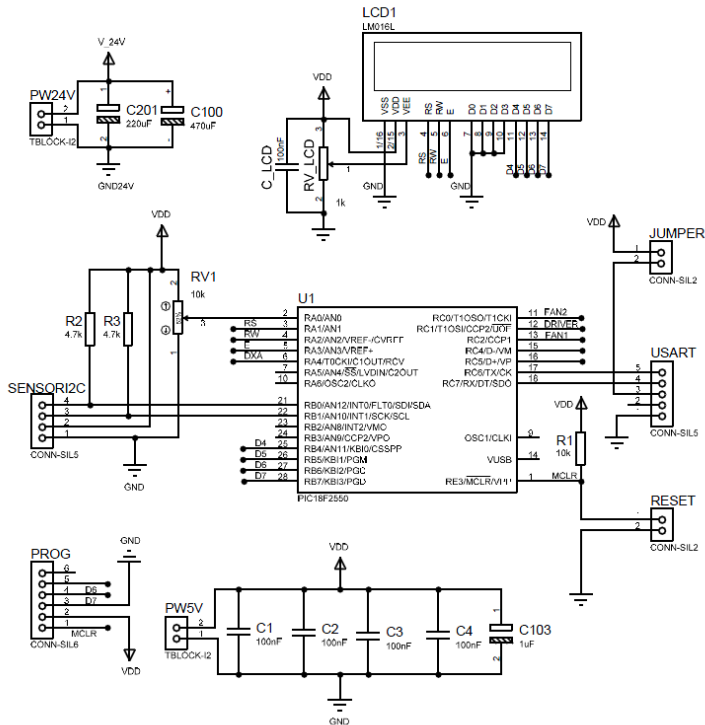


Figura 94: Detalle del esquema electrónico del μC y periféricos

Todo el sistema es alimentado por mediación de dos fuentes conmutadas, una de 5 V DC marca TRAKO POWER[®] que se encarga de alimentar la electrónica de control y una de 24 V DC comercializada por RS[®] que alimenta los dispositivos de potencia.

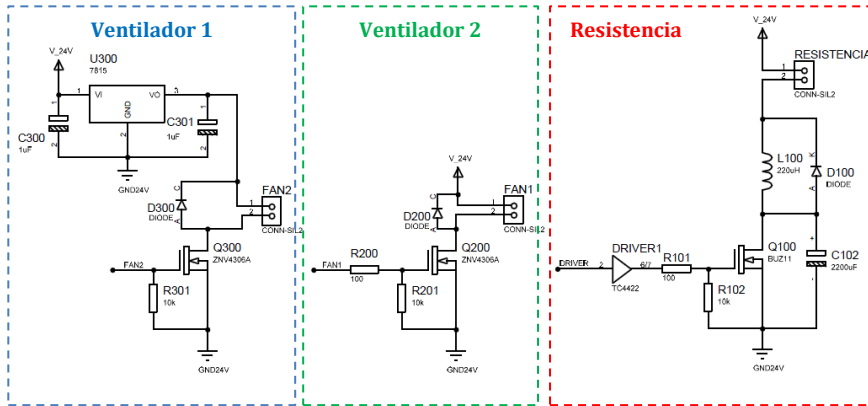


Figura 95: Etapas de potencia del sistema

3.2 Firmware

El firmware de la cámara termostática se encarga de controlar el sistema para alcanzar la temperatura de referencia en el menor tiempo posible. El algoritmo implementa un controlador del tipo “PI” que actúa sobre la resistencia calefactora, y un control del tipo multinivel que acciona el ventilador. Tomando un patrón de actuación lógico, el μC gestiona a través de la salida PWM la resistencia, reduciendo su carga progresivamente cuando se aproxima a la referencia del sistema. En la Figura 96 se puede apreciar el diagrama de bloques del control de la resistencia calefactora. En cuanto al control del ventilador, este se ha realizado mediante una regulación de tres niveles. Para ello, el μC gestiona tres modulaciones PWM, variando a su vez el régimen de revoluciones. En este caso el comportamiento es diferente, de forma que ajusta el mayor rango de revoluciones cuando la temperatura es alejada de la consigna, tanto por exceso como por defecto. Una vez alcanzado un umbral próximo a la consigna, las revoluciones van disminuyendo. Cabe destacar que el ventilador no para durante todo el experimento ya que si lo hiciera el aire caliente de la resistencia retornaría por convección al sensor, falseando la medida.

3.3 Interface de usuario

El equipo muestra en todo momento la temperatura de referencia y la registrada por el sensor en una pantalla LCD 2x16 (ver Figura 97). De esta forma, el usuario puede verificar fácilmente si se mantiene la temperatura deseada en el habitáculo y cuál es la temperatura ajustada en la consigna. Para el ajuste de esta consigna el usuario puede acceder al potenciómetro mediante un destornillador de punta plana (ver Figura 97).

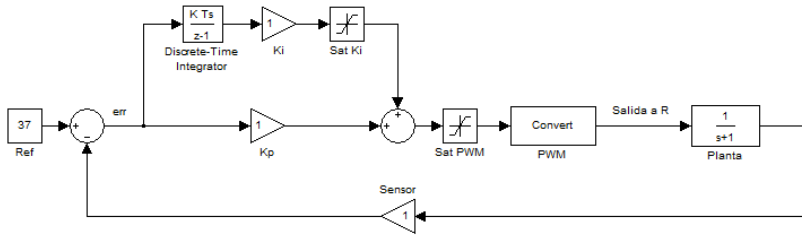


Figura 96: Diagrama de bloques del control de la resistencia calefactora

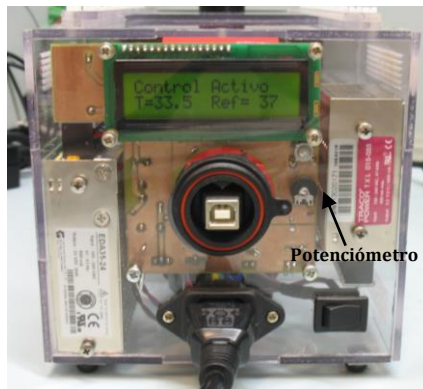


Figura 97. Detalle de la parte frontal del equipo termostático

También existe la posibilidad de conectar el equipo al PC a través de un cable USART-USB, que permite graficar la evolución temporal de la temperatura y de las acciones de control de ambos actuadores. La Figura 98 muestra la aplicación de usuario corriendo bajo Windows 8. En esta se presentan dos gráficos: el superior con trazo azul muestra el histórico de temperatura registrado por el sensor y en trazo discontinua la temperatura de consigna. Por otro lado el gráfico inferior muestra las respuestas de los actuadores. En trazo rojo se representa la acción de control del ventilador, mientras que en azul la de la resistencia. Siguiendo el histórico de temperatura registrado, el usuario puede comprobar que las condiciones del experimento han sido las adecuadas y verificar si ha habido o no posibles alteraciones en el sistema.

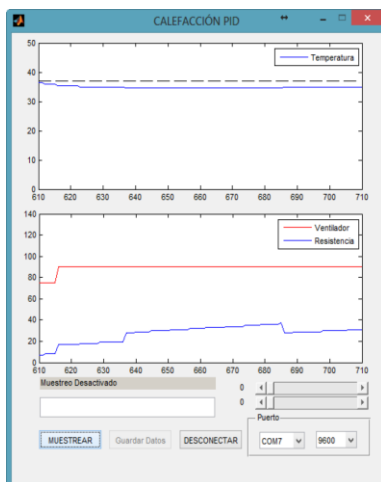


Figura 98. Detalle de la aplicación en PC para el control del equipo, ajuste y graficado de datos del equipo

Además de la visualización de datos, el programa también permite un ajuste manual de los actuadores y una entrada de comandos utilizados para la configuración de los parámetros del controlador PI. Gracias a dicha línea de comandos el ingeniero puede disponer de toda la información del sistema y de las variables de ajuste del regulador.

4 Resultados

En la Figura 99 se muestra una distribución de todos los elementos de la cámara termostática configurada con los accesorios para experimentos láser multi-pocillo.

Para la validación de dicho equipo se han realizado dos experimentos de calentamiento con nanopartículas de oro (Au-NPs), irradiándolas con la misma potencia de luz láser. Por un lado en un ambiente con condiciones ambientales controladas, es decir dentro de la cámara termostática y el otro en un ambiente sin controlar. A continuación se muestran dicho resultados.

4.1 Validación del equipo

Las distintas respuestas térmicas de ambos experimentos se pueden apreciar en la Figura 100. En el gráfico de la izquierda se pudo apreciar que en un ambiente no controlado, la temperatura adoptada por el NF presenta ciertas desviaciones, tanto en el máximo como en la pendiente m . Esto se traduce en una variación en la obtención del SAR debido a dicha incertidumbre. Estos problemas pueden estar derivados de las propias oscilaciones térmicas ambientales e incluso a la posición del sensor dentro de la cubeta. En cambio, en el gráfico resultante en condiciones controladas (ver Figura 100 derecha) muestra una respuesta uniforme con temperaturas que parten y finalizan con valores muy

Capítulo 4 Cámara termostática para hipertermia y fotoliberación

aproximados. Esto también se refleja en las pendientes m_1 , m_2 y m_3 , pudiéndose comprobar una reducción drástica de la incertidumbre.

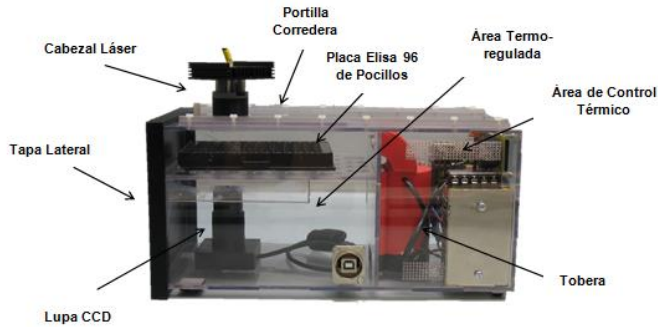


Figura 99. Vista exterior de equipo

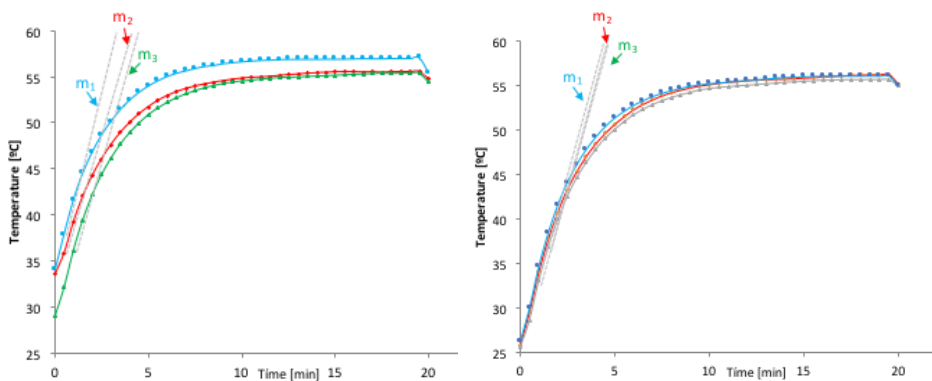


Figura 100. Respuesta térmica de unas Au-NPs en un ambiente no controlado de temperatura (Izquierda) y un ambiente controlado por la cámara termostática (derecha)

En la Figura 101 se puede apreciar la respuesta dinámica de la cámara termostática frente a un escalón de temperatura. Inicialmente la temperatura en el interior de la cámara se encontraba a la temperatura de la sala. En el instante en el que empieza a funcionar, la temperatura comienza a aumentar hasta que alcanza el tiempo de pico t_p a los 6.66 minutos. A partir de este instante el sistema comienza a regular, disminuyendo la

potencia calorífica de la resistencia calefactora. Finalmente la temperatura alcanza una estabilidad en punto t_e (tiempo de establecimiento) a los 11.66 minutos. A partir de este instante la temperatura oscila entorno al valor de consigna, con un margen de error equivalente al error del sensor.

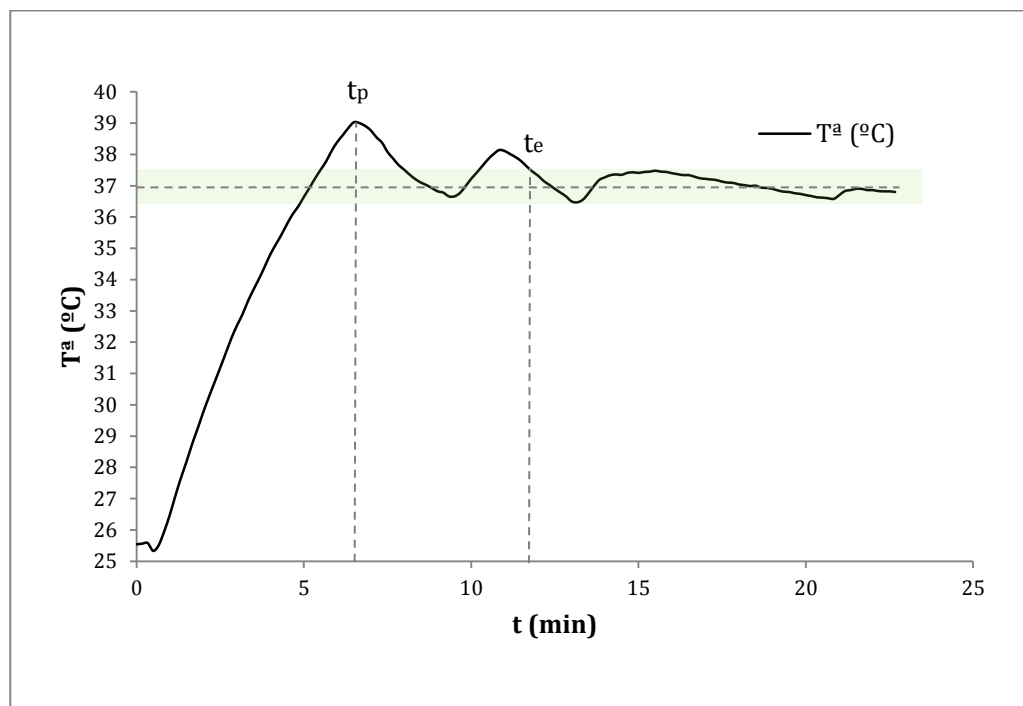


Figura 101: Respuesta ante escalón de la cámara termostática

5. Discusión

Los diferentes ensayos in vitro y ex vivo de hipertermia y liberación controlada, requieren de unas condiciones térmicas determinadas, evitando las posibles fluctuaciones de temperatura ambiente. Para ello, la temperatura debe adaptarse a las necesidades biológicas de los cultivos (Kirson, 2004). También resulta crítica la temperatura en los experimentos de liberación controlada ya que el material termofusible que envuelve a las NPs, funde a temperaturas superiores a la del cuerpo humano. Otro de los aspectos a controlar, es la incertidumbre asociada al posicionamiento de los elementos del experimento así como los sensores y actuadores.

La caracterización del rendimiento de las NPs es una de las aplicaciones más interesantes de los equipos de hipertermia in vitro. Multitud de publicaciones presentan equipos que incorporan un sistema semi-adiabático empleando un buen aislamiento de la muestra.

Capítulo 4 Cámara termostática para hipertermia y fotoliberación

Gracias a esto, se consigue aislar la muestra del entorno, evitando ser afectada por las posibles variaciones de temperatura del resto del sistema (Cano *et al.*, 2011; Attaluri *et al.*, 2013; Garaio *et al.*, 2014). Normalmente para obtener una dinámica rápida del sistema, es común utilizar un volumen de muestra muy reducido. Esto resulta excelente en los experimentos de caracterización del SAR. No obstante, dicha configuración no permite realizar otro tipo de experimentos, en donde se requieran mayores volúmenes de trabajo, lo que limita su aplicación solo a la medida del SAR.

El equipo que se presenta pretende ir más allá. Al igual que los equipos propuestos, este dispone de un accesorio de polietileno, capaz de albergar la muestra en los ensayos de calentamiento. Además de esto, permite realizar un control de la temperatura ambiente en el espacio termostático, evitando las oscilaciones propias de la temperatura ambiental. Gracias a ello, el sistema es capaz de alcanzar de forma estable la temperatura corporal, lo que resulta muy práctico cuando se trabaja con células. De esta forma, los cultivos celulares son incubados a la temperatura adecuada, evitando que en experimentos más o menos largos sufran hipotermia. Por otro lado, como se muestra en el capítulo 5, también se puede utilizar para estudiar el comportamiento térmico cuando se trabaja con fantomas de carne. El flujo de aire controlado puede simular un cierto grado de perfusión periférica en el fantoma, imitando la disipación térmica a la que se vería sometido.

Capítulo 5

Planificación de una terapia personalizada de hipertermia magnética

1. Introducción

La hipertermia es una técnica cada vez más utilizada en oncología que consiste en calentar un tumor entre 40 y 48 °C (Cherukuri, Glazer and Curley, 2010). Estudios clínicos han demostrado que este tratamiento aumenta sustancialmente la toxicidad en las células tumorales debido al fenómeno de apoptosis (Manning *et al.*, 1982). También se ha demostrado una sinergia si justo después de la hipertermia se combina con la técnica de radioterapia y/o quimioterapia (Hildebrandt, 2002; De Jong *et al.*, 2012; Datta *et al.*, 2015) En combinación con la radioterapia se han registrado mejoras que multiplican la efectividad en un factor entre 1.5 a 5. De igual modo, en combinación con la quimioterapia también se han registrados incrementos en un factor que oscila entre 1.2 a 10 (van der Zee, 2002).

Las técnicas actuales permiten realizar una terapia de hipertermia mucho más localizada, minimizando el calor en el resto de tejidos sanos. Mediante equipos de radiofrecuencia (RF) (Wust *et al.*, 2002; Capstick *et al.*, 2014) los resultados de la hipertermia se han

mejorado sustancialmente. Sin embargo, la profundidad máxima y el volumen de acción del foco caliente están relacionados con la longitud de onda de la señal. Como resultado, se obtiene un volumen de calentamiento relativamente grande. Adicionalmente la reflexión, el acoplamiento y la absorción de la señal junto con la localización del tumor son diferentes en cada caso y requieren de una planificación específica para cada paciente, siendo muy complejo conseguir una configuración ideal. Por otro lado, los dispositivos de ultrasonidos enfocados (Bailey *et al.*, 2003), tienen la capacidad de producir volúmenes de calentamiento muy precisos, siendo en la mayoría de los casos mucho más pequeños que el volumen del propio tumor. Por esta razón, se debe realizar un barrido sobre la zona, lo que implica que pequeños movimientos del paciente puedan complicar dicha terapia.

Frente a estos métodos, la terapia de hipertermia basada en inyección directa de nanopartículas magnéticas (NPMs) está despertando un gran interés, presentándose como una alternativa carente de los problemas mencionados. Para la excitación de las NPMs se requiere de un campo electromagnético de baja frecuencia (CMA-BF) (Kashevsky *et al.*, 2014), (Thanh and Hervault, 2014). A pesar de las ventajas teóricas de esta técnica, queda mucho trabajo por realizar hasta que sea aceptado por la comunidad médica. Temas importantes como la localización de los puntos de inyección de las NPMs, la dosis a administrar, la concentración de NPMs y otros como las propiedades del CMA se encuentran todavía bajo estudio. Los entornos de simulación basados en elementos finitos (FEM), resultan una excelente herramienta para resolver estos problemas, los cuales podrían abrir un nuevo camino en el diseño personalizado de la terapia.

El objetivo del presente capítulo, es el de proporcionar un escenario de simulación realista que sirva para lograr la optimización de la terapia de hipertermia basada en NPMs. Para ello, se ha estudiado en un modelo 3D de un animal, el comportamiento térmico que tendrían varios volúmenes de NPMs en suspensión después de ser inyectadas en varios puntos. Para determinar dicha respuesta térmica, se ha utilizado el modelo de comportamiento propuesto por Pennes, que es capaz de predecir la temperatura en un volumen. Este modelo se ha combinado con el modelo propuesto por Rosensweig, obteniendo una respuesta térmica del NF bajo la acción de un campo, perfusión corporal y transmisión térmica. Finalmente se ha realizado una serie de experiencias prácticas con el ánimo de verificar dichos resultados en un fantoma real. Con este aporte se espera que el modelo virtual pueda ayudar a mejorar los tratamientos de hipertermia y su aplicación médica en un futuro próximo.

2. Método y modelo de simulación

Los escenarios virtuales de simulación son una herramienta potente que permite modelizar de forma realista todos los elementos que intervienen en la terapia. Gracias a esto se hace posible predecir el resultado final del tratamiento, pudiendo reconducirlo para obtener unos resultados lo más óptimos posibles. Además, en simulaciones virtuales se pueden considerar los parámetros más relevantes para superar las limitaciones físicas y biológicas planteadas. El modelo de simulación utiliza básicamente tres elementos: las

NPMs, CMA-BF y el modelo virtual del paciente. Estos elementos se describen a continuación en detalle.

2.1. NPMs apropiadas para el tratamiento

2.1.1. Selección de las NPMs

Debido a la enorme diversidad de NPMs (Brazel, 2009) su elección no es algo que resulta obvio. No obstante, existen ciertos requisitos que deben cumplirse necesariamente debido a su aplicación. La biocompatibilidad es uno de ellos, ya sea por la propia composición de las NPMs o porque estén recubiertas con alguna sustancia que lo sea. Otro aspecto fundamental es el rendimiento térmico, que como se ha podido comprobar en el capítulo introductorio, está directamente relacionado con las propiedades físicas de las NPMs. Además de todo esto, es necesario conocer los parámetros que cuantifican las pérdidas caloríficas de las NPMs, que servirán como dato de entrada para la simulación. Por último, también es interesante conocer qué características deben poseer las NPMs, para adaptarse mejor a la terapia y cuáles son sus pérdidas ante distintas configuraciones del campo.

Entre los distintos tipos de NPMs existentes (ver Tabla 5), las de óxido de hierro en su composición: magnetita (Fe_3O_4) y maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) son las más utilizadas en los experimentos in vivo (Hilger, Hergt and Kaiser, 2005; Maier-Hauff *et al.*, 2011; Marcos-Campos *et al.*, 2011). Entre sus cualidades, la biocompatibilidad (aprobada por US Food and Drug Administration) (Hauser *et al.*, 2015) y la facilidad de síntesis, son las más destacables. En cuanto a su rendimiento térmico, su elevado valor de coercitividad y remanencia las hace mucho más efectivas que las que son puramente de hierro. Gracias a su reducido tamaño (comprendido entre 4 a 100 nm) resultan ideales para una dispersión dentro de la zona tumoral, pasando totalmente desapercibidas por el sistema inmunológico (Nemati *et al.*, 2016).

Tabla 5: Distintos tipos de NPMs (Brazel, 2009)

<i>Magnetita</i>	Fe_3O_4
<i>Maghemita</i>	$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$
<i>Hematita</i>	Fe_2O_3
<i>Cobalto Hierro</i>	$\text{Co Fe}_2\text{O}_4$
<i>Manganeso de Ferrita</i>	$\text{Mn Fe}_2\text{O}_4$
<i>Cobre Níquel</i>	CoNi
<i>Hierro Platino</i>	Fe_xPt_y
<i>Cobalto</i>	Co
<i>Paladio de Hierro</i>	FePd

<i>Cobalto Platino</i>	CoPt
<i>Hierro-Cobalto</i>	Fe ₆₅ O ₃₅

Entre ambas opciones, para esta investigación se seleccionaron NPMs del tipo magnetita (Fe₃O₄) (Brazel, 2009; Ningthoujam *et al.*, 2012) ya que además de disponer de las características anteriormente mencionadas, presentan una elevada eficiencia energética bajo intensidades de campo relativamente bajas (hasta 400 A/m en campo de baja frecuencia)(Ruta, Chantrell and Hovorka, 2015). Dentro de las distintas variantes de NPMs se ha seleccionado las NPMs-SP ya que estas no presentan remanencia alguna. En consecuencia al no sufrir aglomeraciones, permiten una mejor difusión entre los tejidos (Dennis and Ivkov, 2013). Por otro lado este tipo de NPMs han demostrado un buen comportamiento en un ambiente celular, mucho mejor que las NPMs tipo ferromagnéticas y multidominio (Di Corato *et al.*, 2014).

En cuanto a su rendimiento térmico, el tiempo de relajación Néel y Brownian son los principales mecanismos que contribuyen su calentamiento. Aunque puedan resultar muy efectivas en el medio de suspensión, en el ambiente celular las NPMs sufren una merma muy acentuada del ILP (Kallumadil *et al.*, 2009). Esto es debido a que el tiempo de relajación Brownian se incrementa cuando estas son inmersas en el ambiente celular, debido a su elevada viscosidad, haciendo este mecanismo totalmente ineficiente (Dutz and Hergt, 2013). Aunque el principal aporte térmico de las NPMs-SP es debido a las pérdidas de relajación por el efecto Néel, debido a sus características morfológicas no quedan totalmente desligadas del efecto Brownian. Por otro lado las NPMs tienden a acumularse en ciertas partes de la célula, lo que produce una interacción dipolar debido a su proximidad, que tiene consecuencias negativas en su rendimiento térmico.

En las simulaciones descritas a continuación, la concentración máxima se ha limitado a un 3% de volumen de Fe (155mg/ml), asumiendo una respuesta térmica lineal (LRT; linear response theory) según el modelo de Rosensweig. En cuanto al rendimiento térmico del NF se ha tomado un valor de ILP de 1.75 nH·m²/kg para cuando están inmersas en un ambiente celular y de 4.1 nH·m²/kg cuando no lo están, (Kallumadil *et al.*, 2009; Pankhurst *et al.*, 2009; Suto *et al.*, 2009).

2.1.2. Modelos matemáticos predictivos

Una vez decidida la dosis de NPMs inyectada en el paciente, es posible modificar el aporte calórico del NF cambiando de forma remota las propiedades del campo. Poder predecir el poder térmico del NF usando ecuaciones matemáticas, puede servir tanto para realizar una planificación del tratamiento, como durante su propia ejecución. Respecto a este tema se han propuesto multitud de modelos matemáticos (Rosenweig, 2002; Fortin *et al.*, 2007). Las ecuaciones propuestas por Rosensweig (ver ecuaciones (12), (13),(14) y (15)), resuelven matemáticamente las pérdidas por los mecanismos de relajación Néel y Brownian. Sin embargo algunos de los parámetros de estas ecuaciones, como por

ejemplo la anisotropía, son muy complejos de obtener teóricamente. En cambio resulta mucho más sencillo si se toma como referencia el dato experimental del SAR y es calculado a posteriori (Di Corato *et al.*, 2014). El propósito es partir de unas condiciones de rendimiento térmico experimentales y a partir de los resultados ajustar los parámetros para poder predecir cómo influye la concentración y la configuración del campo.

2.2 Características del CMA-BF

Tomando en consideración las limitaciones biológicas descritas en el punto 1.1. de este capítulo, se ha limitado la intensidad de campo a niveles tolerables para el paciente. Por esta razón se seleccionó una intensidad de campo de 3.97 kA/m (5 mT) que disponía de un inductor en forma de solenoide de 30 espiras con un diámetro de 200 mm y una altura de 300 mm. Dicho inductor fue excitado con una corriente alterna de 125 A a 300 kHz.

2.3. Modelo térmico del bioalentamiento

El calor generado por las NPMs se disipa a través del medio que las envuelve. En el caso de la hipertermia el entorno está constituido por tejido provisto de unas ramificaciones capilares que son capaces de disipar una gran cantidad de calor, a este fenómeno se le llama perfusión.

La ecuación diferencial propuesta por H. Pennes (Wissler, 1998) describe el balance entre la energía térmica del cuerpo y la perfusión. Esta ecuación puede ser ampliada incluyendo la energía calorífica producida por las NPMs en suspensión cuando estas se encuentran sometidas a un CMA-BF como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\rho \cdot c \cdot \frac{\partial T}{\partial t} = (\nabla \cdot k \nabla T + (\omega_b(T)) \cdot \rho_b \cdot c_b \cdot (T_a - T) + Q_m + Q_r) \quad (87)$$

donde T es la temperatura del tejido, ρ, c son la densidad y el calor específico del tejido respectivamente, siendo el subíndice b un parámetro que hace referencia a la sangre, ω_b es la perfusión de la sangre arterial que depende a su vez de T y del tejido que inicialmente se encuentra a la temperatura T_a . La conductividad térmica k es isotrópica pero no homogénea. La ecuación se completa con el calor generado por el metabolismo Q_m y el de las nanopartículas Q_r .

En ausencia de una excitación externa los tejidos mantienen el equilibrio térmico, por lo que se cumple:

$$\nabla \cdot k \nabla T + (\omega_b(T)) \cdot \rho_b \cdot c_b \cdot (T_a - T) + Q_m = 0 \quad (88)$$

El desequilibrio se produce al aplicar el campo magnético externo expresado por Q_r , al calentar las NPMs.

2.4. Modelo virtual del paciente

Gracias a la imagen biomédica, se pueden extraer múltiples secciones de los distintos tejidos del paciente. Posteriormente, mediante la técnica de segmentado, dichas secciones pueden utilizarse para reconstruir un modelo 3D en el que se diferencien tejidos y órganos. A estos tejidos se les puede asignar unas propiedades físicas y un comportamiento de perfusión acorde a su naturaleza. El uso simultáneo de estos elementos hace posible simular el comportamiento térmico del NF dentro del paciente. Para ello, en primer lugar, se asocia la concentración y las propiedades del campo a la densidad de potencia (DP) generada por las NPMs. Finalmente, se estudia de forma virtual el calentamiento que aportaría la dosis inyectada dentro del paciente.

Todas las simulaciones de este estudio se realizaron con un modelo virtual de un gato, que presentaba un tumor en la zona anterior del tronco, compuesto por tejido muscular y grasa de volúmenes 21.51 y 0.405 ml respectivamente. El modelo virtual analizado, se extrajo utilizando imagen biomédica mediante la técnica de tomografía computarizada (CT). Posteriormente las imágenes obtenidas fueron segmentadas mediante la aplicación iSEG (ZMT, Zurich, Switzerland). Los volúmenes resultantes de la segmentación se exportaron al entorno FEM, Sim4Life (ZMT, Zurich, Switzerland) atribuyéndoles distintas propiedades físicas y de perfusión en función del tipo de tejido (ver Tabla 6 y Tabla 7). El modelo de perfusión adoptado fue descrito asignándole un comportamiento lineal a tramos, que refleja un comportamiento distinto dependiendo de la temperatura alcanzada en el tratamiento (Laakso and Hirata, 2011; Murbach *et al.*, 2014).

Tabla 6: Propiedades térmicas de los tejidos simulados. Donde ρ , c , k , h y p son la densidad, el calor específico, la conductividad térmica, el calor generado y el ratio de perfusión respectivamente. La capacidad de calor de la sangre 4.05291[MJ/m³/K] y la temperatura de convección 37 °C para todos los materiales

	ρ [kg/m ³]	c [J/kg/K]	k [W/m/K]	h [W/kg]	p [ml/min/kg]
<i>Vejiga</i>	1023.61	4178.00	0.560	0.506	32.709
<i>Sangre</i>	1049.75	3617.00	0.517	0.000	10000.000
<i>Intestino grueso</i>	1088.00	3654.50	0.542	11.851	765.232
<i>Fluido cerebrospinal</i>	1007.00	4095.50	0.573	0.000	0.000
<i>Músculo</i>	1090.00	3421.00	0.495	0.906	36.738
<i>Bazo</i>	1089.00	3596.00	0.534	24.113	1556.980
<i>Médula espinal</i>	1075.00	3630.00	0.513	2.483	160.333
<i>Grasa</i>	911.00	2348.33	0.211	0.5066	32.709
<i>Recto</i>	1088.00	3763.00	0.535	11.851	765.232
<i>Intestino delgado</i>	1030.00	3595.00	0.493	15.893	1026.250
<i>Riñón</i>	1066.25	3763.00	0.535	18.052	3795.030
<i>Hueso cortical</i>	1908.00	1312.83	0.320	0.1549	10.000

Capítulo 5 Planificación de una terapia personalizada de hipertermia magnética

<i>Hueso cancerígeno</i>	1178.33	2274.00	0.312	0.465	30.000
<i>Piel</i>	1109.00	3390.50	0.372	1.64752	106.381

Tabla 7: Datos de la respuesta de perfusión lineal a tramos [ml/min/kg/K]

<i>T[°C]</i>	38	40	41	42	43.5	44	45
<i>Músculo</i>	52	99	-	163	0	-	-
<i>Músculo tumoral</i>	-1.08	-3.18	-10.87	0	-	-	-
<i>Grasa</i>	44	83	138.1	0	-	-	-
<i>Grasa tumoral</i>	-1.08	3.18	-10.87	0	-	-	-
<i>Piel</i>	141	268	637	-	-	1516	0

El espacio virtual del modelo fue discretizado usando una rejilla uniforme isotrópica. En cuanto al tamaño de la rejilla se utilizó un tamaño de 0.8 mm para los tejidos tumorales y 2.5 mm para el resto. También se utilizó una temperatura corporal uniforme de 37 °C en todo el cuerpo y una temperatura ambiente de 25 °C. En cuanto al coeficiente de transmisión térmico este fue de 6 W/m²/K.

2.5. Modelo de simulación

El trabajo que se muestra a continuación se ha desarrollado en tres escenarios de simulación, en los cuales se ha estudiado cómo afecta en un tejido virtual, la concentración, distribución y pérdidas de rendimiento calorífico, de un NF bajo la acción de un CMA-BF. Para ello se consideraron dos situaciones distintas, uno en el que se esperaba una difusión tras la inyección y otro en el que no. Finalmente el mejor resultado se optimizó empleado un nuevo método de distribución del NF.

Como resultado de la simulación se obtuvo una distribución de la temperatura 3D a lo largo del tiempo del tratamiento (3600 s), en respuesta a una configuración de todos los elementos que intervienen. El objetivo era lograr que la temperatura de hipertermia alcanzara el 90% del volumen tumoral, tratando de evitar que el resto de los tejidos se vieran afectados significativamente. Adicionalmente se impuso una restricción, limitando la temperatura máxima en el interior del tumor, para evitar que esta supere la temperatura de 48 °C.

2.5.1. Pequeña dosis de NF sin difusión

En este escenario se simuló un pequeño volumen de NF inyectado en diferentes puntos del tumor (ver Figura 102 izquierda). Para aprovechar el elevado ILP que presenta dicho NF en el líquido base, el tratamiento debe de realizarse inmediatamente después de su

Capítulo 5 Planificación de una terapia personalizada de hipertermia magnética

inyección. Por esta razón se contempló solo una concentración, ya que no se consideró difusión alguna. A partir de esta concentración y de la distribución del CMA obtenido de una simulación previa FEM, se calculó la distribución 3D de la DP a través del modelo matemático LRT. El volumen 3D de DP resultante, se utilizó como dato de entrada para una posterior simulación transitoria de temperatura (ver Figura 102 derecha). El resultado muestra la evolución térmica del tumor a lo largo del tiempo, teniendo en cuenta las distintas propiedades físicas y la capacidad de refrigeración de los tejidos.

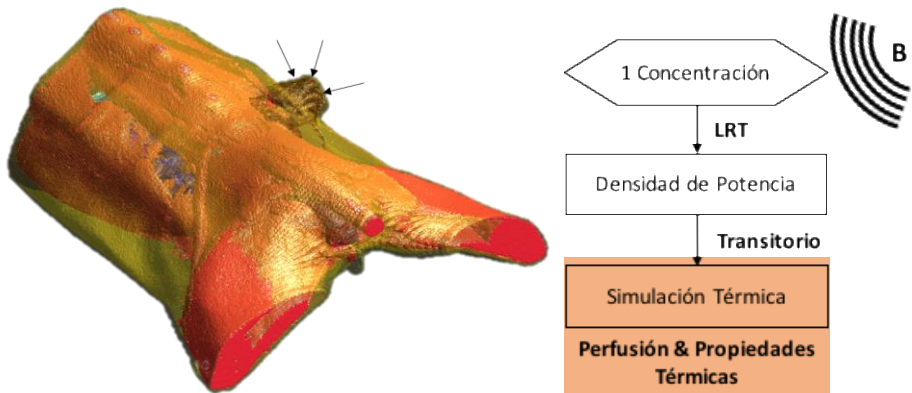


Figura 102: Modelo virtual del animal adquirido mediante CT en el que se indican los puntos de inyección del NF (izquierda). Diagrama de flujo del proceso realizado (derecha)

2.5.2. Posicionado aleatorio del NF considerando difusión

Al contrario que en el caso anterior, en este escenario se espera que haya una difusión después de inyectar el NF. El resultado de la distribución de los volúmenes y concentraciones está representado en el gráfico de Figura 103 (derecha). Sobre dicha distribución se aplicó el mismo procedimiento que el empleado en el escenario anterior. La principal diferencia es que en este caso se obtienen 6 DPs, debido a las distintas concentraciones.

2.5.3. Planificación de la distribución del NF

El método de planificación que se propone en este apartado (ver Figura 104) parte de un concepto diferente. Dicho método consiste en encontrar una distribución óptima del NF de la que se pueda deducir el número de puntos de inyección, su posición, concentración, volumen y parámetros del CMA a utilizar. Todo ello teniendo en cuenta las propiedades físicas de los tejidos y sus distintas perfusiones.

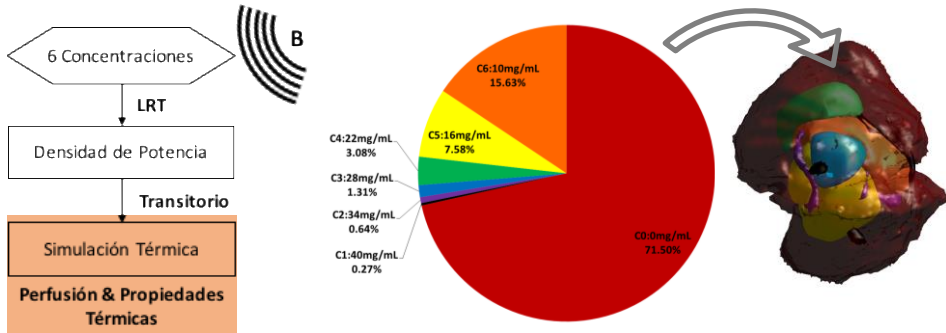


Figura 103: Diagrama de flujo del proceso (izquierda). Gráfico circular de la distribución del volumen de las concentraciones de NPMs dentro del tumor (centro). Distribución espacial de los distintos volúmenes de concentración de NPMs dentro del tumor (derecha)

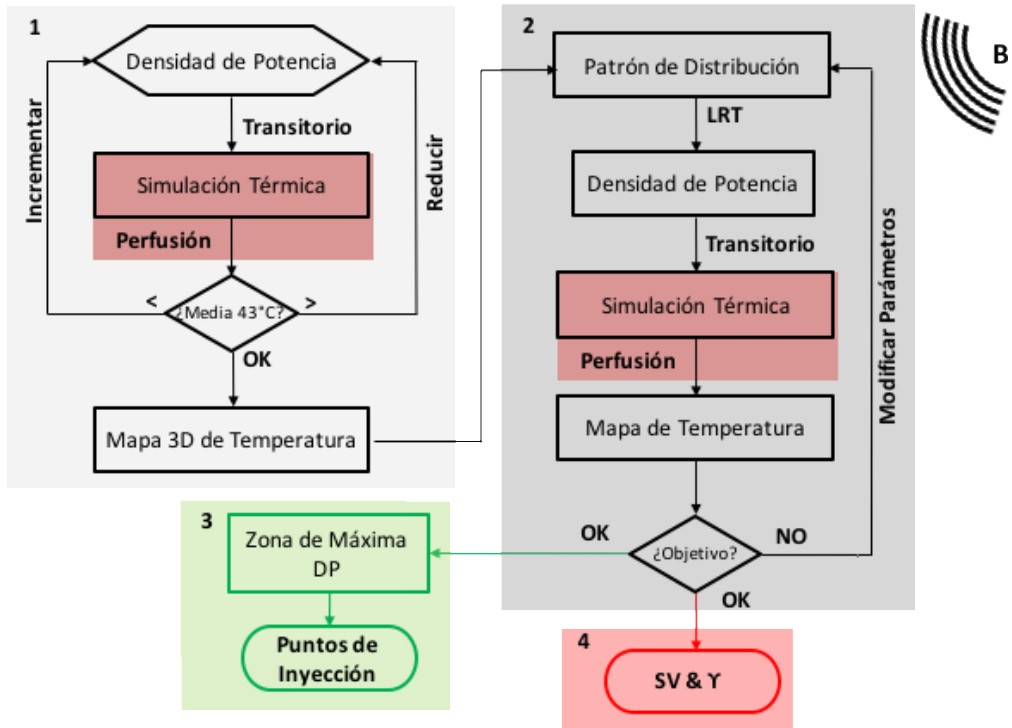


Figura 104: Diagrama de flujo del proceso en el que aparecen numerados los distintos pasos y las etapas de proceso.

Método optimizado:

1. Se aplica una DP uniformemente distribuida en todo el volumen del tumor y se simula su respuesta térmica transitoria. La simulación se itera variando la DP hasta conseguir una temperatura media del volumen tumoral de 43°C. Con este resultado se obtiene un mapa tridimensional característico.
2. El mapa de temperaturas obtenido, se toma como referencia para generar una nueva distribución del NF, obteniendo una nueva DP. El resultado se incluye en el modelo de simulación y se realiza una simulación térmica transitoria. El algoritmo se itera variando el perfil de distribución gaussiano de concentraciones, hasta conseguir que este se ajuste a un volumen de hipertermia (43 °C) que se aproxime al objetivo marcado, comprobando que el resto de los tejidos estén mínimamente afectados por la dosis térmica.
3. Una vez ajustado el modelo, se toma como referencia las zonas de máxima concentración de NPMs, del que puede extraerse la posición de los puntos de inyección.
4. Por último, de la distribución y concentraciones obtenidas se deduce el volumen de la suspensión y la concentración (Y) de la dosis inicial de inyección.

En el primer paso, cuando la temperatura alcanza una media de 43 °C, se consigue un patrón característico de la distribución de la temperatura dentro del tumor. La Figura 105 (superior) muestra una sección termo-gráfica de dicho comportamiento, donde se aprecia que la temperatura es más elevada en el interior del tumor, que en las zonas periféricas. Este descenso es mucho más pronunciado en los tejidos próximos a la piel y al músculo, debido a su mayor capacidad de perfusión (ver Figura 105 inferior).

El segundo paso consiste en realizar una nueva distribución de la concentración del NF en relación con la temperatura. El modo de operar consiste en incrementar la concentración en aquellos puntos donde la temperatura sea más baja y viceversa. Simulando una difusión del NF, se ha tomado una distribución de 20 concentraciones distintas que se ajustan a patrón gaussiano, (véase la Ecuación 8). Otra de las consideraciones es evitar que el NF se deposite muy cerca de la corteza superficial del tumor, para conseguir afectar en el menor grado posible los tejidos adyacentes al tumor.

Variando estos parámetros lo que se pretende es maximizar el volumen de hipertermia dentro del tumor, minimizando la dosis calorífica en el resto de tejidos.

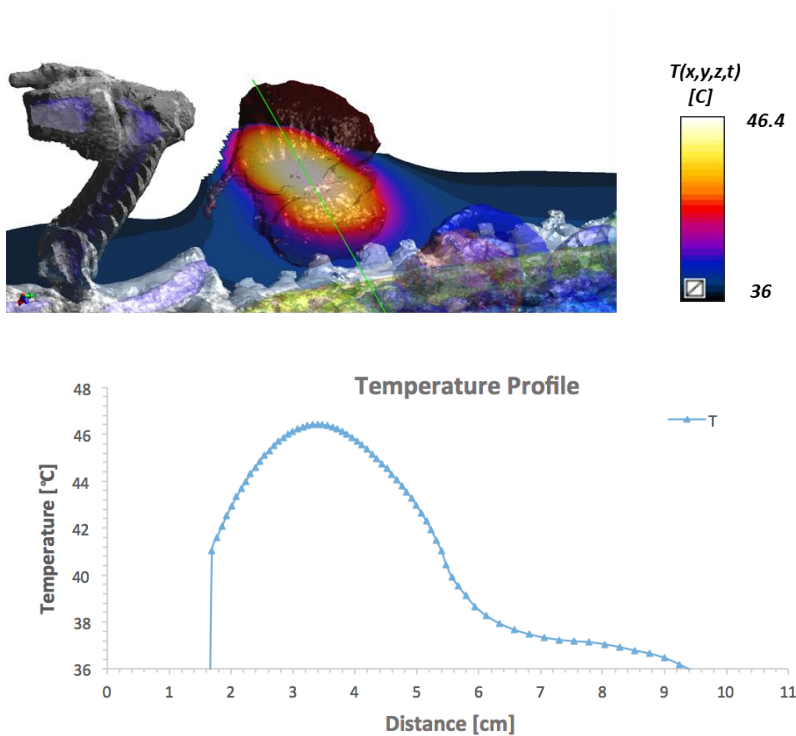


Figura 105: Distribución gráfica de la temperatura cuando el tumor ha alcanzado una temperatura media de 43°C (superior). Perfil térmico transversal registrado por la línea verde fluorescente (inferior)

La automatización de este proceso consiste en desplazar la cresta de la gaussiana a izquierda o derecha, lo que permite un control de la profundidad de inyección y con ello además de afectar en menor medida a los tejidos adyacentes se evita la aparición de puntos calientes. Por otro lado aumentar o disminuir la concentración y/o la intensidad del CMA-BF, influyen directamente sobre la DP, logrando abarcar un mayor volumen de tumor (ver Figura 106).

$$C_i = C_{Max} \cdot e^{\left(\frac{-(i-n_{con})^2}{n_{con}^2}\right)} \quad (8)$$

Capítulo 5 Planificación de una terapia personalizada de hipertermia magnética

donde C_{Max} es la máxima concentración, n_{con} es el número de concentraciones; i en un número comprendido desde 0 a $(n_{con}-1)$.

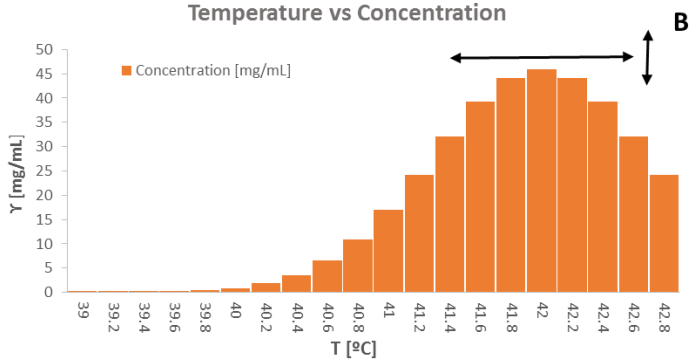


Figura 106: Distribución de la concentración de NPMs en conexión con la temperatura registrada en el mapa de temperatura 3D

El índice (I) a maximizar utilizado para la optimización está compuesto por tres términos: el primer sumando hace referencia al volumen de hipertermia alcanzado dentro del tumor (V_{T90}), el segundo sumando penaliza la ecuación cuanto mayor es el volumen de hipertermia que afecta a tejidos adyacentes (V_{T10}) y el último término solo se considera si la temperatura máxima se encuentra en el rango de 43 °C (T_{Lw}) a 46 °C (T_{Up}). En cuanto al parámetro $\beta_{1,2,3}$ hace referencia a los pesos de los diferentes términos:

$$I = V_{T90} \cdot \beta_1 + (1 - V_{T10}) \cdot \beta_2 + \begin{cases} \beta_3: & \text{if } T_{Lw} \geq T_{Max} \geq T_{Up} \\ 0: & \text{Othes} \end{cases} \quad (89)$$

El patrón de distribución del NF se transforma en una DP a través del modelo LTR, obteniendo la distribución 3D mostrada en la Figura 107 (superior). Al gráfico bidimensional que representaba la temperatura se le ha añadido la distribución de la DP y la nueva respuesta térmica tras una simulación transitoria. Como se puede apreciar el estímulo térmico queda compensado en torno a la temperatura de hipertermia (véase Figura 107 inferior).

Una vez optimizado el índice propuesto, el tercer paso consiste en deducir cuales son los puntos idóneos de inyección. Estos puntos están relacionados con la máxima concentración de NPMs (ver Figura 108 superior) e indican, en coordenadas cartesianas espaciales, su posición exacta (ver Figura 108 inferior).

El último de los pasos consiste en determinar la distribución de máxima concentración, el volumen y concentración de la inyección inicial. Para su elección se debe tener en

Capítulo 5 Planificación de una terapia personalizada de hipertermia magnética

cuenta una concentración y volumen total de la suspensión inferior al límite establecido (155 mg/ml y 0.4 ml/cm³ de tumor). Además, se debe considerar que la concentración inicial sea superior a la máxima obtenida ya que se espera que esta se difunda posteriormente.

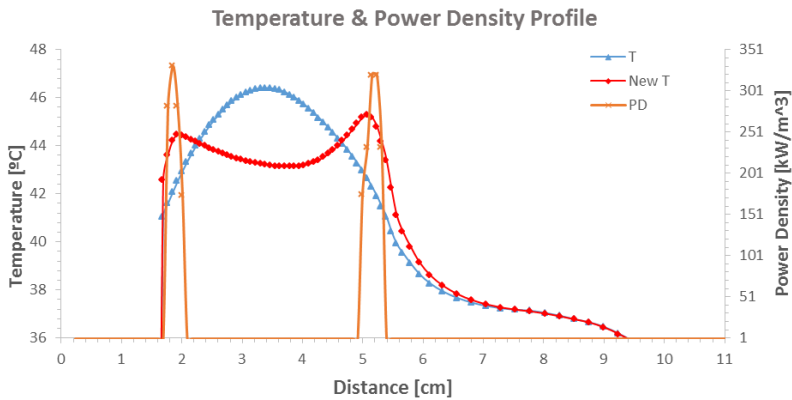
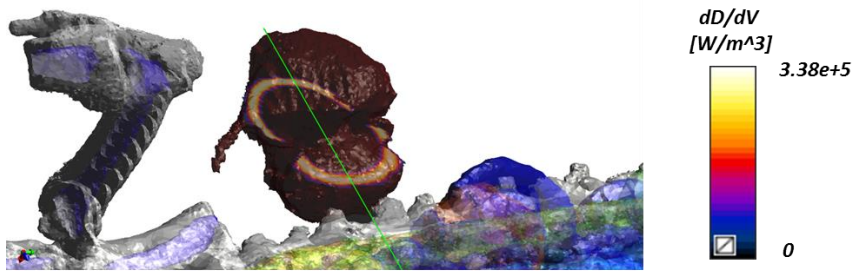
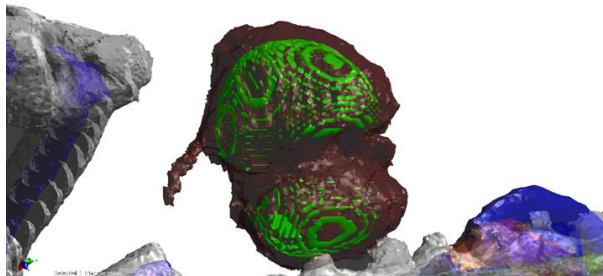


Figura 107: Distribución espacial de la nueva DP (superior). Perfil térmico transversal registrado por la línea verde fluorescente registrado en primer paso (azul) y segundo paso (rojo) junto con la nueva DP (naranja) (inferior)



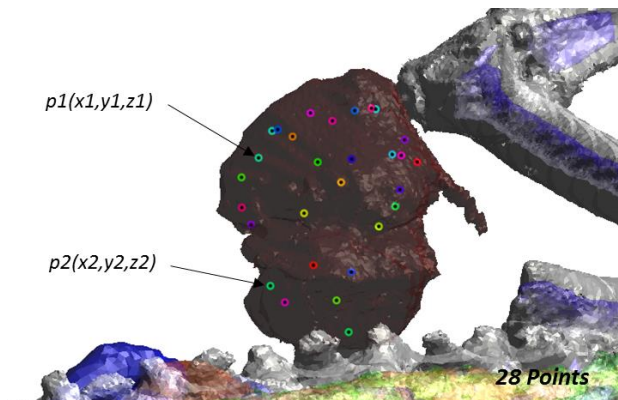


Figura 108: Zonas de máxima concentración de NF (superior) y deducción de la posición de 28 puntos de inyección (inferior)

3. Resultados

3.1. Distribución del NF sin difusión

En la Figura 109 (izquierda) se muestra una tabla resumen de la configuración de la simulación. El diagrama de colores asociado, indica de forma cuantitativa el grado de ajuste a las limitaciones impuestas por los principales parámetros. En el resultado gráfico se puede apreciar cómo se ha distribuido la temperatura dentro del tumor. Para que pueda apreciarse mejor dicha distribución, se han ocultado los tejidos que impiden que se vea claramente el tumor, estos son la piel, grasa y músculo, pero sin eliminarlos de la simulación. La distribución de temperatura dentro del animal, está representada con una gradación colorimétrica a lo largo de un plano que corta la zona media del tumor y por una representación del volumen isotérmico, a la temperatura objetivo de 43 °C (ver Figura 109 derecha). La temperatura registrada de este plano está asociada con una escala lineal de colores, que en este caso oscila entre la temperatura de 36 a 46.9 °C.

Como se puede apreciar, el volumen de hipertermia alcanzado no es muy elevado pese a que el NF posee un elevado rendimiento calorífico.

3.2. Distribución del NF tras difusión

En la tabla de la Figura 110 (izquierda) se aprecia que la configuración de la simulación se ajusta a los valores establecidos, manteniendo al límite la corriente del inductor y la intensidad del campo electromagnético. A simple vista se puede observar que el volumen de hipertermia alcanzado es muy superior al obtenido en el escenario anterior (ver Figura

110 derecha). Sin embargo no se ha sobrepasado el 25% del tumor, quedando muy lejos del objetivo esperado (90% del volumen tumoral).

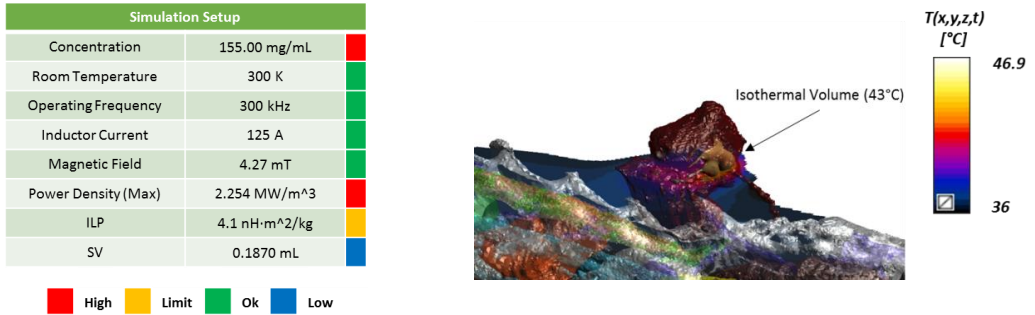


Figura 109: Tabla de configuración del experimento de simulación en donde se indica de forma cuantitativa mediante un diagrama de colores si se ajusta o no a los valores limitantes (izquierda). Resultado gráfico de la distribución térmica dentro del modelo virtual y volumen isotérmico a 43 °C (derecha)

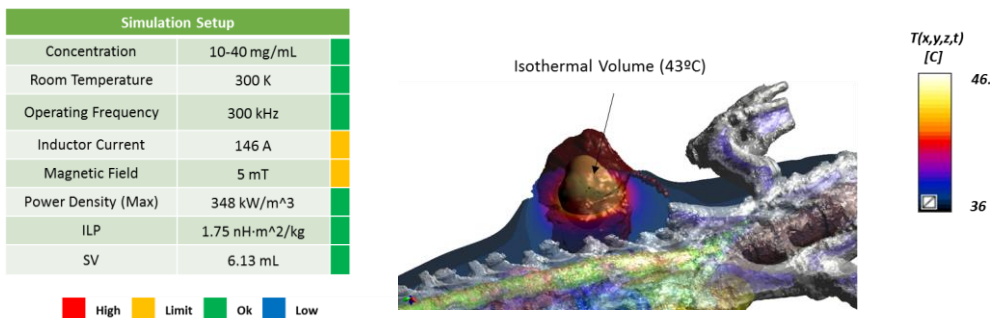


Figura 110: Tabla de configuración del experimento de simulación en donde se indica de forma cuantitativa mediante un diagrama de colores si se ajusta o no a los valores limitantes (izquierda). Resultado gráfico de la distribución térmica dentro del modelo virtual y volumen isotérmico a 43 °C (derecha)

3.3. Distribución óptima del NF

Como se puede apreciar en la Figura 111 (superior izquierda) todos los parámetros del experimento se encuentran dentro de los límites óptimos. Por otro lado en el histograma de temperatura se registra un volumen centrado en la temperatura de hipertermia (marca amarilla). Además también se aprecia que se consigue evitar la ablación de los tejidos (marca roja) (ver Figura 111 superior derecha).

Simulation Setup	
Concentration	0.01-46 mg/mL
Room Temperature	300 K
Operating Frequency	300 kHz
Inductor Current	135 A
Magnetic Field	4.53 mT
Power Density (Max)	313 kW/m ³
ILP	1.75 nH·m ² /kg
SV	6.75 mL

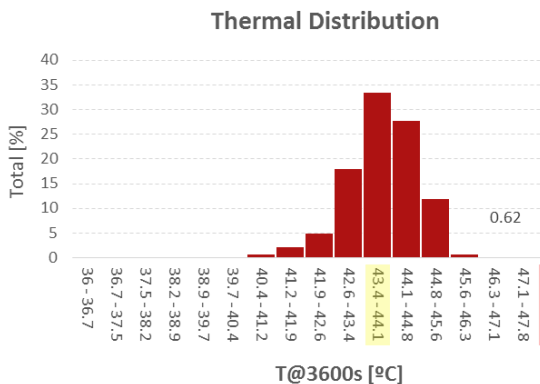


Figura 111: Tabla de configuración del experimento de simulación en donde se indica de forma cuantitativa mediante un diagrama de colores si se ajusta o no a los valores limitantes (izquierda). Histograma de distribución volumétrica de la temperatura dentro del tumor (derecha).

En cuanto a los resultados gráficos, se aprecia que el volumen de hipertermia se adapta perfectamente a la morfología del tumor (ver Figura 111 izquierda inferior), siendo mínima la zona afectada por el calor, en los tejidos periféricos. En cuanto a los puntos calientes, también aparecen pero cuando ya se ha alcanzado un 90% del volumen de hipertermia en el tumor, por lo que no es un factor limitante.

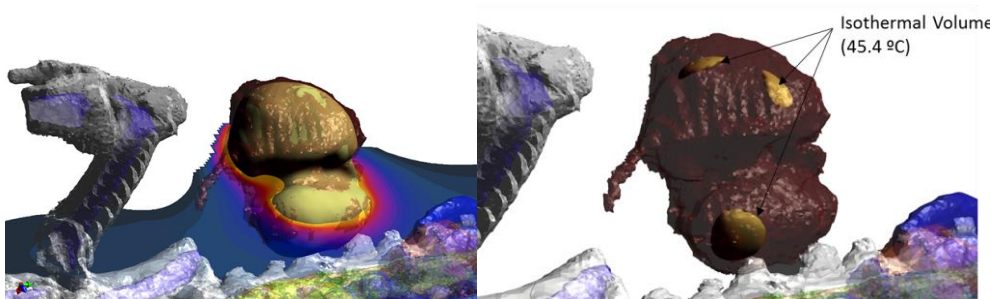


Figura 112: Resultado gráfico de la distribución térmica dentro del modelo virtual y volumen isotérmico a 43°C (inferior izquierda). Volumen isotérmico a temperatura de 45.4°C (inferior derecha)

4. Validación del modelo virtual

Los experimentos realizados en este apartado han servido para modelar y validar todos los parámetros que influyen en la simulación virtual de la terapia de hipertermia, mediada a través de NPMs. Para su modelado se han tenido en cuenta los aspectos más relevantes de dicha terapia, entre los que se destaca: el rendimiento calorífico, posicionamiento 3D, volumen inyectado, concentración y difusión de las NPMs, así como las propiedades del CMA utilizado. Para ello, se han contrastado experimentos reales, realizados con fantomas, con los resultados de simulación obtenidos mediante una herramienta FEM. Estos experimentos han servido de aproximación práctica, tratando de afianzar los resultados extraídos de la técnica descrita en la planificación de la terapia.

Para conseguir trasladar de forma más fidedigna la experiencia práctica al entorno virtual, se ha trabajado en un equipo capaz de controlar aquellos aspectos relevantes en el inyectado de NPMs. También se ha realizado un estudio previo de caracterización del rendimiento calorífico de las NPMs, con el ánimo de contrastar los resultados prácticos con los virtuales.

Todo este trabajo se ha utilizado como base para la realización de tres experiencias prácticas, una de ellas en un medio que simula un tejido y las otras dos con carne de ave, que han servido para contrastar dichos resultados.

4.1. Materiales y métodos

4.1.1. Control automatizado del sistema de inyección

Uno de los aspectos más relevantes en la planificación de la terapia, es que el modelo virtual utilizado tenga un comportamiento similar al real. Para ello se necesitan tener controlados el máximo número de variables. En este sentido se trabajó en un sistema automatizado para controlar aquellos factores que influyen en el control de la inyección. Este equipo está compuesto por un motor paso a paso que a través de un sistema de engranajes, transmite un giro mecánico a un husillo, que finalmente lo transforma en un movimiento rectilíneo de precisión. Este sistema es capaz de actuar sobre una jeringa de 1 ml (ver Figura 113), permitiendo inyectar un caudal en el rango de 1 a 100 $\mu\text{l}/\text{min}$.

Para conseguir dicho control un μC Arduino Nano se encarga de generar la secuencia de pulsos de activación del motor. Esta secuencia se transmite a través de un puente en H, basado en el driver L298 N. El usuario puede comunicarse con dicho dispositivo a través de un interfaz tipo terminal, que se trasmite vía serie por una conexión USB. Para su control, el usuario puede acceder a tres opciones de menú: el ajuste de caudal, el tiempo de inyectado y el caudal inyectado.

Este dispositivo se ha diseñado para acoplarse como un accesorio más de la máquina de control numérico (CNC) BUNGARD®. De esta forma el sistema se puede programar con los datos de posición 3D, caudal y volumen deseado.

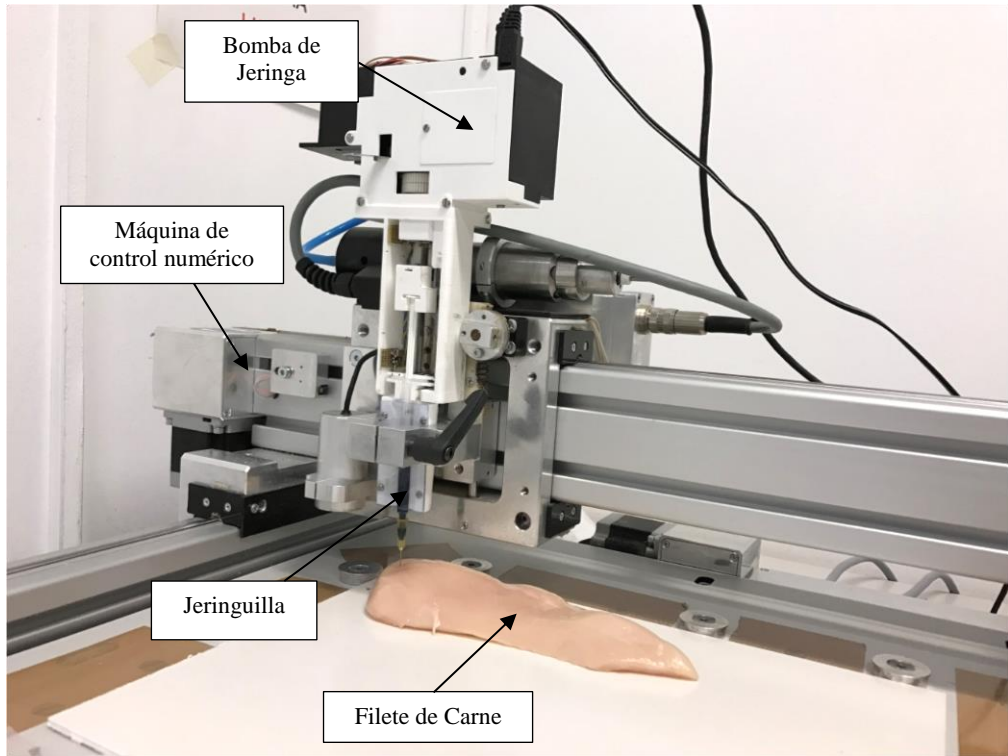


Figura 113: Sistema robotizado para el control del volumen, flujo volumétrico y posición 3D de la muestra

4.1.2. Inyección de un fluido en carne

La difusión de un fluido en un tejido se realiza a través del espacio intersticial de las células, propagándose a través de las fibras del tejido. Gran parte de la difusión depende de la presión que oponga el medio tras ser inyectado el fluido. En el siguiente estudio, se ha realizado un experimento para determinar cómo influye el caudal en la difusión de un líquido, tras ser inyectado en carne muscular. Para ello, sobre una pechuga de pollo fresca, se inyectó seis pinchazos de 100 μl de tinta de impresión, a una profundidad de 7 mm, utilizando distintos caudales: 1, 2, 4, 6, 8, 10 $\mu\text{l}/\text{min}$ (ver Figura 114). Una vez realizados todos los pinchazos y tras 20 minutos de reposo, la pechuga se congeló a $-20\text{ }^\circ\text{C}$, permaneciendo durante 12h en el refrigerador. Transcurrido este tiempo se le practicó un corte longitudinal y 6 trasversales para ver la difusión en su interior.

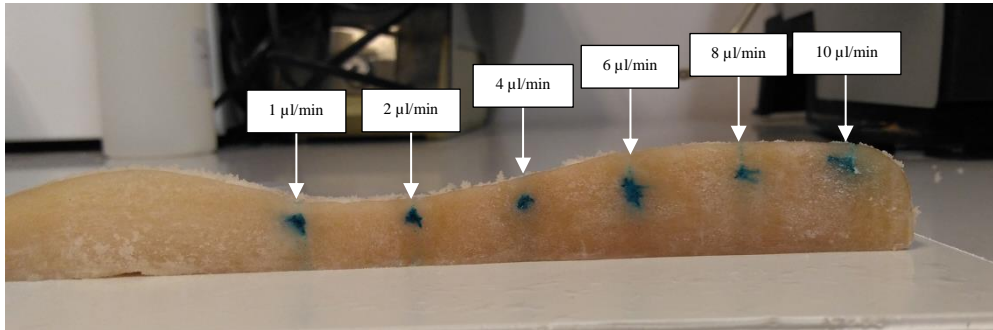


Figura 114: Corte transversal del filete de pechuga en el que se puede apreciar los seis puntos de deposición de la tinta

4.1.3. Caracterización de las NPMs en distintos medios

Las herramientas FEM pueden utilizarse para simular modelos térmicos muy complejos. No obstante, se requiere conocer de forma precisa todas las variables que intervienen en el modelo, para que este sea lo más real posible. Una magnitud muy importante en la simulación térmica es el rendimiento calorífico del NF. Para su caracterización se utilizaron dos cubetas de plástico cuadradas, vertiendo sobre ellas 1 ml de una suspensión de NPMs a una concentración de 25 mg/ml de hierro (elaboradas según el procedimiento descrito en el apartado 4.3.1. del capítulo 3), en 1 ml de agua destilada sobre una de ellas y en 1 ml de agarosa al 2% sobre la otra. Después que ambas muestras se estabilizaron a la temperatura ambiente controlada de 35 °C, dentro de la cámara termostática, se les aplicó un CMA de 15 mT a 200 kHz durante 5 min, que se utilizó para la medida de su rendimiento SAR (ver Figura 115).

En cuanto a la elaboración de la gelatina, se disolvió una concentración al 2% de agarosa (Sigma-A9539) en agua destilada. Para ello se añadió poco a poco en agua hirviendo, mientras se agitaba con una varilla de vidrio hasta obtener su completa disolución.

4.1.4. Inyección e inducción del NF en agarosa

Este ensayo se realizó con la finalidad de comprobar en un ambiente controlado todos los parámetros prácticos de la terapia. Para ello se utilizó un recipiente de 20 ml ($\Phi 36$ mm, h21 mm) en el que se depositaron 16 ml de agarosa al 0.4%, siguiendo el procedimiento descrito anteriormente. Mientras que la mezcla se enfriaba, a la temperatura de 31.9 °C (ver Figura 116 derecha) se inyectó 100 µl de una suspensión acuosa de NPMs (SAN02) a una concentración de 25 mg/ml de hierro a un caudal de 10 µl/min.

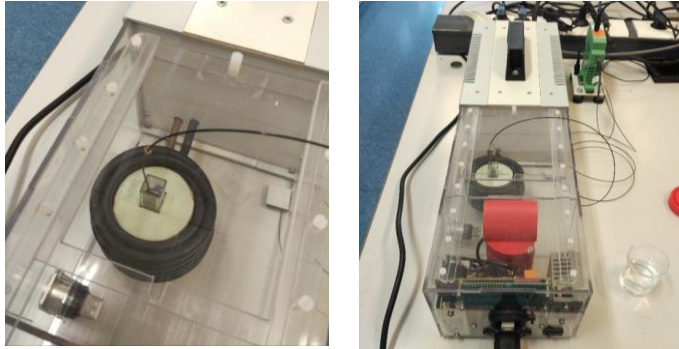


Figura 115: Experimentos para determinar el rendimiento calorífico del NF en la cámara termostática

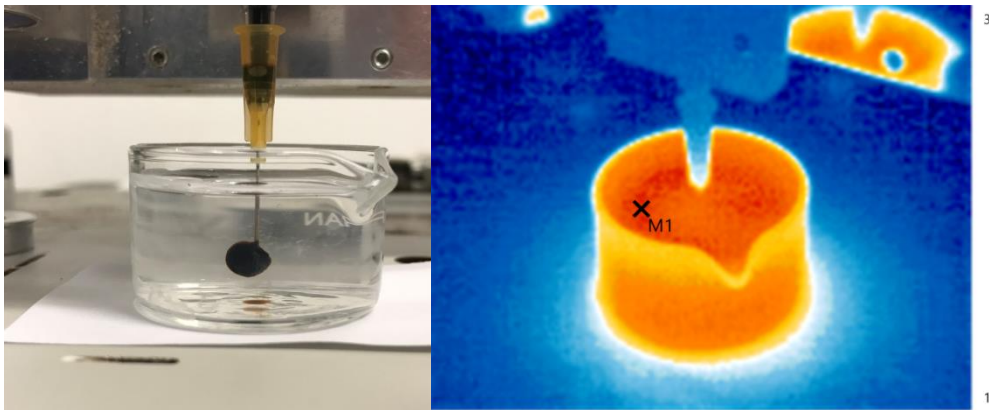


Figura 116. Detalle de la muestra de agarosa durante el proceso de inyección del NF (izquierda). Imagen térmica del momento de inyección, donde M1 = 31.9°C (derecha)

A continuación para referenciar el posicionamiento de los sensores, se realizaron tres pinchazos más en los puntos P1, P2 y P3 (ver Figura 117). Sobre este fantoma se aplicó una inducción 15 mT durante 30 minutos a una frecuencia de 200 kHz.

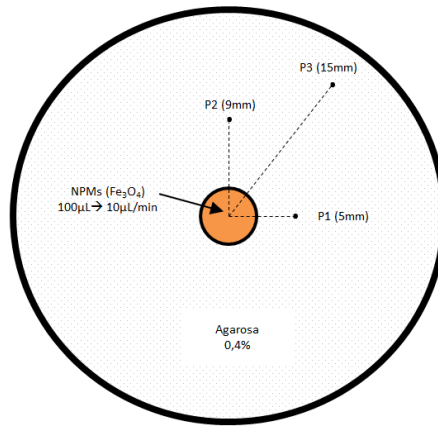


Figura 117. Distribución espacial del punto de inyección y de los puntos de medida de temperatura

4.1.5. Inyectado del NF en el fantoma de carne

En la siguiente experiencia práctica se trabajó sobre el fantoma con el objetivo de ajustar la potencia calorífica del NF en simulación, para que cuadre con el comportamiento real. Para ello en un recipiente de 22 ml ($\Phi 36$ mm, h22 mm) se depositó un corte cilíndrico de carne de pechuga de pollo, con un volumen aproximado de 12 ml. A continuación se vertió una mezcla de agarosa al 2% hasta cubrir todos los huecos de aire. Seguidamente se inyectaron cuatro volúmenes de 100 μ l siguiendo las posiciones y caudales descritos en la Tabla 1 (I1-4) (ver Figura 118 izquierda), a una concentración de 50 mg/ml de NPMs en suspensión acuosa Figura 118 derecha. Finalmente se realizaron tres marcas para referenciar su posición en el tablero de la CNC (R1-3).

Tabla 8: Posicionado, caudal y volumen del NF inyectado

	X(mm)	Y(mm)	C(μ l/min)
I1	76,0	73,0	10
I2	76,0	93,0	8
I3	86,0	78,0	6
I4	84,0	88,0	4

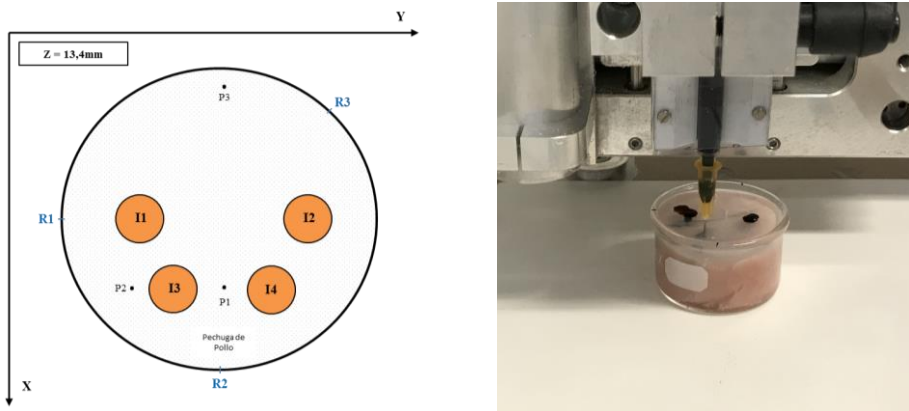


Figura 118: Distribución espacial de los puntos de inyección y de los puntos de medida de temperatura

4.1.6. Caracterización de la distribución del NF mediante RMN

Al contrario que ocurría en el fantoma de agarosa, una vez inyectado el NF en la carne, no se puede apreciar de qué forma se ha distribuido. Para verificar su distribución se pueden utilizar técnicas no destructivas de imagen biomédica, como la tomografía computarizada y/o la resonancia electromagnética nuclear (RMN)

Con la finalidad de obtener una distribución de referencia, mediante la técnica de RMN se realizó un estudio utilizando una máquina de Philips de 3 T. Para su adquisición se dispuso la muestra en una cubeta de plástico llena de agua, configurando la adquisición con un tamaño de vóxel de 1 mm y empleando la técnica MULTI-ECO. Para ello se programaron 12 tiempos de eco (TE) a intervalos de 1.2 ms, partiendo de 2.5 ms.

4.1.7. Experiencia real y simulación del fantoma de carne

Experiencia 1

Para realizar esta experiencia se registró la temperatura del fantoma de carne descrito en el apartado 4.1.5. en los puntos P1, P2 y P3 (ver Figura 118) durante 30 minutos, mientras que estaba expuesto a un campo de 15 mT a 200 kHz, manteniendo una temperatura ambiente y del inductor a 37 °C (ver Figura 118 izquierda). Por otro lado se realizó el mismo experimento empleando una muestra de carne libre de NF.

Seguidamente, para contrastar los resultados se trabajó con un modelo de simulación de similares características. Para ello se utilizó el módulo de análisis térmico transitorio de la herramienta ANSYS® 18.1. En este entorno se modelaron todos los elementos en un escenario 3D (ver Figura 119), asignándoles sus correspondientes propiedades térmicas (ver Tabla 6) y considerando un coeficiente de transmisión térmico de $6 \text{ W/m}^2/\text{K}$.

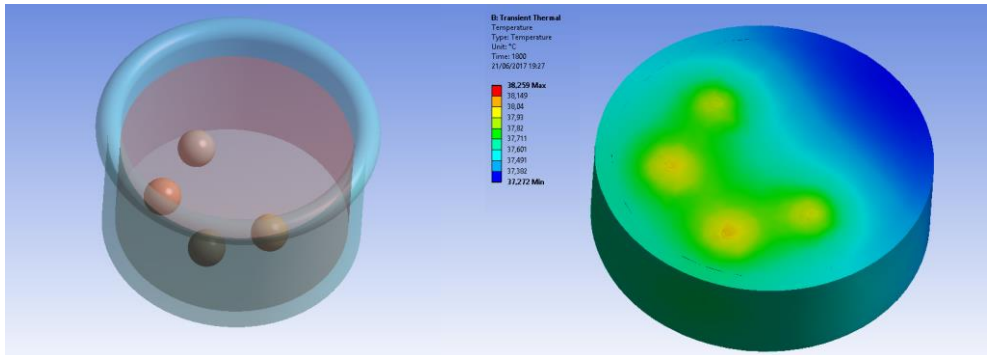


Figura 119: Disposición del NF representado por cuatro esferas en el interior de la carne (izquierda). Instantánea de la distribución térmica dentro del tejido virtual en el instante final del experimento (derecha)

Experiencia 2

El último experimento se utilizó para la validación de los resultados obtenidos en la experiencia anterior. En este estudio se planteó alcanzar la temperatura de hipertermia ($40\text{-}48 \text{ }^\circ\text{C}$) en el punto central del fantoma P1, siguiendo el patrón de inyectado del NF descrito en la Figura 120. Previo a los resultados prácticos se realizó un análisis del escenario con la simulación FEM, utilizando la potencia calorífica deducida de la experiencia anterior. Como resultado de dicho análisis se obtuvo que para alcanzar una temperatura de $42 \text{ }^\circ\text{C}$ tras 30 minutos de simulación era necesario inyectar ocho volúmenes de NF de $200 \text{ }\mu\text{l}$ a una concentración de 100 mg/ml , distribuidos de forma equidistante en torno a un radio de 10 mm .

A continuación el modelo propuesto se trasladó a un fantoma real. Para ello sobre una pechuga de pollo se inyectaron ocho pinchazos según el volumen y distribución descrito, a un caudal de $4 \text{ }\mu\text{l/min}$ para evitar los efectos de la sobrepresión durante el inyectado. Una vez inyectado se cortó la carne para adaptarla a la cubeta de vidrio. Y seguidamente a dicho fantoma se le aplicó un CMA de 15 mT a una frecuencia de 200 kHz durante 30 minutos, manteniendo una temperatura ambiente y del inductor a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ (ver Figura 121).

Capítulo 5 Planificación de una terapia personalizada de hipertermia magnética

Por otro lado, en estas mismas condiciones se realizó el mismo experimento pero con una carne libre de NPMs.

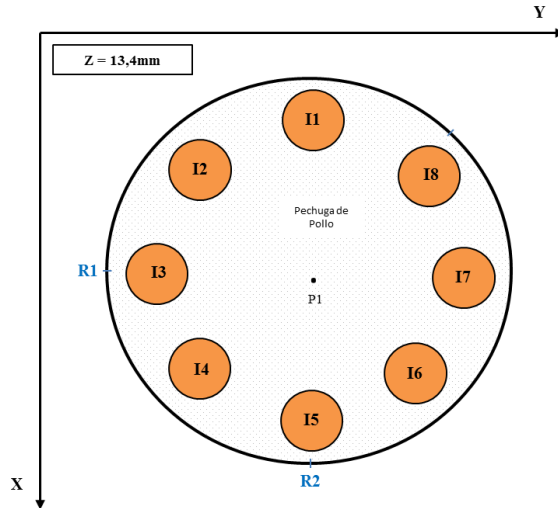


Figura 120: Distribución espacial de los puntos de inyección y de los puntos de medida de temperatura



Figura 121: Experimento de inducción del fantoma de carne con NPMs

4.2. Resultados prácticos y conclusiones

4.2.1. Difusión de un fluido tras ser inyectado en carne

En la Figura 122 se puede apreciar la difusión de la tinta tras los pinchazos. Comparando el pinchazo de mayor caudal, con el de menor, se encuentra una gran diferencia de difusión. Inyectando un caudal a razón de $1 \mu\text{l}/\text{min}$, la tinta tiende a concentrarse en el lugar del pinchazo debido a la baja presión que ofrece el medio. En cambio, inyectando a $10 \mu\text{l}/\text{min}$, el caudal tiende a ocupar mucho más espacio.

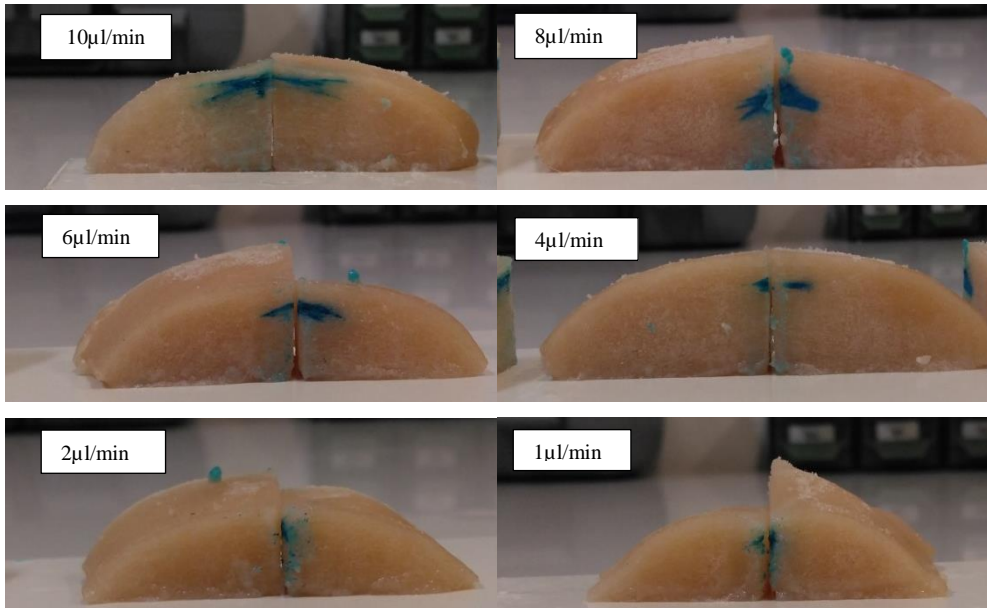


Figura 122: Vista de la difusión de la tinta dentro del filete de carne tras un corte transversal y longitudinal

Este comportamiento se debe al aumento de presión, por el cual la tinta tiende a expandirse siguiendo el veteado de las fibras. Si dicha presión sigue aumentando y el volumen inyectado es mayor que el que admite el tejido, parte del fluido puede retornar por el orificio de entrada, una vez retirada la aguja. Por ello, es importante llegar a un compromiso entre una mayor o menor difusión, el tiempo de inyección y la presión aplicada. Como se puede apreciar, existe una gradación de difusión acorde a los distintos caudales, que puede tomarse como referencia para valorar dichos aspectos.

4.2.2. Comportamiento térmico del NF en distintos medios

En la Figura 123 se muestran los resultados de calentamiento tras la inducción de una muestra de NF, por un lado suspendida en agua y por otro suspendida en agarosa. Analizando los datos experimentales de las NPMs suspendidas en agua, se puede comprobar una respuesta térmica similar, lo que denota una buena dispersión sin presentar agregados tras la exposición al campo. Por otro lado las NPMs suspendidas en agarosa muestran un menor rendimiento que las suspendidas en agua.

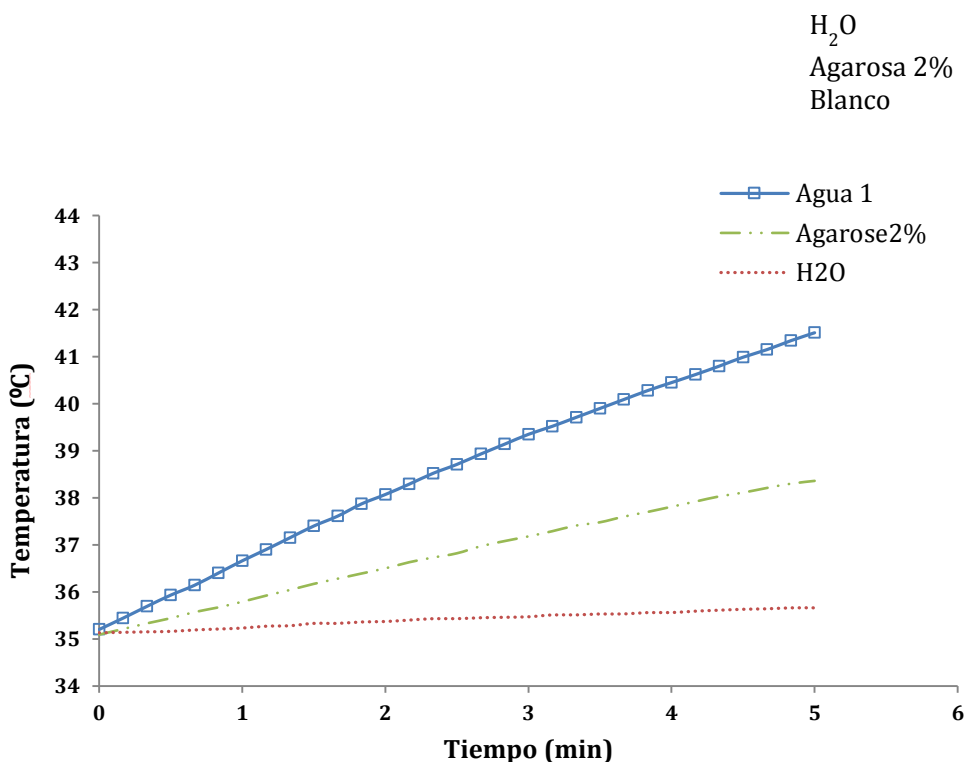


Figura 123: Resultados de calentamiento tras 2 minutos de inducción

Tomando estos resultados prácticos y considerando un 35% de materia orgánica en la composición de la NP, en un volumen total de 2 ml a una concentración de 12.5 mg/ml de NPMs, se ha obtenido un SAR en medio acuoso de 13.39 W/g y en agarosa de 6.7 W/g, lo que corresponde a un ILP de 0.47 nH·m²/kg y 0.235 nH·m²/kg respectivamente. Este descenso puede ser debido a la pérdida de movilidad de las NPMs al someterse a un medio más viscoso.

4.2.3. Transmisión térmica del calor producido por el NF en agarosa

En la Figura 124 se muestra el comportamiento térmico de los tres puntos de medida, tras la inducción y 9 minutos de reposo.

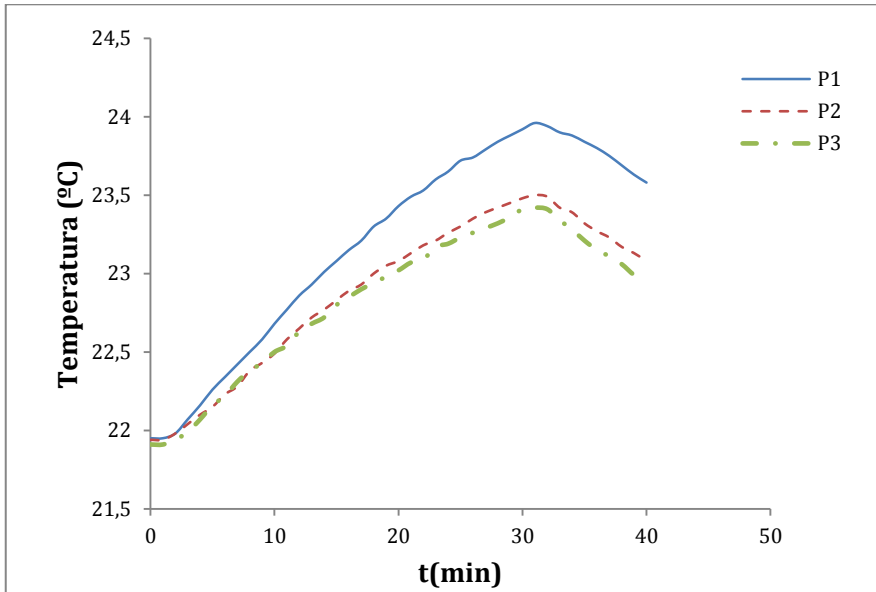


Figura 124. Curvas de calentamiento en los puntos P1, P2 y P3 de la muestra de agarosa y NPMs

Mediante este experimento quedó demostrado que se puede controlar el posicionamiento, volumen y caudal del NF con las herramientas propuestas. Por otro lado se pudo verificar como afectaba la distancia de los pinchazos con respecto al punto donde está depositado el NF.

4.2.4. Difusión del NF contrastado con la imagen RMN

Los resultados de la Figura 125 (derecha) muestran la imagen procesada del segundo corte adquirido con un TE de 2.5 ms. Junto a la imagen obtenida se muestra una escala colorimétrica de la relajatividad R^* asociada con la cantidad de hierro, en donde la ausencia de hierro se corresponde a colores azules y su presencia a tonalidades rojizas.

Contrastando estos resultados obtenidos con la bisección de la carne, mostradas en la Figura 125 (izquierda), se puede apreciar que las zonas más oscuras del sombreado rojizo se adaptan a la distribución real del NF, lo que confirma dicha distribución.

4.2.5. Calentamiento del fantoma de carne

Experiencia 1

En el gráfico de la Figura 126 se han representado las curvas de calentamiento registradas en los puntos P1-3 comparándolas con los valores obtenidos en simulación S1-3. Para lograr adaptar el modelo de simulación a la respuesta real registrada, ha sido necesaria una potencia volumétrica del NF de 0.91 W/g.

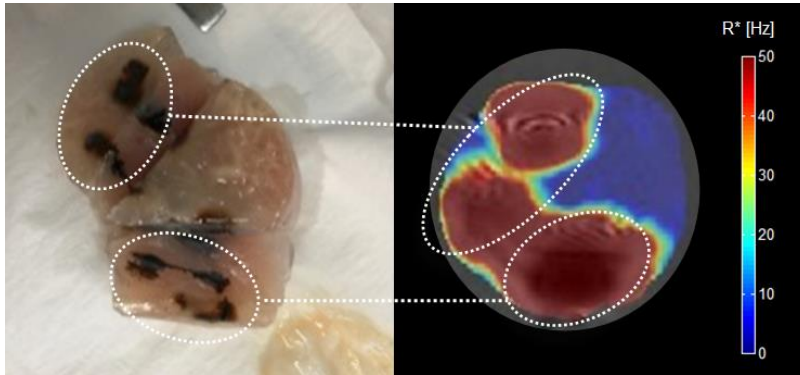


Figura 125: Bisección de la carne para apreciar distribución interior del NF (izquierda), imagen RMN de un corte interior en donde se puede apreciar la distribución del NF (derecha)

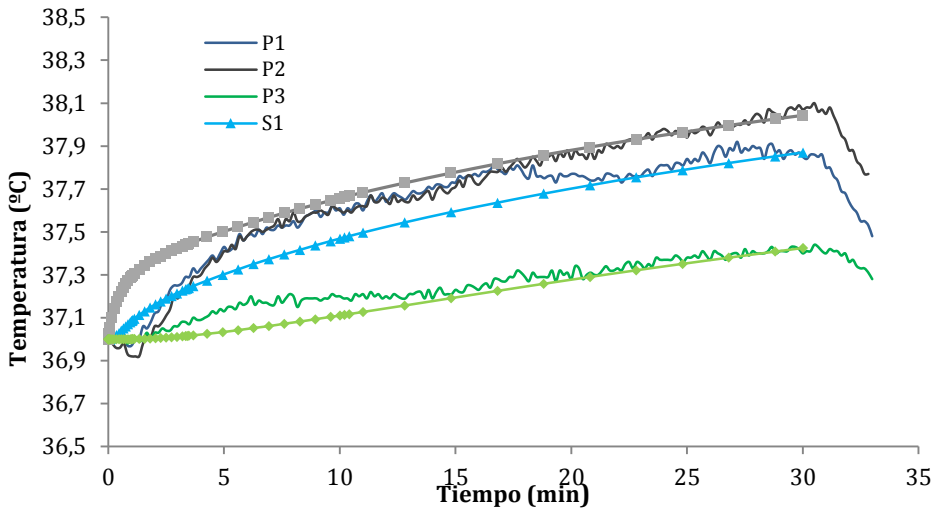


Figura 126: Curvas de calentamiento del fantoma en los puntos P1-3 contrastado con los resultados de simulación en las mismas posiciones del modelo virtual S1-3

Experiencia 2

Gráficamente en la Figura 127 derecha se puede apreciar que en el mapa de distribución térmica se alcanza la temperatura de hipertermia en el último instante de simulación.

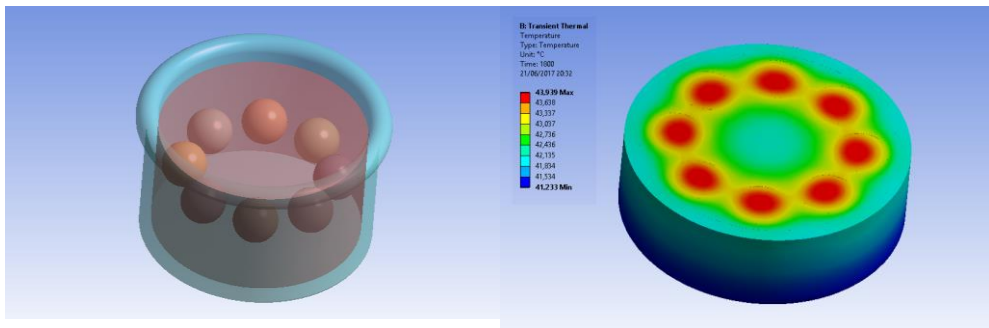


Figura 127: Modelo virtual del NF, carne y cubeta (izquierda). Instantánea de la distribución térmica dentro del tejido virtual en el instante final del experimento (derecha)

En la Figura 128 están reflejadas las curvas de calentamiento de la carne libre de NPMs (punteado), de carne con NPMs (trazo punto) y la diferencia entre ambas (trazo continuo). También se puede apreciar la respuesta predicha de los resultados de simulación (marcadores cuadrados). Como se puede apreciar el fantoma es capaz de

alcanzar una temperatura de 41 °C debida simplemente a la acción de las NPMs tras la influencia del campo.

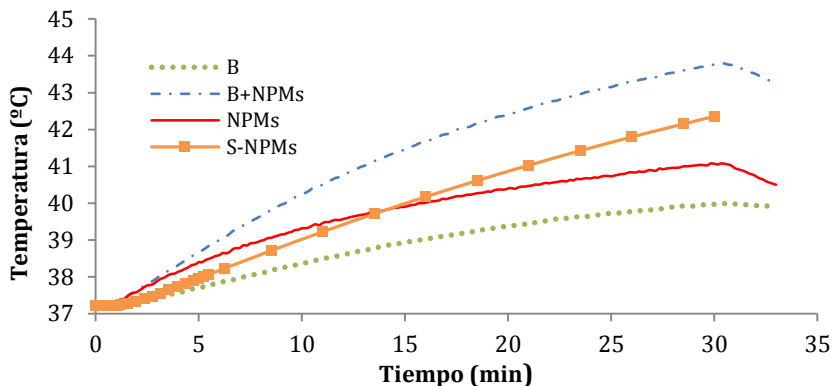


Figura 128: Respuesta térmica del experimento debida a la inducción de la carne (B), a la inducción de la carne y a las NPMs (B+NPMs), solo debido al aporte de las NPMs (NPMs) y la respuesta de simulación solo aplicado por el poder calorífico de las NPMs (S-NPMs)

5. Discusión

5.1. Modelos planteados de simulación

El presente trabajo se ha centrado en el desarrollo de la planificación de una terapia de hipertermia personalizada basada en NPMs. Para ello, se han modelado las principales características y limitaciones, incluyendo los distintos elementos que intervienen, en tres escenarios de simulación.

Los resultados muestran que en ausencia de difusión, el NF trabaja de forma aislada, generando un calor localizado próximo al volumen que ocupa. Esta misma conclusión se obtuvo en los resultados reportados por Cervadoro et al. (Cervadoro *et al.*, 2013). Como consecuencia para obtener mejores resultados, se necesitaría de unas NPMs que presentaran una elevada DP, ya sea debido a un aumento de la concentración o por un CMA de gran intensidad. No obstante al aumentar el poder calorífico, la zona alcanzaría fácilmente la temperatura de ablación, produciendo quemaduras en torno al volumen depositado. Además por mucho que se calentara, nunca se conseguirá alcanzar un volumen próximo al 90% del tumor, debido a que con esta técnica se produce un calentamiento de forma muy localizada.

Para que el calentamiento se distribuya adecuadamente en el volumen del tumor, es necesario que se produzca una difusión del NF en su interior. No obstante el hecho de que se produzca una difusión en el ambiente celular, implica una merma del poder calorífico, debido al aumento de la viscosidad y a las interacciones dipolares (Di Corato

et al., 2014). Para contrarrestar dicha merma de rendimiento, en varias publicaciones se han utilizado volúmenes y concentraciones de NF muy elevadas, reportándose volúmenes entre 0.28 a 0.4 ml/cm³ respecto al tumor y concentraciones de hierro hasta 112 mg/ml (Thiesen and Jordan, 2008),(Maier-Hauff *et al.*, 2011). Una vez inyectado el NF se difunde siguiendo una distribución gaussiana, a través del espacio intersticial (Salloum *et al.*, 2008) que en la simulación se ha modelado tomando 6 concentraciones distintas, siguiendo los resultados propuesto por Attaluri *et al.* (Attaluri *et al.*, 2011).

A través de esta nueva distribución se han obtenido mejores resultados, es decir un mayor volumen de hipertermia, necesitando intensidades de campo y concentraciones menos elevadas que en el escenario anterior. Sin embargo se plantea una limitación para alcanzar un volumen mayor de hipertermia, la aparición de puntos calientes en el interior del tumor debido a la mala distribución del NF. Una estrategia para mejorar dicho volumen consiste en aumentar la DP. Para ello o se aumenta la intensidad del CMA o la concentración inicial de la inyección. En este aspecto la configuración propuesta no permite un incremento de la intensidad de campo ya que implicaría una intensidad de campo peligrosa, pero sí de la concentración. No obstante, aumentar la DP no sería una buena opción si se quiere evitar la ablación de tejidos, ya que al incrementarse aumentaría tanto el volumen en la temperatura de hipertermia (marca amarilla) como el de los puntos más calientes, apareciendo un volumen no deseado en el que se alcanzaría la temperatura de ablación (marca roja) (ver Figura 129 derecha). Este efecto se puede apreciar en el histograma volumétrico de distribución de temperaturas de la Figura 129 (izquierda).

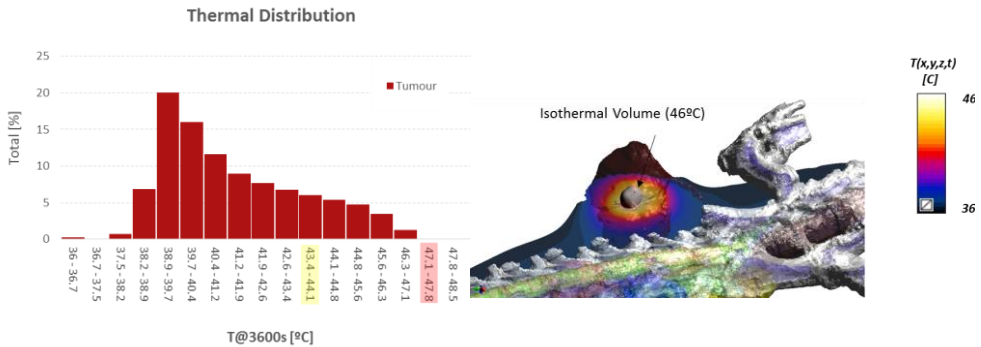


Figura 129: Histograma de distribución volumétrica de la temperatura dentro del tumor (izquierda). Resultado gráfico de la distribución térmica dentro del modelo virtual y volumen isotérmico a 46°C (derecha)

La estrategia planteada en el escenario anterior ha supuesto una mejora en el volumen de hipertermia alcanzado. Sin embargo se puede apreciar que no es una buena opción

distribuir el NF de forma aleatoria. Para obtener una buena distribución es conveniente tener en cuenta otros factores, como la morfología del tumor, las diferentes propiedades térmicas de los tejidos y perfusión, el rendimiento térmico del NF, las propiedades del campo, etc. Por consiguiente, para poder mejorar estos resultados se requiere de un método que resuelva este problema y que sirva de patrón cuando este se lleve a la práctica.

Salloum et al. propusieron un algoritmo iterativo, en el que partiendo de un número de puntos de inyección predeterminado y asumiendo que la concentración del NF se distribuye de forma gaussiana, se optimiza un índice para obtener una distribución adecuada del NF que ayude a alcanzar la temperatura de hipertermia en el tumor. Sin duda, los resultados obtenidos cumplen las expectativas. Sin embargo podría resultar computacionalmente muy costoso en el caso que se trabaje en un escenario tridimensional, en el que intervengan un gran número de puntos de inyección (Salloum, Ma and Zhu, 2009).

Para corregir este problema se ha desarrollado un método de planificación que sirve como patrón para conseguir una mejor distribución del NF y alcanzar volúmenes de hipertermia en torno al 90%, afectando mínimamente al resto de tejidos.

Además, este método de distribución de NPMs no supone un problema computacionalmente costoso, alcanzado un resultado de simulación en torno a minutos. Sin embargo, estos resultados dependen de la resolución espacial y de la máquina de procesado utilizada. Aunque el presente estudio no se ha centrado en deducir el coste computacional que supone el procesado, sí que se puede afirmar que el tiempo de espera de la planificación no supondría una demora significativa en el tratamiento.

5.2. Estudio de validación del modelo de simulación

5.2.1. Modelo de difusión del NF

Con el ánimo de trasladar los resultados prácticos al escenario de simulación, se ha realizado un estudio previo de la difusión en relación con el caudal inyectado. Analizando los experimentos de inyección de tinta, se ha podido comprobar que la difusión aumenta con el caudal de inyección. Esto constata los resultados obtenidos por Barry et al, en donde la difusión toma un comportamiento no lineal que depende de la presión local de la inyección (Barry and Aldis, 1992).

Sin embargo, debido a las irregularidades en el interior del tejido y la disposición de sus fibras, las NPMs pueden distribuirse de forma distinta a lo teóricamente expuesto. Esto se ha podido deducir del ensayo de validación, en donde el volumen inyectado suponía aproximadamente un 16% del volumen de carne. Como se puede apreciar en la Figura 130, pese a que no se esperaba que el NF alcanzara la parte central del fantoma, este se ha distribuido horizontalmente siguiendo el sentido de las fibras. Por ello si se

pretendiera conseguir una distribución óptima del NF, sería conveniente obtener un modelo 3D lo suficientemente detallado como para poder predecir hacia dónde se va a dispersar dicho NF.

En el caso de no disponer de este tipo de modelos predictivos, dicha distribución se puede obtener a posteriori, después de inyectar el NF. Los resultados publicados por Attaluri et al. muestran que es posible obtener una correlación entre la concentración de hierro y el valor de pixel obtenido mediante μ TC (Attaluri *et al.*, 2011; Attaluri, Ma and Zhu, 2011). También se puede detectar la presencia de hierro empleando la técnica de RMN. No obstante, es muy común que en dichas imágenes se produzca una distorsión a partir de una concentración de hierro de 1mg/ml (Gneveckow *et al.*, 2004). A pesar de esto, en los resultados experimentales mostrados en la Figura 125, tras la adquisición del fantoma, se puede observar que los tiempos de relajación cercanos a 50 Hz dibujan un posible perfil de la distribución del NF. Aunque con estos resultados no se podría obtener una buena correlación de concentraciones tal cual lo plantea Attaluri, sí que sería factible extraer un modelo básico de dicha distribución.

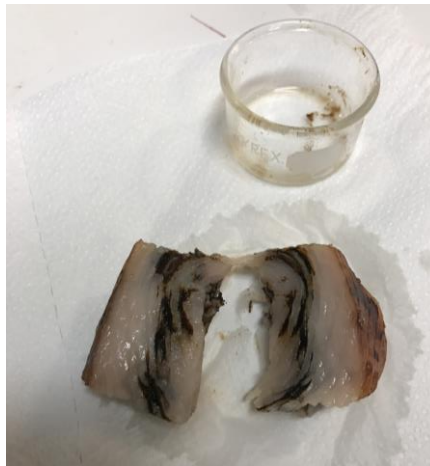


Figura 130: Disección de la carne utilizada en los experimentos de validación

5.2.2. Rendimiento térmico del NF

La respuesta térmica del NF es un factor importante que se debe tener en consideración en la planificación de este tipo de terapias. Típicamente las NPMs-SP producen pérdidas caloríficas debido a los tiempos de relajación Néel y Brownian. Teóricamente en un ambiente celular, el rendimiento es mucho menor que en una suspensión acuosa. Esto es debido al aumento de las interacciones dipolares que se producen al reducirse la distancia entre las NPMs, al aglutinarse en ciertas partes de las células y al aumento de la

Capítulo 5 Planificación de una terapia personalizada de hipertermia magnética

viscosidad del medio (Di Corato *et al.*, 2014). Este efecto se ha podido comprobar en los resultados experimentales llevados a cabo en agua, agarosa y tejido animal, en donde se ha registrado un SAR de 13.39 W/g para la suspensión acuosa, de 6.7 W/g para la agarosa y de 0.91 W/g tras ser inyectadas en el tejido animal. El rendimiento obtenido en carne es aproximadamente la quinceava parte del obtenido en una suspensión acuosa. Esto indica que el potencial calorífico está fuertemente ligado al fenómeno de relajación Brownian. Por ello cabría estudiar si las NPMs sintetizadas presentan unas propiedades puramente SP.

5.2.3. Experimentos de validación

En los ensayos realizados en tejido de ave se han detectado ciertas discrepancias entre el modelo propuesto y el de verificación. Una de las posibles causas de la desviación de los resultados, puede ser una difusión del NF diferente a la propuesta, como se planteaba en el apartado anterior. Por otro lado, como se puede apreciar en la Figura 131, parte del NF se ha quedado fuera del fantoma o bien porque ha rebosado o porque tras el corte de carne, parte del NF se haya quedado fuera. Este problema se podría haber solucionado si se hubiera trabajado con unas NPMs de mayor rendimiento (Shubitidze *et al.*, 2015). De esta forma se podría haber disminuido el volumen inyectado, evitando saturar el tejido por el NF.



Figura 131: Imagen de la pechuga de pollo justo después de realizar los pinchacos (izquierda), imagen de los restos de carne no utilizados en el fantoma (derecha)

Analizando los resultados del gráfico de la Figura 128 se puede observar que el calor aportado por las corrientes de Eddy no resulta despreciable. Para mitigar este efecto además de actuar sobre la intensidad o la frecuencia del campo, se puede actuar sobre el desplazamiento relativo del tejido, con respecto al inductor (Stigliano *et al.*, 2016). Gracias a esta técnica de desplazamiento se podrían aplicar campos de mayor intensidad y frecuencia.

Capítulo 5 Planificación de una terapia personalizada de hipertermia magnética

Aunque las corrientes de Eddy suelen producir un efecto no deseado en la terapia, podría ser interesante un cierto aporte calórico que sirviera de temperatura de base, siempre y cuando resulte despreciable para el resto de tejidos. Según este planteamiento los tejidos normales, gracias a su elevado índice de perfusión, serían capaces de contrarrestar dicho sobrecalentamiento. Por el contrario, los tejidos tumorales, carentes de una buena perfusión a temperaturas altas, no contrarrestarían dicho calor, sumándose al calor aportado por el NF.

Conclusiones

La hipertermia ha demostrado ser una magnífica herramienta terapéutica en la lucha contra el cáncer. Este tratamiento, descubierto por antiguas civilizaciones, sigue estando de actualidad de forma renovada. La introducción de las nanopartículas (NPs) ha supuesto un gran avance en dicha terapia, consiguiendo focalizar el calor en los tejidos enfermos. En esta línea la presente tesis ha contribuido con el desarrollo de dos equipos:

- *Hipertermia óptica.* En el área del aplicador óptico se ha desarrollado un equipo de bajo coste que ofrece una configuración versátil. Dicho equipo está provisto de un diodo láser de 500 mW a una longitud de onda de 808 nm. Gracias al control de corriente de la etapa amplificadora el equipo es capaz de suministrar una densidad de potencia en el rango entre 0.2 a 4 W/cm². Dicho área puede ser supervisada por una lupa electrónica alineada con el láser. El equipo, gobernado por un μ C, puede ser configurado mediante un interfaz de usuario, a través de una pantalla LCD 2x16 caracteres y unos botones en el frontal.
- *Hipertermia electromagnética.* El otro equipo desarrollado está destinado a ensayos de hipertermia electromagnética. Consiste en un sistema de inducción electromagnética, para ensayos de hipertermia in vitro que permite un área circular de trabajo de 5 cm. La etapa de potencia está basada en un inversor resonante serie, capaz de suministrar una potencia de 700 W a una frecuencia de 200 kHz. A la salida de la etapa, atacando a un transformador de salida, se logró aumentar la corriente en el circuito tanque, alcanzando una intensidad de 81.52 A. Esto permite un campo máximo en el centro del inductor de 15.92 mT. Este equipo está gobernado por un μ C, que dota al sistema de total autonomía y control. A través de una pantalla LCD 2x16 caracteres y una botonera dispuesta en la parte frontal, el usuario puede configurar los diferentes parámetros del menú. Finalmente, el equipo se ha integrado en una carcasa metálica, ofreciendo una buena seguridad al usuario y facilidad de transporte.

En los experimentos realizados para la validación del equipo de hipertermia óptica, se utilizaron dos tipos de NPs, nanobastones y nanoestrellas. Los resultados de SAR obtenidos en una muestra acuosa fueron de 7 kW/g y 1.7 kW/g para los nanobastones y nanoestrellas respectivamente. Aprovechando el rendimiento calorífico de las NPs-Au se realizaron distintos ensayos con sistemas de liberación controlada empleando nanopartículas mesoporosas.

Conclusiones

En cuanto a las experiencias prácticas con el equipo de inducción electromagnética, los experimentos se enfocaron por un lado a la verificación del funcionamiento y la verificación de las especificaciones técnicas. Gracias a ello se pudo comprobar una estabilidad térmica aceptable, trabajando en condiciones de máxima potencia. Por otro lado se realizaron ensayos in vitro con NPMs registrando el valor del SAR obtenido con distintas muestras y concentraciones. Los resultados de calentamientos efectuados en el capítulo 3 y en el 5 fueron de 17.44 W/g y 13.29 W/g respectivamente.

Como se puede apreciar en los resultados obtenidos en ambos equipos, además de la magnitud física de excitación, también son importantes otros factores relacionados con las NPs, como puede ser la morfología, composición, densidad del medio, etc. En cuanto al rendimiento térmico ofrecido por los distintos tipos de NPs, existe una gran diferencia en el rendimiento térmico registrado. Consecuentemente las concentraciones utilizadas en los diversos experimentos in vitro han sido diferentes. Por un lado, en los experimentos de hipertermia óptica, se utilizaron concentraciones de NPs muy reducidas, siendo estas de 38.4 µg/ml y 188 µg/ml para los nanobastones y para las nanoestrellas respectivamente. Para lograr el calentamiento a tan baja concentración, cada NP debe suministrar un aporte calorífico significativo. Gracias a dicho aporte calorífico, tan solo sería suficiente que unas pocas NPs alcanzaran el interior de la célula, para conseguir una elevación de la temperatura significativa en el medio celular. Esta excelente propiedad también resulta muy interesante en los sistemas de liberación controlada. En cambio, para alcanzar una temperatura significativa con las suspensiones de NPMs, las concentraciones utilizadas fueron mucho más elevadas. En los experimentos in vitro, llevados a cabo en un medio acuso, se utilizaron concentraciones de hasta 4.4 mg/ml. No obstante, las concentraciones utilizadas en las experiencias del capítulo 5 fueron aún mayores, siendo necesarias concentraciones de hasta 100 mg/ml para conseguir un calentamiento significativo del fantoma de carne. Esto es debido a que el rendimiento térmico se ve reducido drásticamente, cuando las NPMs se ven inmersas en un ambiente celular. Esta elevada concentración constata que una simple NPMs no es capaz de generar el calor suficiente para elevar la temperatura local de una sola célula. Por ello, para conseguir un calentamiento efectivo, es necesario ocupar además del interior de las células, el espacio intersticial. Por otro lado se puede verificar que dicho rendimiento dificulta la efectividad de los sistemas de liberación controlada de medicamentos. En las diversas experiencias realizadas, no se consiguió un sistema que cumpliera las expectativas. Esto pudo ser debido a que el calentamiento de las NPMs no fue suficiente para fundir el material de cobertura de dicho sistema.

Para estudiar más en profundidad las distintas variables que intervienen en la terapia de hipertermia electromagnética, también se trabajó en su planificación en un entorno virtual. A través de los modelos obtenidos mediante imagen biomédica, se pudo extraer un modelo 3D del paciente reconstruyendo y diferenciando los distintos tejidos y órganos. Gracias a ello, por mediación de un método nuevo de distribución de las NPMs, se obtuvieron, mediante simulación, todos los parámetros relacionados con la terapia, consiguiendo un volumen de hipertermia del 90% y evitando que dicho calentamiento

afectara a otros tejidos sanos. Pero dichos resultados estaban basados en valores teóricos de SAR, por ello, se trabajó en la caracterización de un fantoma de carne en el que se emplearon distintas concentraciones y posiciones de las muestras. Finalmente se consiguió hacer converger los resultados reales con los de simulación. Mediante el procedimiento descrito y las herramientas empleadas, se puede lograr una buena caracterización del NF, siendo muy útil en los experimentos de planificación de la terapia.

Conclusions

Hyperthermia has proved to be a great therapeutic tool in the fight against cancer. This treatment, discovered by ancient civilizations, continues to be topical issues. The introduction of nanoparticles (NPs) has been a great advance in this therapy, getting to focus heat on diseased tissues. In this line, this thesis has contributed to the development of two devices:

- Optical hyperthermia. In the field of the optical applicator it has been developed a low cost device that offers a versatile configuration. This equipment includes an 808 nm wavelength and 500 mW laser diode. Through the current control stage the equipment is able to supply a power density range between 0.2 to 4 W/cm². The irradiated area can be supervised by an electronic microscope line up with the laser. The device managed by a μ C can be configured through the user interface using a 2x16 character LCD display and three buttons in the front.
- Electromagnetic hyperthermia. The other developed device is used to electromagnetic hyperthermia essays. It consists of an inductor in the shape of solenoid device that allows 5 cm circular work area. The power amplifier is based on a serial resonant inverter able to provide 700 W at 200 kHz. Using a transformer at the output amplifier, the intensity reached was 81.52 A. It allows a maximum field of 15.92 mT in the centre of the inductor. This device is managed by a μ C providing a complete control autonomy. Through 2x16 characters LCD display and buttons in the front panel the user can configure different menu parameters. Finally, the device was integrated into a metal casing, offering a good security user and easy transportation.

In experiments performed for the optical hyperthermia device validation, two kinds of NPs were used, nanorods and nanostars. The SAR results obtained in the aqueous sample was 7 kW/g and 1.7 kW/g for nanorods and nanostars respectively. Taking advantage of the calorific performance of the NPs-Au, different tests were performed with controlled release systems using mesoporous nanoparticles.

As for the practical experience with the electromagnetic induction device, experiments were focussed, on the one hand in functional verification, and on the other hand in the technical verification. Different experiments demonstrated a thermal stability working in maximal power conditions. Furthermore, *in vitro* essays using MNPs were performed recording the SAR values obtained in different samples and concentrations. The heating results in Chapter 3 and 5 were 17.44 W/g and 13.29 W/g respectively.

Conclusiones

As it can be seen in both obtained results, in addition to the physical magnitude it is also important to take into account others factor connected with the NPs, like morphology, composition, environment density etc. Regarding the thermal performance of the different NPs, it exists a huge difference between the thermal performance recorded. Consequently, the concentrations used in different in vitro experiments have been different. Furthermore, in the optical experiments very low concentrations were used, being these 38.4 $\mu\text{g/ml}$ and 188 $\mu\text{g/ml}$ for nanorods and nanostars respectively. To achieve heating at such low concentration, each NP must provide a significant heat input. Thanks to this calorific contribution only was necessary a few NPs inside of cell to reach a significate temperature increase in cellular environment. This excellent property also results very interesting in control release systems. However, to reach a significant temperature using NPMs suspensions, the concentrations used were much higher. In the in vitro experiments performed in the aqueous environment was used concentration up 4.4 mg/ml. Even so the concentrations used in the Chapter 5 experiments were higher, it was necessary concentrations up 100 mg/ml to achieve a significate warming within the meat. This is because the thermic performance was dramatically reduced when MNPs were inside of cellular environment. This high concentration confirms that a simple MNP is not able to generate the sufficient heating to rise up the local temperature of a single cell. Therefore, in order to achieve effective warming is necessary to take up of MNPs both within and interstitial cells. On the other hand, it is possible to verify that low performance complicates the effectivity of drug controlled release. In the different experiences was not achieved a successful system. This could be because the warming of MNPs was not enough to melt the material of the covering system.

In order to study the different variables involved in electromagnetic hyperthermia therapy, we also worked on a virtual environment planning. Through the obtained models by biomedical image, a 3 D model of the patient could be extracted, reconstructing and differentiating the different tissues and organs. As a result, a new MNPs distribution method and all therapy parameters were obtained by simulation, getting 90% hyperthermia volume and aboding healthy tissues warming. But this results were based on theatrical SAR values, therefore, we worked on a meat phantom characterization using different concentrations and positions samples. Finally, it was possible to make converge the real and simulation results. Through the described procedure and the tools used, a good NF characterisation can be reached, being very useful in therapy experiments planning.

Líneas Futuras

Conforme ha ido avanzando el proyecto para alcanzar los objetivos marcados, han ido surgiendo diferentes líneas de investigación que no han podido ser atendidas por la presente tesis. De dichas líneas surgen nuevas ideas de las que puede derivar el futuro de la investigación. A continuación se exponen algunas de estas ideas.

1. Hipertermia óptica

La hipertermia óptica se concibe como una técnica de actuación superficial, destinada solo al tratamiento de afecciones más someras. No obstante, las longitudes de onda infrarrojas permiten un cierto grado de profundización del haz en los tejidos y poco a poco se va atenuando la potencia lumínica hasta llegar a desvanecerse. Si se consiguiera determinar la potencia lumínica en cada punto del interior del tumor, mediante una planificación de la terapia, se podría asociar a la concentración de NPs, consiguiendo un calentamiento efectivo de toda la zona. Este estudio podría realizarse empleando las mismas herramientas FEM, utilizadas en la planificación de la terapia electromagnética. Sin embargo, el modelo sería mucho más complejo ya que debería tenerse en cuenta un rendimiento de las NPs variable, dependiendo de la posición donde se encuentren y el tipo de tejido. También debería tenerse en cuenta la posición y la potencia del láser.

Otra forma de abordar tumores más internos mediante esta técnica, podría ser mediante la utilización de conductores de fibra óptica. Con ello, empleando uno o varios emisores, podría alcanzarse el tumor donde quiera que esté y calentarlo desde uno o varios puntos. En este caso, si se quisiera realizar una planificación de la terapia, habría que añadir al modelo los diferentes puntos de acción, así como el posible grado de apertura del haz. De esta forma se podría estudiar qué puntos y posiciones podrían ser los más propicios para actuar con las fibras.

2. Hipertermia electromagnética

El área de trabajo y la potencia de inducción son elementos esenciales en la terapia de hipertermia. El equipo descrito en este trabajo se presenta como un equipo básico que cumple a la perfección los objetivos demandados. No obstante, a medida que la investigación vaya avanzando, será necesario probar dichos resultados en animales menores, como pueden ser ratas y ratones. Ello implica una mayor área de inducción y

consecuentemente utilizar etapas de RF de mayores potencias. Para lograr una mayor potencia, se puede recurrir a una topología diferente, como la de puente completo. Gracias a esta configuración se podría obtener el doble de tensión en el primario del transformador, generando el doble de corriente por la bobina del inductor. Otra opción para incrementar la intensidad consiste en utilizar topologías multicanal, conectando varios elementos en paralelo.

La variación de la frecuencia de trabajo puede resultar interesante si se trabaja con distintos tipos de NPMs. Para variar dicha frecuencia es necesario cambiar el valor de la capacidad o el de la inductancia. Una forma fácil para lograr dicho cambio, es mediante la sustitución manual de los distintos elementos del circuito tanque. Esta operación se podría realizar de forma automática, a través de relés de conexión y desconexión o variando la inductancia total. Una técnica útil para variar dicha inductancia consiste en utilizar una inductancia variable auxiliar que se ajuste de forma mecánica.

Las técnicas de inyección directa de NPs también se encuentran en continua evolución. Actualmente el guiado se realiza a través de técnicas de imagen biomédica, como puede ser la ecografía. Sin embargo, sería una buena opción utilizar equipos de resonancia electromagnética de bajo campo (100 – 300 mT) que además de cumplir su función, también dispusieran de un sistema de inducción, capaz de excitar las NPMs. Las nuevas tecnologías también podrían aportar soluciones de aplicación, mejorando la precisión del pinchazo manual. Para ello sería de gran utilidad un brazo robotizado capaz de posicionar el NF en el punto idóneo, estimado previamente mediante una planificación virtual de la terapia. Para ello, resultaría conveniente estudiar previamente cuáles son los ángulos de ataque más apropiados para alcanzar el tumor. Dicho sistema podría ser guiado telemáticamente a través de un equipo de realidad aumentada, utilizando las imágenes 3D obtenidas previamente para la simulación (ver Figura 132).

En este campo también se requieren nuevos avances físico-químicos que ayuden a aumentar el rendimiento de las NPMs. El estudio de nuevas morfologías, el dopado con otras sustancias y mayor uniformidad de las NPs, entre otros, pueden ayudar a conseguir un mejor SAR. De producirse estos avances, se lograría una mejora sustancial del tratamiento, reduciendo la dosis suministrada y/o las intensidades de campo aplicadas.

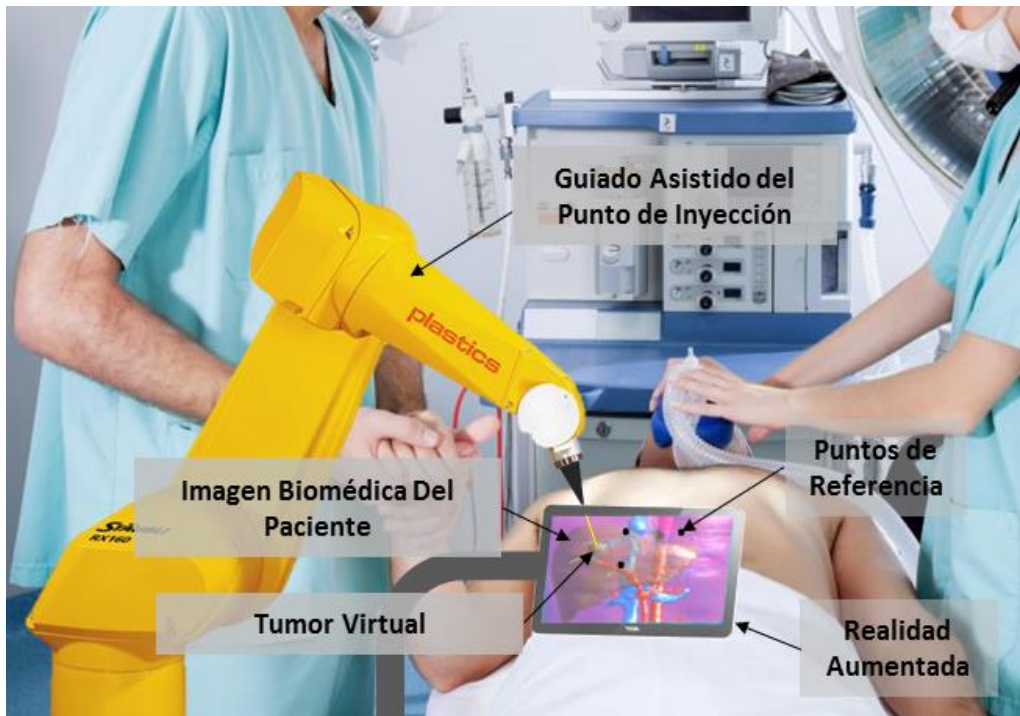


Figura 132: Nuevas tecnologías para la mejora de la técnica de inyección directa de NPMs

Publicaciones Científicas

1. Publicaciones en revistas indexadas

Roberto Montes-Robles, Andy Hernandez, Javier Ibañez, Rafael Masot-Peris, Cristina de la Torre, Ramón Martínez-Mañez, Eduardo García-Breijo, Ruben Fraile; "Design of a low-cost equipment for optical hyperthermia"; SENSORS AND ACTUATORS A, DOI: dx.doi.org/doi: 10.1016/j.sna. 2016.12.018

2. Publicaciones en congresos internacionales

Roberto Montes-Robles, Javier Ibañez Civera, Santiago Sánchez-Cabezas, Andy Hernández, Rafael Masot Peris, Ramón Martínez-Mañez, Eduardo García-Breijo; "Cámara termostática para experimentos de hipertermia y de liberación controlada"; (ISBN/ISSN 978-84-617-5330-7) pp. 195-201, 2016

Andy Hernández, Roberto Montes, Roberto Cao Jr., Elena Aznar, María Dolores Marcos, Félix Sancenón, Ramón Martínez; "Drug photo-release system based on gold nanostars coated with mesoporous silica shell"; (ISBN/ISSN 978-84-617-5330-7) pp. 184-188, 2016

Roberto Montes-Robles, Santiago Sánchez-Cabezas, Javier Ibañez, Ramón Martínez-Mañez, Eduardo García-Breijo; "High Power and High Frequency inverter for hyperthermia applications";(ISBN/ISSN 978-84-608-2360-5) pp.82-85, 2015

Santiago Sánchez-Cabezas, Roberto Montes-Robles, Eduardo Ruiz-Hernández, Elena Aznar, Félix Sancenón, Ramón Martínez-Mañez; "Design of Theranostic Nanosystems for Controlled Drug Delivery

Under an Alternating Magnetic Field"; (ISBN/ISSN 978-84-608-2360-5) pp.298-301, 2015

Montes Robles, Roberto, Ibañez Civera, Francisco Javier, García Breijo, Eduardo, Aznar Gimeno, Elena, Martínez Mañez, Ramón, Oroval Cucarella, María del Mar, Laguarda Miró, Nicolás, Gil Sánchez, Luís; "Equipo para ensayos de hipertermia óptica"; VII International Workshop on Sensors and Molecular Recognition (ISBN/ISSN 978-84-695-8811-6), pp. 563-569, 2013

Bibliografía

- Abadeer, N. S. and Murphy, C. J. (2016) 'Recent Progress in Cancer Thermal Therapy Using Gold Nanoparticles', *Journal of Physical Chemistry C*, 120(9), pp. 4691–4716. doi: 10.1021/acs.jpcc.5b11232.
- Ag, E. (2009) 'Film Capacitors EMI suppression capacitors (MKP)', (May).
- Alexis, F. *et al.* (2010) *Nanoparticle Technologies for Cancer Therapy, Handbook of Experimental Pharmacology*. doi: 10.1007/978-3-642-00477-3.
- Ali, M. R. K., Snyder, B. and El-Sayed, M. A. (2012) 'Synthesis and optical properties of small Au nanorods using a seedless growth technique', *Langmuir*, 28(25), pp. 9807–9815. doi: 10.1021/la301387p.
- Ali Mansoori, G., Brandenburg, K. S. and Shakeri-Zadeh, A. (2010) 'A comparative study of two folate-conjugated gold nanoparticles for cancer nanotechnology applications', *Cancers*, 2(4), pp. 1911–1928. doi: 10.3390/cancers2041911.
- Asín, L. *et al.* (2012) 'Controlled cell death by magnetic hyperthermia: Effects of exposure time, field amplitude, and nanoparticle concentration', *Pharmaceutical Research*, 29, pp. 1319–1327. doi: 10.1007/s11095-012-0710-z.
- Attaluri, A. *et al.* (2011) 'Nanoparticle distribution and temperature elevations in prostatic tumours in mice during magnetic nanoparticle hyperthermia', *Int. J. Hyperthermia*, 27(5), pp. 491–502. doi: 10.3109/02656736.2011.584856.
- Attaluri, A. *et al.* (2013) 'Calibration of a Quasi-Adiabatic Magneto-Thermal Calorimeter Used to Characterize Magnetic Nanoparticle Heating', *Journal of Nanotechnology in Engineering and Medicine*, 4(1), p. 11006. doi: 10.1115/1.4024273.
- Attaluri, A., Ma, R. and Zhu, L. (2011) 'Using MicroCT Imaging Technique to Quantify Heat Generation Distribution Induced by Magnetic Nanoparticles for Cancer Treatments', *Journal of Heat Transfer*, 133(1), p. 11003. doi: 10.1115/1.4002225.
- B. Maurice, L. W. (2011) 'DRIVE CIRCUITS FOR POWER MOSFETs AND IGBTs', (April), pp. 1–15. doi: 10.1016/0141-9331(92)90030-W.
- Bailey, M. R. *et al.* (2003) 'Physical mechanisms of the therapeutic effect of ultrasound (a review)', *Acoustical Physics*, 49(4), pp. 369–388. doi: 10.1134/1.1591291.
- Barbosa, S. *et al.* (2010) 'Tuning size and sensing properties in colloidal gold nanostars', *Langmuir*, 26(18), pp. 14943–14950. doi: 10.1021/la102559e.

Bibliografía

- Barry, S. I. and Aldis, G. K. (1992) 'Flow-induced deformation from pressurized cavities in absorbing porous tissues', *Bulletin of Mathematical Biology*, 54(6), pp. 977–997. doi: 10.1007/BF02460662.
- Barry N, Taylor; Chris E, K. (1994) 'Guidelines for Evaluating and Expressing the Uncertainty of NIST Measurement Results NIST Technical Note 1297 1994 Edition Guidelines for Evaluating and Expressing the Uncertainty of NIST Measurement Results', *Technology*.
- Beik, J. *et al.* (2016) 'Nanotechnology in hyperthermia cancer therapy: From fundamental principles to advanced applications', *Journal of Controlled Release*. Elsevier B.V., 235, pp. 205–221. doi: 10.1016/j.jconrel.2016.05.062.
- Bharali, D. J. *et al.* (2009) 'Nanoparticles and cancer therapy: A concise review with emphasis on dendrimers', *International Journal of Nanomedicine*, pp. 1–7.
- Bhattacharya, R. and Mukherjee, P. (2008) 'Biological properties of “naked” metal nanoparticles ☆', *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(11), pp. 1289–1306. doi: 10.1016/j.addr.2008.03.013.
- Bouchoucha, M. *et al.* (2016) 'Size-Controlled Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticles for Tunable Drug Release and Enhanced Anti-Tumoral Activity', *Chemistry of Materials*, 28(12), pp. 4243–4258. doi: 10.1021/acs.chemmater.6b00877.
- Brannon-Peppas, L. and Blanchette, J. O. (2012) 'Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy', *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, pp. 206–212. doi: 10.1016/j.addr.2012.09.033.
- Brazel, C. S. (2009) 'Magnetothermally-responsive nanomaterials: Combining magnetic nanostructures and thermally-sensitive polymers for triggered drug release', *Pharmaceutical Research*, 26(3), pp. 644–656. doi: 10.1007/s11095-008-9773-2.
- Buongiorno, J. (2006) 'Convective Transport in Nanofluids', *Journal of Heat Transfer*, 128(3), p. 240. doi: 10.1115/1.2150834.
- Cano, M. E. *et al.* (2011) 'An induction heater device for studies of magnetic hyperthermia and specific absorption ratio measurements', *Review of Scientific Instruments*, 82(11). doi: 10.1063/1.3658818.
- Capstick, M. H. *et al.* (2014) 'Novel applicator for local RF hyperthermia treatment using improved excitation control', *General Assembly and Scientific Symposium (URSI GASS), 2014 XXXIth URSI, IEEE.*, pp. 1–4.
- Ceglia, G. *et al.* (2005) 'Circuito de Manejo de Compuerta de Bajo Costo para MOSFET e IGBT', *IEEE Latin America Transactions*, 3(4), pp. 332–338. doi: 10.1109/TLA.2005.1642428.
- Cervadoro, A. *et al.* (2013) 'Design Maps for the Hyperthermic Treatment of Tumors with Superparamagnetic Nanoparticles', *PLoS ONE*, 8(2), pp. 1–14. doi: 10.1371/journal.pone.0057332.
- Chakaravarthi, G. and Arunachalam, K. (2014) 'A compact microwave patch applicator for

hyperthermia treatment of cancer', *Conference proceedings: ... Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Annual Conference*, 2014, pp. 5320–5322. doi: 10.1109/EMBC.2014.6944827.

Cherukuri, P., Glazer, E. S. and Curley, S. a. (2010) 'Targeted hyperthermia using metal nanoparticles', *Advanced Drug Delivery Reviews*. Elsevier B.V., 62(3), pp. 339–345. doi: 10.1016/j.addr.2009.11.006.

Chicheł, A. *et al.* (2007) 'Hyperthermia – description of a method and a review of clinical applications', *Reports of Practical Oncology & Radiotherapy*, 12(5), pp. 267–275. doi: 10.1016/S1507-1367(10)60065-X.

Di Corato, R. *et al.* (2014) 'Magnetic hyperthermia efficiency in the cellular environment for different nanoparticle designs', *Biomaterials*, 35(24), pp. 6400–6411. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.04.036.

Creixell, M. *et al.* (2011) 'EGFR-Targeted Magnetic Nanoparticle Heaters Kill Cancer Cells Without A Sensible Temperature Rise.SI', *ACS Nano*, 5(9), pp. 3–8.

Cui, Z. G. *et al.* (2014) 'Molecular mechanisms of hyperthermia-induced apoptosis enhanced by withaferin A', *European Journal of Pharmacology*, 723(1), pp. 99–107. doi: 10.1016/j.ejphar.2013.11.031.

Datta, N. R. *et al.* (2015) 'Local hyperthermia combined with radiotherapy and/or chemotherapy: Recent advances and promises for the future', *Cancer Treatment Reviews*. Elsevier Ltd, 41(9), pp. 742–753. doi: 10.1016/j.ctrv.2015.05.009.

Deatsch, A. E. and Evans, B. a (2013) 'Heating efficiency in magnetic nanoparticle hyperthermia', 354, pp. 1–10. doi: 10.1016/j.jmmm.2013.11.006.

Dennis, C. L. and Ivkov, R. (2013) 'Physics of heat generation using magnetic nanoparticles for hyperthermia.', *International journal of hyperthermia: the official journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group*, 29(8), pp. 715–729. doi: 10.3109/02656736.2013.836758.

Derkachova, A. and Kolwas, K. (2007) 'Size dependence of multipolar plasmon resonance frequencies and damping rates in simple metal spherical nanoparticles', *European Physical Journal: Special Topics*, 144(1), pp. 93–99. doi: 10.1140/epjst/e2007-00112-1.

Dewhirst, M. W. *et al.* (2003) 'Basic principles of thermal dosimetry and thermal thresholds for tissue damage from hyperthermia', *International Journal of Hyperthermia*, 19(3), pp. 267–294. doi: 10.1080/0265673031000119006.

Dikomey, E. and Franzke, J. (1986) 'DNA repair kinetics after exposure to X-irradiation and to internal beta-rays in CHO cells', *Radiat Environ Biophys*, 25(3), pp. 189–194. Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3797626.

Dudar, T. E. and Jain, R. K. (1984) 'Differential response of normal and tumor

Bibliografía

microcirculation to hyperthermia', *Cancer Res*, 44(2), pp. 605–612. Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6692365.

Dutz, S. and Hergt, R. (2013) 'Magnetic nanoparticle heating and heat transfer on a microscale: Basic principles, realities and physical limitations of hyperthermia for tumour therapy', *International Journal of Hyperthermia*, 29(8), pp. 790–800. doi: 10.3109/02656736.2013.822993.

Dutz, S. and Hergt, R. (2014) 'Magnetic particle hyperthermia--a promising tumour therapy?', *Nanotechnology*. IOP Publishing, 25(45), p. 452001. doi: 10.1088/0957-4484/25/45/452001.

Dvorak, H. F. (2003) 'How tumors make bad blood vessels and stroma', in *American Journal of Pathology*, pp. 1747–1757. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64309-X.

Emami, B. *et al.* (1981) 'Histopathological study on the effects of hyperthermia on microvasculature', *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 7(3), pp. 343–348. doi: 10.1016/0360-3016(81)90107-3.

Esteve, V. (1999) 'Influencia de los Componentes Parásitos en el Análisis y Diseño de Inversores Resonantes Paralelo para Aplicaciones de Calentamiento por Inducción', p. 237.

Fales, A. M., Yuan, H. and Vo-Dinh, T. (2013) 'Cell-penetrating peptide enhanced intracellular Raman imaging and photodynamic therapy', *Molecular Pharmaceutics*, 10(6), pp. 2291–2298. doi: 10.1021/mp300634b.

Fan, H. (2004) 'Self-Assembly of Ordered, Robust, Three-Dimensional Gold Nanocrystal/Silica Arrays', *Science*, 304(5670), pp. 567–571. doi: 10.1126/science.1095140.

Ferroxcube (2013) 'Soft Ferrites and Accessories - Data Handbook'.

Feynman, R. P. (1960) 'There's (still) plenty of room at the bottom', *Applied Thermal Engineering*, pp. 22–36. doi: 10.1016/j.applthermaleng.2013.04.038.

Fortin, J. P. *et al.* (2007) 'Size-sorted anionic iron oxide nanomagnets as colloidal mediators for magnetic hyperthermia', *Journal of the American Chemical Society*, 129(9), pp. 2628–2635. doi: 10.1021/ja067457e.

Garaio, E. *et al.* (2014) 'A multifrequency electromagnetic applicator with an integrated AC magnetometer for magnetic hyperthermia experiments', *Measurement Science and Technology*, 25(11), p. 115702. doi: 10.1088/0957-0233/25/11/115702.

Garcera, G., Figueres, E. and Abellán, A. 1966- (1998) *Conversores conmutados : circuitos de potencia y control*. Universidad Politécnica de Valencia, Servicio de Publicaciones. Available at: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=134551> (Accessed: 9 June 2017).

García Jimeno, S. (2012) 'Nanopartículas magnéticas para aplicaciones biomédicas', p. 125. Available at: <http://hdl.handle.net/2445/41856>.

Giustini, A. J. *et al.* (2010) 'MAGNETIC NANOPARTICLE HYPERTHERMIA IN

- CANCER TREATMENT', 1, pp. 1–23. doi: 10.1142/S1793984410000067.MAGNETIC.
- Gneveckow, U. *et al.* (2004) 'Description and characterization of the novel hyperthermia- and thermoablation-system MFH 300F for clinical magnetic fluid hyperthermia.', *Medical physics*, 31(2004), pp. 1444–1451. doi: 10.1118/1.1748629.
- Gong, Y. *et al.* (2016) 'Desktop exposure system and dosimetry for small scale in vivo radiofrequency exposure experiments', *Bioelectromagnetics*, 37(1), pp. 49–61. doi: 10.1002/bem.21950.
- Gonzalez-Fernandez, M. a. *et al.* (2009) 'Magnetic nanoparticles for power absorption: Optimizing size, shape and magnetic properties', *Journal of Solid State Chemistry*, 182, pp. 2779–2784. doi: 10.1016/j.jssc.2009.07.047.
- Gormley, A. J. *et al.* (2011) 'Gold nanorod mediated plasmonic photothermal therapy: A tool to enhance macromolecular delivery', *International Journal of Pharmaceutics*, 415(1–2), pp. 315–318. doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.05.068.
- Graeme, J. (1996) 'Photodiode amplifiers', pp. 108–111.
- Grazú, V., Moros, M. and Sánchez-Espinel, C. (2012) 'Nanocarriers as nanomedicines: Design concepts and recent advances', *Frontiers of Nanoscience*, 4(1), pp. 337–440. doi: 10.1016/B978-0-12-415769-9.00014-5.
- Guerrero-Martínez, A. *et al.* (2011) 'Nanostars shine bright for you. Colloidal synthesis, properties and applications of branched metallic nanoparticles', *Current Opinion in Colloid and Interface Science*. Elsevier Ltd, 16(2), pp. 118–127. doi: 10.1016/j.cocis.2010.12.007.
- Hauser, A. K. *et al.* (2015) 'Magnetic nanoparticles and nanocomposites for remote controlled therapies', *Journal of Controlled Release*. Elsevier B.V., 219, pp. 76–94. doi: 10.1016/j.jconrel.2015.09.039.
- Henie, K. J. and Leeper, D. B. (1979) 'Effects of Hyperthermia (45°) on Macromolecular Synthesis in Chinese Hamster Ovary Cells', *American Association for Cancer Research*, (July), pp. 2665–2674.
- Hergt, R. and Dutz, S. (2007) 'Magnetic particle hyperthermia-biophysical limitations of a visionary tumour therapy', *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 311, pp. 187–192. doi: 10.1016/j.jmmm.2006.10.1156.
- Hergt, R., Dutz, S. and Röder, M. (2008) 'Effects of size distribution on hysteresis losses of magnetic nanoparticles for hyperthermia.', *Journal of physics. Condensed matter: an Institute of Physics journal*, 20, p. 385214. doi: 10.1088/0953-8984/20/38/385214.
- Hesener, A. (2010) 'AppNote - Electromagnetic Interference (EMI) in Power Supplies', *Fairchild Semiconductor Power Seminar 2010-2011*, pp. 1–16. Available at: <http://xinmandz.114my.com.cn/memberpic/0308061/uploadfile/file/20140218/20140218095513151315.pdf>.
- Hildebrandt, B. (2002) 'The cellular and molecular basis of hyperthermia', *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 43(1), pp. 33–56. doi: 10.1016/S1040-8428(01)00179-2.

Bibliografía

Hilger, I., Hergt, R. and Kaiser, W. A. (2005) 'Towards breast cancer treatment by magnetic heating', *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 293(1), pp. 314–319. doi: 10.1016/j.jmmm.2005.02.026.

Hu, K.-W. *et al.* (2009) 'Efficient near-IR hyperthermia and intense nonlinear optical imaging contrast on the gold nanorod-in-shell nanostructures.', *J. Am. Chem. Soc.*, 131(40), pp. 14186–7. doi: 10.1021/ja9062772.

Huang, H.-C. *et al.* (2009) 'Simultaneous enhancement of photothermal stability and gene delivery efficacy of gold nanorods using polyelectrolytes.', *ACS nano*, 3(10), pp. 2941–52. doi: 10.1021/nn900947a.

Huang, X. *et al.* (2008) 'Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles', *Lasers in Medical Science*, 23(3), pp. 217–228. doi: 10.1007/s10103-007-0470-x.

Jain, P. K. *et al.* (2006) 'Calculated absorption and scattering properties of gold nanoparticles of different size, shape, and composition: Applications in biological imaging and biomedicine', *Journal of Physical Chemistry B*, 110(14), pp. 7238–7248. doi: 10.1021/jp057170o.

Johannsen, M. *et al.* (2005) 'Clinical hyperthermia of prostate cancer using magnetic nanoparticles: presentation of a new interstitial technique.', *International journal of hyperthermia : the official journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group*, 21(7), pp. 637–647. doi: 10.1080/02656730500158360.

Jones, D. L. (2004) 'Tutorial'.

De Jong, M. A. A. *et al.* (2012) 'Reirradiation and hyperthermia for radiation-associated sarcoma', *Cancer*, 118(1), pp. 180–187. doi: 10.1002/cncr.26252.

Jordan, A. *et al.* (1999) 'Magnetic fluid hyperthermia (MFH): Cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles', *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 201, pp. 413–419. doi: 10.1016/S0304-8853(99)00088-8.

Kallumadil, M. *et al.* (2009) 'Suitability of commercial colloids for magnetic hyperthermia', *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 321(10), pp. 1509–1513. doi: 10.1016/j.jmmm.2009.02.075.

Kashevsky, B. E. *et al.* (2014) 'Magnetic hyperthermia with hard-magnetic nanoparticles', *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. Elsevier, pp. 1–6. doi: 10.1016/j.jmmm.2014.10.109.

Khan, M. S., Vishakante, G. D. and Siddaramaiah, H. (2013) 'Gold nanoparticles: A paradigm shift in biomedical applications', *Advances in Colloid and Interface Science*. Elsevier B.V., 199–200, pp. 44–58. doi: 10.1016/j.cis.2013.06.003.

Khlebtsov, N. *et al.* (2013) 'Analytical and theranostic applications of gold nanoparticles and multifunctional nanocomposites', *Theranostics*, pp. 167–180. doi: 10.7150/thno.5716.

Khot, V. M. *et al.* (2013) 'Induction heating studies of combustion synthesized MgFe₂O₄ nanoparticles for hyperthermia applications', *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*.

- Elsevier, 332(7407), pp. 48–51. doi: 10.1016/j.jmmm.2012.12.010.
- Kim, D.-H. K. D.-H. *et al.* (2009) 'Heating of Aqueous Dispersions Containing Nanoparticles by Radio-Frequency Magnetic Field Induction', *IEEE Transactions on Magnetics*, 45(1), pp. 64–70. doi: 10.1109/TMAG.2008.2005329.
- Kirson, E. D. (2004) 'Disruption of Cancer Cell Replication by Alternating Electric Fields', *Cancer Research*, 64(9), pp. 3288–3295. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-0083.
- Konings, A. W. and Ruifrok, A. C. (1985) 'Role of membrane lipids and membrane fluidity in thermosensitivity and thermotolerance of mammalian cells', *Radiation Research*, 102(1), pp. 86–98. doi: 10.2307/3576432.
- Kumar, A., Zhang, X. and Liang, X.-J. (2012) 'Gold Nanoparticles: Emerging Paradigm for Targeted Drug Delivery System', *Biotechnology Advances*. Elsevier Inc., 31(5), pp. 593–606. doi: 10.1016/j.biotechadv.2012.10.002.
- Laakso, I. and Hirata, A. (2011) 'Dominant factors affecting temperature rise in simulations of human thermoregulation during RF exposure', *Physics in Medicine and Biology*, 56(23), pp. 7449–7471. doi: 10.1088/0031-9155/56/23/008.
- Lacroix, L. M., Carrey, J. and Respaud, M. (2008) 'A frequency-adjustable electromagnet for hyperthermia measurements on magnetic nanoparticles', *Review of Scientific Instruments*, 79(2008). doi: 10.1063/1.2972172.
- Lee, J.-H. *et al.* (2011) 'Exchange-coupled magnetic nanoparticles for efficient heat induction', *Nature Nanotechnology*, 6(7), pp. 418–422. doi: 10.1038/nnano.2011.95.
- Leontidis, E. *et al.* (2002) 'Gold colloids from cationic surfactant solutions. 1. Mechanisms that control particle morphology', *Langmuir*, 18(9), pp. 3659–3668. doi: Doi 10.1021/La011368s.
- Li, G. C., Mivechi, N. F. and Weitzel, G. (1995) 'Heat shock proteins, thermotolerance, and their relevance to clinical hyperthermia', *International Journal of Hyperthermia*, 11(4), pp. 459–488. doi: 10.3109/02656739509022483.
- Li, J. L. and Gu, M. (2010) 'Gold-nanoparticle-enhanced cancer photothermal therapy', *IEEE Journal on Selected Topics in Quantum Electronics*, 16(4), pp. 989–996. doi: 10.1109/JSTQE.2009.2030340.
- Link, S. and El-Sayed, M. a (2000) 'Shape and size dependence of radiative, non-radiative and photothermal properties of gold nanocrystals', *International Reviews in Physical Chemistry*, 19(3), pp. 409–453. doi: 10.1080/01442350050034180.
- Link, S., Wang, Z. L. and El-Sayed, M. a (1999) 'Alloy Formation of Gold-Silver Nanoparticles and the Dependence of the Plasmon Absorption on Their Composition', *The Journal of Physical Chemistry B*, 103, pp. 3529–3533. doi: doi: 10.1021/jp990387w.
- Ma, M. *et al.* (2004) 'Size dependence of specific power absorption of Fe₃O₄ particles in AC magnetic field', *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 268, pp. 33–39. doi: 10.1016/S0304-8853(03)00426-8.

Bibliografía

Maeda, H., Sawa, T. and Konno, T. (2001) 'Mechanism of tumor-targeted delivery of macromolecular drugs, including the EPR effect in solid tumor and clinical overview of the prototype polymeric drug SMANCS', in *Journal of Controlled Release*, pp. 47–61. doi: 10.1016/S0168-3659(01)00309-1.

Maier-Hauff, K. *et al.* (2011) 'Efficacy and safety of intratumoral thermotherapy using magnetic iron-oxide nanoparticles combined with external beam radiotherapy on patients with recurrent glioblastoma multiforme', *Journal of Neuro-Oncology*, 103(2), pp. 317–324. doi: 10.1007/s11060-010-0389-0.

Majda, J. A. *et al.* (1994) 'Heat shock-induced shedding of cell surface integrins in A549 human lung tumor cells in culture', *Experimental Cell Research*, 210(1), pp. 46–51. doi: 10.1006/excr.1994.1007.

Manning, M. R. *et al.* (1982) 'Clinical hyperthermia: Results of a phase I trial employing hyperthermia alone or in combination with external beam or interstitial radiotherapy', *Cancer*, 49(2), pp. 205–216. doi: 10.1002/1097-0142(19820115)49:2<205::AID-CNCR2820490202>3.0.CO;2-W.

Manuchehrabadi, N. *et al.* (2013) 'Treatment efficacy of laser photothermal therapy using gold nanorods', *International Journal of Biomedical Engineering and Technology*, 12(2), p. 157. doi: 10.1504/IJBET.2013.056508.

Marcos-Campos, I. *et al.* (2011) 'Cell death induced by the application of alternating magnetic fields to nanoparticle-loaded dendritic cells.', *Nanotechnology*, 22, p. 205101. doi: 10.1088/0957-4484/22/20/205101.

Martinez-Boubeta, C. *et al.* (2013) 'Learning from nature to improve the heat generation of iron-oxide nanoparticles for magnetic hyperthermia applications_S', *Sci Rep*, 3, p. 1652. doi: 10.1038/srep01652.

Masters, A. *et al.* (1992) 'Interstitial laser hyperthermia: a new approach for treating liver metastases.', *British journal of cancer*, 66(3), pp. 518–22. doi: 10.1038/bjc.1992.305.

Mclyman, C. W. M. T. (2004) *Transformer and Inductor Design Handbook*. doi: doi:10.1201/b10865-8.

Mehdaoui, B. *et al.* (2011) 'Optimal size of nanoparticles for magnetic hyperthermia: A combined theoretical and experimental study', *Advanced Functional Materials*, 21, pp. 4573–4581. doi: 10.1002/adfm.201101243.

Mehdizadeh, A. *et al.* (2014) 'The effects of folate-conjugated gold nanorods in combination with plasmonic photothermal therapy on mouth epidermal carcinoma cells', *Lasers in Medical Science*, 29(3), pp. 939–948. doi: 10.1007/s10103-013-1414-2.

Mie, G. (1908) 'Beitrag zur Optik trMedien, speziell kolloidaler Metall"osungen', *Annalen der Physik*, 330(3), pp. 377–445. doi: 10.1002/andp.19083300302.

Montes-Robles, R. *et al.* (2017) 'Design of a low-cost equipment for optical hyperthermia', *Sensors and Actuators A: Physical*, 255, pp. 61–70. doi: 10.1016/j.sna.2016.12.018.

Mornet, S. *et al.* (2004) 'Magnetic nanoparticle design for medical diagnosis and therapy',

pp. 2161–2175.

Murbach, M. *et al.* (2014) ‘Thermal tissue damage model analyzed for different whole-body SAR and scan durations for standard MR body coils’, *Magnetic Resonance in Medicine*, 71(1), pp. 421–431. doi: 10.1002/mrm.24671.

Nan, L. and Yugang, Y. (2007) ‘A common mode and differential mode B integrated EMI filter’, *Conference Proceedings - IPEMC 2006: CES/IEEE 5th International Power Electronics and Motion Control Conference*, 1, pp. 214–218. doi: 10.1109/IPEMC.2006.297076.

Nemati, Z. *et al.* (2016) ‘Enhanced Magnetic Hyperthermia in Iron Oxide Nano-Octopods: Size and Anisotropy Effects’, *The Journal of Physical Chemistry C*, 120(15), pp. 8370–8379. doi: 10.1021/acs.jpcc.6b01426.

Ningthoujam, R. S. *et al.* (2012) *Functionalized magnetic nanoparticles: Concepts, synthesis and application in cancer hyperthermia*, *Functional Materials*. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-385142-0.00006-4.

O’Neal, D. P. *et al.* (2004) ‘Photo-thermal tumor ablation in mice using near infrared-absorbing nanoparticles’, *Cancer Letters*, 209(2), pp. 171–176. doi: 10.1016/j.canlet.2004.02.004.

Ochi, S. S. (2002) ‘Driving Your MOSFETs Wild to Obtain Greater Efficiencies , Power Densities , and Lower Overall Costs . IXAN0011’, *Rivers*, pp. 1–6.

Oliver, J. and Cobos, J. A. (2015) ‘Configurable Power Inverter for Magnetic Hyperthermia for Cancer Treatment Purpose’, (November).

Ortega, D. and Pankhurst, Q. A. (2013) ‘Magnetic hyperthermia’, *The Royal Society of Chemistry*. doi: 10.1039/9781849734844-00060.

Ortega, D. and Pankhurst, Q. A. (2014) ‘Magnetic hyperthermia’, *Nanoscience: Nanostructures through chemistry*, 1(January 2013), pp. 1–6. doi: 10.1039/9781849734844-00060.

Overgaard, J. (1976) ‘Ultrastructure of a Murine Mammary Carcinoma Exposed to Hyperthermia in Vivo’, *Cancer Research*, 36(3), pp. 983–995.

Pankhurst, Q. a. *et al.* (2009) ‘Progress in applications of magnetic nanoparticles in biomedicine.’, *Journal of Physics D: Applied Physics*, 42, p. 224001. doi: 10.1088/0022-3727/42/22/224001.

Pathak, A. D. (2001) ‘MOSFET/IGBT drivers theory and applications’, *Application Note available on www. ixys. com*. doi: IXAN0010.

Pérez-Juste, J. *et al.* (2005) ‘Gold nanorods: Synthesis, characterization and applications’, in *Coordination Chemistry Reviews*, pp. 1870–1901. doi: 10.1016/j.ccr.2005.01.030.

Petkov, R. (1996) ‘Optimum design of a high-power, high-frequency transformer’, *IEEE Transactions on Power Electronics*, 11(1), pp. 33–42. doi: 10.1109/63.484414.

del Pino, P. and Pelaz, B. (2012) ‘Chapter 13 – Hyperthermia Using Inorganic

Bibliografía

Nanoparticles', in *Frontiers of Nanoscience*, pp. 309–335. doi: 10.1016/B978-0-12-415769-9.00013-3.

Presa, P. De *et al.* (2012) 'Study of Heating Efficiency as a Function of Concentration, Size, and Applied Field in γ -Fe₂O₃ Nanoparticles', *The Journal of Physiccal Chemistry*, 116, pp. 25602–25610.

Rabin, Y. (2002) 'Is intracellular hyperthermia superior to extracellular hyperthermia in the thermal sense?', *International journal of hyperthermia: the official journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group*, 18(3), pp. 194–202. doi: 10.1080/02656730110116713.

Robinson, D. S. *et al.* (1998) 'Interstitial laser hyperthermia model development for minimally invasive therapy of breast carcinoma', *Journal of the American College of Surgeons*, 186(3), pp. 284–292. doi: 10.1016/S1072-7515(97)00152-X.

Roco, M. C. (2003) 'Nanotechnology: Convergence with modern biology and medicine', *Current Opinion in Biotechnology*, pp. 337–346. doi: 10.1016/S0958-1669(03)00068-5.

Rodríguez-Fernández, J. *et al.* (2005) 'Spatially-directed oxidation of gold nanoparticles by Au(III)-CTAB complexes', *Journal of Physical Chemistry B*, 109(30), pp. 14257–14261. doi: 10.1021/jp052516g.

Rosensweig, R. E. E. (2002) 'Heating magnetic fluid with alternating magnetic field', *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 252, pp. 370–374. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-8853\(02\)00706-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-8853(02)00706-0).

Ruta, S., Chantrell, R. and Hovorka, O. (2015) 'Unified model of hyperthermia via hysteresis heating in systems of interacting magnetic nanoparticles.', *Scientific reports*, 5, p. 9090. doi: 10.1038/srep09090.

Saha (2009) 'Nanomedicine: Promising Tiny Machine for the Healthcare in Future-A Review', *Oman Medical Journal*, 24(4), pp. 242–247. doi: 10.5001/omj.2009.50.

Salloum, M. *et al.* (2008) 'Controlling nanoparticle delivery in magnetic nanoparticle hyperthermia for cancer treatment: experimental study in agarose gel.', *International journal of hyperthermia: the official journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group*, 24(4), pp. 337–345. doi: 10.1080/02656730801907937.

Salloum, M., Ma, R. and Zhu, L. (2009) 'Enhancement in treatment planning for magnetic nanoparticle hyperthermia: Optimization of the heat absorption pattern', *International Journal of Hyperthermia*, 25(4), pp. 309–321. doi: 10.1080/02656730902803118.

Sapareto, S. A. and Dewey, W. C. (1984) 'Thermal dose determination in cancer therapy', *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 10(6), pp. 787–800. doi: 10.1016/0360-3016(84)90379-1.

Scarabelli, L., Grzelczak, M. and Liz-Marzán, L. M. (2013) 'Tuning gold nanorod synthesis through prereduction with salicylic acid', *Chemistry of Materials*, 25(21), pp. 4232–4238. doi: 10.1021/cm402177b.

Schreier, K. *et al.* (1989) 'Preliminary studies of interstitial hyperthermia using hot water',

Medical instrumentation, 18(3), pp. 431–444.

Scoggins, P. (2007) 'A guide to designing gate-drive transformers', *Power Electronics*. Available at: http://pummelie.de:14215/Datasheets/Gate_Treiber/designing_GDTs.pdf.

Segura, G. M. (2012) 'Induction heating converter's design, control and modeling applied to continuous wire heating', (June). Available at: <http://www.tdx.cat/handle/10803/83346>.

Semiconductor, F. (2000) 'Induction Heating System Topology Review'.

Severns, R. and Reduce, E. M. I. (2006) 'Design of snubbers for power circuits', *International Rectifier Corporation*, (I).

Shakeri-Zadeh, A. and Mansoori, Ga. (2010) 'Cancer Nanotechnology Treatment through Folate Conjugated Gold Nanoparticles (*)', *Proceedings of WCC*, 2010, pp. 1–5.

Shubitidze, F. *et al.* (2015) 'Magnetic nanoparticles with high specific absorption rate of electromagnetic energy at low field strength for hyperthermia therapy', *Journal of Applied Physics*, 117(9), pp. 1–12. doi: 10.1063/1.4907915.

Song, C. W. *et al.* (1980) 'EFFECT OF HYPERTHERMIA ON VASCULAR FUNCTION IN NORMAL AND NEOPLASTIC TISSUES', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 335(1), pp. 35–47. doi: 10.1111/j.1749-6632.1980.tb50735.x.

Stefan Klein (Würth Elektronik) (2013) 'Line filter – The last barrier in the switch mode power supply', pp. 1–14.

Stigliano, R. V. *et al.* (2016) 'Mitigation of eddy current heating during magnetic nanoparticle hyperthermia therapy', *International Journal of Hyperthermia*, 6736(August), pp. 1–14. doi: 10.1080/02656736.2016.1195018.

Sullivan, C. R. (1999) 'Optimal choice for number of strands in a litz-wire transformer winding', *IEEE Transactions on Power Electronics*, 14(2), pp. 283–291. doi: 10.1109/63.750181.

Sullivan, C. R., Zhang, R. Y. and Sci, C. (2014) 'Simplified Design Method for Litz Wire', pp. 2667–2674.

Suto, M. *et al.* (2009) 'Heat dissipation mechanism of magnetite nanoparticles in magnetic fluid hyperthermia', *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 321(10), pp. 1493–1496. doi: 10.1016/j.jmmm.2009.02.070.

Tai, Cheng-Chi, M.-K. C. (2007) 'A compact half-bridge induction heating system for magnetic nanoparticle thermotherapy applications'.

Tai, C.-C. and Chen, C.-C. (2008) 'The Design of a Half-bridge Series-resonant Type Heating System for Magnetic Nanoparticle Thermotherapy', *PIERS Online*, 4(Dc), pp. 276–280. doi: 10.2529/PIERS070907021847.

Tao, C. and Zhu, Y. (2014) 'Magnetic mesoporous silica nanoparticles for potential delivery of chemotherapeutic drugs and hyperthermia.', *Dalton transactions (Cambridge, England: 2003)*. Royal Society of Chemistry, 43(41), pp. 15482–90. doi: 10.1039/c4dt01984a.

Bibliografia

- Tehrani, M. D., Kim, M. O. and Yoon, J. (2014) 'A Novel Electromagnetic Actuation System for Magnetic Nanoparticle Guidance in Blood Vessels', *IEEE Transactions on Magnetics*, 50(7), pp. 1–12. doi: 10.1109/TMAG.2014.2307271.
- Thanh, N. T. K. and Hervault, A. (2014) 'Magnetic Nanoparticle-Based Therapeutic Agents for Thermo-Chemotherapy Treatment of Cancer', *Nanoscale*, pp. 11553–11573. doi: 10.1039/C4NR03482A.
- Thiesen, B. and Jordan, A. (2008) 'Clinical applications of magnetic nanoparticles for hyperthermia', *International Journal of Hyperthermia*, 24(6), pp. 467–474. doi: 10.1080/02656730802104757.
- Toshiba Corporation (2016) 'Power MOSFET, Electrical Characteristics'.
- Verma, J., Lal, S. and Van Noorden, C. J. F. (2014) 'Nanoparticles for hyperthermic therapy: Synthesis strategies and applications in glioblastoma', *International Journal of Nanomedicine*, 9(1), pp. 2863–2877. doi: 10.2147/IJN.S57501.
- Vertrees, R. A. *et al.* (2005) 'A mechanism of hyperthermia-induced apoptosis in ras-transformed lung cells', *Molecular Carcinogenesis*, 44(2), pp. 111–121. doi: 10.1002/mc.20124.
- Wang, S. Y., Huang, S. and Borca-Tasciuc, D. A. (2013) 'Potential sources of errors in measuring and evaluating the specific loss power of magnetic nanoparticles in an alternating magnetic field', *IEEE Transactions on Magnetics*, 49(1), pp. 255–262. doi: 10.1109/TMAG.2012.2224648.
- Wehner, H., von Ardenne, A. and Kaltofen, S. (2001) 'Whole-body hyperthermia with water-filtered infrared radiation: technical-physical aspects and clinical experiences', *International Journal of Hyperthermia*, 17(1), pp. 19–30.
- Wheeler, H. A. (1928) 'Simple inductance formulas for radio coils', *Proceedings of the Institute of Radio Engineers*, 16(10), pp. 1398–1400. doi: 10.1109/JRPROC.1928.221309.
- Wildeboer, R. R., Southern, P. and Pankhurst, Q. A. (2014) 'On the reliable measurement of specific absorption rates and intrinsic loss parameters in magnetic hyperthermia materials', *Journal of Physics D: Applied Physics*, 47(49), p. 495003. doi: 10.1088/0022-3727/47/49/495003.
- Williams, D. and Sebastine, I. (2005) 'Tissue engineering and regenerative medicine: manufacturing challenges', *IEEE proceedings of nanobiotechnology*, 152(6), pp. 207–211. doi: 10.1049/ip-nbt.
- Williams, T. (2007) *EMC for Product Designers*, *EMC for Product Designers*. doi: 10.1016/B978-0-7506-8170-4.X5000-2.
- Wissler, E. H. (1998) 'Pennes' 1948 paper revisited.', *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 85(1), pp. 35–41. Available at: <http://jap.physiology.org/content/85/1/35>.
- Wust, P. *et al.* (2002) 'Hyperthermia in combined treatment of cancer.', *The lancet oncology*, 3(8), pp. 487–497. doi: 10.1016/S1470-2045(02)00818-5.

www.nanotherics.com (no date) 'The Next wave in Nanoparticle Heating Research', www.nanotherics.com/products/magnetherm, pp. 5–6.

Ye, E. *et al.* (2011) 'Plasmonic gold nanocrosses with multidirectional excitation and strong photothermal effect', *Journal of the American Chemical Society*, 133(22), pp. 8506–8509. doi: 10.1021/ja202832r.

van der Zee, J. (2002) 'Heating the patient: A promising approach?', *Annals of Oncology*, 13(8), pp. 1173–1184. doi: 10.1093/annonc/mdf280.

Zhang, E. *et al.* (2014) 'Dynamic magnetic fields remote-control apoptosis via nanoparticle rotation', *ACS Nano*, 8(4), pp. 3192–3201. doi: 10.1021/nn406302j.

Zhang, J. *et al.* (2011) 'Synthesis and characterization of pore size-tunable magnetic mesoporous silica nanoparticles.', *Journal of colloid and interface science*, 361(1), pp. 16–24. doi: 10.1016/j.jcis.2011.05.038.

Zhang, Z. *et al.* (2012) 'Mesoporous Silica Coated Gold Nanorods as a Light Mediated Multifunctional Theranostic Platform for Cancer Treatment', *Advanced Materials*, 24, pp. 1418–23. doi: 10.1002/adma.