
Trabajo Fin de Grado

Hipertermia magnética intracelular para terapia del cáncer

Sara Seguí Alonso-Lej

TRABAJO DIRIGIDO POR:

Ángel Millán Escolano

Patricio Fernández Silva

Universidad de Zaragoza

Facultad de Ciencias

Curso 2024-2025

Índice

1. Introducción	1
2. Objetivos	2
3. Fundamentos Teóricos	2
4. Equipo y metodología	8
4.1. Caracterización de la muestra de MNPs de maghemita ($\gamma - Fe_2O_3$)	8
4.2. Procedimiento para cálculo del <i>SAR</i>	9
4.2.1. Equipo de hipertermia para disoluciones	9
4.2.2. Equipo de hipertermia celular	12
5. Resultados	13
5.1. Equipo de hipertermia para disoluciones	13
5.1.1. Frecuencia de $15kHz$	13
5.1.2. Frecuencia de $40kHz$	15
5.1.3. Frecuencia de $50kHz$	16
5.1.4. Frecuencia de $60kHz$	17
5.1.5. Frecuencia de $85kHz$	18
5.2. Equipo de hipertermia celular	19
5.2.1. Frecuencia de $60kHz$	19
6. Discusión de resultados	20
6.1. Análisis del <i>SAR</i> en función de las frecuencias utilizadas	20
6.2. Comparación de los equipos en base al <i>SAR</i> obtenido	22
7. Conclusiones	24
Referencias	24
A. Anexo I: Curvas de calentamiento de las MNPs.	26

1. Introducción

La hipertermia magnética es una técnica que consiste en la generación de calor usando nanopartículas (NPs) magnéticas (MNPs) mediante la aplicación de un campo magnético alterno (AC) externo. Esta técnica de calentamiento a distancia se utiliza en el tratamiento contra el cáncer, usando las MNPs para aumentar la temperatura de las células tumorales hasta inducir la muerte celular.

La historia del uso de la hipertermia, cuya etimología viene de los términos griegos *hyper* y *therme* (aumento y temperatura respectivamente), en el tratamiento contra el cáncer, nos hace remontarnos hasta el 3000 a.C. Sin embargo, no fue hasta 1866 cuando el médico alemán Carl D. W. Busch publicó el primer artículo científico sobre el tema. En dicho artículo, Busch narraba cómo una mujer, que tenía un sarcoma en la cara, sufrió un episodio de fiebre debido a una infección de la piel llamada Erisipela, que hizo que el tumor disminuyese. Busch concluyó que el aumento de la temperatura fue el causante de la muerte de las células cancerígenas. [1] En 1981, el médico estadounidense William B. Coley desarrolló una toxina que dentro de un tumor, causaba Erisipela y episodios de fiebres asociados a esta infección. Es por esto, por lo que se conoce a Coley como el padre de la hipertermia y la inmunoterapia contra el cáncer. La hipertermia magnética no fue introducida hasta 1957 por R. K. Gilchrist, quien fue el primero en proponer un tratamiento para el cáncer usando MNPs, que bajo la acción de un campo magnético externo generaban calor proporcional a la frecuencia del campo. [2] Actualmente, el tratamiento de la hipertermia magnética se realiza mediante una inyección de MNPs dentro del tumor, a las cuales se les aplica un campo magnético AC externo, que induce que dichas MNPs disipen calor (por los mecanismos de relajación térmica de Néel y Brown, que se describen posteriormente), y consecuentemente se produce un aumento de la temperatura en las células tumorales. El problema radica en que para eliminar el tumor hay que inyectar un gran número de MNPs, ya que la potencia de calentamiento (SAR) de estas no es muy elevada.

Según la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM), “El término cáncer engloba un grupo numeroso de enfermedades que se caracterizan por el desarrollo de células anormales, que se dividen, crecen y se diseminan sin control en cualquier parte del cuerpo.” [3] En 2022, el cáncer fue la causa más importante de mortalidad en el mundo, con casi 10 millones de defunciones asociadas (*Figura 1.1*) y casi 20 millones de casos detectados (*Figura 1.2*). [4]

La aplicación de la técnica de la hipertermia magnética en combinación con otras técnicas para el tratamiento del cáncer, tales como la radioterapia o la quimioterapia, hace que se obtenga una mayor eficacia en el control y supervivencia del cáncer que aplicando estas técnicas aisladamente. [5]

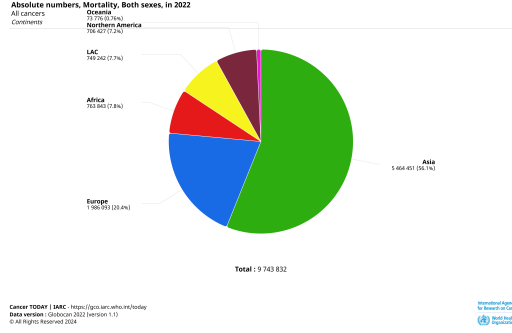


Figura 1.1: Mortalidad a nivel mundial del cáncer en 2022. [4]

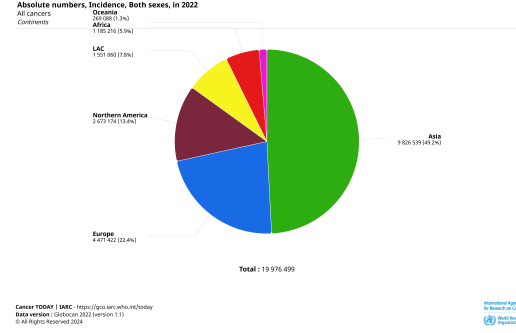


Figura 1.2: Incidencia a nivel mundial del cáncer en 2022. [4]

En este trabajo se van a utilizar MNPs de maghemita ($\gamma - Fe_2O_3$), debido a que son superparamagnéticas, a su alta magnetización y a su alta susceptibilidad. Además, estas MNPs son biocompatibles, a causa de su baja toxicidad, y están aprobadas por la FDA (Food and Drug Administration) de EEUU y por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) de la Unión Europea, para su uso clínico en humanos. [6]

2. Objetivos

El objetivo fundamental de este trabajo es la utilización de un equipo de hipertermia magnética adaptado a la medida de disoluciones para la determinación de la potencia de calentamiento (SAR) de MNPs destinadas a la terapia del cáncer, que se utilizarán posteriormente en ensayos de hipertermia celular *in vitro*.

Los objetivos específicos son:

1. La optimización del SAR en función de la intensidad del campo magnético, H , y su frecuencia, f .
2. La comprobación del SAR obtenido en el equipo de hipertermia celular, en comparación con el equipo de hipertermia para disoluciones.

Con vistas a su posible utilización en clínica, los rangos de H y f utilizados se limitarán a los aceptados para su uso en humanos.

3. Fundamentos Teóricos

El magnetismo de los materiales se clasifica en diamagnetismo, paramagnetismo, ferromagnetismo y antiferromagnetismo, dependiendo de la respuesta del material a un campo magnético externo aplicado.

Los materiales diamagnéticos son aquellos cuyo momento magnético es nulo y su susceptibilidad es menor que cero.

El paramagnetismo se presenta en materiales con un momento magnético intrínseco, aunque es muy pequeño. Los momentos magnéticos apuntan en direcciones aleatorias, pero cuando se aplica un campo magnético externo, se orientan paralelamente al campo (*Figura 3.1*), puesto que este es un estado de menor energía que si se orientasen antiparalelamente al campo.

En los materiales antiferromagnéticos, los momentos magnéticos colindantes se acoplan, pero apuntando en direcciones opuestas, lo que hace que el momento magnético total sea nulo (*Figura 3.1*).

En los materiales ferrimagnéticos, los momentos magnéticos también se acoplan de manera antiparalela, pero con distintas magnitudes, por lo que el momento magnético total no es nulo (*Figura 3.1*).

En los materiales ferromagnéticos, los momentos magnéticos se acoplan pero de forma paralela, de manera que tienen un momento magnético total neto (*Figura 3.1*). Sin embargo, a partir de una cierta temperatura, llamada temperatura de Curie (T_C), ocurre una transición orden-desorden, y el acoplamiento de los momentos magnéticos individuales desaparece, convirtiéndose en paramagnéticos. Esta transición orden-desorden también se da en los materiales antiferromagnéticos y, obviamente, en los ferrimagnéticos.

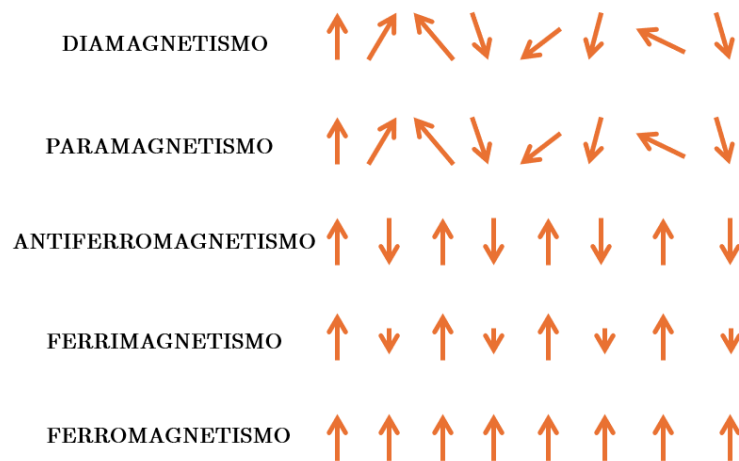


Figura 3.1: Representación de los momentos magnéticos de los distintos materiales en ausencia de un campo magnético aplicado.

La magnetización de los materiales ferromagnéticos y ferrimagnéticos se divide en dominios magnéticos, con el objetivo de minimizar su energía interna. Dentro de cada dominio, los momentos magnéticos individuales tienen una orientación paralela, pero la orientación entre cada dominio es aleatoria. Estos dominios están separados por paredes de Bloch (*Figura 3.2*), que son la zona de transición entre dominios

magnéticos adyacentes, en las que hay un cambio gradual de la orientación de los momentos magnéticos individuales de un dominio a otro. [7]

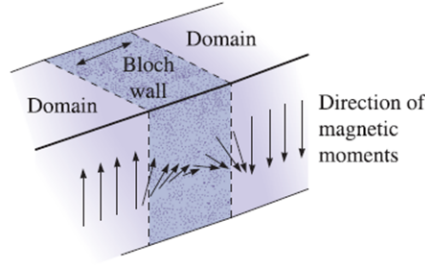


Figura 3.2: Representación de una Pared de Bloch.

Si no existe un campo aplicado, cada dominio presenta un momento magnético espontáneo en una dirección aleatoria, lo que hace que la suma del momento magnético total sea nula. [7] Si aplicamos un campo magnético externo, los momentos magnéticos de los dominios se alinean apuntando todos en la misma dirección, como se muestra en la *Figura 3.3*.

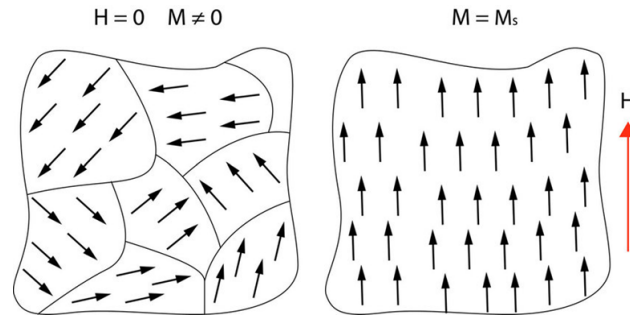


Figura 3.3: Representación esquemática de las orientaciones de los dominios magnéticos, en ausencia y presencia de un campo magnético aplicado.

Cuando se le aplica al material un ciclo de campos magnéticos positivos y negativos, se obtiene un ciclo de histéresis (*Figura 3.4*).

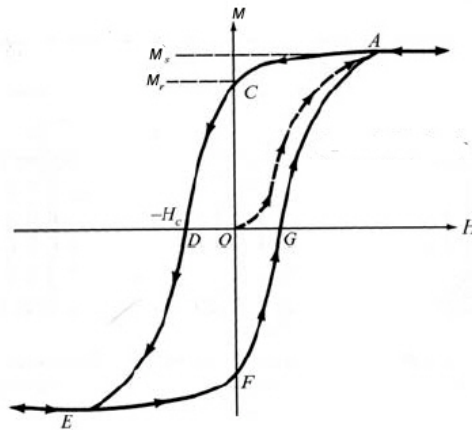


Figura 3.4: Representación de un ciclo de histéresis de un material ferromagnético.

Como podemos observar en la *Figura 3.4*, en un ciclo de histéresis hay parámetros a destacar como la magnetización de saturación (M_s), que es el valor límite que puede alcanzar la magnetización y se alcanza cuando todos los momentos magnéticos se alinean en la misma dirección y sentido. La magnetización remanente (M_r) se obtiene cuando disminuimos el campo magnético, desde un estado de saturación, hasta llegar a un valor nulo del campo magnético. Para obtener una magnetización nula, es necesario aplicar un campo magnético en sentido inverso, que es lo que denominamos campo magnético coercitivo (H_c). [8]

Cuando el tamaño del material ferromagnético o ferrimagnético disminuye hasta un valor menor que el espesor de la pared de Bloch, la estructura magnética se convierte en monodominio (*Figura 3.5*). Como se ha mencionado anteriormente, utilizaremos las MNPs de maghemita ($\gamma - Fe_2O_3$). Debemos notar que las NPs se definen como aquellas partículas cuyo tamaño es inferior a los 100 nm en todos sus ejes. En dichos monodominios, todos los momentos magnéticos están alineados en la misma dirección y sentido (*Figura 3.5*).

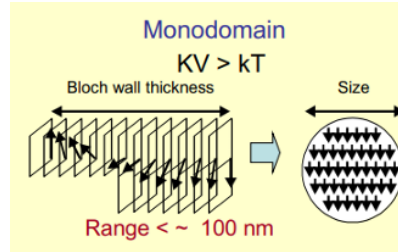


Figura 3.5: Representación de una estructura magnética monodominio en la que el tamaño es inferior al espesor de la pared de Bloch.

Conforme el tamaño de la MNP va disminuyendo, llega un punto en el que la energía de anisotropía de la MNP (KV , siendo K la constante de anisotropía y V el volumen de la MNP), es menor que la energía térmica ($k_B T$, siendo k_B la constante de Boltzmann y T la temperatura). Es decir, cuando $KV < k_B T$, la MNP es superparamagnética. Esto es debido, a que, la energía térmica supera la barrera de la anisotropía y hace que el momento magnético de la MNP rote libremente en direcciones aleatorias. Las MNPs superparamagnéticas presentan una magnetización remanente nula ($M_r=0$) y un campo coercitivo también nulo ($H_c=0$). Esta falta de magnetización remanente es fundamental para las aplicaciones biomédicas, ya que evita la agregación permanente después de haber aplicado un campo magnético (*Figura 3.6*). [9]

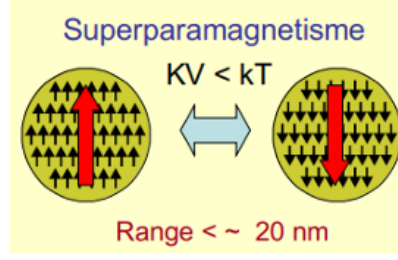


Figura 3.6: Representación de una MNP superparamagnética debido a que la energía de anisotropía es menor que la energía térmica.

Si aplicamos un campo magnético AC externo a las MNPs, se puede producir una disipación del calor mediante dos mecanismos diferentes de relajación térmica (*Figura 3.7*).

- Relajación de Néel: Se produce cuando el momento magnético rota con el campo magnético, mientras la MNP queda estática. Su tiempo de relajación, τ_N , sigue la *expresión* (1).

$$\tau_N = \tau_0 e^{\frac{KV}{k_B T}} \quad (1)$$

Siendo K la constante de anisotropía, V el volumen de la MNP, k_B la constante de Boltzmann, T la temperatura y τ_0 el tiempo característico del material.

- Relajación de Brown: Se produce cuando es la MNP la que rota con el campo magnético externo, mientras que el momento magnético permanece fijo en una orientación cristalográfica determinada. Su tiempo de relajación, τ_B , sigue la *expresión* (2).

$$\tau_B = \frac{3\eta V_h}{k_B T} \quad (2)$$

Donde η es la viscosidad del medio y V_h el volumen hidrodinámico de la MNP.

Observando las *expresiones* (1) y (2), vemos cómo la relajación de Néel depende exponencialmente con el tamaño de la MNP, mientras que la relajación de Brown lo hace de forma lineal. Si ambas relajaciones están presentes, la constante de relajación total, τ , sigue la *expresión* (3). [9]

$$\frac{1}{\tau} = \frac{1}{\tau_N} + \frac{1}{\tau_B} \quad (3)$$

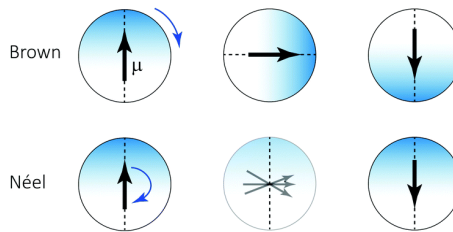


Figura 3.7: Representación esquemática de los mecanismos de relajación térmica de Néel y de Brown, debido a la aplicación un campo magnético AC externo.

La eficiencia de calentamiento de las MNPs en presencia de un campo magnético AC externo se puede evaluar mediante diferentes parámetros tales como la tasa de absorción específica (Specific Absorption Rate, SAR), *expresión* (4); la tasa específica de pérdida de potencia (Specific Loss Power, SLP), *expresión* (5); o la tasa de pérdida de potencia intrínseca (Intrinsic Loss Power, ILP), *expresión* (6). [11]

$$SAR = \frac{C_p(H_2O) \cdot m_{total}}{m_{MNP_s}} \cdot \left. \frac{dT}{dt} \right|_{t=0} \quad (4)$$

Siendo $C_p(H_2O)$ el calor específico del agua, m_{total} la masa total conjunta del agua y las MNPs, m_{MNP_s} la masa de las MNPs, en este caso, la masa de las MNPs de maghemita ($\gamma - Fe_2O_3$). T representa la temperatura y t el tiempo de aplicación del campo magnético durante el cual tomamos las medidas de temperatura.

$$SLP = \frac{C \cdot V_s}{m_{MNP_s}} \cdot \left. \frac{dT}{dt} \right|_{t=0} \quad (5)$$

Donde C representa la capacidad calorífica específica volumétrica de la solución y V_s el volumen de la disolución.

$$ILP = \frac{SLP}{H^2 f} \quad (6)$$

Siendo f la frecuencia aplicada, y H la intensidad de campo magnético.

En nuestro caso, elegimos el SAR ya que queremos determinar la eficiencia de calentamiento de las MNPs para poder aplicarlas en tratamientos de hipertermia magnética contra el cáncer, y este parámetro nos permitirá calcular la dosis de MNPs que necesitamos utilizar para conseguir una temperatura estipulada en un tiempo determinado. Además, es un parámetro ampliamente utilizado en la comunidad científica, lo que nos posibilitará la comparativa con otros estudios. Así mismo, es un parámetro relativamente fácil de medir experimentalmente.

Podemos simplificar el cálculo del SAR aplicando la siguiente aproximación:

$$\frac{m_{MNP_s}}{m_{total}} \approx C_{MNP_s} \quad (7)$$

Siendo C_{MNP_s} la concentración de las MNPs.

Consecuentemente obtenemos para el SAR la *expresión* (8).

$$SAR = \frac{C_p(H_2O)}{C_{MNP_s}} \cdot \left. \frac{dT}{dt} \right|_{t=0} \quad (8)$$

Cabe destacar que no podremos alcanzar valores del SAR ilimitados, dado que por razones médicas existe un límite en el campo magnético AC externo que podemos aplicar, y que se suele expresar con el producto de la intensidad de campo magnético por la frecuencia (Hf) que no puede exceder un valor de $5 \cdot 10^9 A \cdot m^{-1} \cdot s^{-1}$ [10].

4. Equipo y metodología

4.1. Caracterización de la muestra de MNPs de maghemita ($\gamma - Fe_2O_3$)

Utilizaremos una muestra de maghemita ($\gamma - Fe_2O_3$), que ha sido fabricada previamente por el Dr. Rafael Piñol y el Dr. Yuanyu Gu. Como fue realizada hace un tiempo, utilizamos una máquina de ultrasonidos para conseguir una buena redispersión de las MNPs, lo que se producirá gracias al movimiento browniano. A continuación, efectuaremos una filtración con filtros de nitrocelulosa para evitar la presencia de agregados. Llevamos a cabo dos filtraciones, la primera con un filtro de $450nm$ y luego con un filtro de $220nm$. Seguidamente, para medir el tamaño de las MNPs, utilizamos la técnica de Dispersión Dinámica de Luz (DLS). En esta técnica se irradia la muestra con un haz de luz láser y se determina el coeficiente de difusión de las MNPs en la disolución a partir de la intensidad de luz dispersada, y mediante la ecuación de Stokes-Einstein, *expresión* (9), se llega al tamaño hidrodinámico [9]. En nuestro caso, diluimos previamente $0.4ml$ de la disolución original de Fe_2O_3 en $1.6ml$ de H_2O destilada.

$$d_H = \frac{k_B T}{3\pi\eta D} \quad (9)$$

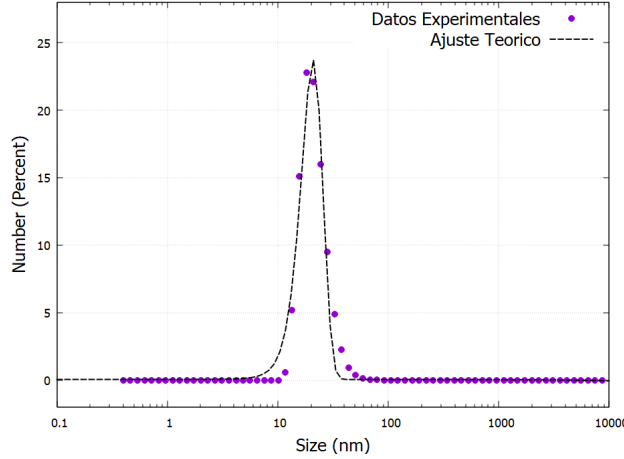


Figura 4.1: Tamaño hidrodinámico de la muestra de MNPs de maghemita ($\gamma - Fe_2O_3$) mediante el uso de la técnica de DLS.

Realizamos las medidas 3 veces, en tandas de 70 segundos, y obtenemos un tamaño hidrodinámico promedio de las MNPs de maghemita ($\gamma - Fe_2O_3$) de $(22 \pm 3) nm$.

La concentración de hierro en la muestra se determinó mediante espectrometría de emisión atómica (plasma ICP-OES, Thermo Scientific) en el servicio de análisis (SAI) de la Universidad de Zaragoza. Para ello, se disolvió $0.1mL$ de muestra en

1mL de HCl concentrado durante 24h y, posteriormente, se diluyó en agua para un volumen final de 25mL. Se obtuvo una concentración de óxido de hierro de $8.569\text{ mg}(Fe_2O_3)/mL$.

4.2. Procedimiento para cálculo del SAR

Con el objetivo de lograr el mayor SAR posible, realizaremos una serie de medidas a distintas frecuencias, en concreto: $15kHz$, $40kHz$, $50kHz$, $60kHz$ y $85kHz$. Por otra parte, para poder realizar una comparativa en el equipo de hipertermia celular, elegimos una frecuencia de $60kHz$ y realizaremos medidas de SAR a esta frecuencia en dicho equipo para comparar con los resultados obtenidos en el equipo de medida para disoluciones.

4.2.1. Equipo de hipertermia para disoluciones

- Equipo

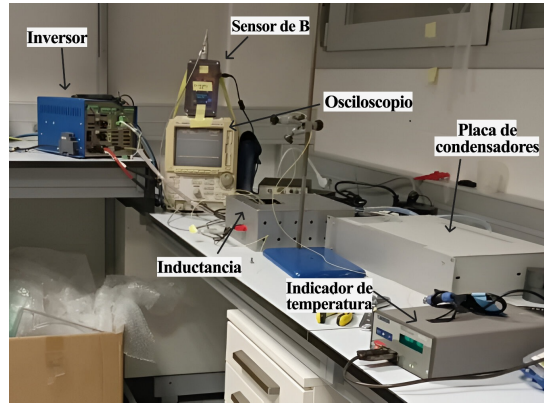


Figura 4.2: Equipo de hipertermia para disoluciones.

El equipo utilizado, como se observa en la *Figura 4.2*, consiste en una fuente de corriente continua (CC), conectada con un inversor con control de fase. Dicho inversor nos servirá para pasar de la corriente continua (CC), que suministra la fuente, a la corriente alterna (CA), que es la que queremos aplicar. La señal de salida del inversor es la diferencia de las dos ondas cuadradas que produce, que tienen la misma amplitud, pero cierto desfase. Esta señal la podemos observar en el osciloscopio, y podemos ajustar tanto la frecuencia como el desfase usando dos potenciómetros situados en el inversor. A continuación, la señal es conducida a la entrada del transformador, es decir, al circuito primario, donde se genera el flujo magnético en el núcleo del transformador. El circuito secundario, que es la salida del transformador, conduce la señal al circuito RLC, que está compuesto por una resistencia, una inductancia y una placa de condensadores, conectados en serie ambos tres. [9][12][13] La inductancia está constituida por bloques de ferrita, que se utilizan como núcleo

alrededor del cual se enrolla el conductor, que en este caso son las espiras de Litz que formarán un bobinado. Esta inductancia tiene un pequeño hueco entre los bloques, que es el lugar donde situamos las cubetas con la muestras de MNPs y el agua destilada de referencia, respectivamente.

La placa de condensadores la podemos modificar para obtener la frecuencia de resonancia que necesitemos. Podemos estimar la frecuencia del circuito RLC a partir de la reactancia inductiva, $X_L = 2\pi fL$, y la reactancia capacitiva, $X_C = \frac{1}{2\pi fC}$, ya que son iguales.

$$X_L = X_C \Rightarrow 2\pi fL = \frac{1}{2\pi fC} \Rightarrow f = \frac{1}{2\pi\sqrt{LC}} \quad (10)$$

Siendo f la frecuencia de resonancia, L la inductancia y C la capacitancia.

La capacitancia del circuito la modificaremos añadiendo o quitando condensadores, tanto en serie como en paralelo, sabiendo que si colocamos condensadores en serie la capacitancia disminuirá, y por tanto la frecuencia de resonancia aumentará, y si los colocamos en paralelo aumentará, y la frecuencia de resonancia disminuirá según las expresiones (11) y (12), respectivamente.

$$C_{total}^{serie} = \left[\sum_{i=1}^n \frac{1}{C_i} \right]^{-1} \quad (11)$$

$$C_{total}^{paralelo} = \sum_{i=1}^n C_i \quad (12)$$

Así mismo podremos obtener el valor del campo magnético, B , en un dispositivo conectado a una espira que rodea la barra de ferrita y que ha sido fabricado expresamente para este propósito. Este dispositivo muestra también el valor de la frecuencia, medida en kHz .

Para medir la temperatura, se usan dos cables sensores de fibra óptica sumergidos en la disolución de la muestra y en el agua, respectivamente, y se registra la variación de la temperatura con el tiempo en un ordenador.

Una representación del circuito eléctrico se muestra en la *Figura 4.3*.

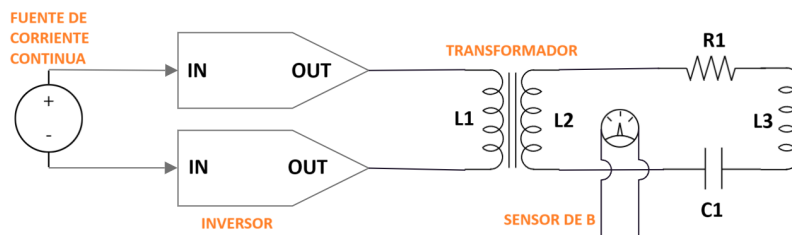


Figura 4.3: Representación del circuito eléctrico del equipo de hipertermia para disoluciones.

- Protocolo para la medida de la variación de la temperatura en la muestra por efecto del campo magnético alterno y el cálculo del valor del SAR

Para medir la temperatura se siguen los siguientes pasos:

1. Configuramos la frecuencia de resonancia mediante la disposición de condensadores en la placa soporte, estimada, teniendo en cuenta las *expresiones* (10), (11) y (12).
2. Conectamos el campo magnético desde el inversor y ajustamos el potenciómetro de frecuencia y el desfase hasta encontrar la frecuencia de resonancia que genera la intensidad de campo máxima. Comprobamos que el periodo de la onda sinusoidal y la cuadrada es el mismo.
3. Desenchufamos todos los equipos e introducimos las cubetas con la muestra y con el agua destilada en la ferrita. Una de las cubetas contendrá 1ml de maghemita ($\gamma - Fe_2O_3$), y la otra 1ml de agua destilada.
4. Ponemos en marcha el programa de medida de temperaturas en el ordenador y conectamos el campo. La duración de cada medida es de 120 segundos.
5. El procedimiento se repite 3 veces para cada valor de intensidad y frecuencia del campo magnético para tener datos estadísticos. Entre cada una de las medidas de temperatura esperaremos 12 minutos, para que las temperaturas se estabilicen.

El SAR se calcula de la siguiente forma:

1. Para obtener la variación de temperatura en la muestra debida al efecto del campo magnético, debemos restar el aumento debido al calentamiento de las ferritas, que coincide con el aumento de temperatura en el agua. Por tanto, a la temperatura medida en la muestra en cada punto se le resta la temperatura del agua. Se representan los valores obtenidos frente al tiempo y se ajustan a un polinomio de segundo grado: $T = at^2 + bt + c$.
2. La derivada de esta expresión a tiempo 0 será igual a b, es decir, $\left. \frac{dT}{dt} \right|_{t=0} = b$. Una vez obtenido este término para cada medida, se calcula el promedio y se determina el SAR aplicando la expresión (8). El error del SAR lo hallaremos mediante propagación de errores¹.

Realizaremos este procedimiento para 5 frecuencias distintas, y dentro de cada frecuencia para 4 valores de campos magnéticos distintos, y como se ha mencionado

$$^1 \sigma_{SAR} = \frac{C_p(H_2O)}{C_{MNP_s}} \cdot \sigma_{\bar{b}}$$

$\sigma_{\bar{b}} = \sigma_b / \sqrt{n} \rightarrow$ Siendo $\sigma_{\bar{b}}$ la desviación estándar de la media, $\bar{b}$. σ_b es la desviación estándar de las medidas de b, y n el número de medidas, 3 en nuestro caso.

antes para cada valor del binomio frecuencia y campo magnético realizaremos 3 medidas del aumento de temperatura en función del tiempo transcurrido.

4.2.2. Equipo de hipertermia celular

■ Equipo

El equipo de hipertermia celular es esencialmente el mismo que el de hipertermia para disoluciones, con la diferencia de que en esta ocasión la inductancia consta de una pieza de ferrita con forma de C (igual que antes), en contacto con dos barras móviles separadas por un hueco donde se coloca la muestra. Así mismo, hay que mencionar que, en este caso, las cubetas que utilizaremos para situar las muestras de maghemita y de agua destilada son de menor tamaño que las utilizadas en el equipo de hipertermia para disoluciones. Por ello, en esta ocasión usaremos $0.5ml$ de cada una de las muestras, cada una en su hueco, lo que será la mitad de lo utilizado en el equipo de hipertermia para disoluciones ($1ml$ de cada muestra). Todo ello se puede observar en la *Figura 4.4*.

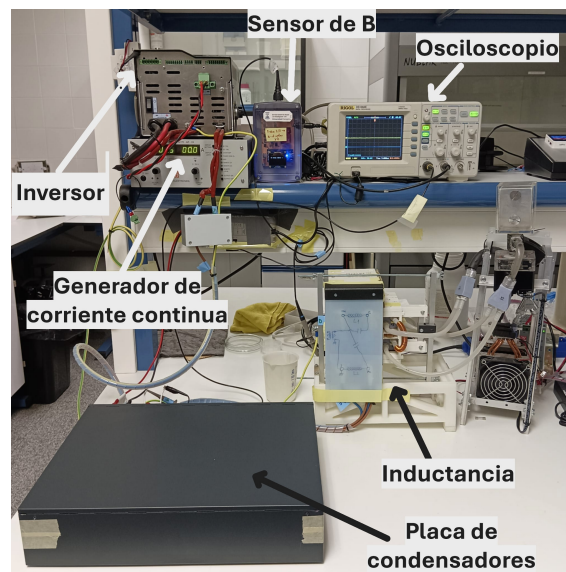


Figura 4.4: Equipo de hipertermia celular.

■ Procedimiento de la toma de medidas de temperatura y cálculo del SAR

Debemos notar que el objetivo de realizar las medidas en el equipo de hipertermia para disoluciones y el de hipertermia celular es comprobar si, con un equipo muy parecido, el SAR es similar aplicando mismas frecuencias y campos magnéticos. En consecuencia, no necesitaremos volver a realizar las medidas usando las 5 frecuencias que utilizábamos en el equipo de hipertermia para disoluciones, sino que comprobando una de ellas, podremos establecer las posibles diferencias. Elegimos la frecuencia de $60kHz$ puesto que, para los tratamientos celulares aplicables a tratamientos contra el cáncer es una de las frecuencias más empleadas.

El procedimiento será similar al descrito anteriormente, pero en este caso solo podremos evaluar una temperatura en cada medida, ya que el agujero por donde introducimos la sonda para medir la temperatura de la muestra solo nos permite medir la temperatura en una de las cubetas y no en ambas a la vez como en el procedimiento anterior. Por tanto, lo que haremos en esta ocasión será realizar primero las tres medidas de temperatura en la muestra de maghemita y luego las tres medidas de temperatura en el agua destilada (para cada campo magnético). La diferencia de temperatura será la temperatura de maghemita menos la de agua destilada, y la temperatura de cada una de las muestras se calculará en cada segundo, como la temperatura en dicho segundo menos la temperatura inicial a la que se encontraba la muestra.

$$\Delta T = \Delta T_{(\gamma-Fe_2O_3)} - \Delta T_{(H_2O)} = (T_i - T_0)_{(\gamma-Fe_2O_3)} - (T_i - T_0)_{(H_2O)}^2$$

5. Resultados

5.1. Equipo de hipertermia para disoluciones

Como se ha mencionado antes, en este equipo realizaremos las medidas a 5 valores de frecuencias distintos: $15kHz$, $40kHz$, $50kHz$, $60kHz$ y $85kHz$. Cabe mencionar que los valores de frecuencias en la mayoría de casos, no serán exactos y, al variar el valor del campo magnético, el valor de la frecuencia se alterará ligeramente. Téngase en cuenta que se realizará un pequeño análisis para cada una de las frecuencias, pero el análisis global se realizará comparando todas ellas en la discusión de resultados.

5.1.1. Frecuencia de $15kHz$

Comenzaremos con una frecuencia alrededor de unos $15kHz$, siendo el valor medio $15.2kHz$ y el error estándar $0.4kHz$.

$f(kHz)$	$B(mT)$	$Hf(A/(m \cdot s)) \cdot 10^9$	$SAR(W/g)$
14.5	211	2.44	22.85 ± 0.11
14.8	227	2.67	23.2 ± 2.0
15.4	240	2.94	23.2 ± 1.5
16.1	251	3.22	23.0 ± 0.3

Tabla 5.1: Tabla con los valores del SAR obtenidos para una frecuencia de $15kHz$ en el equipo de hipertermia para disoluciones.

Representamos el valor del SAR , que es la magnitud sobre la cual queremos realizar el estudio, frente al valor del campo magnético aplicado, B , y sobre el producto de Hf , tal y como podemos observar en las Figuras 5.1 y 5.2.

²Siendo i el segundo, que recordemos que iba del 1 al 120, al ser 2 minutos de medidas.

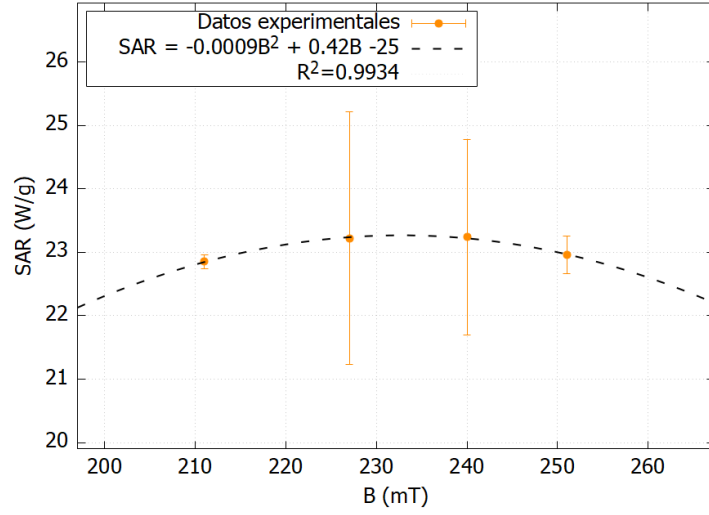


Figura 5.1: Representación del SAR frente a B , para una frecuencia de $15kHz$ en el equipo de hipertermia para disoluciones.

De los resultados de esta frecuencia, podemos ver como el cambio en el SAR es muy pequeño, pese a que a la diferencia entre el campo magnético inicial aplicado y el final es de $40mT$. Así mismo, a través del parámetro R^2 se puede ver como los datos experimentales se ajustan con un polinomio de segundo grado, en ambas Figuras 5.1 y 5.2. Sin embargo, el error del SAR asociado a los campos de $227mT$ y $240mT$ es significativo en comparación con la diferencia en el SAR entre los diferentes campos magnéticos. Por último, hay que mencionar que en ambas figuras se alcanza un máximo del SAR , en los valores centrales estudiados y luego este valor comienza a disminuir.

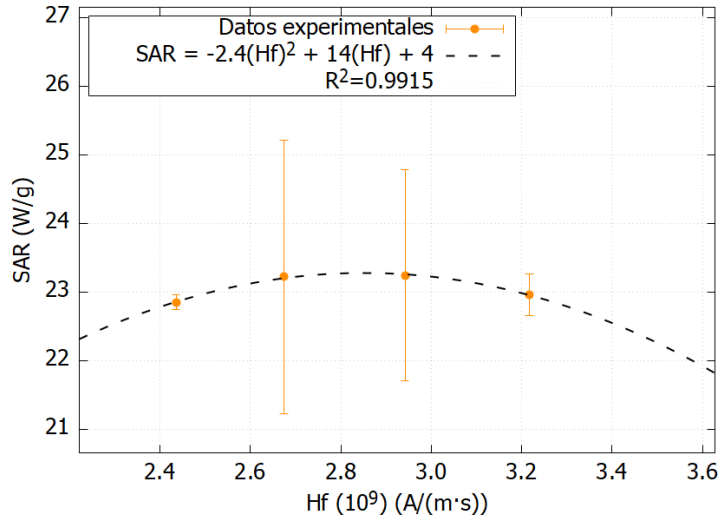


Figura 5.2: Representación del SAR frente a Hf , para una frecuencia de $15kHz$ en el equipo de hipertermia para disoluciones.

5.1.2. Frecuencia de 40kHz

A continuación, vamos a pasar a ver los resultados del SAR asociados a una frecuencia en torno los 40kHz, concretamente obtenemos una frecuencia media de 40.68kHz y un error estándar igual a 0.11kHz.

$f(kHz)$	$B(mT)$	$Hf(A/(m \cdot s)) \cdot 10^9$	$SAR(W/g)$
40.4	75	2.41	38.4 ± 0.4
40.6	100	3.23	50 ± 2
40.8	120	3.90	55 ± 2
40.9	136	4.43	58.9 ± 0.5

Tabla 5.2: Tabla con los valores del SAR obtenidos para una frecuencia de 40kHz en el equipo de hipertermia para disoluciones.

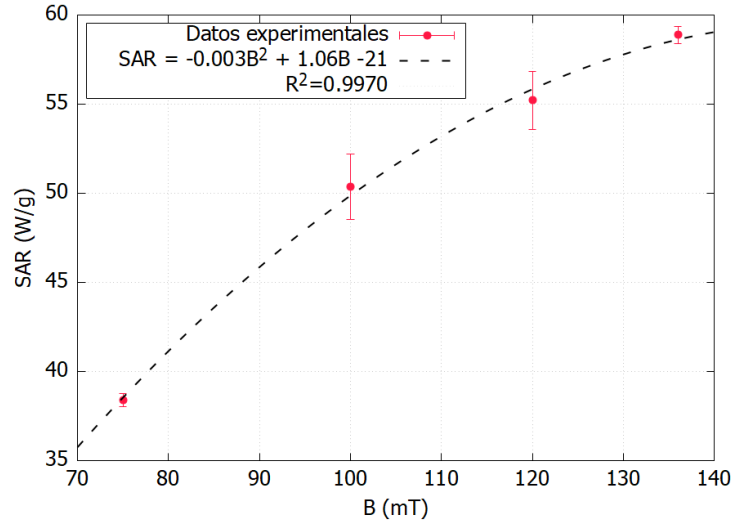


Figura 5.3: Representación del SAR frente a B , para una frecuencia de 40kHz en el equipo de hipertermia para disoluciones.

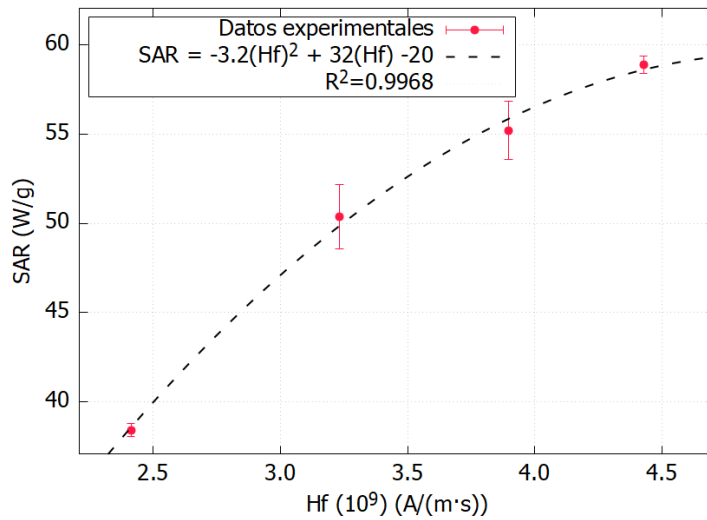


Figura 5.4: Representación del SAR frente a Hf , para una frecuencia de 40kHz en el equipo de hipertermia para disoluciones.

En las Figuras 5.3 y 5.4 podemos ver como los datos experimentales se ajustan correctamente a un polinomio de segundo grado, siendo el parámetro R^2 igual a 0.9970 en la Figura 5.3 e igual a 0.9968 en la Figura 5.4. Así mismo, atendiendo a la Figura 5.3 podemos observar como, a diferencia de lo observado para una frecuencia de $15kHz$ (Figura 5.1), el SAR tiende asintóticamente a un valor máximo, aunque no llega a alcanzarlo en el rango de campos magnéticos estudiado. Observando la Figura 5.4, vemos como ocurre lo mismo cuando se representa frente al producto Hf .

5.1.3. Frecuencia de $50kHz$

Analizamos en este apartado los resultados del SAR para una frecuencia alrededor de $50kHz$, con un valor medio de $50.68kHz$ y un error estándar asociado de $0.09kHz$.

$f(kHz)$	$B(mT)$	$Hf(A/(m \cdot s)) \cdot 10^9$	$SAR(W/g)$
50.6	75	3.02	53.2 ± 0.4
50.9	87	3.52	67.2 ± 0.3
50.7	99	4.00	72.0 ± 0.2
50.5	113	4.54	74.0 ± 0.8

Tabla 5.3: Tabla con los valores del SAR obtenidos para una frecuencia de $50kHz$ en el equipo de hipertermia para disoluciones.

En este caso, podemos observar en la Figura 5.5 ($R^2 = 0.9920$) y en la Figura 5.6 ($R^2 = 0.9945$), como los datos experimentales se ajustan correctamente a un polinomio de segundo grado. De la misma manera, vemos como se llega a alcanzar un valor máximo del SAR en el rango estudiado, tanto en función de B , como del producto Hf .

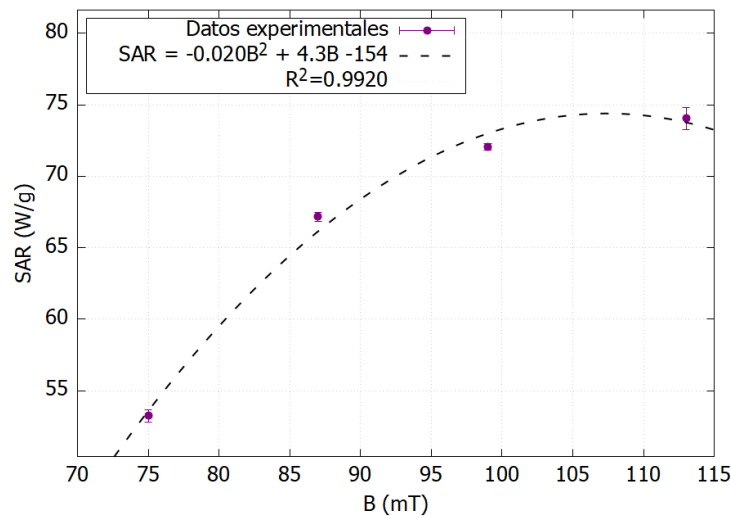


Figura 5.5: Representación del SAR frente a B , para una frecuencia de $50kHz$ en el equipo de hipertermia para disoluciones.

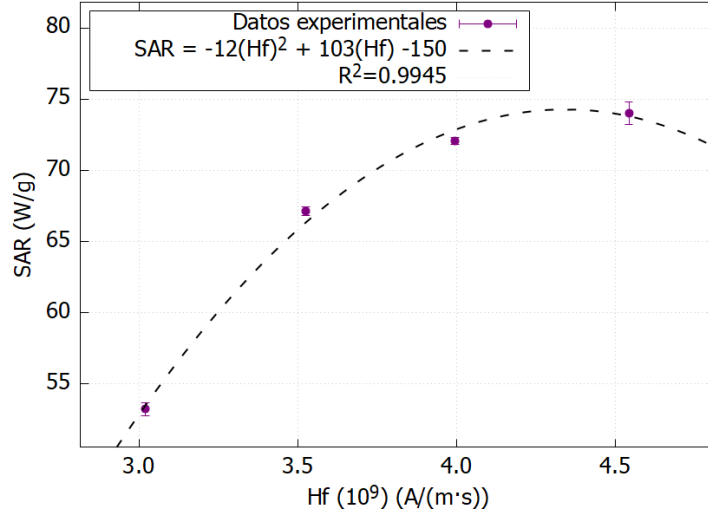


Figura 5.6: Representación del SAR frente a Hf , para una frecuencia de $50kHz$ en el equipo de hipertermia para disoluciones.

5.1.4. Frecuencia de $60kHz$

Procedemos a analizar el SAR asociado a una frecuencia en torno a los $60kHz$, concretamente el valor medio de la frecuencia es de $60.7Hz$ y el error estándar asociado es igual a $0.2kHz$.

$f(kHz)$	$B(mT)$	$Hf(A/(m \cdot s)) \cdot 10^9$	$SAR(W/g)$
60.2	54	2.59	54.8 ± 1.0
60.5	69	3.32	66.4 ± 0.7
60.7	80	3.87	74.2 ± 0.4
61.2	95	4.63	87.6 ± 0.4

Tabla 5.4: Tabla con los valores del SAR obtenidos para una frecuencia de $60kHz$ en el equipo de hipertermia para disoluciones.

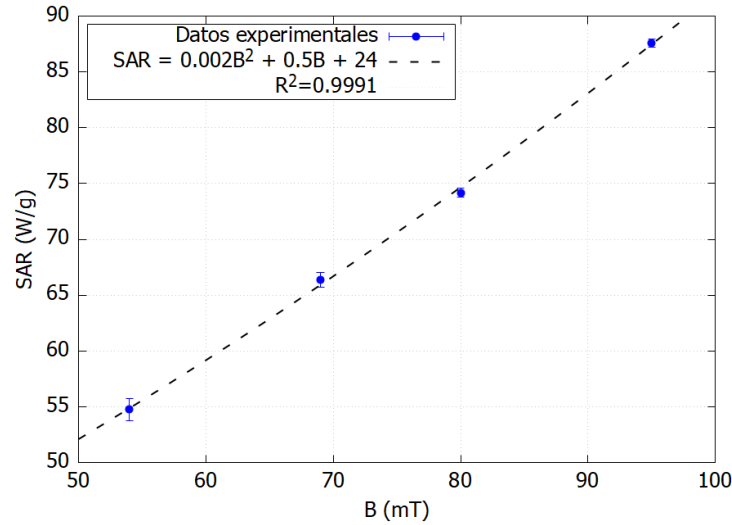


Figura 5.7: Representación del SAR frente a B , para una frecuencia de $60kHz$ en el equipo de hipertermia para disoluciones.

En el caso de las *Figuras 5.7 y 5.8*, se observa como el parámetro R^2 sigue siendo muy elevado (0.9991 y 0.9993 respectivamente) y el valor del SAR no su llega a su máximo ni en función del campo magnético B , ni del producto Hf .

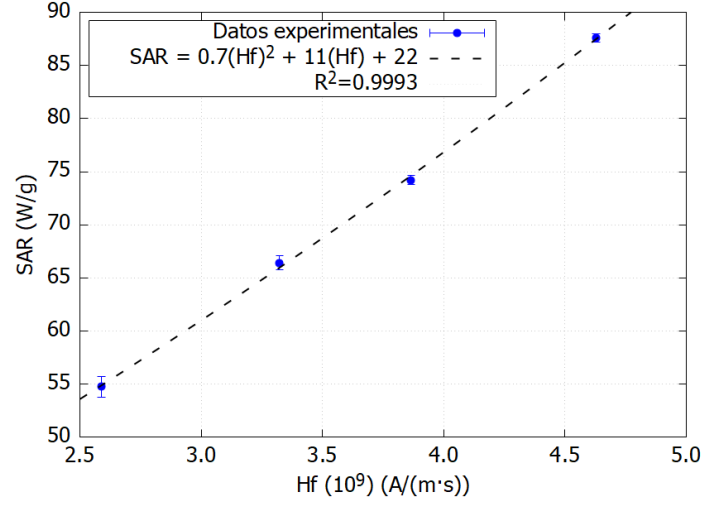


Figura 5.8: Representación del SAR frente a Hf , para una frecuencia de $60kHz$ en el equipo de hipertermia para disoluciones.

5.1.5. Frecuencia de $85kHz$

En este apartado analizamos los resultados del SAR para una frecuencia alrededor de $85kHz$, siendo el promedio $85.3kHz$ y el error estándar asociado de $0.5kHz$.

$f(kHz)$	$B(mT)$	$Hf(A/(m \cdot s)) \cdot 10^9$	$SAR(W/g)$
84.4	35	2.35	39.5 ± 0.4
84.8	47	3.17	57.4 ± 0.8
85.2	58	3.93	73.9 ± 1.1
86.6	66	4.55	91.1 ± 0.9

Tabla 5.5: Tabla con los valores del SAR obtenidos para una frecuencia de $85kHz$ en el equipo de hipertermia para disoluciones.

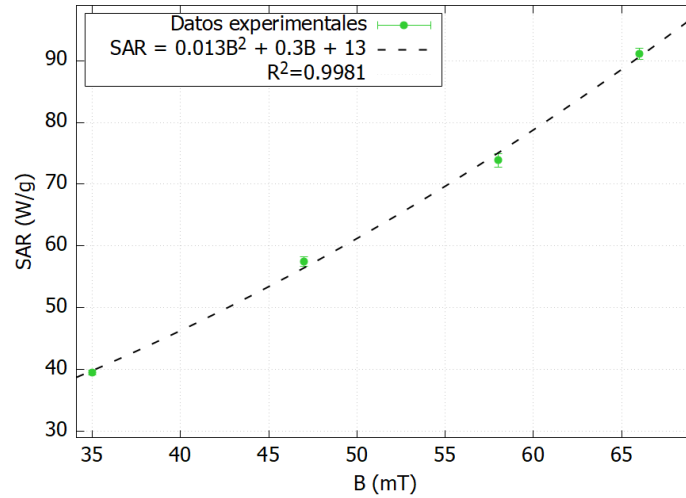


Figura 5.9: Representación del SAR frente a B , para una frecuencia de $85kHz$ en el equipo de hipertermia para disoluciones.

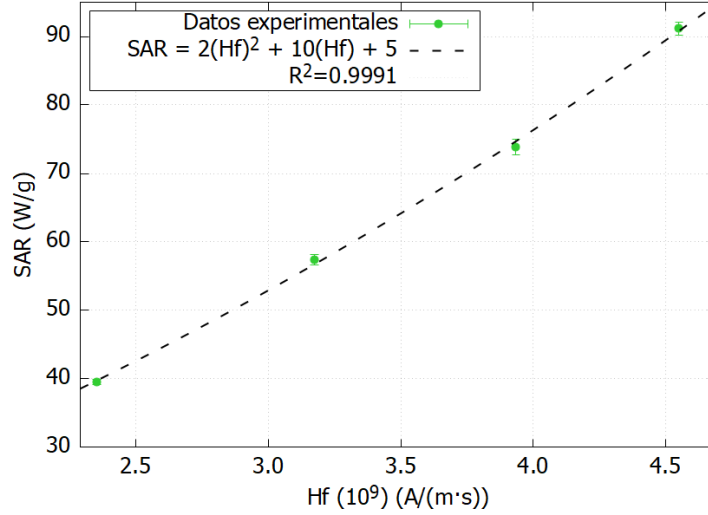


Figura 5.10: Representación del SAR frente a Hf , para una frecuencia de $85kHz$ en el equipo de hipertermia para disoluciones.

Observando las *Figuras 5.9 y 5.10*, vemos cómo el valor de R^2 es muy elevado, y el SAR aumenta continuamente sin acercarse a un valor máximo en el rango estudiado de forma similar a lo observado para la frecuencia de $60kHz$.

5.2. Equipo de hipertermia celular

5.2.1. Frecuencia de $60kHz$

En el equipo de hipertermia celular trabajamos con una frecuencia alrededor de $60kHz$, siendo el valor medio de la frecuencia es de $60.43Hz$ y el error estándar asociado es igual a $0.11kHz$.

$f(kHz)$	$B(mT)$	$Hf(A/(m \cdot s)) \cdot 10^9$	$SAR(W/g)$
60.2	55	2.64	60.4 ± 0.7
60.3	69	3.31	72.2 ± 0.8
60.5	82	3.95	88.8 ± 0.6
60.7	93	4.49	94.9 ± 0.7

Tabla 5.6: Tabla con los valores del SAR obtenidos para una frecuencia de $60kHz$ usando el equipo de hipertermia celular.

Tal y como sucedía en la frecuencia de $60kHz$ en el equipo de hipertermia para disoluciones en el rango tanto de campo magnético, B , estudiado, (*Figura 5.11*), como en el rango de Hf analizado (*Figura 5.12*), el valor del SAR no alcanza un máximo según el ajuste polinómico. Nótese que, en este caso, el parámetro R^2 es elevado ($R^2=0.9846$ (*Figura 5.11*) y $R^2=0.9847$ (*Figura 5.12*)), y los valores son muy similares a los obtenidos en el equipo de medida para disoluciones.

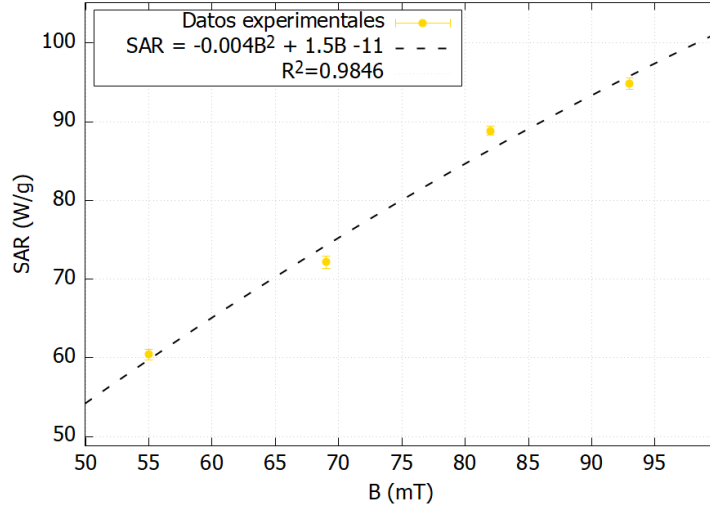


Figura 5.11: Representación del SAR frente a B , para una frecuencia de $60kHz$ usando el equipo de hipertermia celular.

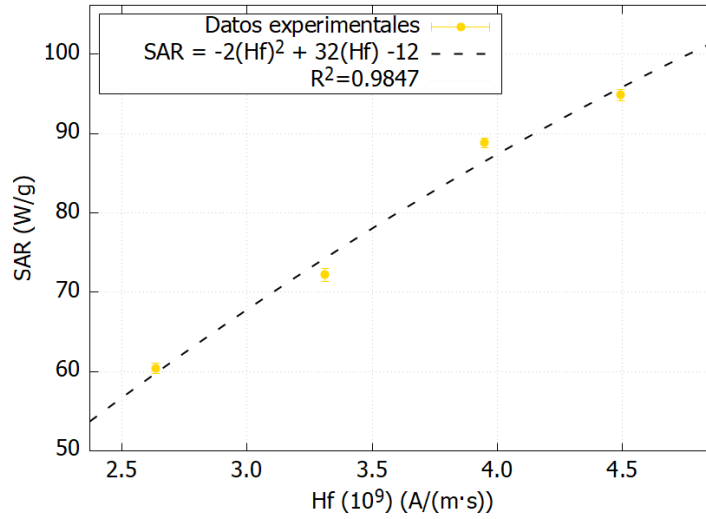


Figura 5.12: Representación del SAR frente a Hf , para una frecuencia de $60kHz$ usando el equipo de hipertermia celular.

6. Discusión de resultados

6.1. Análisis del SAR en función de las frecuencias utilizadas

Una vez realizado el análisis de cada frecuencia, podemos pasar a examinar la variación del SAR en función de la frecuencia en el equipo de hipertermia para disoluciones.

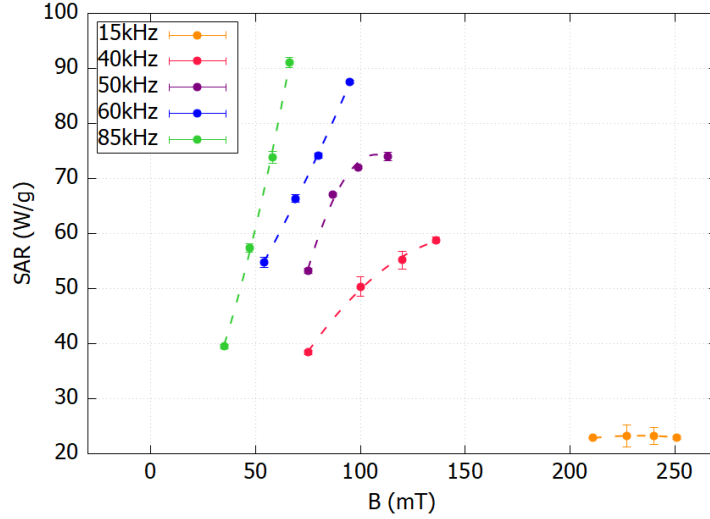


Figura 6.1: Representación del SAR en función del campo magnético, B , para las 5 frecuencias estudiadas en el equipo de hipertermia para disoluciones.

Tal y como podemos observar en la *Figura 6.1*, el mayor SAR lo logramos con la frecuencia de $85kHz$, a pesar de que el campo magnético aplicado es menor que en el resto de frecuencias. Esto indica la importancia de la frecuencia utilizada, para alcanzar un mayor valor del SAR . Así mismo, se deduce que una variación en el campo magnético aplicado tiene una mayor relevancia en el SAR alcanzado cuando utilizamos frecuencias altas, como la de $85kHz$ o la de $60kHz$, donde SAR aumenta de manera mucho más pronunciada, que cuando utilizamos frecuencias bajas, como la de $15kHz$, donde el campo magnético tiene una influencia mínima en el SAR logrado. En el caso de las frecuencias intermedias, como la de $40kHz$ y la de $50kHz$, vemos como el SAR experimenta un incremento muy significativo al pasar de $40kHz$ a $50kHz$. De hecho, si comparamos el SAR obtenido para una intensidad de campo magnético muy similar, en torno a los $75mT$, obtenemos un incremento del 38.55 % en el valor de SAR a la frecuencia de $50kHz$ respecto a la de $40kHz$.

Atendiendo a la *Figura 6.2*, observamos como en ninguna de las frecuencias utilizadas sobrepasamos el valor del producto Hf aceptado para su uso en humanos, que recordamos es $5 \cdot 10^9 (A/(m \cdot s))$. De hecho, el valor máximo de Hf alcanzado se da para una frecuencia $60kHz$, donde obtenemos un valor de $4.63 \cdot 10^9 (A/(m \cdot s))$, que es un 7.4 % menor que el Hf permitido. Resulta muy interesante observar cómo los valores de SAR a diferentes frecuencias tienden a igualarse a partir de una frecuencia de $50kHz$ al representarlos frente a Hf , que es, en el fondo, el parámetro más relevante en nuestro caso, puesto que perseguimos un uso clínico del campo magnético en humanos. También podemos observar como para la frecuencia de $85kHz$, se obtiene un SAR ligeramente más alto, a pesar de comenzar en un valor relativamente inferior para Hf bajos.

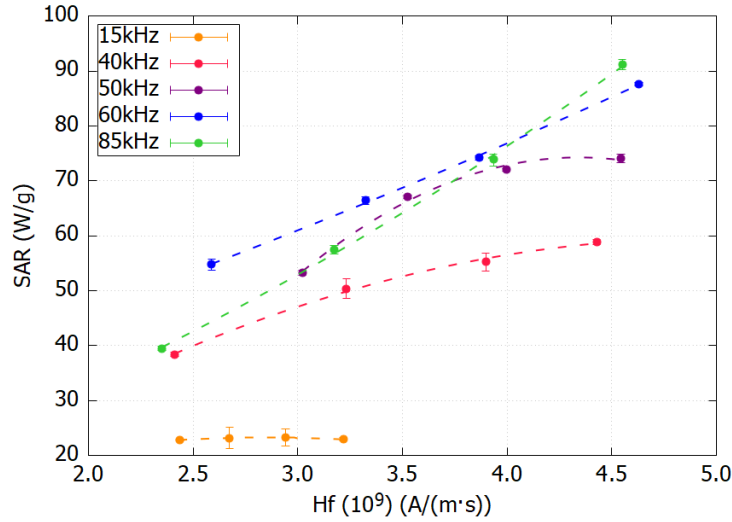


Figura 6.2: Representación del SAR en función de Hf , para las 5 frecuencias estudiadas en el equipo de hipertermia para disoluciones.

6.2. Comparación de los equipos en base al SAR obtenido

A continuación, pasamos a comparar el SAR obtenido en los dos equipos utilizados, en función del campo magnético, B , (*Figura 6.3*) y de Hf (*Figura 6.4*), para una frecuencia de $60kHz$.

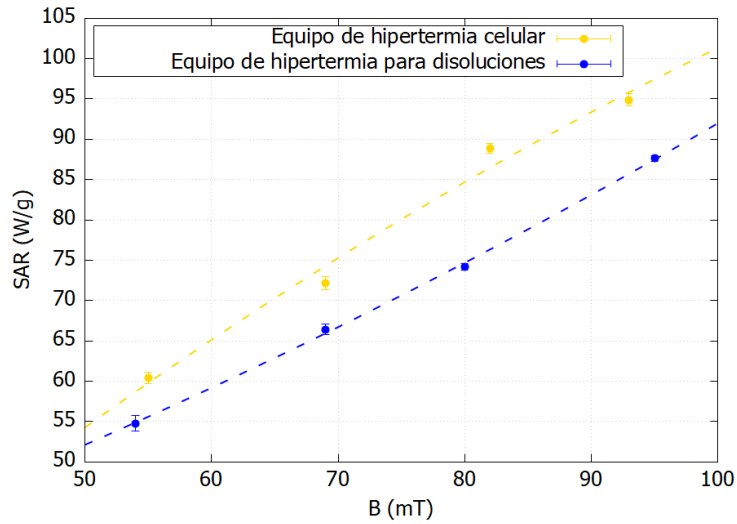


Figura 6.3: Representación del SAR en función del campo magnético, B , obtenido para los equipos de hipertermia celular y de disoluciones a una frecuencia de $60kHz$.

Observando la *Figura 6.3*, vemos como en el rango de campos magnéticos estudiado, los valores de SAR son similares, aunque ligeramente superiores en el equipo de hipertermia celular con respecto al de disoluciones. En concreto, vemos cómo para las dos primeras medidas del SAR (en las que se usan unos valores de campo magnético en torno a los $55mT$ y los $69mT$ respectivamente), la diferencia entre

equipos no supera los $6W/g$ en el SAR obtenido. Particularmente, con el mismo campo magnético, el error relativo entre las medidas tomadas en ambos equipos es del 7.75 % en el primer caso, y del 7.98 % en el segundo caso. Si nos vamos a la tercera medida de campo magnético, vemos como la diferencia del SAR entre ambos equipos es ligeramente superior, de hecho, obtenemos una diferencia de $12.2W/g$, lo que representa un 13.74 % de error relativo. Sin embargo, en la última toma de medidas, la diferencia y el error relativo respecto al equipo de hipertermia celular vuelven a disminuir, siendo la diferencia igual a $8.8W/g$, lo que representa un 9.23 % de error relativo.³

Estas ligeras diferencias se pueden explicar por la evaporación que se produce en el equipo de hipertermia celular, al no poder tener las muestras tapadas. Dicha evaporación conduce a que el líquido que se tiene que calentar sea menor, ya que habrá menos agua y por tanto la muestra se calentará más con el mismo calor y, consecuentemente, el SAR será mayor que en el equipo de hipertermia para disoluciones, donde la muestras si están tapadas y no se produce evaporación.

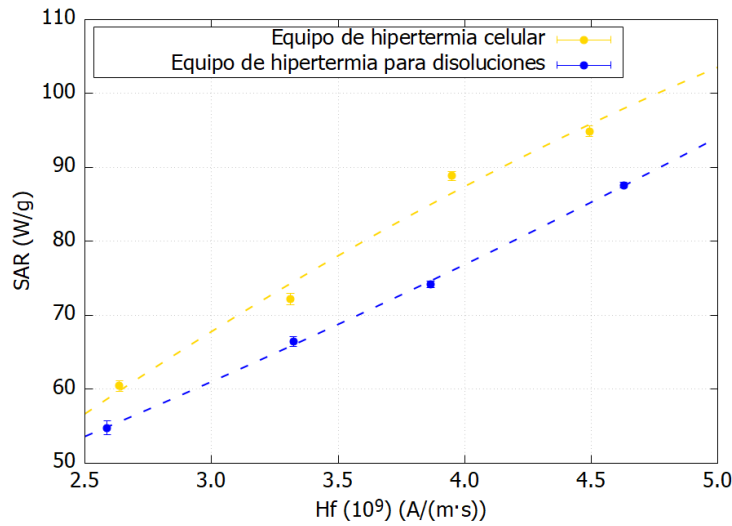


Figura 6.4: Representación del SAR en función de Hf para los equipos de hipertermia celular y de disoluciones a una frecuencia de $60kHz$.

En la *Figura 6.4*, observamos como el SAR sigue siendo muy parecido en ambos equipos, aunque sigue siendo mayor, en el rango de Hf estudiado, para el equipo de hipertermia celular que para el de hipertermia para disoluciones.

³Nótese que el error relativo es respecto al valor del SAR tomado en el equipo de hipertermia celular. Así mismo, en la comparación de las diferencias de SAR , cuando el campo magnético experimental no es exactamente el mismo en ambos equipos, se calcula el valor del SAR en el equipo de hipertermia para disoluciones mediante el ajuste polinómico, para poder realizar la comparación usando el mismo valor del campo magnético, B .

7. Conclusiones

Como se ha mencionado al principio, el objetivo principal de este trabajo es encontrar las condiciones óptimas de frecuencia, f , e intensidad de campo magnético, H , para conseguir calentamientos altos usando las MNPs de maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), y siempre respetando que el límite del producto Hf no fuese mayor que $5 \cdot 10^9 (\text{A}/(\text{m} \cdot \text{s}))$. Se ha comprobado que, para valores de Hf similares, se obtiene mayor SAR a frecuencias altas que a frecuencias bajas (aunque se consigan intensidades de campos magnéticos mucho mayores). Así mismo, se aprecia como a una frecuencia baja de 15kHz , el SAR que conseguimos es pequeño y apenas varía con el producto Hf . A una frecuencia intermedia de 40kHz , el SAR aumenta notablemente, y experimenta una variación con el producto Hf . Esta dependencia con respecto a Hf se hace más acusada a partir de los 50kHz , a la vez que los valores del SAR para cada valor de Hf aumentan. Por otro lado, a partir de esta frecuencia de 50kHz , el comportamiento del SAR con respecto a Hf cambia poco.

En lo referente a la comparación del SAR entre los diferentes equipos, observamos como el SAR es muy similar en ambos equipos y, puesto que la toma de medidas del SAR en el equipo de hipertermia celular es más tediosa, y que en el equipo de hipertermia para disoluciones podemos controlar mejor las condiciones de las medidas, se recomienda realizar las medidas de optimización de los parámetros de campo magnético para un mayor SAR en el equipo de hipertermia para disoluciones.

En cuanto a las perspectivas de futuro, las condiciones óptimas obtenidas de frecuencia, f , e intensidad de campo magnético, H , serán muy útiles para la realización de los experimentos planeados de determinación de la eficacia de la hipertermia magnética como terapia anticancerígena en cultivos celulares. En dichos experimentos se utilizarán las mismas MNPs que en este trabajo después de recubrirlas con polímeros y conjugarlas con anticuerpos para que se internalicen específicamente en las células cancerígenas.

Referencias

- [1] Gas, P. (2017). Essential Facts on the History of Hyperthermia and their Connections with Electromedicine. *arXiv: Medical Physics*.
- [2] Ortega, D., & Pankhurst, Q. A. (2013). Magnetic hyperthermia. *Nanoscience*, 1. 60-88.
- [3] Puente, J., & De Velasco, G. (2019). *¿Qué es el cáncer y cómo se desarrolla?* Consultado el día 17 de noviembre de 2024 en seom.org

- [4] World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. Consultado el día 17 de noviembre de 2024 en gco.iarc.fr
- [5] Wust, P., Hildebrandt, B., Sreenivasa, G., Rau, B., Gellermann, J., Riess, H., Felix, R., & Schlag, P. M. (2002). Hyperthermia in combined treatment of cancer. *The Lancet. Oncology*, 3(8), 487–497.
- [6] Laurent, S., Bridot, J. L., Elst, L. V., & Muller, R. N. (2010). Magnetic iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Future medicinal chemistry*, 2(3), 427–449.
- [7] Bleaney, B. I., & Bleaney, B. (1965). Electricity and Magnetism. Contemporary Physics, 55(2), 141–142.
- [8] Jiles, D. (2015). Introduction to magnetism and magnetic materials. *CRC press*.
- [9] Gu, Y., Yoshikiyo, M., Namai, A., Bonvin, D., Martinez, A., Piñol, A., Téllez, P., Silva, N. J. O., Ahrentorp, F., Johansson, C., Marco-Brualla, C., Moreno-Loshuertos, R., Fernández-Silva, P., Cui, Y., Ohkoshi, S. & Millán, A. (2020). *RSC Adv.*, 10, 28786 —28797.
- [10] Hergt, R. and Dutz, S. (2007) Magnetic Particle Hyperthermia-Biophysical Limitations of a Visionary Tumour Therapy. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 311, 187-192.
- [11] Liu, X., Zhang, Y., Wang, Y., Zhu, W., Li, G., Ma, X., Zhang, Y., Chen, S., Tiwari, S., Shi, K., Zhang, S., Fan, H. M., Zhao, Y. X., & Liang, X. J. (2020). Comprehensive understanding of magnetic hyperthermia for improving antitumor therapeutic efficacy. *Theranostics*, 10(8), 3793–3815.
- [12] Lacroix, L. M., Carrey, J., & Respaud, M. (2008). A frequency-adjustable electromagnet for hyperthermia measurements on magnetic nanoparticles. *The Review of scientific instruments*, 79(9), 093909.
- [13] Cavero Alonso, L. (2023). Hipertermia magnética intracelular para terapia del cáncer. *Universidad de Zaragoza Repository*. Consultado en zaguan.unizar.es
- [14] Gu, Y., Piñol, R., Moreno-Loshuertos, R., Brites, C. D. S., Zeler, J., Martínez, A., Maurin-Pasturel, G., Fernández-Silva, P., Marco-Brualla, J., Téllez, P., Cases, R., Belsué, R. N., Bonvin, D., Carlos, L. D., & Millán, A. (2023). *ACS nano*, 17(7), 6822–6832.
- [15] Ferrer Fillat, C. (2023). Hipertermia magnética intracelular para terapia del cáncer. *Universidad de Zaragoza Repository*.

A. Anexo I: Curvas de calentamiento de las MNPs.

A continuación, se muestran todas las curvas de calentamiento obtenidas para las 5 frecuencias utilizadas en el equipo de hipertermia para disoluciones, y la frecuencia utilizada en el equipo de hipertermia celular.

- Frecuencia de $15kHz$ en el equipo de hipertermia para disoluciones.

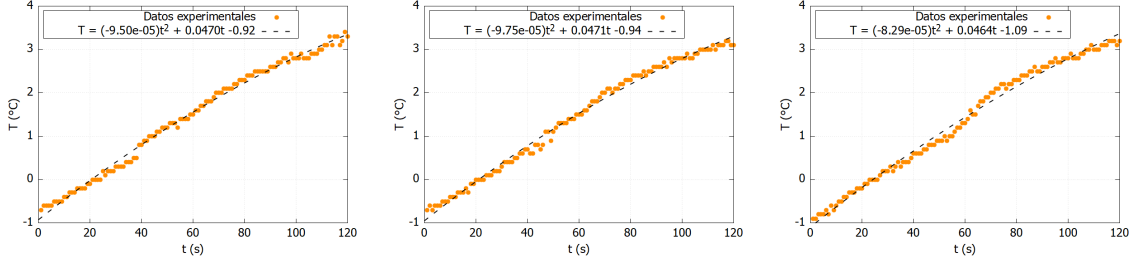


Figura A.1: Curvas de calentamiento para $f = 15kHz$ y $B = 211mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

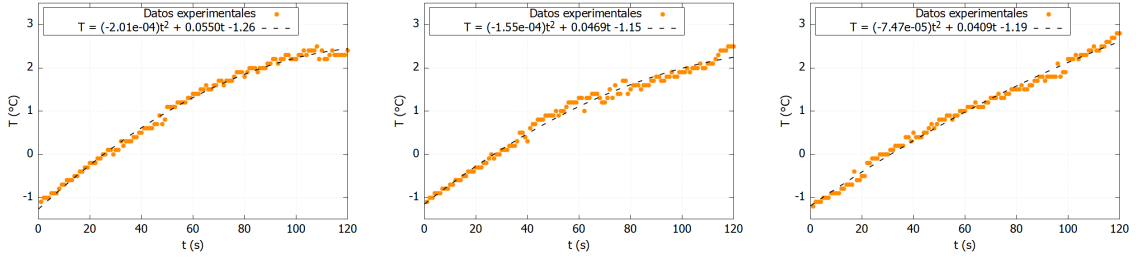


Figura A.2: Curvas de calentamiento para $f = 15kHz$ y $B = 227mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

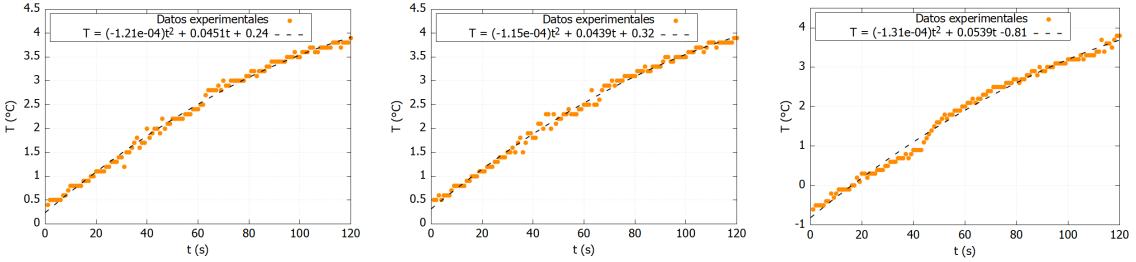


Figura A.3: Curvas de calentamiento para $f = 15kHz$ y $B = 240mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

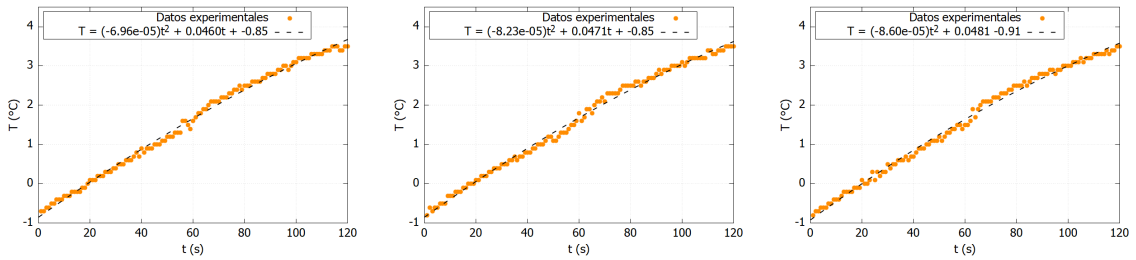


Figura A.4: Curvas de calentamiento para $f = 15kHz$ y $B = 251mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

- Frecuencia de $40kHz$ en el equipo de hipertermia para disoluciones.

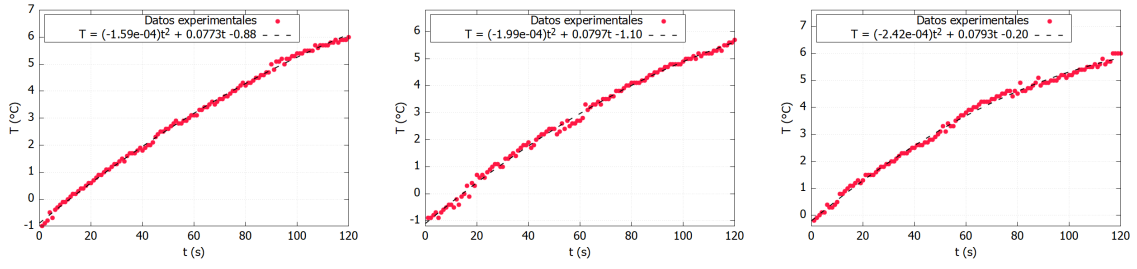


Figura A.5: Curvas de calentamiento para $f = 40kHz$ y $B = 75mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

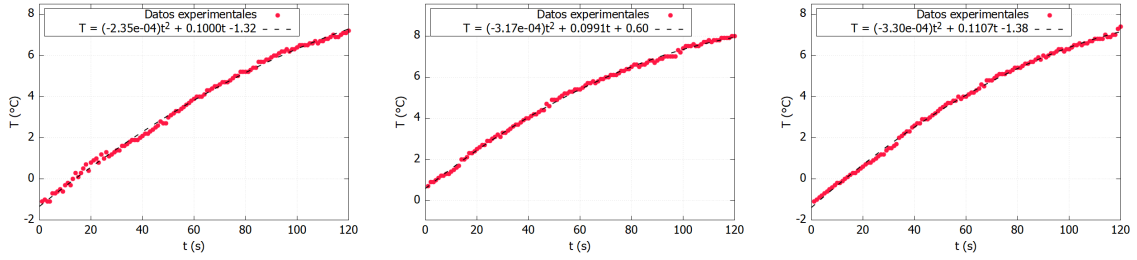


Figura A.6: Curvas de calentamiento para $f = 40kHz$ y $B = 100mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

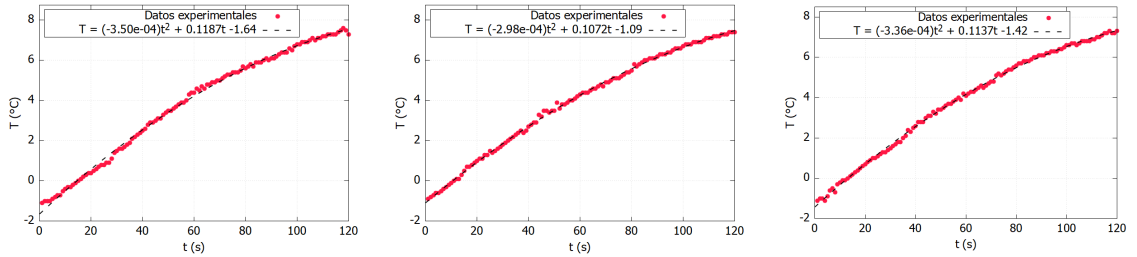


Figura A.7: Curvas de calentamiento para $f = 40kHz$ y $B = 120mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

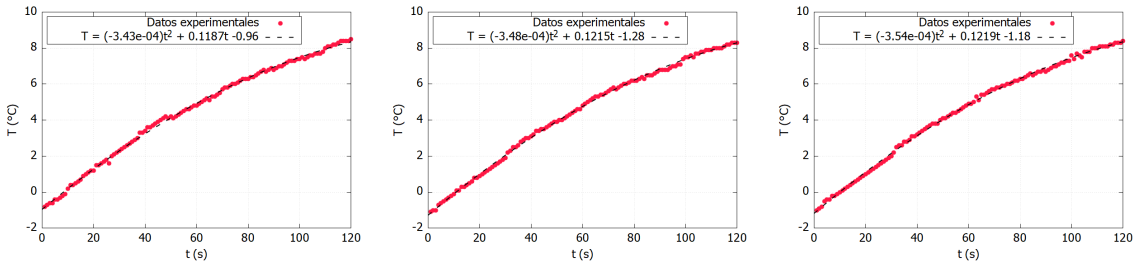


Figura A.8: Curvas de calentamiento para $f = 40kHz$ y $B = 136mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

- Frecuencia de $50kHz$ en el equipo de hipertermia para disoluciones.

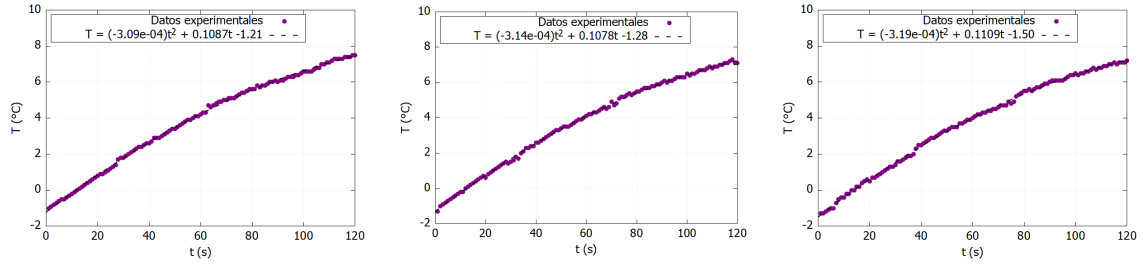


Figura A.9: Curvas de calentamiento para $f=50kHz$ y $B=75mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

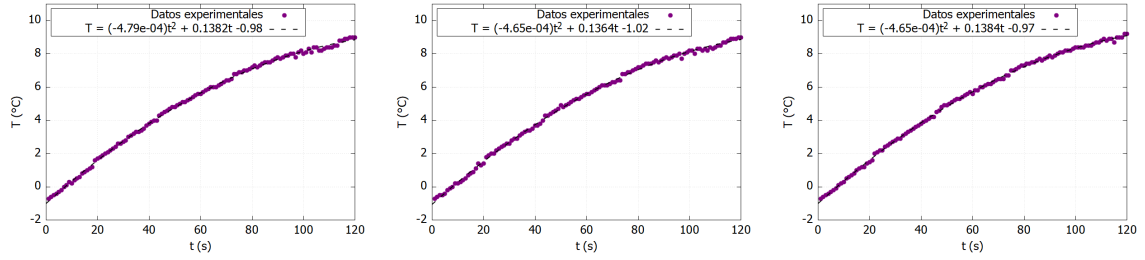


Figura A.10: Curvas de calentamiento para $f = 50kHz$ y $B = 87mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

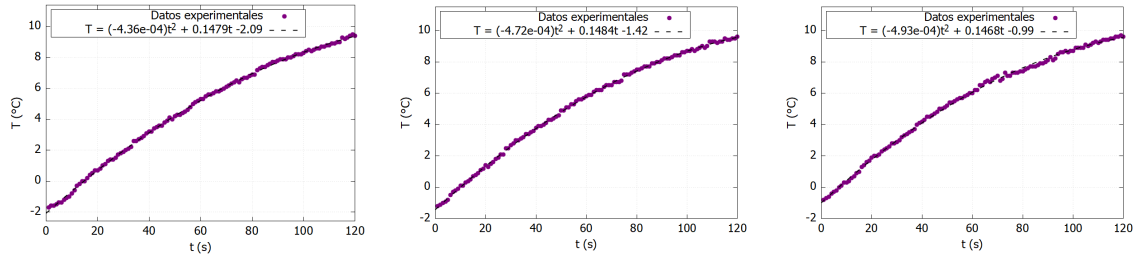


Figura A.11: Curvas de calentamiento para $f = 50kHz$ y $B = 99mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

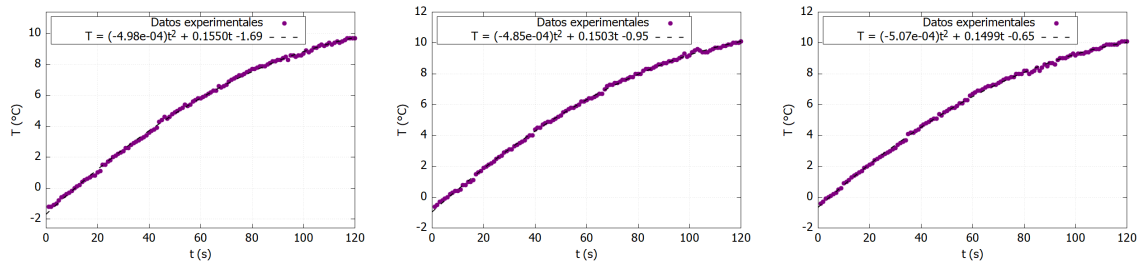


Figura A.12: Curvas de calentamiento para $f = 50kHz$ y $B = 113mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

- Frecuencia de $60kHz$ en el equipo de hipertermia para disoluciones.

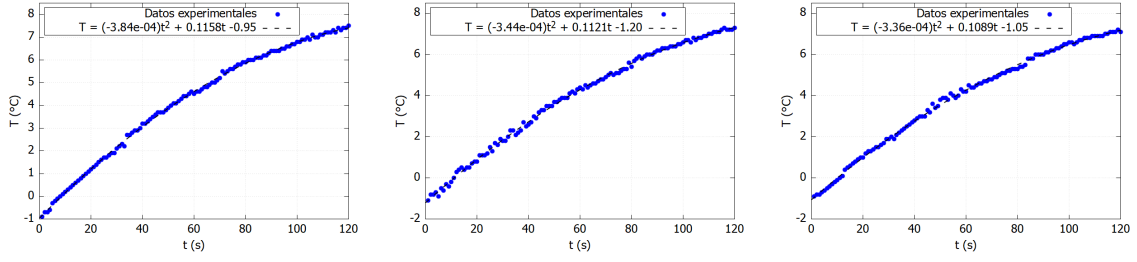


Figura A.13: Curvas de calentamiento para $f = 60kHz$ y $B = 54mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

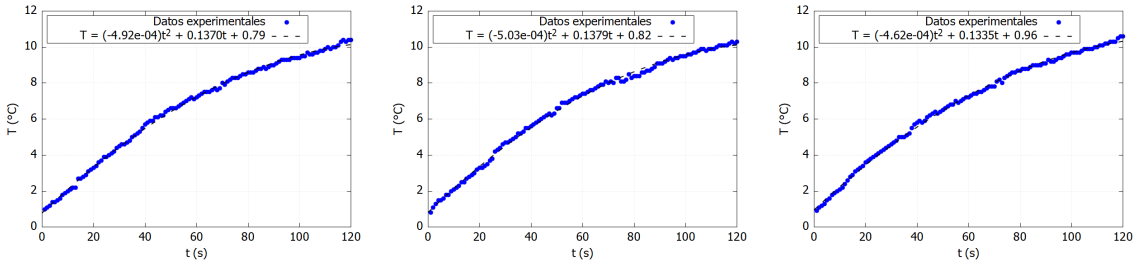


Figura A.14: Curvas de calentamiento para $f = 60kHz$ y $B = 69mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

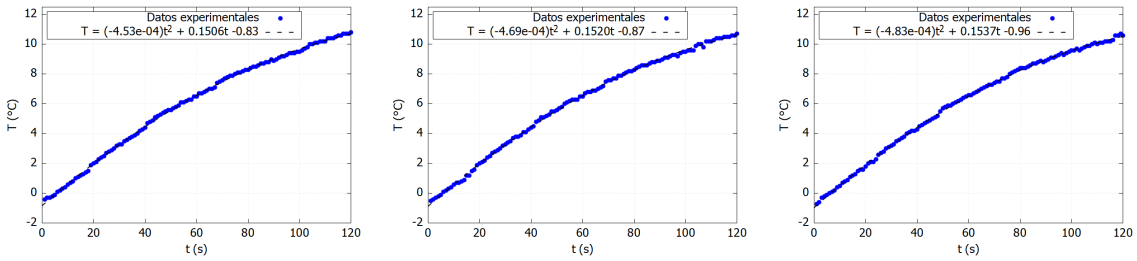


Figura A.15: Curvas de calentamiento para $f = 60kHz$ y $B = 80mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

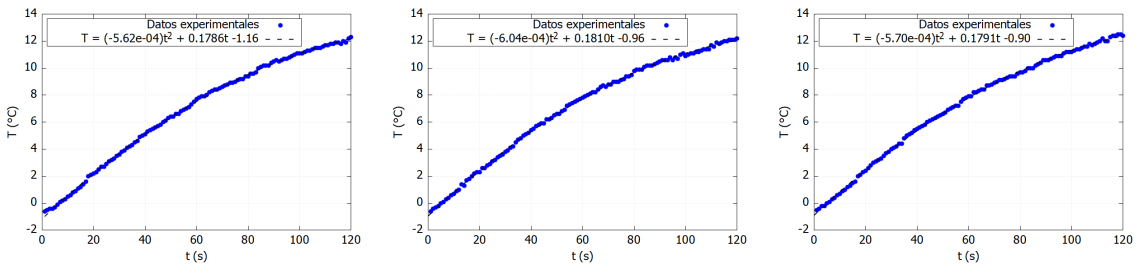


Figura A.16: Curvas de calentamiento para $f = 60kHz$ y $B = 95mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

- Frecuencia de $85kHz$ en el equipo de hipertermia para disoluciones.

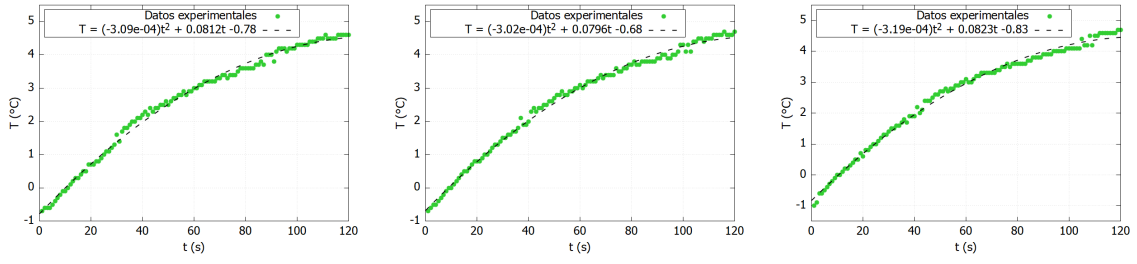


Figura A.17: Curvas de calentamiento para $f = 85kHz$ y $B = 35mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

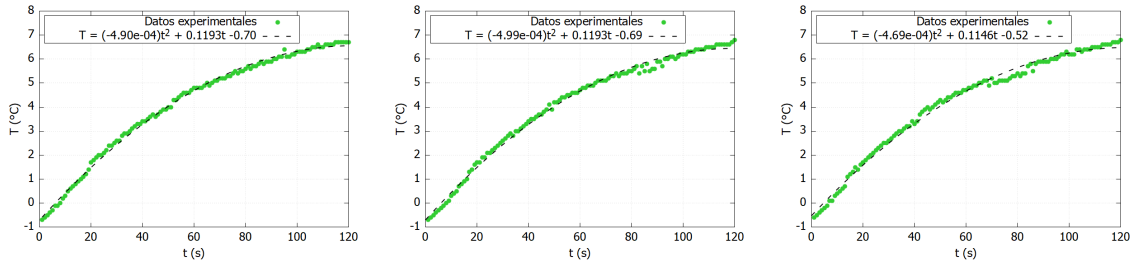


Figura A.18: Curvas de calentamiento para $f = 85kHz$ y $B = 47mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

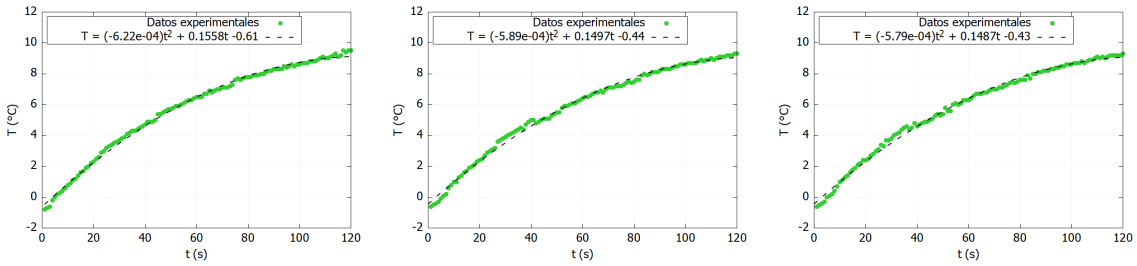


Figura A.19: Curvas de calentamiento para $f = 85kHz$ y $B = 58mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

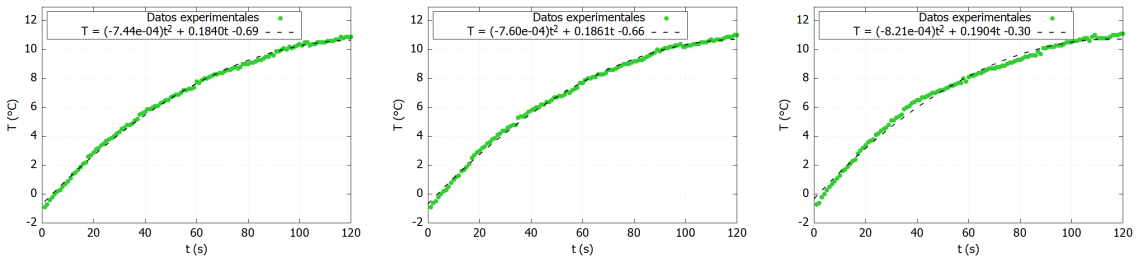


Figura A.20: Curvas de calentamiento para $f = 85kHz$ y $B = 66mT$, en el equipo de hipertermia para disoluciones.

- Frecuencia de $60kHz$ en el equipo de hipertermia celular.

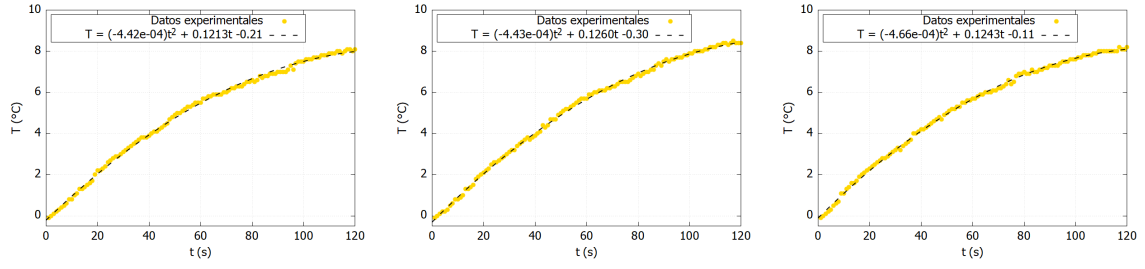


Figura A.21: Curvas de calentamiento para $f = 60kHz$ y $B = 55mT$, en el equipo de hipertermia celular.

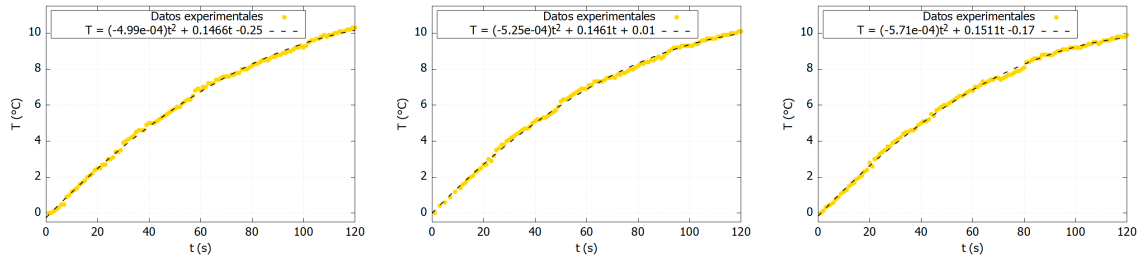


Figura A.22: Curvas de calentamiento para $f = 60kHz$ y $B = 69mT$, en el equipo de hipertermia celular.

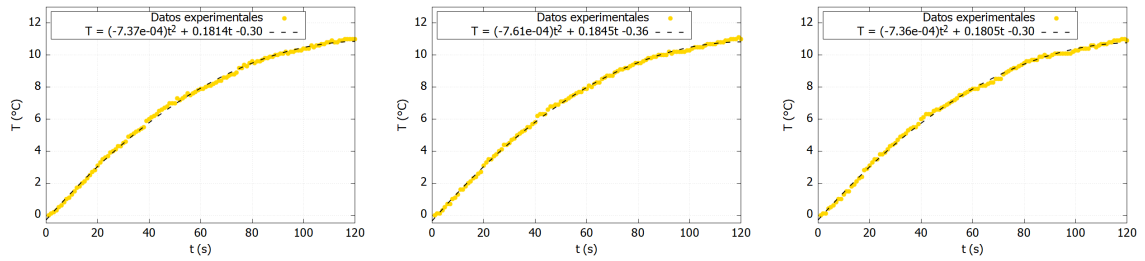


Figura A.23: Curvas de calentamiento para $f = 60kHz$ y $B = 82mT$, en el equipo de hipertermia celular.

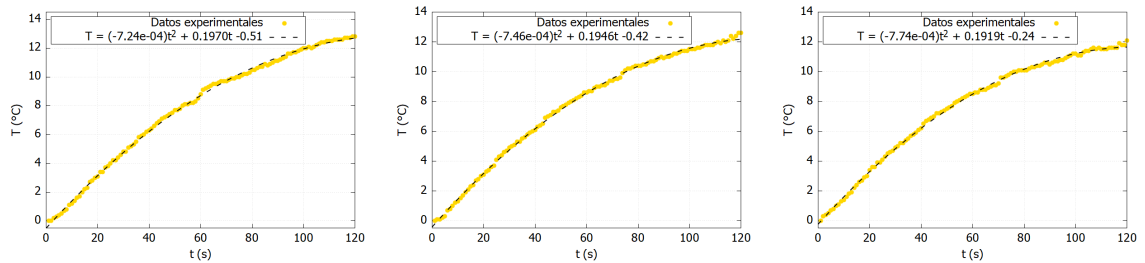


Figura A.24: Curvas de calentamiento para $f = 60kHz$ y $B = 93mT$, en el equipo de hipertermia celular.