

## 4. PROTOCOLOS DE MEDIDA.

En este capítulo se describen los procedimientos a través de los cuales se llevaron a cabo cuatro tipos de pruebas. Las primeras se refieren a experimentos preliminares orientados a establecer la viabilidad de medir la SCR por métodos basados en IM con la instrumentación comercialmente disponible, así como su relación con la conductividad. Las segundas intentan registrar la respuesta del equipo frente a muestras no biológicas y la relación entre esa respuesta y las propiedades eléctricas y magnéticas. Las terceras corresponden a la aplicación sobre tejido hepático *in vitro* con el fin de determinar la sobrecarga de hierro en muestras provenientes de este órgano. Por último se realizan pruebas sobre humanos con el fin de intentar hacer determinaciones no invasivas de la carga de hierro en el hígado.

### **4.1. Comprobación experimental de los modelos previos (sistema bobina- bobina).**

De acuerdo con la expresión obtenida por Griffiths y otros (1999), el efecto de la conductividad eléctrica de una muestra medida en un sistema bobina-bobina, basado en inducción magnética, se reflejará en la parte imaginaria de la relación señal-portadora (SCR).

Por esta razón, como una manera de confirmar la respuesta predicha por este modelo y evaluar la viabilidad de realizar medidas con la instrumentación y métodos comercialmente disponibles, se diseñó un experimento que intentaba simular, de la manera más ajustada posible, la situación descrita por esta ecuación. Otros objetivos de estas pruebas son evaluar la dependencia de esta respuesta con la frecuencia, la utilización de pantallas y los niveles de ruido. A continuación se detallan las etapas desarrolladas.

#### 4.1.1. Características del sistema.

Para la obtención de su expresión, Griffiths y colaboradores supusieron un sistema bobina–bobina (E-S) coaxial separado una distancia  $2a$  (figura 2.1). En el punto medio entre las bobinas y ubicado coaxial con ellas, se supuso un disco de material no magnético cuya conductividad y permitividad eléctrica son  $\sigma$  y  $\epsilon$  respectivamente. La bobina excitadora se alimenta con un generador senoidal de frecuencia angular  $\omega$ .

Esta situación fue reproducida experimentalmente para proceder a la verificación. La figura 4.1 muestra la estructura utilizada. Las dos bobinas, construidas con hilo de cobre esmaltado de 1.35 mm de diámetro y con forma de solenoides, tienen las siguientes características:

- 10 vueltas.
- 3.76 cm de radio.
- 2.0 cm de longitud.
- Inductancia de 12  $\mu\text{H}$  (medida con el analizador de impedancias HP 4192A).
- Resonancia de la bobina excitadora sin pantalla, 3.0 MHz (medida con el analizador de impedancias HP 4192A).
- Pantalla de lámina de cobre de 0.6 mm de espesor.
- Resonancia de la bobina excitadora con pantalla, 4.5 MHz (medida con el analizador de impedancias HP 4192A).

Cada una de las bobinas se fijó en uno de los extremos de una barra de PVC de 26.0 cm de longitud y sección transversal  $2.0 \times 3.0 \text{ cm}^2$ , utilizando para ello material termo–fusible, mientras el otro extremo se fijó a una plataforma de madera con el mismo material, de modo que los centros de cada bobina se encuentran a una altura aproximada de 30.0 cm de la plataforma separados 42.0 cm (figura 4.1). Se tuvo cuidado de no utilizar ninguna pieza metálica de soporte o sujeción en la estructura.

### 4.1.2. Muestra de prueba

Con el fin de ajustarse a las condiciones de la muestra utilizada en el modelo, se construyó una cubeta con paredes de láminas de vidrio de  $47 \times 47 \text{ cm}^2$  y 2.5 cm de espesor, separadas entre ellas por una banda de goma de 1.5 cm de espesor, de forma que se crea un espacio de unos  $3310 \text{ cm}^3$ . Éste se llenó con soluciones salinas de conductividad eléctrica conocida y variable, para así poder registrar los cambios en la tensión inducida en la sonda, debido a la sustancia.

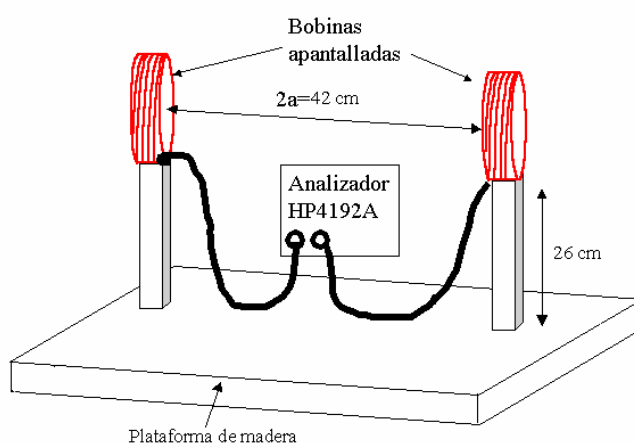


Figura 4.1. Aspecto de la estructura de prueba bobina-bobina construida.

En el modelo antes citado se supuso un disco de espesor despreciable comparado con la separación entre las bobinas y un radio grande en comparación con el de cada una de ellas (capítulo 2, figura 2.2). La sustancia que llene la cubeta no formará un disco, pero dadas sus dimensiones se considera que la aproximación es suficientemente buena. Respecto a la primera condición se observa que el espesor de la cubeta corresponde a un 3.6% de la separación entre EXC y REC, lo que parece bueno. La segunda restricción queda menos cubierta, ya que los 3.76 cm de radio de las bobinas representan el 9% de cada lado de la cubeta. A pesar de esto último, se considera que para una evaluación preliminar se cubren razonablemente bien las condiciones.

### 4.1.3. Instrumentación utilizada

Las medidas se realizaron con el analizador de impedancia HP4192A, el cual dispone de una opción para la medida de la función de transferencia. En ella, la fuente proporciona una tensión de entrada máxima de  $1 V_{pp}$ , la cual se utiliza tanto para alimentar la bobina excitadora EXC como la de referencia. Por otro lado, ofrece un terminal para la salida del circuito, que en nuestro caso corresponde a la tensión inducida en la receptora REC. El instrumento entrega como resultado el módulo y la fase de la función de transferencia. El control del sistema se realizó con un software desarrollado bajo plataforma LabWindow<sup>®</sup>.

Si la entrada corresponde a la tensión de excitación (o proporcional) y la salida a la tensión inducida en la receptora REC, al relacionar la función de transferencia en el espacio vacío con la obtenida en presencia de muestra, será posible obtener una medida de la SCR del sistema de inducción magnética y evaluar así la respuesta a la luz de la expresión de Griffiths y otros (1.999). En este sentido se tiene que la expresión teórica de la SCR se puede escribir como

$$SCR = \frac{\Delta B}{B_0} = \frac{\Delta V}{V_0} = \frac{V_f - V_0}{V_0} = \frac{V_f}{V_0} - 1 \quad (4.1)$$

De la expresión anterior se observa que se debe realizar la comparación entre el cociente de funciones de transferencia medidas con muestra, es decir,  $(V_f/V_{in})$  y en ausencia de muestra lo que es igual a  $(V_0/V_{in})$ ,

$$\frac{V_f/V_{in}}{V_0/V_{in}} = \frac{V_f}{V_0} \quad (4.2)$$

y la expresión de Griffiths  $(\Delta B/B_0)$ . La misma debe ser de la forma,

$$\frac{\Delta B}{B_0} + 1 = \frac{V_f}{V_0} \quad (4.3)$$

Esta expresión indica que la comparación entre las medidas y la expresión teórica deducida por Griffiths y otros (1.999) permitirá establecer la concordancia entre las predicciones y los resultados experimentales.

#### **4.1.4. Protocolo de medida.**

Con el fin de lograr las comparaciones antes descritas se realizaron un conjunto de pruebas cambiando algunas condiciones para evaluar los efectos de los acoplamientos, las pantallas y las interferencias. De igual manera se midieron las respuestas para varias conductividades para así comparar y evaluar la validez de la expresión teórica de Griffiths y otros (1999) contra los experimentos. Con este fin se realizaron los registros de la función de transferencia en las condiciones indicadas a continuación:

1. Con las bobinas sin pantalla.
2. Con las bobinas apantalladas con lámina de cobre puesta a tierra, lo que permite evaluar el efecto de las pantallas.
3. Se eliminó la conexión de tierra (terminal bajo de corriente) de la EXC manteniendo la tensión máxima, de modo que  $I_{EXC}=0$ . De esta forma se elimina el acoplamiento inductivo mutuo.
4. Se redujo la alimentación al valor mas bajo posible ( $V_{pp}=0.01$  mV). De este modo se evaluó el efecto de las interferencias.
5. Con las bobinas con pantalla puesta a tierra, se midió la respuesta con la cubeta vacía ubicada en el punto medio y con la misma llena con un conjunto de soluciones salinas de concentraciones: 0.146 S/m, 0.311 S/m, 0.392 S/m, 0.719 S/m, 1.079 S/m y 1.329 S/m (medidas con el conductímetro GRISON<sup>®</sup> LP 32, España).

## **4.2. Medida en muestras inorgánicas**

En general, al realizar medidas sobre muestras no biológicas, y en particular muestras inorgánicas simple, se abre la posibilidad de evaluar, por una parte las PEP de la muestra específica que se ha escogido, y por la otra, la respuesta del sistema desarrollado ante cambios en las PEP. Esto último basado en el hecho de que, para este tipo de muestra, las características eléctricas y magnéticas son razonablemente estables y controlables.

En una primera etapa es necesario verificar que el montaje presenta una respuesta adecuada, es decir, la deseada. Para ello se escogieron muestras con conductividad eléctrica y susceptibilidad magnética bajas, tal como ocurre en el tejido biológico. Los valores de la permitividad representan otro problema que se comentará mas adelante.

### **4.2.1. Características de la excitadora y del gradiómetro**

Como se comentó en el capítulo 3, durante la primera fase del estudio se utilizó una bobina excitadora de 17 vueltas, 4.75 cm de radio y autoinducción de 35  $\mu\text{H}$ , en serie con una capacidad de 10  $\mu\text{F}$ . De esta manera la frecuencia de resonancia del circuito de excitación se ubicó en 28 kHz. El sensor utilizado en esta fase fue un PGRAD de 39 vueltas (doble cara) con separación interior de 20 mm y exterior de 50 mm, separado 17 cm de la EXC (figura 3.2). Ambas bobinas se fijaron en una estructura rígida de PVC en forma de torre, de manera que se conservan fijas las posiciones relativas entre ellas y respecto a los distintos elementos del entorno. La figura 4.2 muestra la estructura descrita en la cual se observan los distintos componentes ya mencionados y las posiciones de cada uno de ellos.

### **4.2.2. Las muestras.**

En esta etapa, en la que se intenta establecer de una manera controlada la forma cómo responde el sistema desarrollado ante cambios de los parámetros eléctricos y así evaluar la

coincidencia con el comportamiento teóricamente esperado, se han utilizado soluciones de  $\text{FeCl}_3$  en agua de concentraciones 0.002, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 y 1 M. Además, se usaron soluciones salinas ( $\text{NaCl}$ ) también de varias conductividades y agua destilada. Las mismas se encuentran contenidas en envases de plástico de 6.0 cm de altura y 1.75 cm de radio. Cada recipiente contiene aproximadamente  $55 \text{ cm}^3$  de la muestra utilizada.

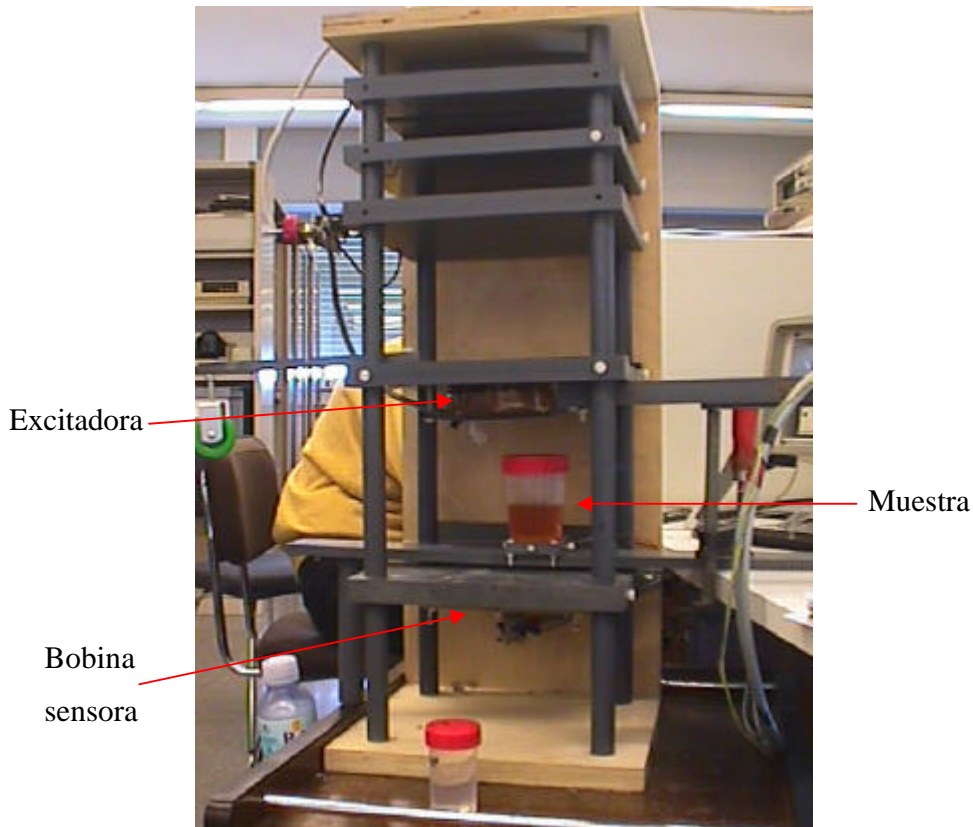


Figura 4.2. Vista de la estructura utilizada para la realización de las medidas.

Debido al aumento de la cantidad de material conductor disuelto en el solvente, se espera que se produzca un aumento de la conductividad eléctrica. Por otro parte, de acuerdo con el razonamiento teórico, para distintas concentraciones de hierro se espera un cambio del magnetismo de las muestras el cual está asociado con el número de dipolos por unidad de volumen.

La susceptibilidad magnética no fue medida por ningún otro método, sin embargo, se tiene que para materiales débilmente magnéticos,

$$C_m = \frac{\mu_0 N m^2}{3KT} \quad (4.4)$$

es decir, se espera que la susceptibilidad aumente con la concentración N (número de dipolos por unidad de volumen) de dipolos magnéticos m. En esta expresión K corresponde a la constante de Boltzman y T a la temperatura absoluta. Se espera que la respuesta de una muestra débilmente magnética siga un comportamiento de este tipo (lineal con N).

Para sustancias simples se tiene que la susceptibilidad magnética  $\chi_m$  es la del componente mismo, mientras que en el caso de mezclas, la misma es el resultado de la contribución ponderada de cada uno de los constituyentes. Es decir, la  $\chi_m$  resultante será

$$C_{total} = \sum_{i=1}^n C_i f_i \quad (4.5)$$

donde  $\chi_i$  es la susceptibilidad magnética de cada uno de los componentes y  $f_i$  la fracción en peso de cada uno.

El agua destilada presenta una conductividad tan baja que para los efectos de este método puede ser considerada nula. Desde el punto de vista magnético exhibe un comportamiento diamagnético con una  $\chi_m$  de  $-1 \times 10^{-5}$ . Por su parte el hierro es un elemento fuertemente magnético y su presencia en la solución en pequeñas cantidades le confiere a ésta un magnetismo que aumenta al crecer la concentración del metal desde el valor correspondiente al del agua en la dirección del paramagnetismo. Es decir, la  $\chi_m$  pasa de valores negativos (agua) hacia positivos (dependiendo de la concentración de hierro).

En este caso, partiendo de las condiciones proporcionadas por el agua ( $\sigma \approx 0$  y  $\chi_m < 0$ ) se espera que la evolución de las propiedades de la muestra, es decir, la conductividad y el



magnetismo vayan aumentando progresivamente con la concentración de hierro. La conductividad de cada muestra fue medida con un conductímetro GRISON® LP 32 (España), verificándose el aumento de esta variable.

### 4.2.3. Protocolo de medida.

Las muestras, constituidas por 55.0 cm<sup>3</sup> de solución contenidas en los envases plásticos ya descritos, se ubicaron en una pequeña plataforma de PVC de 6.0 x 5.0 cm<sup>2</sup>, apoyada sobre un riel también de PVC de 4.0 cm de ancho, 55.0 cm de largo y 1.0 cm de espesor. Se ha cuidado que todas estas partes cercanas a la estructura (sobre todo las móviles) sean de plástico o Nylon. La plataforma, impulsada por un motor controlado por el ordenador, se desplaza en un plano paralelo al del gradiómetro a lo largo de la línea que pasa sobre los centros de cada mitad, es decir, las regiones de máxima sensibilidad de dicho plano. Se programó de manera que el envase se detiene en el centro de cada mitad, a 6.0 cm por encima del PGRAD, para capturar allí las medidas. En cada una de estas posiciones se realizan 100 medidas de  $V_{\text{PGRAD}}$  ( $\Delta V$ ) y de  $V_{\text{REF}}$  ( $V_0$ ) en un segundo. Este viaje de ida y vuelta entre ambas mitades del PGRAD se repite 20 veces.

Con un sistema de demodulación coherente previamente desarrollado (Bocanegra y Riu 1995), se determina la magnitud de cada una de las señales y la fase entre ellas. Con esta información se obtienen las partes real e imaginaria de la SCR=  $\Delta V/V_0$ .

Para cada captura de obtiene como salida una matriz de datos de 20 columnas y 12 filas, cada una de las cuales presenta el siguiente contenido:

- 1) Parte real  $\text{Re}(\text{DSCR})$  (parte real diferencia de la SCR) de la resultante de restar dos medidas consecutivas y sin repetición, es decir: ( $1^{\text{era}} - 2^{\text{da}}$ ,  $3^{\text{era}} - 4^{\text{ta}}$ , etc.).
- 2) Desviación estándar de la parte real  $\text{Re}(\text{DSCR})$ .
- 3) Parte imaginaria  $\text{Im}(\text{DSCR})$  (parte imaginaria diferencia de la SCR) de la resultante de restar dos medidas consecutivas y sin repetición, es decir: ( $1^{\text{era}} - 2^{\text{da}}$ ,  $3^{\text{era}} - 4^{\text{ta}}$ , etc.).

- 4) Desviación estándar de la parte imaginaria  $\text{Im}(\text{DSCR})$ .
- 5) Desviación estándar de  $\Delta V$ , calculada a través de la ganancia, la densidad de ruido y la banda de frecuencia asociada con el tiempo de medida.
- 6) Valor medio de la  $V_{\text{REF}}$  en cada uno de los intervalos seleccionados, no afectada por la ganancia.
- 7) Frecuencia a la que se realiza cada captura.
- 8) Parte real  $\text{Re}(\text{DSCR})'$ , correspondiente a la resta de partes reales, comenzando por la segunda captura, es decir, 2<sup>da</sup> - 3<sup>era</sup>, 4<sup>ta</sup> - 5<sup>ta</sup>, etc.
- 9) Parte real de la SCR ( $\text{Re}(\text{SCR})$ ) en la primera mitad del PGRAD.
- 10) Parte imaginaria de la SCR ( $\text{Im}(\text{SCR})$ ) en la primera mitad del PGRAD.
- 11) Parte real de la SCR ( $\text{Re}(\text{SCR})$ ) en la segunda mitad del PGRAD.
- 12) Parte imaginaria de la SCR ( $\text{Im}(\text{SCR})$ ) en la segunda mitad del PGRAD.

De esta manera se tienen la  $\text{Re}(\text{SCR})$  e  $\text{Im}(\text{SCR})$  “crudas”, medidas en cada posición y el valor promedio de la tensión de referencia, así como algunas operaciones entre ellas.

Para automatizar las medidas, controlar el sistema y para el procesado de los datos se utilizaron programas desarrollados con un Software comercial (LabVIEW<sup>®</sup>, *National Instruments*).

### **4.3. Medidas in vitro: tejido hepático.**

Con el fin de evaluar la respuesta del sistema ante tejido biológico se utilizaron muestras de hígado para así intentar discriminar valores normales y patológicos de hierro en este tipo de tejido.

A continuación se describen los detalles relacionados con las medidas de este tejido, como son las características de las muestras, los protocolos utilizados y los procedimientos para la estimación de la sobrecarga de hierro.

#### **4.3.1. Características de la excitadora y del gradiómetro.**

En las medidas de muestra *in vitro* se utilizó el mismo sistema EXC-PGRAD ya descrito en las secciones anteriores para las muestras inorgánicas.

#### **4.3.2. Las muestras.**

Para las medidas *in vitro* se han utilizado muestras de hígado de cadáveres humanos provenientes de necropsias llevadas a cabo por el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Sant Pau, Barcelona, España. En todos los casos se obtuvo autorización escrita de los familiares para su obtención.

Las muestras de tejido hepático se encontraban en el interior de envases plásticos similares a los utilizados para las muestras de  $\text{FeCl}_3$ , soluciones salinas y agua. Los trozos de tejido eran tomados, intentando conseguir el mayor tamaño posible, solamente limitado por la capacidad de los envases utilizados. En este sentido se presentó cierta variabilidad ya que las muestras tenían entre 27 y 68 gramos.

Se medían todas las muestras que era posible obtener sin ninguna discriminación previa, mas allá de la autorización de los familiares. Por esta razón la causa de la muerte no resultó un factor limitante, con lo que se desconocía el estado y condiciones del tejido. En todos los casos, al igual que para las muestras de  $\text{FeCl}_3$ , los datos quedan resumidos en una matriz de las mismas características ya descritas.

#### **4.3.3. Protocolo de medida.**

Las muestras eran extraídas en las 12 horas posteriores a la muerte e introducidas en envases plásticos en el laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital Sant Pau, Barcelona, España. Inmediatamente eran enviadas al laboratorio de la UPC donde se

realizaría la medida, el cual se encuentra ubicado en la misma ciudad. Al momento de llegar, se registraba su masa y se procedía a medirla con el sistema de IM a la temperatura ambiente, en las 4 horas posteriores a su llegada.

En el mismo momento de la toma de cada muestra, tres pequeños trozos del mismo hígado, de unas pocas decenas de mg, eran extraídos y congelados, para ser posteriormente analizados por métodos bioquímicos [Barry y Sherlock 1971] para determinar así la concentración de hierro presente en el órgano. Por otro lado, se extraía un pequeño trozo para los estudios histológicos con los que se puede establecer el estado del tejido [Brissot y otros 1981], con el que se puede dar una estimación del hierro presente en la muestra. En esta última técnica la salida es un número entre 1-4, donde 1 significa un contenido pobre de hierro y 4 es intenso.

Las muestras se medían sin refrigeración previa (congelación). Sin embargo, con la muestra M24 se realizó una prueba adicional en este sentido. La misma consistió en congelarla y descongelarla 7 veces, midiéndola luego de cada descongelación, con el fin de detectar posibles variaciones de la respuesta debidas a este proceso.

Para determinar un posible mal funcionamiento del equipo, se realizan medidas con agua destilada y con soluciones de  $\text{FeCl}_3$  de 0.05 y 0.1 M, antes y después de la medida de cada una de las muestras. Estos “testigos” se colocaban en idénticos envases que la muestra.

#### **4.3.4. Calibración para el cálculo de la concentración de hierro.**

Como ya quedó establecido, la  $\text{Re(SCR)}$  depende de la concentración de material magnético. Una vez capturada la medida, es necesario intentar determinar a partir de ella la cantidad de hierro presente en la muestra. Como punto de partida es necesario establecer los valores de las variables disponibles de la literatura. La susceptibilidad magnética del

agua es  $-10 \times 10^{-6}$  [SI], donde el signo indica el carácter diamagnético de la sustancia. Para tejido hepático con una concentración normal de hierro, se encuentra reportada una susceptibilidad magnética de:  $-8,42 \times 10^{-6}$  [SI] (Bauman and Harris 1967).

La cantidad de hierro en el tejido hepático suele reportarse en micro-moles de hierro por gramo de hígado completo o en micro-gramos de hierro por gramo de hígado seco o deshidratado. De acuerdo con [Brittenham y otros 1982], el tejido hepático normal está constituido por un 70% de agua y el 30% de sólidos. Para casos con sobrecarga la misma publicación reporta variaciones que van desde el doble hasta 60 veces del valor normal. Además, según estos mismos autores, la susceptibilidad magnética de tejido hepático dañado (con diversas patologías) no se observa significativamente alterada. Por otro lado, señalan que la ferritina y la hemosiderina exhiben un comportamiento paramagnético.

Si el 70% del tejido hepático es agua, entonces un gramo de hígado seco proviene de una masa de tejido de 3,33 g (hígado completo). En este gramo de hígado seco, cuando la concentración de hierro está en el borde superior normal (30  $\mu\text{mol}$  de Fe/g hígado seco), la cantidad de hierro sería

$$\frac{30 \text{ mmol de Fe}}{1 \text{ g de hig. seco}} \times \frac{55,8 \text{ g}}{1 \text{ mol de Fe}} = 1,67 \text{ mg de Fe en } 3,33 \text{ g de hígado} \quad (4.6)$$

Esto corresponde a 502  $\mu\text{g}$  de Fe por gramo de hígado completo o en peso mojado. En la literatura, los valores comprendidos en un rango entre 50-500  $\mu\text{g}$  de Fe por gramo de hígado completo o en peso mojado, centrado en 250  $\mu\text{g}$  de Fe/g de hígado, se encuentran reportados como normales. En hígado seco el límite superior es 30  $\mu\text{g}$  de hierro.

Basado en estos valores se construye una opción de calibración considerándose un comportamiento lineal. El agua destilada, cuya susceptibilidad magnética es de  $-10 \times 10^{-6}$ , a la cual se le asigna una concentración cero, presenta una salida Re(SCR) de  $-1,33 \times 10^{-6}$ , medida con el equipo. Si se selecciona el valor de susceptibilidad de  $-8,42 \times 10^{-6}$  para el hígado normal, y supuesto un comportamiento lineal, se esperaría una Re(SCR) del orden

de  $-1,12 \times 10^{-6}$  para una muestra de este tipo y de iguales características. A este valor se le asocia la concentración de 0,250 mg de Fe por gramo de hígado completo. La relación entre Re(SCR) y concentración se considera lineal con punto de corte con el eje Re(SCR) en el valor correspondiente al agua destilada y pendiente  $m = 8,4 \times 10^{-4}$  g de hígado completo por gramo de Fe. Con esta calibración, se podría obtener la concentración de hierro a partir de la medida de la Re(SCR). Esto sería cierto para muestras equivalentes, es decir, de igual volumen o masa (la densidad del hígado es de  $1.05 \text{ g/cm}^3$ ). Sin embargo, este no es el caso y las muestras hepáticas presentan masas diferentes, por lo que se debe corregir la lectura debido a la diferencia de masa y hacerlas así compatibles.

#### 4.3.4.1. Método de corrección de la masa y la sensibilidad.

##### Corrección por masa.

Supóngase un volumen (o masa equivalente) de referencia  $V_{H_2O}$ . Para una muestra cualquiera, la Re(SCR) medida será proporcional a la susceptibilidad magnética resultante debido a los componentes de la muestra, multiplicadas por un factor de peso que depende del volumen relativo, esto multiplicado por un factor volumétrico–geométrico  $b_v$ . Es decir

$$\text{Re}(SCR) = b_v \left( \sum_i V_{i\text{rel}} c_i \right) \quad (4.7)$$

En el caso de la muestra de tejido biológico se puede asumir una composición múltiple. Para el hígado, como ya se sabe, el 70% está constituido por agua y el resto por sólidos. De estos últimos, un porcentaje pequeño es de hierro. En cada gramo de hígado normal completo puede haber entre 50 y 500  $\mu\text{g}$  de Fe. Así, el hierro corresponde al 0,05% del hígado completo o al 0,17% del total de sólidos (ambos valores en el límite máximo normal).

Así, suponiendo que del total de la muestra de hígado el hierro responde de una forma y el resto de otra (esto no necesariamente es cierto ya que los sólidos presentes pueden exhibir un comportamiento muy variado), la ecuación 4.7 se puede escribir como

$$\text{Re}(SCR) = b_v \{ (V_{Fe}/V_T) c_{Fe} + [(V_T - V_{Fe})/V_T] c_{resto} \} \quad (4.8)$$

En esta expresión la relación entre volúmenes representa la concentración relativa volumen–volumen de hierro  $C_{Fe}$ . Así

$$\text{Re}(SCR) = b_v [C_{Fe} c_{Fe} + (1 - C_{Fe}) c_{resto}] \quad (4.9)$$

o despejando

$$C_{Fe(vol/vol)} = \left( \frac{1}{b_v} \text{Re}(SCR) - c_{resto} \right) / (c_{Fe} - c_{resto}) \quad (4.10)$$

$$C_{Fe(vol/vol)} = \left[ \frac{1}{b_v (c_{Fe} - c_{resto})} \right] \text{Re}(SCR) - \frac{c_{resto}}{c_{Fe} - c_{resto}} \quad (4.11)$$

De la ecuación 4.9 y la figura 4.3 se tiene la pendiente y el punto de corte con el eje  $\text{Re}(SCR)$ . Este último está asociado al agua destilada, a la cual se le asigna la concentración cero. Así

$$b_v = \text{Re}(SCR)_{H_2O} / c_{resto} = \text{Re}(SCR)_{H_2O} / c_{H_2O} \quad (4.12)$$

Se ha supuesto que el resto o fondo del sistema posee las propiedades del agua, cosa que no es cierta del todo. Así se tendrá

$$C_{Fe(vol/vol)} = \left[ \frac{c_{H_2O}}{\text{Re}(SCR)_{H_2O} (c_{Fe} - c_{H_2O})} \right] \text{Re}(SCR)_{higado} - \frac{c_{H_2O}}{c_{Fe} - c_{H_2O}} \quad (4.13)$$

de donde

$$\text{Re}(SCR)_{\text{higado}} = \left[ \text{Re}(SCR)_{H_2O} (c_{Fe} - c_{H_2O}) / c_{H_2O} \right] \left[ c_{Fe} + c_{Fe} / (c_{Fe} - c_{H_2O}) \right] \quad (4.14)$$

De la expresión para  $\text{Re}(SCR)_{\text{higado}}$  correspondiente a 55.0 g de hígado y a una masa (o volumen)  $m_i$  diferente con igual concentración, se tiene que la  $\text{Re}(SCR)$  debe ser corregida como

$$\text{Re}(SCR)_{\text{higado}(55g)} = \left[ \text{Re}(SCR)_{H_2O(55g)} / \text{Re}(SCR)_{H_2O(mi)} \right] \text{Re}(SCR)_{\text{higado}(mi)} \quad (4.15)$$

De la figura 4.3 se pueden establecer las siguientes relaciones

$$\text{tg } \mathbf{a}_1 = \text{Re}(SCR)_{H_2O(Vref)} / C_o = \text{Re}(SCR)_{\text{higado normal}(Vref)} / (C_o - C_{\text{normal}}) \quad (4.16)$$

$$\text{tg } \mathbf{a}_2 = \text{Re}(SCR)_{H_2O(Vmi)} / C_o = \text{Re}(SCR)_{\text{higado normal}(Vmi)} / (C_o - C_{\text{normal}}) \quad (4.17)$$

Además, se puede asumir que la respuesta  $\text{Re}(SCR)$  es proporcional al volumen; así

$$\text{tg } \mathbf{a}_1 = V_1 K_1 / C_o ; \quad \text{tg } \mathbf{a}_2 = V_2 K_2 / C_o \quad (4.18)$$

Sí ocurre, como debería ser el caso, que  $K_1 = K_2 = K$ , entonces

$$\text{tg } \mathbf{a}_1 = V_1 K / C_o = \text{Re}(SCR)_{\text{higado normal}(Vref)} / (C_o - C_{\text{normal}}) \quad (4.19)$$

$$\text{tg } \mathbf{a}_2 = V_2 K / C_o = \text{Re}(SCR)_{\text{higado normal}(Vmi)} / (C_o - C_{\text{normal}}) \quad (4.20)$$

De ambas expresiones

$$V_1 / V_2 = \text{Re}(SCR)_{\text{higado normal}(Vref)} / \text{Re}(SCR)_{\text{higado normal}(Vmi)} \quad (4.21)$$



De esta expresión se observa que la parte real que se debe utilizar para la calibración, es la medida que corresponde a la masa  $m_i$  de la muestra, ajustada por un factor de volúmenes relativos (o de masas, lo que es equivalente). Esta es la corrección que se debe aplicar.

Un valor interesante de la gráfica está asociado con el punto de corte  $C_0$  con el eje de concentración. Desde una visión práctica se tiene que esta muestra correspondería a una susceptibilidad magnética nula, es decir, una carga de material paramagnético (hierro) suficiente como para anular la contribución diamagnética del fondo que lo contiene (agua destilada o material vivo).

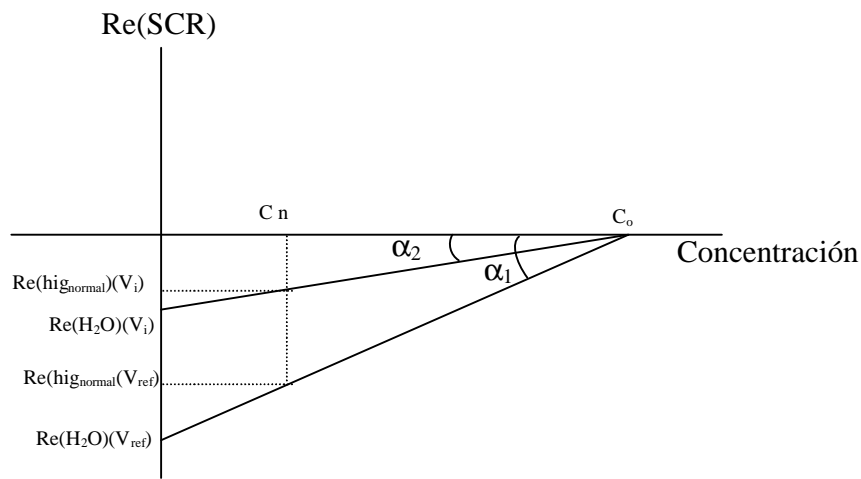


Figura 4.3. Relación de  $Re(SCR)$  a varias concentraciones.

#### Corrección por sensibilidad.

Otro factor de corrección de la medida realizada está asociado con las diferencias geométricas de las muestras y su ubicación en la zona de sensibilidad. No resulta igual 40 g de tejido ubicados en un cilindro de 3.95 cm de altura y 1.75 cm de radio (radio del envase utilizado) y otro, también de 40 g, pero de 5.0 cm de altura y radio 1.55 cm. Esta diferencia se asocia con la ubicación en la región de sensibilidad no homogénea (figura 4.4) y debe ser corregida. Con este objetivo en mente se puede diseñar un experimento con masa-volumen variable de manera controlada.

- Descripción del experimento.

En un envase similar al ya utilizado se introduce una muestra lo más grande posible, constituida por un trozo de vegetal (se ha utilizado plátano verde por su firmeza y facilidad para adaptar la forma). Progresivamente se disminuye el radio de la muestra conservando su altura, es decir, se van generando muestras con secciones transversales cada vez menores. Se realizan una serie completa de mediciones para cada tamaño. La muestra se ubica cuidadosamente de manera que siempre se encuentra centrada respecto a la zona de máxima sensibilidad del PGRAD. Luego, se vuelve a llenar el envase con un trozo lo más grande posible y se va reduciendo progresivamente la altura de la misma conservando el área de su sección transversal.

De la manera antes descrita se puede evaluar de qué manera los parámetros geométricos y de ubicación de la muestra afectan la respuesta del sistema.

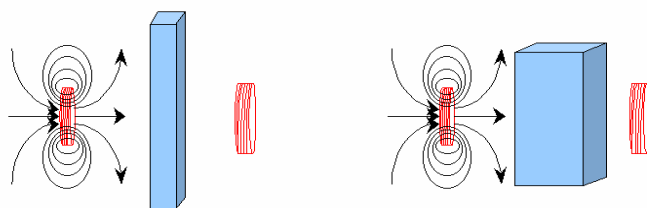


Figura 4.4. Efecto de la ubicación de la misma masa en puntos de distinta sensibilidad.

Con estos datos se evalúa la variación respecto a una muestra similar a la de referencia, es decir de 55.0 g. Los datos obtenidos se muestran en la tabla 4.1.

Con los valores de la tabla se calculan los coeficientes de una curva de ajuste de segundo grado obteniéndose los coeficientes dados en la expresión

$$f(mi) = 1.00 \times 10^{-3} mi - 1.08 \times 10^{-1} mi + 3.91 \quad (4.24)$$

Masa de la muestra	Re(SCR)	Factor( $Re_{mi}/Re_{55}$ )
10.0	0.32	3.13
16.0	0.46	2.17
26.0	0.58	1.72
34.5	0.68	1.46
49.0	0.98	1.02
55.0	1.00	1.00
62.4	1.06	0.94

Tabla No 4.1. Valores de Re(SCR) y factores de corrección para distintas muestras de plátano.

La parte real medida se modifica dividiendo entre el factor calculado para la masa específica de la muestra. El valor resultante de esta operación se utiliza para hacer la estimación.

#### 4.3.5. Estimación de la concentración de la muestra.

El cálculo de la concentración se realiza a través de la curva de calibración ya obtenida en la sección 4.3.4 y de la Re(SCR) resultante de la corrección descrita en la sección anterior, es decir,

$$Re(SCR)_{higado} = m C_{Fe} + Re(SCR)_{H_2O} \quad (4.25)$$

La concentración dada por la calibración expresada anteriormente vendrá dada en micro gramos de Fe por gramo de hígado completo (o mojado). Se puede dejar expresado en esta unidad o convertirla a micro moles por gramo de hígado seco. Para realizar la conversión tan solo se debe aplicar un factor asociado con la composición que en este caso será

$$\left[ \frac{\text{mmol de Fe}}{\text{g de hígado seco}} \right] = \left[ \frac{\text{g de Fe}}{\text{g de hígado completo}} \right] \left[ \frac{3.33 \text{ g hígado completo}}{\text{Peso atómico de Fe} \left( \frac{\text{g}}{\text{mol}} \right)} \right] \quad (4.26)$$

De nuevo se utiliza el hecho de que 1.00 g de hígado seco proviene de 3.33 g de hígado completo.

#### **4.4. Medidas en vivo**

Para las medidas en vivo se introdujeron cambios en el sistema para adaptarlo a un protocolo mas apropiado.

##### **4.4.1. Características de la excitadora y el gradiómetro**

Para esta aplicación se introdujo un cambio en la estructura del sensor. Con esta variación se intenta aprovechar las mayores dimensiones de un hígado completo, el cual presenta un volumen de unos 1500 cm<sup>3</sup>. Por otra parte, al aumentar el número de vueltas y el área de cada mitad del PGRAD, se aumenta la magnitud de la señal ΔV.

Se construyó un sistema EXC–PGRAD formado por una EXC de 10 vueltas, apantallada y de autoinducción de 11 μH. Como gradiómetro se utilizó inicialmente una combinación de dos bobinas de cables multifilar de 7 hilos de 0.20 mm de diámetro. Las mismas tenían 800 vueltas aproximadamente cada una. La pantalla se construyó con una

lámina de cobre por la región exterior de las bobinas (plano perpendicular al de la EXC) y dos pantallas de peine o rejilla por arriba y abajo (paralelas al plano de la EXC). Se evitó siempre cerrar los caminos a las corrientes de pérdida en las pantallas. La figura 4.5 muestra este elemento.

En un sistema como este resultó tremendamente difícil obtener una señal de una calidad suficiente. Fue imposible lograr la cancelación apropiada, que permitiera una respuesta distinguible para objetos poco conductores. Esto es una confirmación de lo que ya se sabía respecto a la tremenda importancia de la simetría entre ambas mitades del gradiómetro (el valor de sus parámetros) y de la calidad del diseño basado en el PGRAD. En una estructura como esta las diferencias se pagan muy caro.

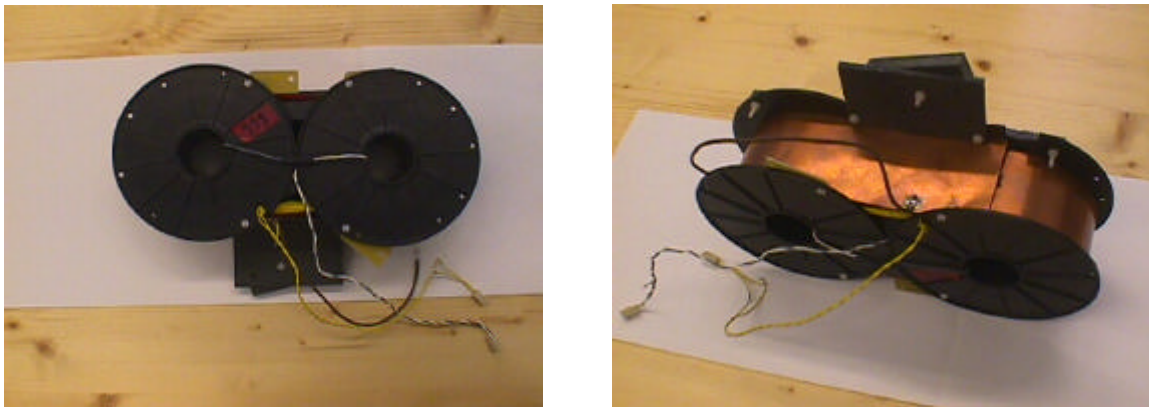


Figura 4.5. Gradiómetro construido con dos bobinas de cable arrollados sobre cilindros.

Debido a todas las dificultades encontradas, se regresó al gradiómetro planar sobre PBC, que si bien es cierto no permite lograr la cantidad de vueltas del soporte cilíndrico, si hace posible la gran simetría necesaria para este sistema y esta aplicación. Por esta razón, se utilizó el PGRAD que ya se describió en el capítulo 3 para medidas en vivo.

#### **4.4.2. Características de los sujetos**

Los sujetos utilizados se pueden dividir en dos grupos: A y B. El grupo A está formado por un contingente de 8 individuos, hombres y mujeres, pertenecientes al Departamento de Ingeniería Electrónica de la UPC y que son considerados normales (en principio). Estos sujetos serían utilizados como grupo de control.

Un segundo contingente, el grupo B, formado por pacientes voluntarios del servicio de Hematología del Hospital de la Santa Creu y Sant Pau de Barcelona, España, quienes son vistos en ese servicio por presentar sobrecarga de hierro hepático y que, por este motivo, serán sometidos a un tratamiento de reducción de este metal por extracción de sangre (aféresis o sangrías para la extracción de glóbulos rojos). Por esta razón se espera que todos los sujetos del grupo B presenten respuestas asociadas con algún grado de sobrecarga de hierro hepático.

#### **4.4.3. Protocolo de medidas en vivo**

Para la medida de los sujetos en vivo se modificó ligeramente la estructura para adecuarla a la medida en humano. Para comenzar se aumentó la distancia entre la EXC y la sensora, definiéndose tres posiciones: 0 (separación de 32.0 cm), +1 (separación de 34.5 cm) y +2 (separación de 37.0 cm). La selección de estas posiciones al momento de la medida tiene que ver con las dimensiones del tórax y del abdomen del sujeto a medir. En cada caso se seleccionó la más pequeña que aun permitía la entrada del sujeto en el espacio del objeto.

Para introducir al sujeto en la zona de medida se construyó una camilla con estructura de madera con ruedas de plástico rígido. Además, una guía a cada extremo restringe el movimiento de la camilla a una sola dirección y en ambos sentidos, de manera que permiten un *scan* del sujeto al hacer el recorrido. La misma se desplaza a una distancia de 4.0 cm del PGRAD. La figura 4.6 y 4.7 ilustran la situación descrita.



Figura 4.6. Disposición del sistema EXC-PGRAD y de la cama para colocación de la muestra (sujeto), para medidas en vivo.



Figura 4.7. Disposición del sistema EXC-PGRAD y de la cama con sujeto.

