



UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGÍA
ESCUELA DE BIOLOGÍA

Estudio del comportamiento térmico y electromagnético de *Plasmodium falciparum*

POR:
KURT DANIEL NGO EC-94-9944

Trabajo de graduación sometido a consideración por la Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales Exactas y Tecnología, como requisito parcial para optar por el título de Licenciado en Biología con orientación en Microbiología y Parasitología

PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ
2019

Dedicatoria

Esta tesis es dedicada para todas las personas que me han apoyado en este camino.

Agradecimientos

Primeramente, quiero agradecer a mis amigos y familiares por estar allí apoyándome en este largo camino.

Quiero agradecer a la Dra. Maytee Zambrano por ser tan dedicada y paciente conmigo, todo lo que me ha enseñado fue y será un gran aporte a mi vida tanto personal y profesional. Al Profesor Carlos Plazaola por explicarme todo sobre la parte térmica de mi tesis y como modificar el calorímetro.

A la Dra. Carmenza Spadafora, por darme la oportunidad de comenzar este camino en la ciencia y orientarme en el campo de la investigación.

Quiero agradecer al Dr. Carlos Donado y a Kevin Chaw por darme consejos en trabajar con ANSYS HFSS. A la Dra. Guadalupe González por explicarme términos eléctricos que no entendía. Al Dr. Miguel Vargas por permitirme usar el servidor para la simulación.

Agradezco muchísimo al Malaria Team de INDICASAT que han sido muy pacientes conmigo y han estado dispuesto en darme consejos en la elaboración de la tesis y de al trabajar con el cultivo de la malaria.

Agradezco a SENACYT Panamá por el financiamiento a través del proyecto 113-2015-4-FID14-174 con título "Análisis computacional de un sistema biológico para el diseño óptimo de experimentos *in vitro* e *in vivo*: caso de estudio, parásito de la malaria".

Quiero agradecer a mis asesores de la Universidad de Panamá por revisarme el anteproyecto y la tesis. A la Dra. Nidia Sandoval por introducirme a la parasitología,

por la profesora Nivia Ríos por abrirme las puertas de lo bello que es la microbiología y el profesor Fermin Mejía por sus consejos y enseñanzas. También quiero agradecer a todos los profesores que me han dado clase por su dedicación y esfuerzo a lo largo de mi tiempo como estudiante.

Finalmente quiero agradecer a la Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología de la Universidad de Panamá, por formarme académica y profesionalmente.

Índice General

Dedicatoria	ii
Agradecimientos.....	iii
Resumen	1
Abstract	3
Introducción.....	5
Capítulo I: Marco Teórico	9
1. Malaria.....	10
2. Electromagnetismo	14
3. Efectos electromagnéticos a <i>Plasmodium sp.</i>	20
4. Propiedades térmicas	21
5. Bioinformática	24
Capítulo II: Metodología	27
1. Preparación del cultivo de <i>P. falciparum</i> in vitro	28
2. Experimentación para caracterizar térmicamente las muestras	30
3. Modelado <i>in silico</i>	33
4. Irradiación mediante la cavidad resonante	36
Capítulo III: Resultados y Discusión	39
1. Experimentación para caracterizar térmicamente las muestras	40
2. Modelado <i>in silico</i>	49
3. Irradiación mediante la cavidad resonante	54
Capítulo IV: Conclusión	59
Conclusión	60
Capítulo V: Recomendaciones	62
Recomendaciones.....	63
Capítulo VI: Bibliografía.....	64
Capitulo VII: Anexos	73

Índice de Figuras

Figura 1. Diagrama del ciclo de vida de Plasmodium en humanos.	11
Figura 2. Representación de campos eléctricos (Purcell, 2011)	16
Figura 3. Esquema del sistema. V1 = voltímetro, A1 = amperímetro, PC = Fuente de poder, R1 resistor y calorímetro.....	30
Figura 4. Los equipos utilizados para medir el calor específico.....	31
Figura 5. Vista del interior del calorímetro.....	31
Figura 6. La cavidad real	34
Figura 7. Configuración para análisis del modelo computacional.....	35
Figura 8. Configuración del analizador de redes y la cavidad.	35
Figura 9. Esquema del experimento con la cavidad resonante.	36
Figura 10. Histograma del calor específico de las parasitemias medidas	41
Figura 11. Histograma de los valores de calor específico por rango de parasitemia	42
Figura 12. Regresión lineal de los valores de calor específico en diferentes rangos de parasitemia.....	43
Figura 13. Regresión lineal de los valores de calor específico de cada parasitemia normalizado con el valor de agua destilada experimental.....	44
Figura 14. Regresión lineal de los valores de calor específico de cada parasitemia normalizado con el valor de 0% de parasitemia.....	44
Figura 15. Histograma del calor específico de las parasitemias medidas, anillos	46
Figura 16. Regresión lineal del calor específico del estadio de anillos.....	47
Figura 17. Vista frontal del modelo de la cavidad.....	49
Figura 18. Campo eléctrico del sistema	50
Figura 19. Tasa de absorción específico de la muestra; izquierda solución salina, derecha hematocrito a 2%.....	50
Figura 20. Los S11 de varias distancias del afinador dentro de la cavidad.	51
Figura 21. S11 de hematocrito 2%.....	51
Figura 22. Valores de S11 de simulación vs experimental.	52
Figura 23. Tazas de inhibición a 2% de parasitemia.	55
Figura 24. Tazas de inhibición a 3% de parasitemia.	55
Figura 25. Tazas de inhibición a 4% de parasitemia.	56
Figura 26. Inhibición de crecimiento a 2% parasitemia a 6 Watts #1.	57
Figura 27. Inhibición de crecimiento a 2% parasitemia a 6 Watts #2.	57

Índice de Cuadros

Cuadro I. Taxonomía de <i>Plasmodium sp.</i>	10
Cuadro II. Ecuaciones de leyes de Maxwell (Griffiths, 2017)	15
Cuadro III. Dimensiones del resto de los materiales del modelado	34
Cuadro IV. Ciclos de trabajo para la irradiación de muestras.....	37
Cuadro V. Calor específico de agua destilada	40
Cuadro VI. Valores de calor específico de esquizontes a parasitemias medidas	41
Cuadro VII. Valores de calor específico de esquizontes a parasitemias promedio.....	42
Cuadro VIII. Valor promedio de calor específico obtenido a diferentes porcentajes de parasitemia.....	43
Cuadro IX. Datos de calor específico de anillos a parasitemias medidas.....	46
Cuadro X. Energía absorbida por ciclo por las muestras de diferentes parasitemias y a diferentes potencias.	54
Cuadro XI. Energía absorbida promedio por ciclo a 2% de parasitemia a 6 Watts.....	56

Resumen

La malaria es una enfermedad de gran importancia para la salud pública; causa cientos de miles de muertes al año y pérdida económica en billones de dólares. Es causada por el parásito *Plasmodium* con la especie de mayor agresividad siendo *Plasmodium falciparum*. Los tratamientos actuales son efectivos, pero con reportes de resistencia contra estos medicamentos, justifica la búsqueda de tratamientos alternos, siendo una de ellas campos electromagnéticos a radiofrecuencia. Debido a la falta de información de las propiedades térmicas de *P. falciparum*, es necesario estudiar las propiedades térmicas del parásito antes de proceder a estudiar sobre posibles aplicaciones biomédicas. Los experimentos fueron hechos con muestras infectadas con *P. falciparum*. El calor específico de las muestras fueron medidas a diferentes parasitemias. Un modelo computacional fue desarrollado de una cavidad resonante para encontrar la posición más adecuada para irradiar las muestras a 2.45 GHz. Las muestras fueron expuestas a campos electromagnético a radiofrecuencia dentro de una cavidad resonante y la energía absorbida fue calculada; el crecimiento del parásito fue observado después de un periodo de 24 horas de incubación. Los resultados muestran que, a mayor cantidad de parásitos en la muestra, mayor el calor específico. En el modelo computacional, la posición adecuada para irradiar las muestras a 2.45 GHz fue identificado. Usando el calor específico, es posible estimar la cantidad de energía absorbida por la muestra después de ser irradiado; se observó que el parásito fue afectado negativamente al ser expuesto a campos electromagnéticos en comparación con los controles. Estos resultados pueden ser aplicados a un tratamiento potencial electromagnético *in vivo* en contra de malaria.

Abstract

Malaria is a disease of extreme consequence to public health; this disease causes death to hundreds of thousands every year and economic losses numbering in the billions of dollars. It is caused by the parasite *Plasmodium* with the most aggressive specie being *Plasmodium falciparum*. Current treatment is effective but reports of resistance towards the current medications warrants the need to look for alternative treatments, one of them being radiofrequency electromagnetic fields. Due to the lack of information about the thermal properties of *P. falciparum*, thermal studies are required before further research can be undertaken regarding potential of the biomedical applications of radiofrequency fields. The experiments were carried out using– samples infected with *P. falciparum*. The specific heat of the samples at different parasitemia were measured. Using the program ANSYS HFSS, a computer model was made of an existing resonant cavity to find the most adequate position to irradiate the samples at 2.45 GHz. In the end the samples at varying parasitemia were exposed to radiofrequency electromagnetic fields inside the resonant cavity and their energy absorption was calculated using the specific heat previously obtained; parasite growth was also observed after a 24-hour incubation period. The results show that higher the parasite count in the sample, the higher the specific heat. Using the computer model, the suitable position to irradiate the sample at 2.45 GHz was identified. Using the specific heat, it was possible to estimate the amount of energy absorbed by the sample after irradiation and it was observed that the parasite was affected negatively when exposed to electromagnetic fields in comparison with the controls. These results can in the future be applied to a potential *in vivo* electromagnetic treatment towards malaria.

Introducción

Malaria es una enfermedad causada por el parásito del género *Plasmodium* y es transmitida por mosquitos hembra del género *Anopheles*. Se estima que el año 2017 hubo más de 219 millones de casos y 435 000 muertes, a nivel mundial, de los cuales el 99% de las muertes son causadas por *Plasmodium falciparum* (WHO, 2016, 2018). El tratamiento actual con mayor efectividad es el uso de la terapia combinada de artemisinina. Sin, embargo ya se ha encontrado resistencia en el sureste asiático, por parte del parásito a este medicamento (Ashley *et al.*, 2014; Das *et al.*, 2018; Imwong *et al.*, 2017; Sibley, 2015).

El desarrollo de mecanismos de resistencia a los nuevos medicamentos por el parásito *P. falciparum* conlleva la necesidad de buscar tratamientos alternos como el uso de ondas electromagnéticas a radiofrecuencias. Según la literatura se conoce que estas ondas tienen un efecto negativo en el parásito (Lai *et al.*, 2010; Thompson *et al.*, 2011). Unos de los métodos usados para irradiar ondas electromagnéticas son las cavidades resonantes, que son frecuentemente utilizados para fines diagnósticos y terapéuticos (Dobson *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2012). Al usar una cavidad resonante muchos estudios toman en cuenta el calor específico de las muestras para predecir el incremento de la temperatura y mantenerlas dentro de un rango aceptable durante la irradiación (Tange *et al.*, 2008b, 2008a; Watanabe *et al.*, 2013). Hay amplia información sobre el calor específico de los eritrocitos, pero actualmente no existe reportes sobre el comportamiento térmico de *P. falciparum*. Muchos estudios científicos reportan que *P. falciparum*, siendo un parásito intracelular, causa cambios biofísicos dentro del eritrocito, siendo ejemplos la elasticidad, y las propiedades electromagnéticas

de él, como la permitividad, conductividad y la susceptibilidad magnética (Hackett *et al.*, 2009; Hosseini *et al.*, 2012; Lonappan *et al.*, 2009).

Las propiedades térmicas varían entre diferentes materiales biológicos y se podría esperar que las propiedades térmicas de los eritrocitos infectados con *P. falciparum* sean diferentes al compararlos con las de eritrocitos sanos. Esto requiere que estudie a profundidad las propiedades térmicas del parásito para prevenir posibles daños a tejidos sanos en caso de una aplicación terapéutica usando campos electromagnéticos ya que podrían tener una tasa de calentamiento distinto.

En esta investigación se busca estudiar el comportamiento térmico referente a eritrocitos infectados con el parásito *P. falciparum* a parasitemias variadas y en diferentes estadios del parásito. Específicamente el calor específico que es una característica importante para entender cómo se calentará la muestra al irradiarla. Se irradia las muestras infectadas en una cavidad resonante a radiofrecuencia, usando los valores obtenidos del calorímetro para calcular la cantidad de energía absorbida por las muestras mediante los perfiles de temperatura obtenido y paralelamente se observó los efectos inhibitorios al crecimiento del parásito después de ser irradiados; este conocimiento es importante para futuras aplicaciones de campos electromagnéticos dirigida hacia *P. falciparum* y otras muestras biológicas. Asimismo, se desarrolló un modelo computacional de la cavidad resonante para visualizar los campos electromagnéticos y encontrar el punto óptimo de irradiación.

El objetivo principal del estudio es conocer las características térmicas del eritrocito infectado con *P. falciparum* y conocer el efecto inhibitorio al exponerlas a campos electromagnéticos a radiofrecuencia.

Dentro de los objetivos específicos buscamos determinar el calor específico de las muestras infectadas con *P. falciparum* en diferentes porcentajes de parasitemias en estadios de anillos y esquizontes; analizar la cantidad de energía absorbida por la muestra bajo condiciones electromagnéticas y observar los cambios de parasitemia al exponer las muestras infectadas a campos electromagnéticos a radiofrecuencia.

Cabe mencionar las delimitaciones del estudio en general Dentro de las características térmicas solo se estudió el calor específico ya que se quiere estudiar la cantidad de energía absorbida al ser irradiada dentro de una cavidad resonante. Para obtener mejor resultados y lograr establecer la caracterización térmica de la muestra; en este estudio se trabajó con el parásito *P. falciparum* bajo condiciones específicas tales como: cultivar en 2% de hematocrito en medio RPMI suplementado a 10% de suero humano *in vitro*, trabajar con parasitemias de 0% a 10%. Se utilizó una cavidad resonante siendo utilizado para irradiar muestras biológicas con fines terapéuticos, el equipo se encuentra en INDICASAT AIP y permite usar un volumen de 150µl de muestra. En el caso de la caracterización térmica se utilizó un calorímetro modificado para contener 25ml de muestra. El modelo computacional estudió el comportamiento electromagnético de la muestra dentro de la cavidad resonante en condiciones estática sin tomar en cuenta la dinámica de fluidos y modelos transitorios.

Capítulo I: Marco Teórico

1. Malaria

La malaria es una enfermedad causada por el parásito del género *Plasmodium* es transmitida por mosquitos hembra del género *Anopheles* (WHO, 2011). Esta enfermedad afecta a millones de personas y ciento de miles de defunciones anuales (WHO, 2016). Los tratamientos actuales son efectivos, pero en lugares del sureste asiático se ha encontrado casos de resistencia (Ashley *et al.*, 2014; Imwong *et al.*, 2017; Sibley, 2015); esto lleva a la necesidad de buscar tratamientos alternos para combatirlos, siendo uno de ellos los campos electromagnéticos.

El enfoque de este proyecto es en la especie *Plasmodium falciparum*, que causa la forma más agresiva de esta enfermedad. Por lo tanto, se explicará a profundidad el parásito y la enfermedad; enfocándose en su ciclo de vida, su efecto mundial, tratamientos y estudios usando campos electromagnéticos.

1.1 Taxonomía

La taxonomía general del parásito de la malaria se presenta en el Cuadro I

Cuadro I. Taxonomía de *Plasmodium sp.*

Reino	Protozoa
Filo	Apicomplexa
Clase	Aconoidasida
Orden	Haemosporida
Familia	Plasmodiidae
Género	<i>Plasmodium</i>

Actualmente, se conoce más de 250 especies de *Plasmodium* que parasitan mamíferos, aves y reptiles, incluyendo 30 que afectan primates como monos, gibones, gorilas (Ramasamy, 2014). Se conocen 4 especies de *Plasmodium* que afectan a humanos que son *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* y uno que se transmite de primates a humanos que es *Plasmodium knowlesi* (Calderaro *et al.*, 2013). La especie *Plasmodium falciparum* es reconocida como la más virulenta y se atribuye la mayoría de los casos fatales (WHO, 2016).

1.2 Ciclo de vida

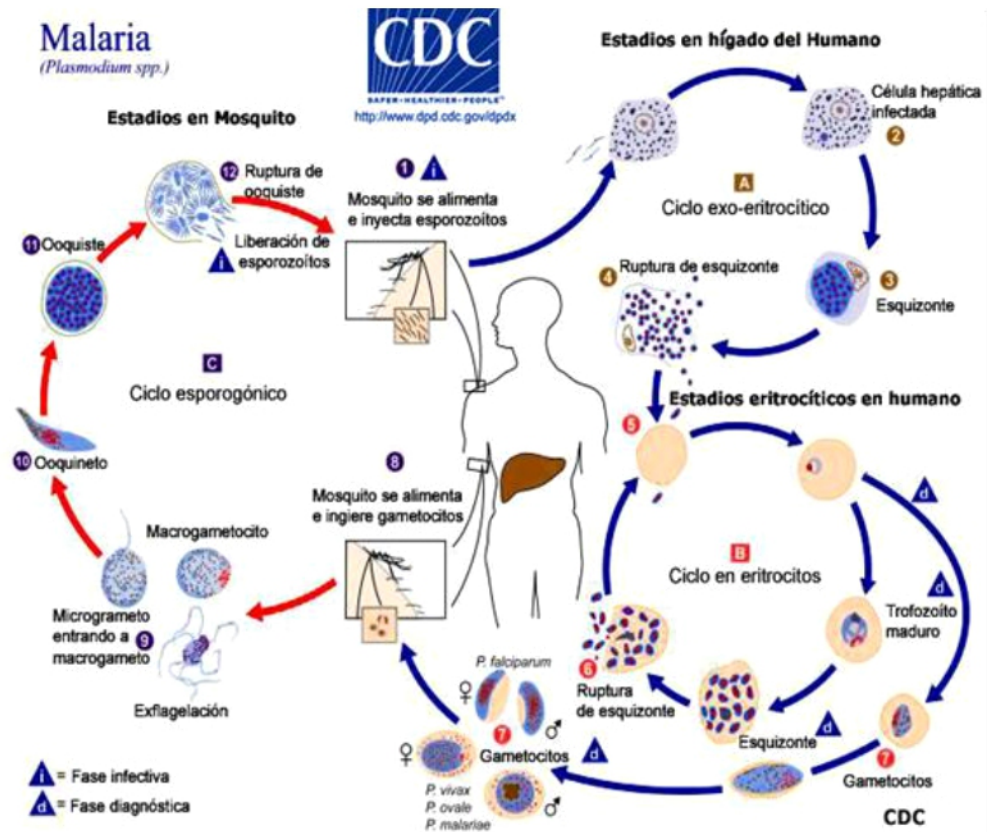


Figura 1. Diagrama del ciclo de vida de *Plasmodium* en humanos. Fuente: https://www.cdc.gov/malaria/images/graphs/life_cycle/Malaria_LifeCycle_1.gif.

El ciclo de vida de *Plasmodium* en humanos está dividido en dos fases: asexual y sexual como se muestra en la Figura 1.

- La fase asexual consiste en: El mosquito hembra del género *Anopheles* infectado con malaria, inocular al hospedero humano con esporozoítos del parásito. Los esporozoítos infectan y maduran en células del hígado, al llegar al estadio de esquizonte se revientan y liberan merozoítos donde invade eritrocitos. Dentro de los eritrocitos empiezan a madurar desde el estadio de anillo a esquizontes donde se revientan de nuevo para invadir más eritrocitos. Algunos parásitos pueden diferenciarse a gametocitos.
- Fase sexual: En esta fase los gametocitos son ingeridos por el mosquito cuando se alimenta del hospedero humano infectado. Dentro del estómago del mosquito el parásito produce cigotos y al madurar invaden la pared del intestino medio, donde se desarrollan como ooquistes. Estos ooquistes crecen y se revientan, liberando esporozoítos donde migran hacia los ductos salivares del mosquito para de nuevo invadir a otro hospedero humano.

1.3 Síntomas

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), los síntomas de malaria tempranas de la enfermedad son muy similares a una infección viral, está compuesto de dolor de cabeza, dolor muscular y coyunturas; luego fiebre, escalofríos, transpiración y vomito. Al empeorar puede llegar a ser una malaria severa que se manifiesta como coma, acidosis metabólica, anemia severa, hipoglicemia, edema pulmonar agudo o falla renal agudo (White, 2004).

1.4 Impacto mundial

Según el reporte mundial de la malaria de la OMS para el año 2017 se estimaron un aproximado de 212 millones de casos y 429,000 muertes mundialmente. Aproximadamente 99% de las muertes son causadas por la especie *P. falciparum* (WHO, 2018). Se puede decir que la malaria tiene un fuerte impacto en la salud pública al nivel mundial, pero también tiene un impacto negativo a la economía local e internacional.

Según algunos estimados malaria tiene una carga económica en países africanos de 12 billones de dólares anual, y reduce el crecimiento económico a 1.3% por persona (Gallup *et al.*, 2001). Esto se puede atribuir a días de trabajo perdido, ineficiencia y baja productividad por trabajadores enfermos por malaria (Nonvignon *et al.*, 2016). En un estudio de 2017 en Etiopia, se encontró que la carga económica para tratar malaria afectaba mayoritariamente a hogares pobres y de difícil acceso, por consecuencia era más difícil para estas personas salir adelante (Hailu *et al.*, 2017). Un estudio de 2013 estima que la eliminación o reducción de malaria habrá una ganancia neta de 208.6 billones de dólares en un plazo de 22 años (Purdy *et al.*, 2013).

1.5 Diagnóstico y tratamiento

Antes de la existencia de tratamientos sintéticos; se usaba la planta del género *Cinchona* para tratar exitosamente la malaria, ya que la corteza de la planta producía un alcaloide conocido como quinina, la corteza se mezclaba con alcohol para extraer la quinina y luego se ingería el licor. La primera droga sintética usada

para tratar la malaria fue en 1891 donde se usó azul de metileno, mediante esa base se logró desarrollar otros medicamentos como la plasmocina. En 1934 se descubrió el medicamento resocina pero no era muy usado ya que era considerado muy tóxico, pero durante la segunda guerra mundial se encontró que este medicamento era superior en comparación con los otros tratamientos y en 1946 fue renombrado como cloroquina, este era el medicamento más usado para tratar malaria hasta 1960 ya que *P. falciparum* desarrollo resistencia al mismo. En 1972 se desarrolló la artemisinina en China y ahora es ampliamente usado alrededor del mundo (Meshnick *et al.*, 2001)

En el presente, el principal tratamiento para esta enfermedad es el uso de terapia combinada de artemisinina, pero en países como India, Camboya y Tailandia se han encontrado resistencia en contra de este tratamiento (Ashley *et al.*, 2014; Imwong *et al.*, 2017; Sibley, 2015) y científicos ahora temen que la resistencia llegue al continente africano evocativo con el desarrollo de la resistencia de la cloroquina (Payne, 1987).

2. Electromagnetismo

El electromagnetismo es una interacción física que ocurre en partículas cargadas eléctricamente que produce campos electromagnéticos. Los campos electromagnéticos es una propiedad del espacio producido por una carga eléctrica móvil produciendo campos eléctricos y magnéticos. Al estudiar campos electromagnéticos, se tiene que tomar en cuenta la permeabilidad, permitividad y conductividad, cada una de estas propiedades influyen el comportamiento de un material al ser expuesto en estos campos. Hay que reconocer la utilidad de los

campos electromagnéticos y su aplicación a biología; como en estudios biofísicos, terapéuticos y diagnósticos. El método que se usó en este proyecto para exponer los parásitos en campos electromagnéticos se conoce como método de perturbación de cavidades.

En esta sección se explicarán los campos electromagnéticos y sus usos en biología, también sobre el método de perturbación de cavidades y su utilidad en diagnosticar y tratar enfermedades.

2.1 Campos electromagnético y sus propiedades

Hay que recordar que los campos electromagnéticos es una interacción entre campos eléctrico y magnéticos. La existencia de estos campos fue predicha por James Maxwell dando por existencia las leyes de Maxwell, que son basadas por las siguientes ecuaciones Cuadro II:

Cuadro II. Ecuaciones de leyes de Maxwell (Griffiths, 2017)

Ecuaciones Maxwell	Leyes
Ley de Gauss para campo eléctrico	$\nabla \cdot \mathbf{D} = \rho$
Ley de Gauss para campo magnético	$\nabla \cdot \mathbf{B} = 0$
Ley de Faraday para inducción	$\nabla \times \mathbf{E} = -\frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t}$
Ley de Ampere	$\nabla \times \mathbf{H} = \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial t} + \mathbf{J}$
Variables	
E: Intensidad del campo eléctrico H: Intensidad del campo magnético D: densidad de flujo eléctrico M: Densidad de corriente magnética ficticia.	B: densidad de flujo magnético ρ: densidad de volumen de carga J: densidad de corriente eléctrica

Al hablar de campos electromagnéticos, hay que definir que son los campos eléctricos y magnéticos.

- Campos eléctricos: es una región donde interactúa la fuerza eléctrica, describiendo la interacción entre cuerpos y sistemas con propiedades eléctricas (Griffiths *et al.*, 2005). Podemos ver como interactúan los campos en la Figura 2
- Campo magnético: La distribución una fuerza magnética en el espacio alrededor y su interacción con un material magnético (Britannica, 2014).

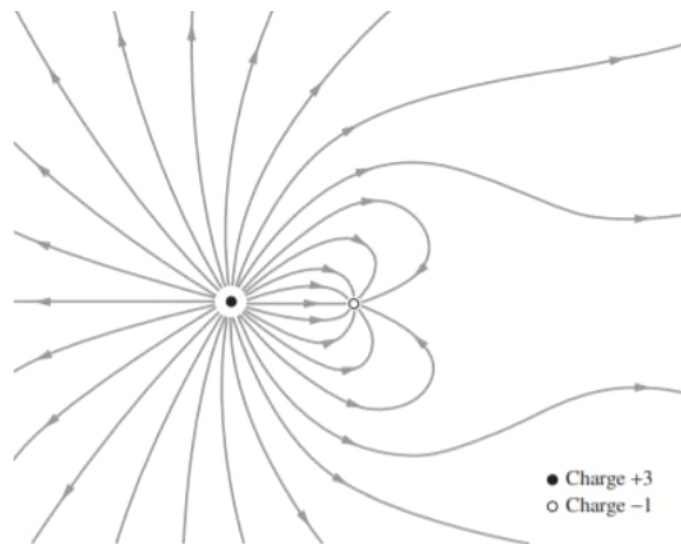


Figura 2. Representación de campos eléctricos (Purcell, 2011)

Al hablar de electromagnetismo, también hay que tomar en cuenta que los campos electromagnéticos reaccionan diferente dependiendo de la propiedad del material.

Las propiedades son:

- Permitividad eléctrica: Una propiedad macroscópica del material, donde se relaciona la habilidad de una sustancia de almacenar energía eléctrica en un campo eléctrico (Wang *et al.*, 2018).
- Conductividad: Es la tasa de flujo eléctrico que es permitido pasar, es una propiedad específica de cada material, (Wang *et al.*, 2018).
- Permeabilidad magnética: Propiedad de un material relacionando la habilidad de mantener la formación de un campo magnético dentro de ella (Wang *et al.*, 2018).

Estas tres propiedades determinan el comportamiento de las muestras al ser expuesto en un campo electromagnético.

2.2 Señales a Radiofrecuencias y ondas electromagnéticas

Las ondas electromagnéticas, son ondas propagadas al espacio por campos electromagnéticos llevando energía electromagnética; esto incluye ondas a radiofrecuencia, microondas, infrarrojo, luz visible, rayos X y rayos Gamma (Ehrlich *et al.*, 2013). En este estudio se enfoca en las ondas a radiofrecuencia.

Las señales a radiofrecuencia se refiere a un campo electromagnético que está en el rango de frecuencia entre 30Hz a 300GHz (Ellingson, 2018). Estas ondas son generadas por transmisores y recibidas por antenas limitado a una distancia de 64km. Dentro de las ondas a radiofrecuencia se encuentran las microondas que tienen un rango de frecuencia entre 300MHz a 300GHz (Sorrentino *et al.*, 2010).

2.3 Usos en la Biología

Se conoce que los campos a radiofrecuencia tienen un efecto en los organismos biológicos (Gherardini *et al.*, 2014; Miyakoshi, 2013; Ross *et al.*, 2015) y han sido usados para tratar e identificar enfermedades y también estudiar a profundidad las propiedades eléctricas y magnéticas en materiales biológicos. Se ha reportado en la literatura que ciertas frecuencias específicas son capaces de bloquear el crecimiento de tumores, tratar fracturas, artritis y cáncer (Zimmerman *et al.*, 2013). Se ha creado equipos para diagnosticar anomalías en la sangre como tifoidea y niveles de colesterol ya estos tienen propiedades dieléctricas diferentes en comparación con sangre sana (Lonappan *et al.*, 2007).

Según un estudio de 2005, se hizo una evaluación de la efectividad de campos electromagnéticos para tratar osteoartritis cervical. Los pacientes fueron tratados 30 minutos por sesión, dos veces al día por tres semanas. Hubo un decrecimiento significativo de dolor por los pacientes tratados con campos electromagnéticos. Se concluyó que este tratamiento es potencialmente beneficioso para tratar osteoartritis cervical (Sutbeyaz *et al.*, 2006).

2.4 Cavidad resonante

Una cavidad resonante es un tipo de resonador que consiste en una estructura metálica que almacena energía eléctrica y magnética, y la potencia es disipada en las paredes o en un material dieléctrico dentro de la cavidad (Pozar, 2012). La cavidad resonante permite irradiar una muestra y caracterizar las propiedades

eléctricas y magnéticas de un material biológico mediante el método de perturbación de cavidades.

2.4.1 Parámetros de dispersión

El parámetro de dispersión también conocido como parámetro S, describe el comportamiento de las señales eléctricas dentro de un sistema; se puede explicar la relación entre la entrada y la salida de energía de un puerto a otro. Muchas de las propiedades eléctricas pueden ser expresadas por estos parámetros, como ganancia, pérdida de retorno y coeficiente de reflexión (Gonzalez, 1996; Pozar, 2012). En este trabajo se enfocará en el S_{11} ya que la cavidad utilizada tiene el mismo puerto para la entrada y salida de energía.

En el caso de S_{11} se puede tomar como coeficiente de reflexión. Si el valor de S_{11} es 0 dB esto significa que toda la energía regresa al puerto, mientras que el valor de S_{11} sea menor de 0 dB significa que la muestra recibe más energía al ser irradiada (Choma *et al.*, 2007).

2.4.2 Usos de cavidades resonantes en biología

Las cavidades resonantes han sido usadas ampliamente en el campo de la biología. Por ejemplo se han observado las diferencias de las propiedades dieléctricas en sangre infectados con malaria y muestras de sangres sanas (Lonappan *et al.*, 2009). También se han visto cambios de propiedades dieléctricas en sangre con diferentes niveles de glucosa (Dobson *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2014, 2012).

Los usos terapéuticos de cavidades resonantes son aplicados generalmente a cáncer. Usando una cavidad resonante para calentar tumores es bastante común y varios estudios han encontrado efectividad de calentar tumores profundos usando modelos humanos (Hirashima *et al.*, 2008; Iseki *et al.*, 2011; Kanai *et al.*, 1996; Tange *et al.*, 2008a, 2008b). En los estudios terapéuticos muchos estudios toman en cuenta el calentamiento de los tejidos o de la muestra.

2.5 Tasa de absorción específica (SAR)

La tasa de absorción específica es la tasa en la cual energía es absorbida por un cuerpo biológico al ser expuesto a ondas de radiofrecuencia (Jin, 1998). Esta característica es útil para cuantificar la cantidad de energía electromagnética absorbida por la muestra biológica y encontrar un límite adecuado de exposición para prevenir posible daños imprevistos a tejidos y células (Oh *et al.*, 2014). El SAR es ampliamente usado para estudios de posibles daños por uso de celular (Ahmed *et al.*, 2013; Rani *et al.*, 2018), aplicaciones de radiofrecuencia para medicina como ablación, tratamientos hipertérmicos y exposición a campos electromagnéticos (Liu *et al.*, 2006; McIntosh *et al.*, 2003; Panagopoulos *et al.*, 2013; Zimmerman *et al.*, 2013).

3. Efectos electromagnéticos a *Plasmodium sp.*

Actualmente los campos electromagnéticos se han usado para tratamientos y fines de diagnósticos de la malaria.

Un estudio de 2008, se usó una cavidad resonante para diagnosticar malaria, el estudio se basaba en que los eritrocitos sanos y eritrocitos infectados con malaria

tenían constantes dieléctricas diferentes y que era posible detectarlo en una cavidad y usarlo para fines de diagnóstico. Según el estudio, la constante dieléctrica de eritrocitos infectados con malaria era mayor que los eritrocitos sanos; por ende es posible usar un cavidad resonante para diagnosticar malaria (Lonappan *et al.*, 2009).

De acuerdo con un estudio preliminar del 2010; usando campos alternos de 5Hz para irradiar al parásito, se logró bajar la cantidad de parásitos en la muestra. El autor propone que al irradiar el parásito se evita que el mismo polimerice el hierro libre, el cual es toxico para parásito. Otro mecanismo propuesto es que los campos magnéticos pueden causar un cambio físico en la posición de la hemozoina causando daños mecánicos al parásito (Lai *et al.*, 2010).

En Case Western Reserve University hicieron un estudio, usando tres solenoides con campos magnéticos distintos para irradiar muestras de parásitos, el estudio se encontró una inhibición significativa del crecimiento del parásito de -13% a -84% en comparación con la del control que creció un 60%, proponiendo que los campos magnéticos podían inhibir el crecimiento del parásito de la malaria (Thompson *et al.*, 2011).

4. Propiedades térmicas

Se conoce que las muestras se calientan al ser expuesto en una cavidad resonante y es necesario conocer el comportamiento térmico de la muestra en aplicaciones biológicas y médicas para no causar daño a tejidos o células sanas

y para mejorar experimentos y protocolos. Existen 3 formas de calentar o de transferir calor en un material:

- Conducción: Es la transferencia de calor por contacto directo entre dos materiales a través de un medio sólido o líquido (Smith *et al.*, 2005)
- Convección: Es la transferencia de calor por movimiento de fluido (líquido o gas) (Bergman *et al.*, 2011)
- Radiación: Es calentamiento causado radiación electromagnética; es resultado de movimiento aleatorio de moléculas dentro del material (Geankoplis, 2003)

La tasa de calentamiento de un material es independiente de la transferencia de calor ya que cada material se comporta diferente. Esta característica es el calor específico que es suficiente para el objetivo del estudio ya que permite la cantidad energía para provocar un incremento en la temperatura de la muestra.

El calor específico es unas de las propiedades térmicas importantes siendo ella una propiedad térmica intensiva, característica de cada material y se puede medir mediante el uso de un calorímetro; hasta ahora no hay reportes sobre el comportamiento térmico de *P. falciparum*.

4.1 Calor específico

El calor específico, es la cantidad de energía necesaria para elevar la temperatura a 1 grado Celsius por cada gramo de una sustancia o material (Resnick *et al.*, 2002). La ecuación básica para calcular calor específico la podemos ver representado en la ecuación 1; la C representa el calor específico en J/gC, Q es

cantidad de energía en Joules, m es masa en gramos y ΔT significa cambio de temperatura en Celsius.

$$c = \frac{Q}{m(\Delta T)} \quad (1)$$

Para tratamientos que involucran cambios de temperaturas, es muy importante conocer el calor específico de los tejidos involucrados ya que cada uno puede calentarse a tasas diferentes (Haemmerich *et al.*, 2005). Muchos de estos estudios usan el calor específico para predecir cambios de temperatura en tejidos al irradiarlos y conocer la cantidad de energía máxima que se puede irradiar, por ejemplo, un tejido cancerígeno sin afectar los tejidos sanos (Ciesielski *et al.*, 2011; Marqa *et al.*, 2011; McIntosh *et al.*, 2003; Prakash *et al.*, 2006). Se tiene que reconocer que no hay estudios hechos que describen el calor específico de sangre infectado con *P. falciparum*.

4.2 Calorímetro

Un calorímetro es un instrumento que se usa para medir el calor específico de un material o medir la cantidad de energía producida o absorbida por una reacción química (Zielenkiewicz *et al.*, 2006). El calorímetro más común consiste en un envase térmicamente aislado con un termómetro y la muestra líquida, se coloca una fuente para calentar la muestra. Mediante el cambio de temperatura se puede calcular el calor específico (Zielenkiewicz *et al.*, 2006). También existe el calorímetro de barrido diferencial (que es más preciso) y se ha usado para medir calor específico de tejidos y materiales biológicos (Haemmerich *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2002).

5. Bioinformática

Al aplicar ciencias computacionales a biología, hay una rama de investigación conocida como biología computacional. Esta rama se puede dividir en 2: minería de datos y análisis de simulación.

En la minería de datos se extrae información y patrones de grandes cantidades de datos experimentales para formular una hipótesis, en cambio en el análisis de simulación se basa en simulaciones para probar la hipótesis con experimentos *in silico* (en computadora) para luego comprobarlos con resultados *in vitro* e *in vivo* (Kitano, 2002). En el caso de este estudio la aplicación del modelado es por análisis de simulación usando la técnica de elementos finitos.

5.1 Modelo computacional

Modelos computacionales es el uso de computadoras para simular y estudiar el comportamiento de sistemas complejos usando matemáticas, física y ciencias computacionales. El modelo puede tener numerosas variables que caracterizan el sistema estudiado. Al cambiar algunas variables como el tamaño o cantidad de energía se puede observar los cambios que presentan en el modelo siendo posible predecir los resultados de un modelo experimental (National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering, 2013). Estos modelos pueden cumplir varias funciones como probar una hipótesis, sugerir y refinar experimentos, interpretar experimentos, integrar conocimientos de diferentes estudios (Brodland, 2015). Aunque los modelos pueden ser una herramienta importante, tiene también limitaciones como la necesidad de grandes recursos computacionales, no poder

comprobar mecanismos, no poder reemplazar experimentos (Brodland, 2015; Ghosh *et al.*, 2011)

Simulaciones biológicas se han aplicado a casi todos los campos de la biología como la zoología, biología celular, biofísica, hematología, etc (Haemmerich *et al.*, 2005; Marqa *et al.*, 2011; Or-Tzadikario *et al.*, 2011; Peng *et al.*, 2011; Wong *et al.*, 2016). Algunos estudios como ejemplo: usando dinámica de flujo modelar la forma de natación de tortugas neonatos y juveniles de *Dermochelys coriácea* y medir el rango de transferencia de potencia y calor dentro del cuerpo (Dudley *et al.*, 2014). Un estudio de 2004 se modelo de un estómago 2D para medir el rol de flujo de contracción antral en relación con el movimiento, presión y mezcla del fluido intragástrico (Pal *et al.*, 2004). Usando el modelo de elemento finito se hizo una cavidad resonante para analizar la transferencia de calor y energía electromagnética en un modelo humano con varios órganos y tejidos con un tumor dentro del hígado con el propósito de verificar el calentamiento del tumor (Tange *et al.*, 2008a).

5.3 El método de elemento finito (FEM)

El método de elemento finito es un análisis numérico basado en ecuaciones diferenciales, el método consiste en analizar un problema dividiéndolo en varias partes más sencillas llamada elementos finitos, estos elementos son conectados en puntos que se llaman nodos; cada uno de estos elementos representan un volumen en el sistema y que geométricamente no se superpone pero conjuntamente llenan el volumen del sólido o fluido, esto lo denominamos mallado (Wah, 2008). Estos mallados pueden ser en formas rectangular y triangular para

2D; tetraédrica y hexaédrica en 3D. Para este estudio se usó un programa conocido como HFSS.

HFSS en sus siglas de inglés High Frequency Structural Simulator, que significa simulador estructural de alta frecuencias. Se usa para diseñar dispositivos electrónicos de altas velocidades y altas frecuencias encontrados en sistemas de comunicación como radio, radares y teléfonos móviles (Standard *et al.*, 2017). Este programa usa el mallado tetraédrico y es ideal para simular campos electromagnéticos de altas frecuencias (Alsuheim, 2014). Este programa en biología se ha usado para crear un biosensor para monitorear glicemia en sangre de cabras también modelar una cavidad que expusiera microondas de baja potencia a células y moléculas biológicas para conocer el efecto biológico de estas microondas (Alsuheim, 2014; Kim *et al.*, 2014).

Capítulo II: Metodología

En la parte experimental se utilizó calorímetro para obtener el calor específico de muestras de hematocrito infectado con *P. falciparum*. También se realizó un modelo computacional el cual permitió encontrar la distancia óptima para irradiar la muestra infectada a 2.45 GHz. Al final se usó la cavidad resonante para exponer la muestra a campos electromagnéticos para observar la inhibición y calcular la energía absorbida por el parásito. En esta sección se detalla las metodologías usadas en esta investigación.

1. Preparación del cultivo de *P. falciparum* in vitro

1.1 Preparación de medio y eritrocitos

La preparación del medio consiste en disolver medio RPMI 1640, 25 mM HEPES, 15 uM hipoxantina, 50 mg/ml gentamicina, rojo fenol y 200mM L-glutamina en 1 litro de agua inyectable; luego se ajusta el pH a 7.18 utilizando NaOH o HCl 1N. Al terminar se filtra dentro de la cámara de flujo laminar a envases estériles. Se suplementa el RPMI con 10% de suero humano y 2% de bicarbonato de sodio para obtener RPS que es el medio usado para cultivar *P. falciparum*.

Para preparar los eritrocitos, se empieza agregando 1 ml de anticoagulante CPDA (Citrato Fosfato Dextrosa Adenina) a cada 9ml de sangre recolectada por donantes. Se centrifuga a 2,500 rpm por 8 minutos y se remueve el sobrenadante con la capa intermedia que contiene células blancas; se resuspende en medio RPMI y se repite el procedimiento de centrifugación hasta remover la capa de células blancas por completo. Al terminar el último paso, se estima el volumen del pellet, se resuspende en igual volumen de RPMI y luego se almacena a 4°C.

Para preparar el suero, usamos sangre del donante y se pone a reposar por un mínimo de 3 horas y se centrifuga a 4000 rpm por 15 minutos. Sacamos el sobrenadante que es el suero humano, éste se introducirá en un baño maría para inactivar por 40 minutos. El suero es utilizado para suplementar el RPMI para tener el medio de cultivo (RPS) de *P. falciparum*.

1.2 Preparación de cultivo de *P. falciparum*

Para cultivar *in vitro* *P. falciparum*, utilizamos sangre O+ siendo 2% del volumen total con un medio suplementado en una botella T75 o T25 y se gasea con una mezcla de gases consistiendo en 90% de nitrógeno, 5% de oxígeno y 5% de dióxido de carbono (Schuster, 2002; Winslow *et al.*, 1967). El cultivo se mantiene en una incubadora en 37°C y se revisará cada día para mantener el porcentaje de parasitemia entre 1% a 10%. Para cambiar de medio, se centrifuga el cultivo a 2500 R.P.M., se remueve el sobrenadante y se resuspende con medio RPS. De ser necesario se sincroniza los parásitos utilizando el protocolo de sorbitol (Lambros *et al.*, 1979), esto permite que el cultivo este en un solo estadio.

1.3 Protocolo de sorbitol

Para sincronizar (Lambros *et al.*, 1979), primero se centrifuga el cultivo a 2500 RPM y se remueve el sobrenadante, luego se agrega sorbitol a 5% a 2.5 veces del volumen del pellet. Se incuba por 15 minutos a 37°C, se centrifuga a 2500 RPM, se quita el sobrenadante y se resuspende con medio RPS.

2. Experimentación para caracterizar térmicamente las muestras

El propósito de este experimento es conocer si hay una diferencia del calor específico de muestras sanas y muestras infectados con *P. falciparum* y a su vez conocer si hay una correlación entre calor específico con el porcentaje de parasitemia. Con dicho valor se calculó la energía absorbida por una muestra al ser irradiado por campos a radiofrecuencia. Para realizar lo mencionado anteriormente se utilizó la metodología basada en un estudio (Blake *et al.*, 2000).

2.1 El calorímetro

Se utilizó un calorímetro de cobre el cual se modificó para tener una capacidad volumétrica de 25 ml, el calorímetro es aislado térmicamente usando poliestireno extruido. El calorímetro posee dos soportes eléctricos con una resistencia de 2.3 ohm, recubierta para prevenir electrolisis en el sistema conectado a una fuente de potencia que alimenta 6 voltios al sistema. Se monitoreó el voltaje, la corriente y la temperatura por 5 minutos, registrando los valores de voltaje, amperaje y temperatura cada minuto. Podemos ver en la figura 4 un esquema del sistema.

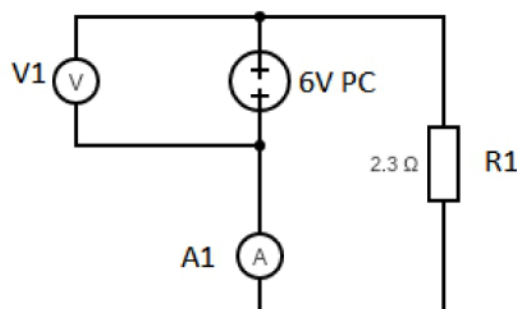


Figura 3. Esquema del sistema. V1 = voltímetro, A1 = amperímetro, PC = Fuente de poder, R1 resistor y calorímetro.



Figura 4. Los equipos utilizados para medir el calor específico.

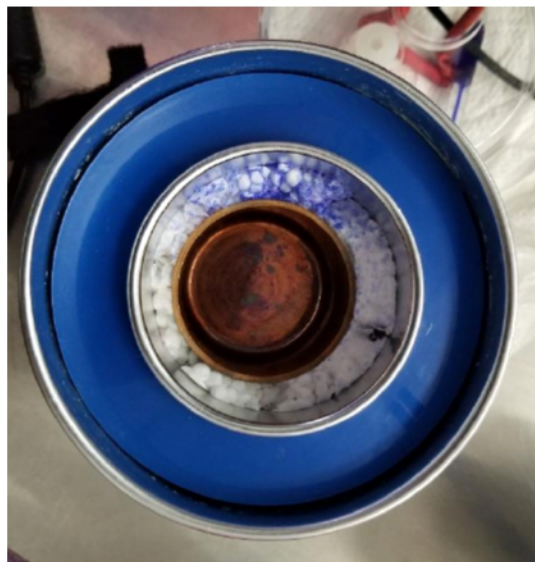


Figura 5. Vista del interior del calorímetro, note la modificación usando una capa de poliestireno extruido para disminuir el volumen necesario de medición.

Primero se caracterizó el calorímetro con 25ml de agua destilada para obtener la constante de calorímetro, esto permite saber la energía que absorbe el calorímetro en el sistema y descartarlo. Se midió 25 ml de agua destilada y hematocrito a 2% y usando la fórmula del calor específico para obtener el calor específico y compararlo con el valor de la literatura. Trabajando después con muestras

infectadas con parasitemias de 0-10% en estadios de esquizonte y anillo. La ecuación del calor específico es la siguiente:

$$c = \frac{Q}{m(\Delta T)} \quad (1)$$

En donde c = calor específico en J/g°C, Q = energía en Joules, m = masa en gramos y ΔT = diferencia de temperatura en °C.

Los valores obtenidos fueron sometidos estadística de columna y un análisis unidireccional de ANOVA no paramétrica para observar si las diferencias entre los resultados obtenidos son significativas. Los valores promedios fueron sometidos a una prueba de regresión lineal y correlación de Pearson para ver observar la correlación, el valor p y r^2 .

Los valores de calor específico obtenidos de las muestras parasitadas fueron utilizados para calcular la cantidad de energía absorbida por la muestra en la cavidad resonante.

3. Modelado *in silico*

Se elaboró un modelo computacional de la cavidad resonante de INDICASAT AIP usando el programa de HFSS de ANSYS Electromagnetic Desktop. Primero se hizo el modelado para buscar el S_{11} y luego compararlo con la cavidad real mediante un analizador de redes para encontrar la distancia más adecuada de irradiación y también la validación del modelo computacional. El modelado requiere una gran cantidad de recursos computacionales por ende se usó el servidor localizado en el Centro de Investigación, Desarrollo e Innovación en Tecnologías de la Información y las Comunicaciones (CIDITIC) ubicado en la Universidad Tecnológica de Panamá.

3.1 Modelo de la cavidad

El modelo fue diseñado para asemejarse lo más posible a la cavidad resonante que es utilizada en INDICASAT AIP. La dimensión de la cavidad es de 6.97 x 3.4 x 1.7 pulgadas con pared de cobre y lleno de aire; en la pared derecha esta la ubicación del afinador que es de aluminio, que está compuesto de un cilindro pequeño con un radio de 0.558 cm y largo de 4.2 cm, y un cilindro grande con un radio de 1.9 cm y largo de 3.3cm ; el cable coaxial está basado en el modelo SS402 compuesto de 4 cilindros con radio de 1.79 mm, 1.625 mm, 1.485 mm, 0.47 mm representando dos escudos de cobre cubierto de plata, el dieléctrico compuesto de teflón y el conductor interno compuesto de cobre y cubierto de plata respectivamente. El cable coaxial está ubicado en el exterior de la cavidad, solo el conductor interno penetra dentro de la cavidad en una distancia de 0.7287cm. Las dimensiones del resto de los materiales están el Cuadro III.



Figura 6. La cavidad real

Cuadro III. Dimensiones del resto de los materiales del modelado

Objeto	Descripción	Material	Dimensiones
Tubo de ensayo	Tubo de plástico con capacidad de 15ml	Poliestireno	16x100 mm
Tubo de PCR	Tubo de PCR para un volumen máximo de 200ul	Polipropileno	0.58 cm x0.71in
Arandela	Soporte en forma de anillo para el tubo de PCR	Teflón	1.25x0.2 cm
Poliestireno extruido	Soporte para arandela y tubo de PCR	Poliestireno extruido	1.25x0.9 cm
Solución salina	Solución cloruro de sodio al 0.9%	Solución salina 0.9%	150 ul
Muestra	Eritrocitos sanos o infectados a 2% hematocrito en medio suplementado por RPS al 10%		150 ul

Se hizo un análisis modal, y se analizó a la frecuencia de 2.45 GHz a 10 pasos, se puede ver la configuración en figura 14, también se hizo un barrido de frecuencias para buscar el S_{11} . Luego se configuro un análisis paramétrico para analizar el modelo con el afinador a diferentes distancias dentro de la cavidad para encontrar la distancia optima de irradiar la muestra a 2.45GHz.

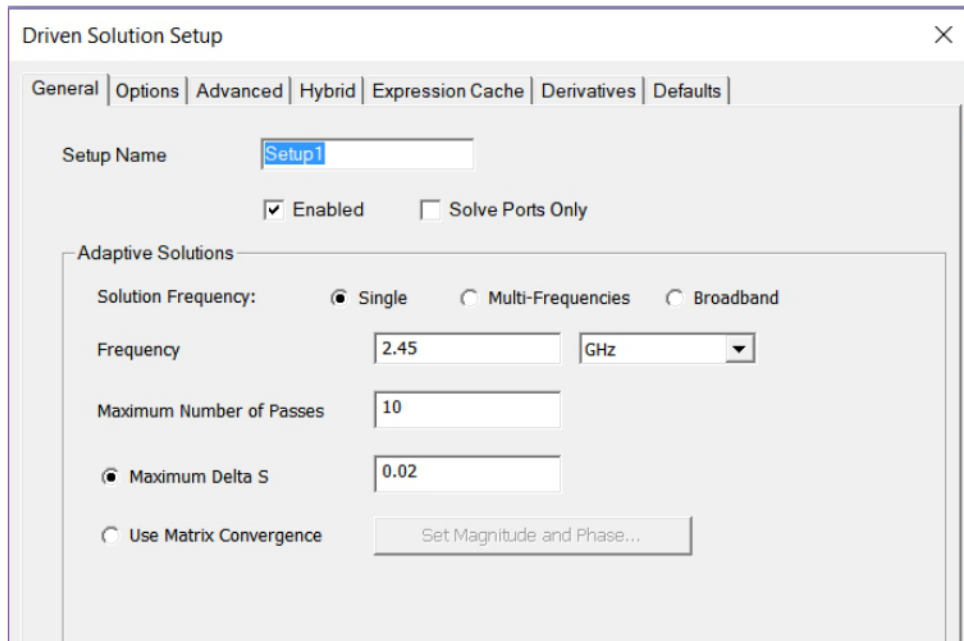


Figura 7. Configuración para análisis del modelo computacional.

Al finalizar el análisis se revisó las gráficas de S_{11} para ver la distancia óptima para irradiación.

Usando el S_{11} se encontró el punto más adecuado para irradiar la muestra a 2.45GHz para después validarlo con la cavidad real usando un analizador de redes como es representado en figura 7.

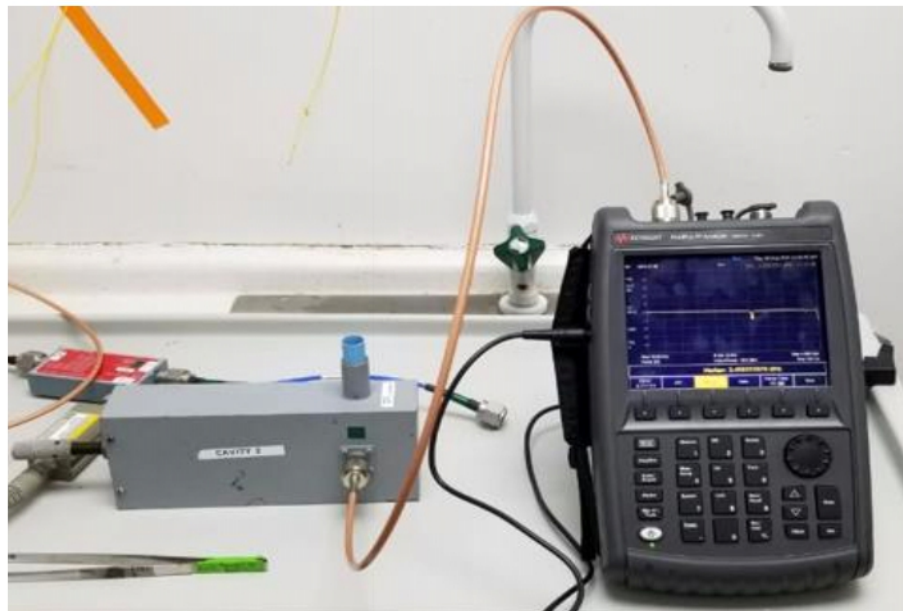


Figura 8. Configuración del analizador de redes y la cavidad.

4. Irradiación mediante la cavidad resonante

Esta parte del estudio consiste en usar la cavidad resonante encontrada en INDICASAT AIP y calcular la cantidad de energía absorbida por la muestra mediante el calor específico. Irradiando a diferentes potencias y ciclos para mantener la temperatura y la energía la misma con el propósito de ver si hay un efecto de la energía absorbida con la inhibición del parásito. Primero se mide la energía absorbida mediante los perfiles de temperatura obtenidos al irradiar la muestra y después observar la inhibición de las muestras de parásitos. En la figura 8 se puede ver un esquema de la configuración de la cavidad en el experimento.

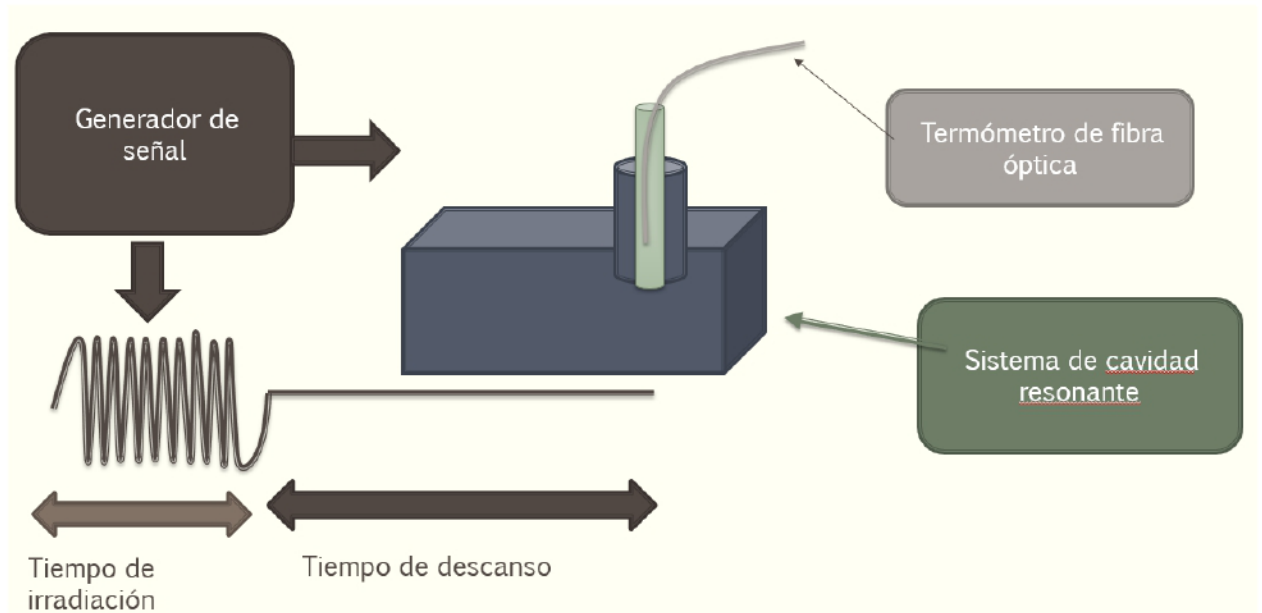


Figura 9. Esquema del experimento con la cavidad resonante.

4.1 Diseño experimental para irradiación de la muestra

Con la cavidad se coloca un tubo de ensayo con 150ul de solución salina, un pedazo de poliestireno extruido con una arandela de teflón como soporte para un

tubo de PCR de 200ul; donde contiene 150ul de la muestra infectada con *P. falciparum* a distintas parasitemias en el estadio esquizonte. Al introducir la muestra dentro de la cavidad, se irradia a diferentes potencias que son 6, 9 y 12 Watts con ciclos de trabajo variados con el propósito de mantener la muestra con un balance de cambios de temperatura. Los ciclos usados tienen un propósito de irradiar aproximadamente 180 Joules a la muestra. Los ciclos se representan con más detalle en el Cuadro IV.

Cuadro IV. Ciclos de trabajo para la irradiación de muestras.

Watts	Tiempo encendido	Tiempo apagado	% trabajo	Ciclos
6	5 segundos	145 segundos	3.33%	6
9	5 segundos	245 segundos	2%	4
12	5 segundos	295 segundos	1.67%	3

4.2 Determinar energía absorbida

Para determinar la cantidad de energía absorbida se basó en un estudio de 2011 (Shamis *et al.*, 2011), usando la siguiente ecuación:

$$\frac{P}{V} = \frac{c\rho\Delta T}{t} \quad (2)$$

La cual P es potencia en Watts, V es volumen en cm^3 , c es calor específico en J/gC, ρ = densidad g/ cm^3 , ΔT = diferencia de temperatura en C. Se reescribe como:

$$Q = Pt = cV\rho\Delta T \quad (3)$$

Al reemplazar ρV usando la fórmula de densidad, podemos reescribir como:

$$Q = cm\Delta T \quad (4)$$

Siendo Q energía absorbida en Joules y m es masa en gramos y ΔT es la diferencia de temperatura.

4.3 Diseño experimental de inhibición de muestras infectadas

Para observar inhibición en muestras infectadas se trabajó con réplicas de muestras irradiadas a cada potencia y con 3 controles negativos. Después de irradiar las muestras se pasan a un plato de 96 pocillos, se gasea y se pone a incubar por 24 horas. Hacemos primero placas de 0 horas y luego placas de 24 horas, comparamos la tasa de crecimiento de muestras irradiadas con las de control para observar inhibición.

Capítulo III: Resultados y Discusión

En este capítulo, se presentan y se discuten los resultados obtenidos por la experimentación. Primero se presenta los resultados obtenidos de la caracterización térmica de las muestras usando el calorímetro. Segundo se muestra el modelo computacional de la cavidad resonante encontrando la distancia más óptima de irradiación. Al final se presentan los resultados obtenidos al irradiar la muestra usando la cavidad resonante, presentando la cantidad de energía absorbida por la muestra usando el calor específico y también el efecto inhibitorio del crecimiento del parásito

1. Experimentación para caracterizar térmicamente las muestras

En esta sección se utilizó el calorímetro como fue descrita en la metodología en la figura 3, se midió agua destilada y los valores obtenidos se pueden ver en el Cuadro V, el resultado promedio era de 4.175 J/g°C que está cerca de lo reportado en la literatura 4.184 J/g°C (Waples *et al.*, 2004). Demostrando que la metodología es útil para estimar el calor específico del parásito.

Cuadro V. Calor específico de agua destilada

	Calor Específico de agua destilada J/g°C
R1	4.156
R2	4.21
R3	4.16
Promedio	4.175

En el Cuadro VI se presenta los resultados del calor específico obtenido en el estadio de esquizonte para diferentes grados de parasitemia medida.

Cuadro VI. Valores de calor específico de esquizontes a parasitemias medidas

Parasitemia %	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Promedio	Desviación Estándar	Valor p
0	4.085	3.993	4.1	4.104	3.917	4.138	4.056	0.0838	Valor p= 0.0156 significativo
1.54	4.178	4.128	4.061	4.002	4.052		4.084	0.0691	
2.18	4.289	4.06	4.047	3.904	2.97		4.119	0.1701	
2.97	3.737	4.256	4				3.998	0.2598	
3.18	4.129	3.977	4.099	4.126	4.223		4.111	0.0885	
4.4	3.879	4.289	4.094	4.169	4.126		4.111	0.1497	
5.59	4.084	4.189	4.117	4.131	4.173		4.139	0.0423	
5.86	4.022	4.543	4.12	4.217	4.185		4.217	0.1966	
6.43	4.166	4.197	4.464	4.191	4.182		4.24	0.1257	
7.52	4.061	4.155	4.486	4.045	4.196		4.188	0.1778	
8	4.19	4.223	4.277	4.271	4.197	4.232	4.232	0.0363	
9	4.339	3.986	4.256	4.361	4.234	4.235	4.235	0.1335	
10	4.241	4.297	4.177	4.281	4.3	4.259	4.259	0.0462	
10	4.255	4.367	4.19				4.271	0.0894	



Figura 10. Gráfica de barra del calor específico de las parasitemias medidas

Para reducir los porcentajes de error y evaluar el calor específico de las muestras y simplificar el análisis de los resultados, se presenta el Cuadro VII los resultados del calor específico agrupados por rango de parasitemia. Esto se hizo ya que es difícil obtener los mismos valores exactos de parasitemias al cultivar el parásito.

Cuadro VII. Valores de calor específico de esquizontes a parasitemias promedio

Rango de parasitemias	0%	1-1.9%	2-2.99%	3-3.99%	4-4.99%	5-5.99%	6-6.99%	7-7.99%	8-8.99%	9-9.99%	10-10.99%
R1	4.085	4.178	3.737	4.129	3.879	4.084	4.166	4.061	4.190	4.339	4.255
R2	3.993	4.128	4.256	3.977	4.289	4.189	4.197	4.155	4.223	3.986	4.367
R3	4.100	4.061	4.000	4.099	4.094	4.117	4.464	4.486	4.277	4.256	4.190
R4	4.104	4.002	4.289	4.126	4.169	4.131	4.191	4.045	4.271	4.361	4.241
R5	3.917	4.052	4.060	4.223	4.126	4.173	4.182	4.196	4.197	4.234	4.297
R6	4.138		4.047			4.022			4.232	4.235	4.177
R7			3.904			4.543					4.281
R8			4.297			4.120					4.300
R9						4.217					
R10						4.185					
Promedio	4.056	4.084	4.074	4.111	4.111	4.178	4.240	4.188	4.232	4.235	4.263
Desviación estándar	0.0838	0.0691	0.1994	0.0885	0.1497	0.1403	0.1257	0.1778	0.0363	0.1335	0.062
Valor p	0.0064 significativo										

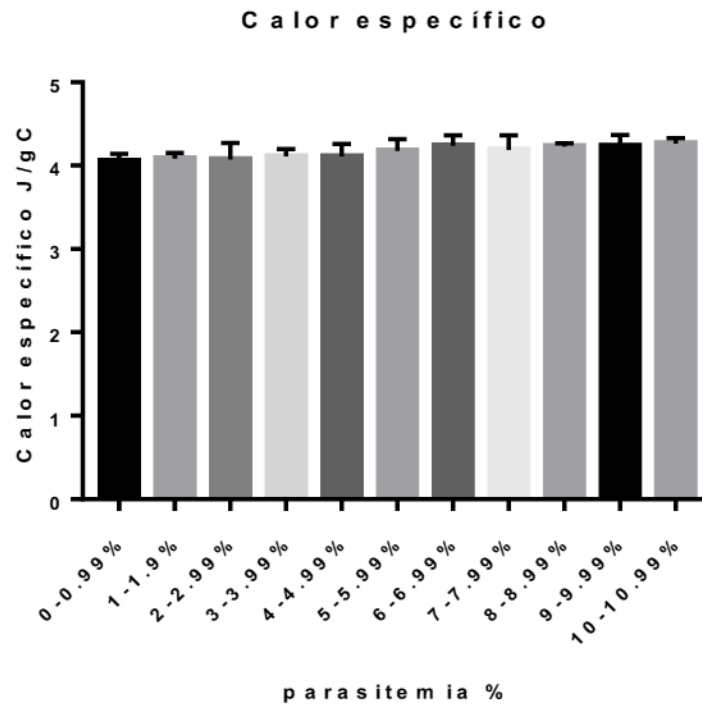


Figura 11. Histograma de los valores de calor específico por rango de parasitemia

Para mejor visualización los valores promedio por rango de calor específico los resultados promedios se pueden observar en la Cuadro VIII:

Cuadro VIII. Valor promedio de calor específico obtenido a diferentes porcentajes de parasitemia.

Parasitemia %	Calor específico J/gC
0	4.056
1 - 1.9	4.084
2 - 2.9	4.074
3 - 3.9	4.111
4 - 4.9	4.111
5 - 5.9	4.178
6 - 6.9	4.240
7 - 7.9	4.188
8 - 8.9	4.232
9 - 9.9	4.235
10 - 10.99	4.263

Al llevar a cabo un análisis de regresión lineal y correlación se obtiene el coeficiente de Pearson para observar correlación y significancia con los datos del cuadro VIII, se obtiene en la Figura 12:

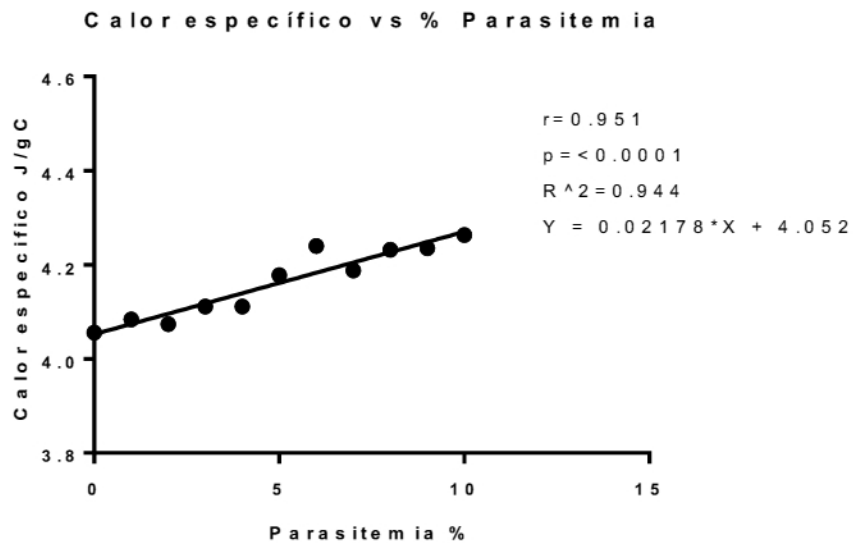


Figura 12. Regresión lineal de los valores de calor específico en diferentes rangos de parasitemia.

Se decidió normalizarlo usando el valor de agua destilada obtenido en este ensayo y también usar 0% de parasitemia con el propósito de comparar los valores con valor de agua y 0% respectivamente y ver el grado de diferencia.

Los resultados pueden apreciar en las figuras 13 y 14:

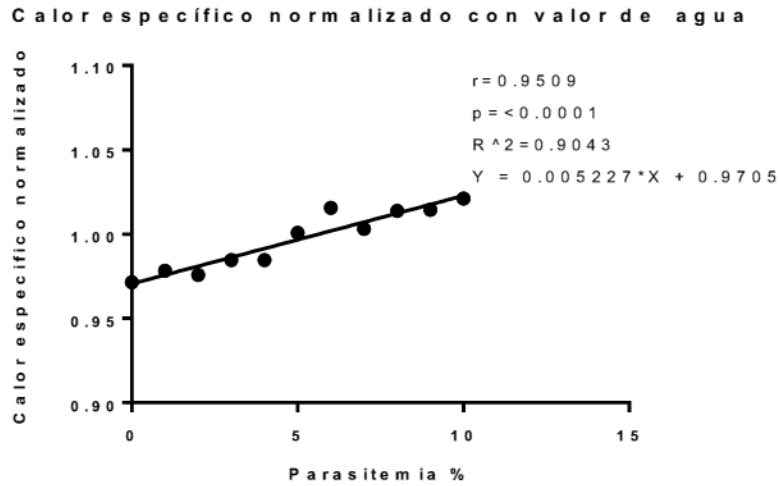


Figura 13. Regresión lineal de los valores de calor específico de cada parasitemia normalizado con el valor de agua destilada experimental.

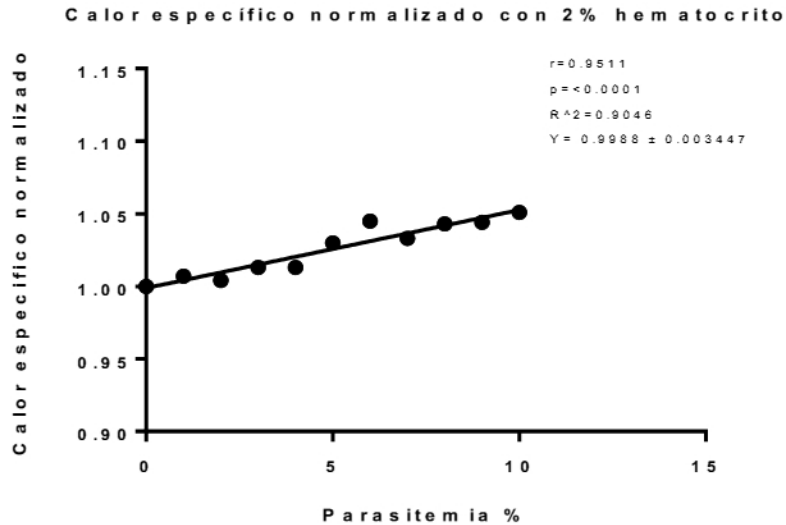


Figura 14. Regresión lineal de los valores de calor específico de cada parasitemia normalizado con el valor de 0% de parasitemia.

Se observa en las tres gráficas lineales que hay una correlación clara que mientras más alta la parasitemia, mayor es el calor específico; con un r del coeficiente de Pearson de 0.95, un valor p menor que de 0.0001 y un R^2 mayor que 0.9. Esto significa que se requiere mayor cantidad de energía para provocar el mismo cambio de temperatura para las muestras con mayor parasitemias. El coeficiente de correlación de Pearson que indica una relación lineal entre dos variables este valor es calculado en un rango de -1 a +1 en donde es una relación lineal positiva perfecta y -1 una relación lineal negativa perfecta, en este caso el valor obtenido es de 0.95 cerca de 1 que se puede concluir que hay una relación lineal positiva entre el calor específico y el porcentaje parasitemia.

El valor p debajo de 0.05 indica que la correlación es significativa, en el estudio se obtuvo un valor de 0.0001. El R^2 es el coeficiente de determinación, este coeficiente determina como la variable independiente afecta la dependiente en una regresión lineal, los valores están en el rango de 0 a 1 en donde 0 indica que el modelo no concuerda con la línea de regresión por ende las variaciones de la variable independiente (eje x) no influyen el valor de la variable dependiente (eje y). Siendo el valor más alto 1, indica que el modelo tiene una relación perfecta con la línea de regresión por ende las variaciones de la variable independiente influyen el cambio de la variable dependiente. De acuerdo con el estudio, el porcentaje de parasitemia es la variable independiente y variable dependiente es el calor específico. En el estudio se obtuvo un R^2 de 0.9 indicado que valor del calor específico puede ser influido por el porcentaje de parasitemia.

Se hizo lo mismo con el estadio de anillo, se pueden ver los resultados obtenidos en Cuadro IX.

Cuadro IX. Datos de calor específico de anillos a parasitemias medidas

Parasitemia%	0	2	5	10
R1	4.085	3.64	4.04	3.845
R2	3.993	4.45	3.91	4.32
R3	4.100	3.886	4.14	4.02
R4	4.104			
R5	3.917			
R6	4.138			
Promedio	4.056	3.99	4.03	4.06
Desviación estándar	0.0838	0.4153	0.1153	0.2402
Valor p	0.9036 no significativo			

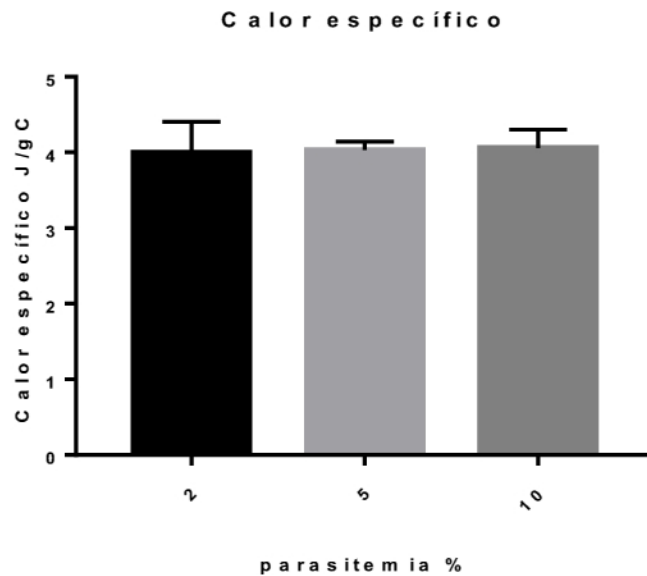


Figura 15. Histograma del calor específico de las parasitemias medidas, anillos

Al hacer lo mismo con el estadio de anillo se puede ver que no hay diferencia en Figura 16.

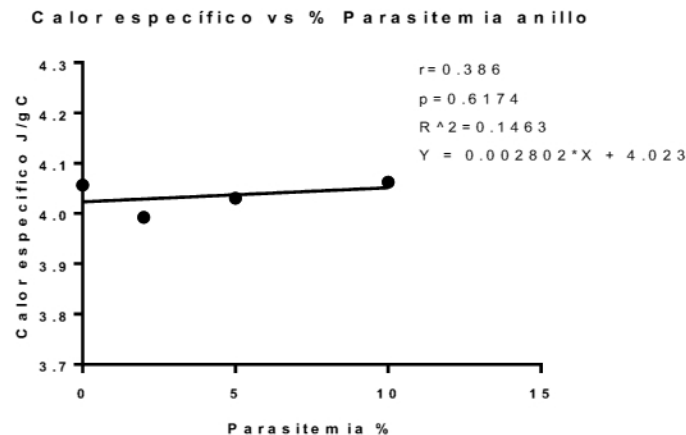


Figura 16. Regresión lineal del calor específico del estadio de anillos.

Discusión

Hay que señalar que no se han encontrado estudios reportados sobre el comportamiento térmico de eritrocitos infectados con *P. falciparum*, pero conocemos que el parásito causa cambios biofísicos al eritrocito (Aingaran *et al.*, 2013; Mata-Cantero *et al.*, 2014; Nam *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2013) y se puede suponer que este puede cambiar las propiedades térmicas del eritrocito. Con los resultados obtenidos con el experimento del calorímetro se logró calcular el calor específico a diferentes parasitemias, en los estadios de esquizonte y anillo.

Los resultados fueron sometidos a una prueba unidireccional ANOVA no paramétrica y esto indican que en esquizontes la diferencia de los valores obtenidos era significativa, con un valor p de 0.0064(<0.05) en cambio los resultados en el caso de anillos no fueron significativos con un valor p 0.9036 (<0.05).

En anillos no se observó diferencia, se puede inferir que debido al tamaño pequeño del parásito en este estadio no logra afectar grandemente las propiedades biofísicas del eritrocito. En esquizontes se observa una clara correlación en donde a mayor la parasitemia más alto es el valor del calor específico, esto significa que en parasitemias más altas, se necesita más energía para provocar cambios similares en temperatura de las muestras; al normalizar los valores con agua, se puede observar que las parasitemias debajo de 5% tienen un calor específico menor al del agua y los de 6% en adelante tienen un calor específico superior. Los resultados del calor específico obtenidos se pueden ver que los incrementos son pequeños, esto se podría atribuirse a que el porcentaje de hematocrito trabajado que es a 2%, pero se puede deducir que al escalarlo a 50% de hematocrito (el valor promedio en el cuerpo humano) la diferencia del calor específico podrá ser más marcada.

Hay que tomar en cuenta la limitación al tener pocas muestras en esta sección del estudio; ya que es difícil obtener el porcentaje necesario para hacer los experimentos.

2. Modelado *in silico*

En la figura 10 se muestra el modelo computacional completo; con la cavidad, el afinador, tubo de ensayo, arandela, soporte de poliestirenos extruido, solución salina y la muestra de hematocrito en un tubo de PCR. El afinador en el modelo computacional se puede mover para simular el afinador real de la cavidad. El propósito del afinador es para encontrar el punto óptimo para trabajar a la frecuencia experimental indicada.

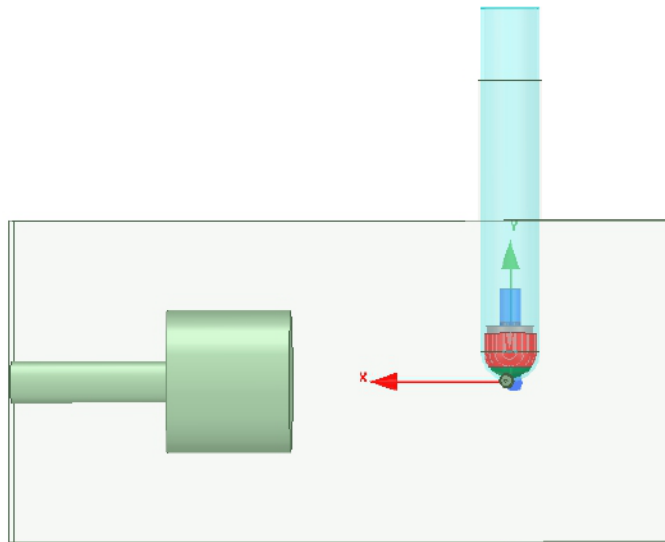


Figura 17. Vista frontal del modelo de la cavidad.

Se puede observar el comportamiento del campo eléctrico del sistema en la figura 18, se puede ver en la simulación que la mayoría de la energía eléctrica está concentrada en el área alrededor de la muestra. En la figura 19 se puede observar una comparación de la tasa de absorción específica entre una muestra de salina y de hematocrito a 2% en donde la tasa de absorción específica de la solución salina es mayor que el de hematocrito a 2%, la tasa de absorción específica siendo la cantidad de energía absorbida por unidad de masa de una muestra biológica.

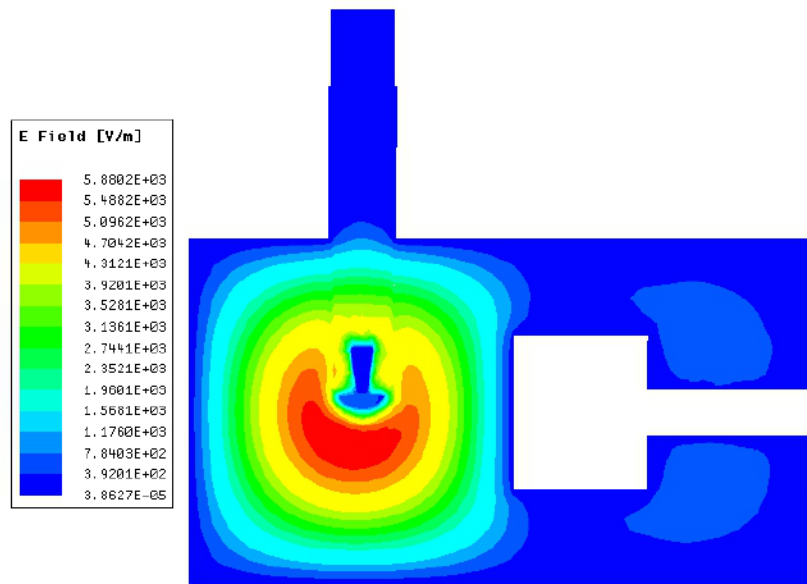


Figura 18. Campo eléctrico del sistema

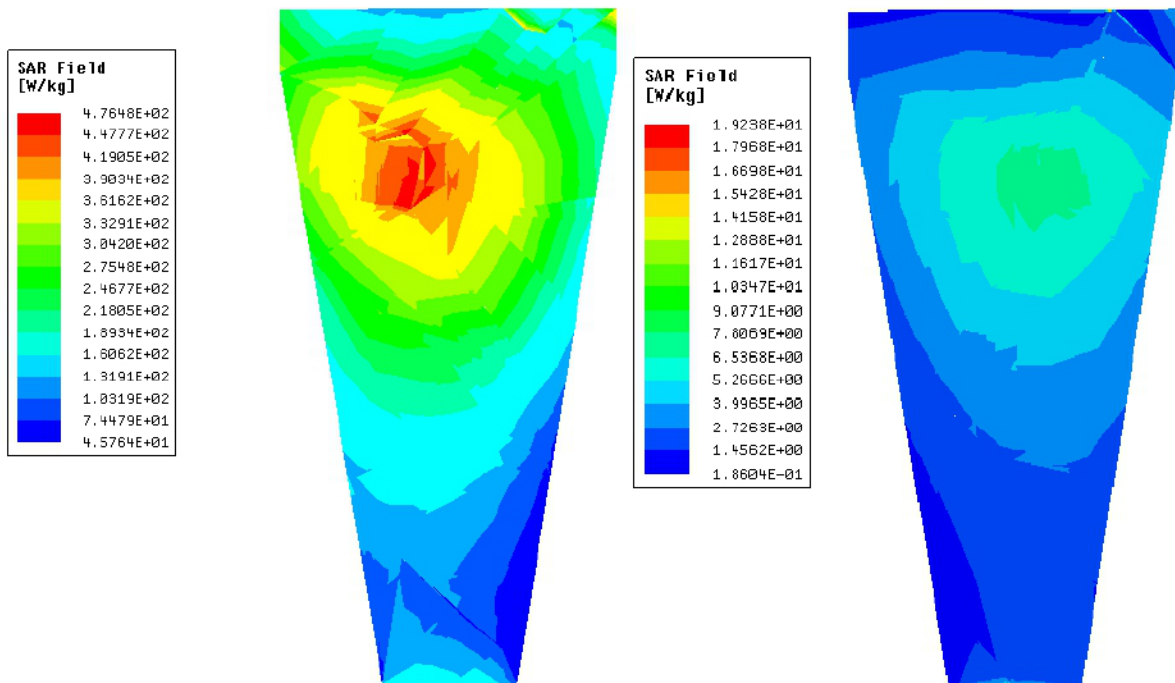


Figura 19. Tasa de absorción específico de la muestra; izquierda solución salina, derecha hematocrito 2%

De acuerdo con lo el S_{11} obtenido mediante la Figura 20, se encontró que para irradiar la muestra a una frecuencia de 2.45 GHz, la distancia de la pared del afinador debe estar a 6.15 pulgadas de la pared opuesta. Luego se repitió el análisis, pero solo en la distancia de 6.15 in, incrementando los puntos de los barridos para tener un valor más cercano a la realidad al irradiar. En la Figura 21 se observa que la baja de la curva del S_{11} nos da un valor de 14.0125 dB que es similar al S_{11} obtenido de Figura 20.

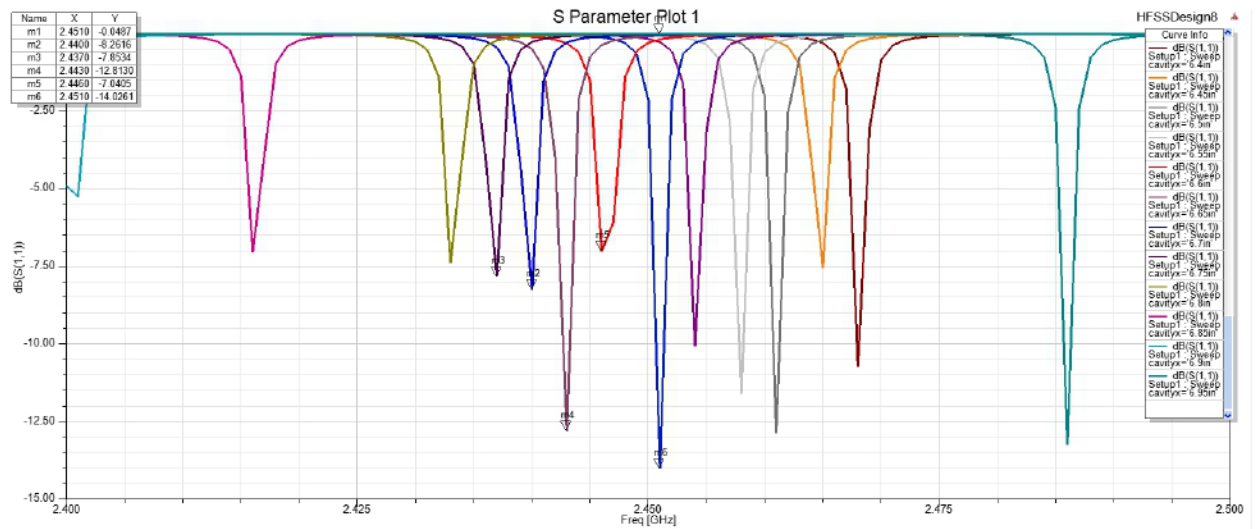


Figura 20. Los S_{11} de varias distancias del afinador dentro de la cavidad.

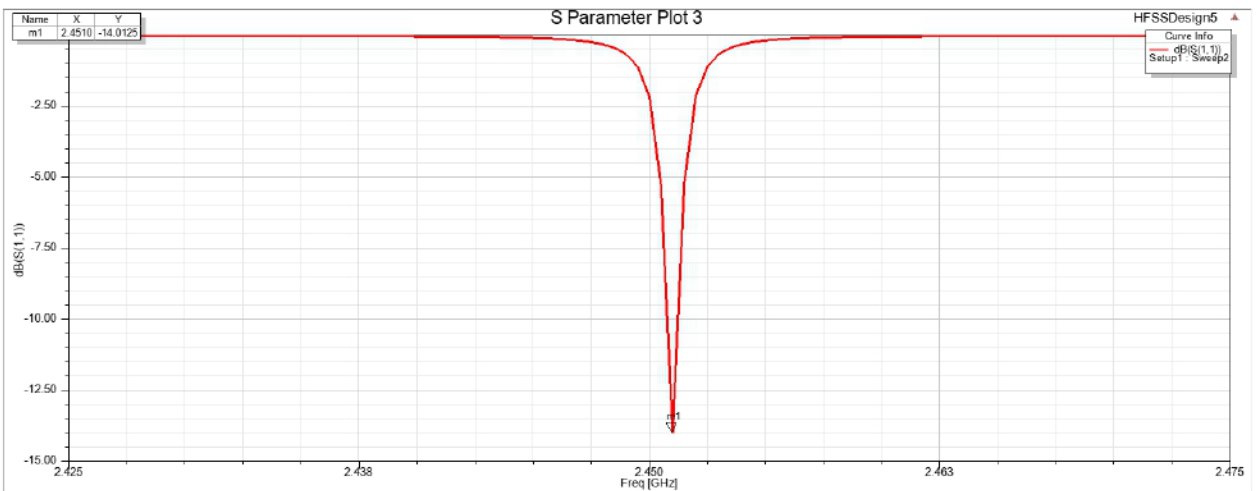


Figura 21. S_{11} de hematocrito 2%.

Para validar el modelo, se comparó los S_{11} del modelo con la cavidad usando un analizador de redes, la gráfica 22 se observa la comparación. Se puede ver la cercanía de los valores de S_{11} en el modelo con la cavidad real.

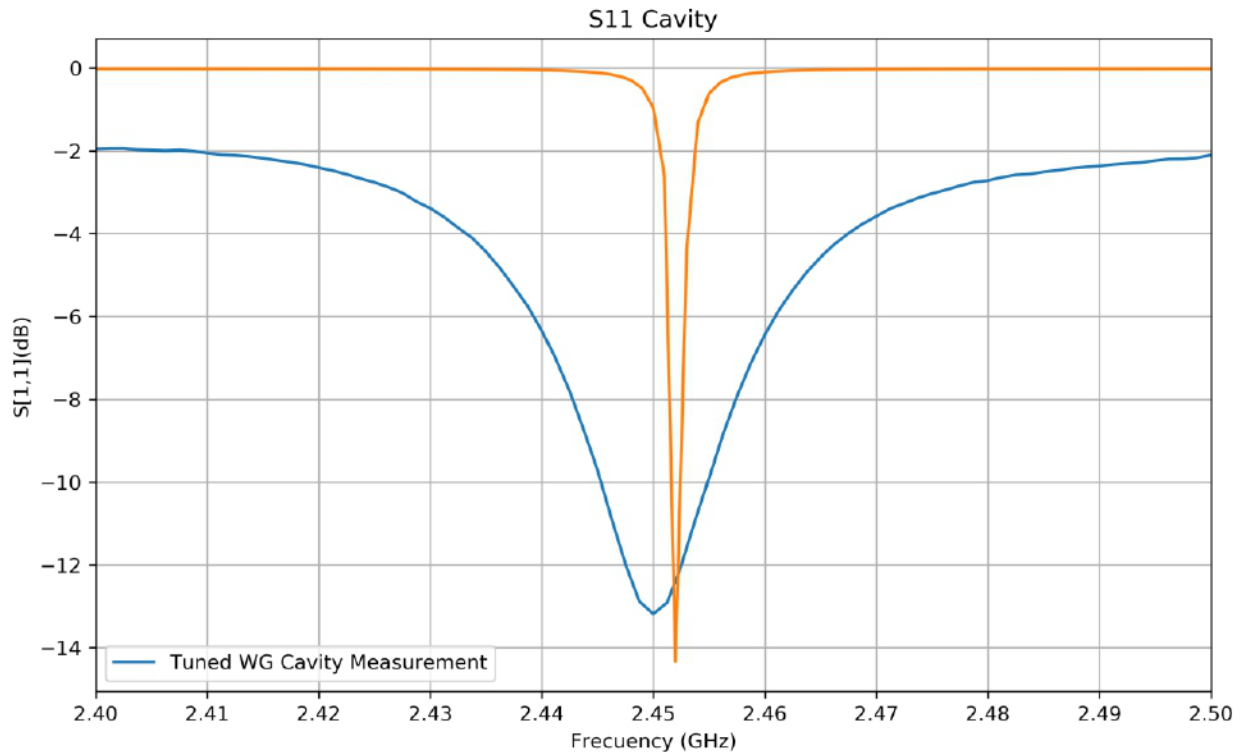


Figura 22. Valores de S_{11} de simulación vs experimental. Azul experimental, amarillo modelo.

Discusión

Para el modelo computacional, se tuvo que usar como muestra el hematocrito a 2% sin infectar ya que no hay mucha literatura descrita sobre los valores de permitividad, permeabilidad y conductividad de *P. falciparum*. Se observó el campo eléctrico y se notó que la mayor cantidad de energía está concentrada alrededor de la muestra de acuerdo con la simulación, esto indica que la energía irradiada se concentra en la muestra, pero no es totalmente absorbida por ella.

La tasa de absorción específica de solución salina era mayor comparada con, la de hematocrito a 2% indicando que la muestra de hematocrito absorbe menos energía al ser expuesta en las mismas condiciones en comparación con la solución salina.

Se observó en la cavidad que, al mover el afinador, el S_{11} cambia esto significa que se puede trabajar con otras frecuencias en el futuro, en este caso se enfocó en 2.45 GHz ya que es la frecuencia que es usada frecuentemente para fines terapéuticos. Con esta distancia fue con la que se trabajó para los experimentos de la cavidad resonante.

3. Irradiación mediante la cavidad resonante

Al obtener la distancia adecuada para irradiar las muestras, se empezó con la irradiación de las muestras con la cavidad resonante. Mediante los perfiles de temperatura y los valores del calor específico obtenido por la experimentación del calorímetro, se calculó la cantidad de energía absorbida con la ecuación mencionada en la metodología. H2

En el Cuadro X se observa la cantidad de energía promedio absorbida por ciclo por las muestras a diferentes parasitemias y potencia. Se puede ver que no hay mucha diferencia en la energía absorbida en diferentes parasitemias y a diferentes potencias.

Cuadro X. Energía absorbida por ciclo por las muestras de diferentes parasitemias y a diferentes potencias.

%Parasitemia	Nivel de Exposición en Potencia a Diferentes ciclos de trabajo		
	6 W	9W	12W
2%	3.16J	3.25J	4.80J
3%	1.65J	3.49J	4J
4%	2.4J	3.96J	5.9J

Después de irradiar se intentó determinar si había inhibición del crecimiento del parásito después de 24 horas. En las gráficas de las figuras 23-25 se ve que hay una tasa de inhibición grande al exponer la muestra infectada a 6 Watts, pero no es muy claro en 9 y 12 Watts.

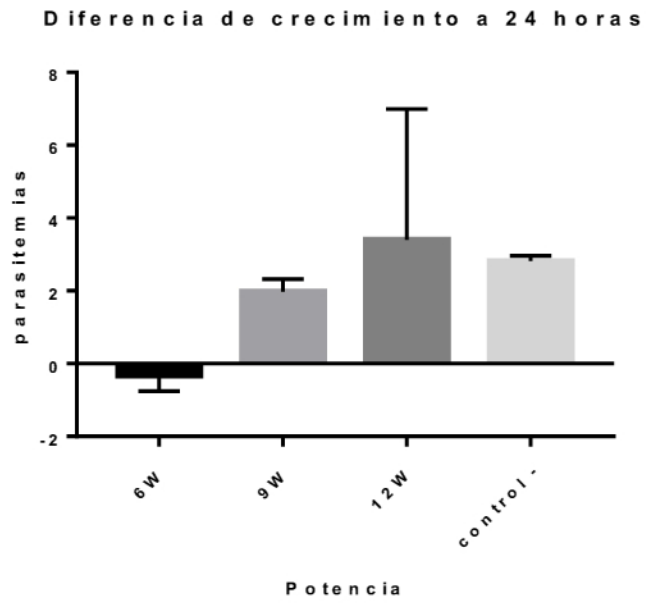


Figura 23. Tazas de inhibición a 2% de parasitemia.

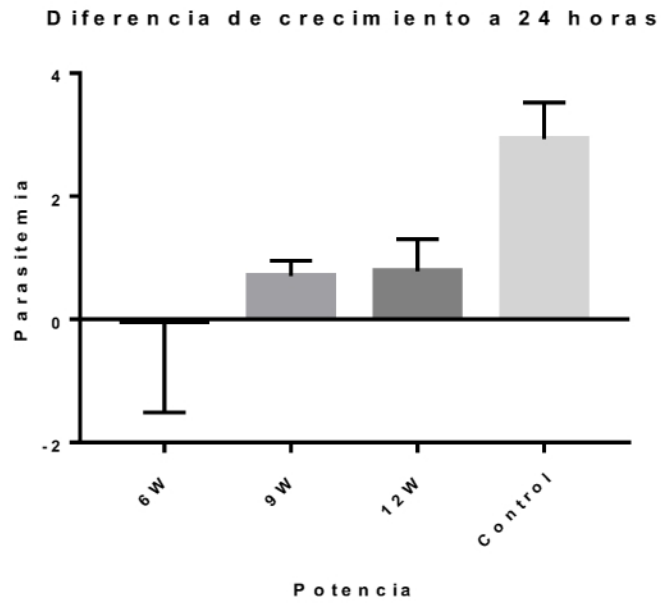


Figura 24. Tazas de inhibición a 3% de parasitemia.

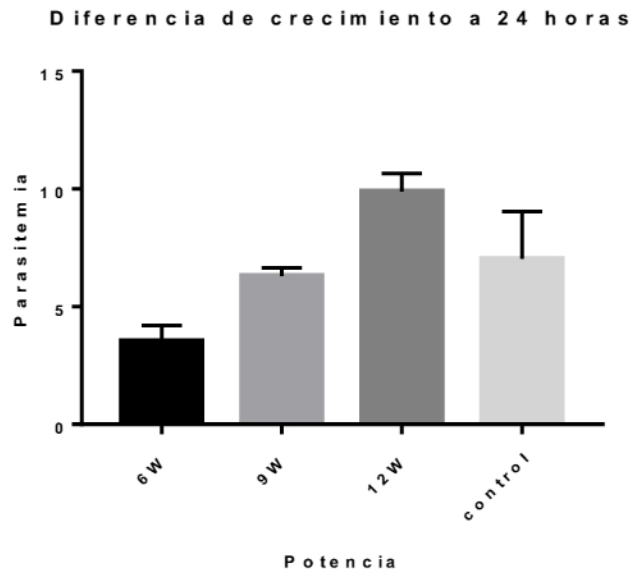


Figura 25. Tazas de inhibición a 4% de parasitemia.

Podemos ver que en 6 Watts había mayor inhibición en comparación con 9 y 12 Watts. Se decidió repetir el experimento, pero a parasitemias de 2% y solamente a 6 Watts. Calculando de nuevo la energía absorbida promedio por ciclo y demostrándolo en el Cuadro XI:

Cuadro XI. Energía absorbida promedio por ciclo a 2% de parasitemia a 6 Watts.

# Experimento. 2% de parasitemia a 6 Watts	Energía absorbida promedio por ciclo
1	2.5J
2	2.39 J

En Cuadro XI la energía absorbida es similar. En las gráficas de la figura 26 y 27 se muestran las tasas de inhibición.

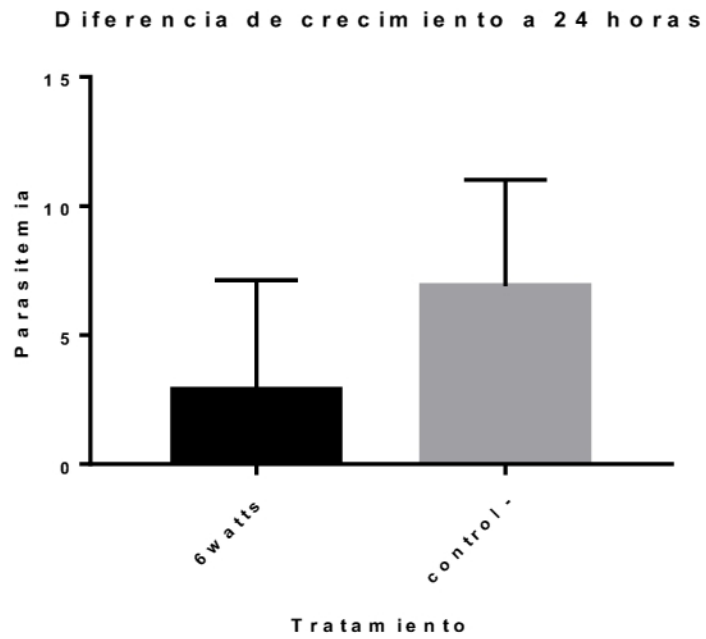


Figura 26. Inhibición de crecimiento a 2% parasitemia a 6 Watts #1.

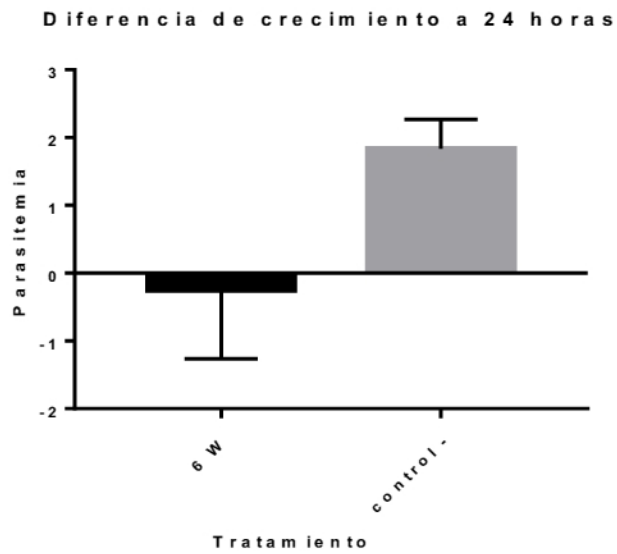


Figura 27. Inhibición de crecimiento a 2% parasitemia a 6 Watts #2.

Discusión

El objetivo principal de usar la cavidad resonante es medir la cantidad de energía absorbida mediante el valor del calor específico a cada parasitemia, eso se logró usando la ecuación termodinámica mencionada en la metodología. Para no gastar las muestras se decidió estudiar preliminarmente la inhibición al exponer las muestras a diferentes potencias.

Al principio se decidió trabajar con 3 potencias diferentes con parasitemias variadas y de esta manera observar la inhibición del parásito, con el fin de estudiar si los campos electromagnéticos y los niveles de energía son capaces de algún tipo inhibición en el crecimiento de los parásitos.

El propósito con los números de ciclos era irradiar la misma cantidad en todas las muestras y los tiempos de descanso para mantener la temperatura estable. Se vio que al trabajar con los 3 niveles de potencias diferentes que la energía absorbida no afecta la inhibición y que a 6 Watts había mayor tasa de inhibición. Se decidió confirmar la inhibición a 6 Watts, en este caso se trabajó con 6 réplicas, y el efecto inhibitorio se mantuvo.

Capítulo IV: Conclusión

Conclusión

El propósito de este trabajo es estudiar el comportamiento térmico mediante el calor específico de eritrocitos infectados con *P. falciparum* para calcular la cantidad de energía absorbida al exponer a campos de radiofrecuencias dentro de una cavidad resonante. Para cumplir este propósito se trabajó con un calorímetro para obtener los valores de calor específico de muestras infectados con *P. falciparum*; luego se hizo un modelo electromagnético computacional para encontrar la distancia óptima de irradiación. Posteriormente con la ayuda de los resultados obtenidos previamente se logró calcular la cantidad de energía absorbida por la muestra al irradiarla con campos electromagnéticos.

- Con los resultados del calorímetro, se obtuvieron los valores aproximado de calor específico a diferentes porcentajes de parasitemias y diferentes estadios. En esquizontes se encontró una correlación que mientras mayor la parasitemia, mayor era el calor específico.
- En el estadio de anillo no hubo cambio del calor específico al incrementar la parasitemia.
- Al normalizarlo los resultados de esquizonte con agua destilada se encontró que los valores de 1-5 % de parasitemia tenían el calor específico debajo del calor específico del agua, y los parsitemais de 6-10% lo tiene mayor que el agua. Hasta ahora no existen estudios sobre el comportamiento térmico de *P. falciparum*.
- Con la simulación, se desarrolló un modelo computacional de la cavidad resonante que usamos para irradiar la muestra. Mediante el S_{11} se encontró

la distancia optima del afinador para irradiar la muestra a 2.45GHz, y se logró validar el modelo al comparar los S_{11} con lo obtenido por un analizador de redes.

- Se encontró que con el calor específico con los perfiles de temperatura es posible calcular la cantidad de energía absorbida por la muestra al ser expuesto a campos electromagnéticos dentro de la cavidad resonante.
- Estudiando la inhibición de las muestras infectadas con *P. falciparum* a diferentes potencias de 6, 9 y 12 Watts. Se encontró que a 6 Watts se produjo mayor tasa de inhibición y que los campos electromagnéticos a radiofrecuencia son potencialmente útiles para usar como tratamiento.

Capítulo V: Recomendaciones

Recomendaciones

Como recomendaciones, se recomienda repetir los experimentos de la caracterización térmica con un calorímetro diferencial de barrido para obtener resultados con mayor fiabilidad.

Hacer un modelo acoplado a un análisis térmico para estudiar a profundidad el flujo de calor en la cavidad resonante para entender el comportamiento térmico de la muestra dentro de la cavidad.

Con la irradiación de las muestras se quiere trabajar a niveles de potencias mas bajos para observar si hay inhibición y también usar otros dispositivos para irradiar las muestras.

Capítulo VI: Bibliografía

- Ahmed, B. M., & Kumar, D. V. (2013). Calculation of SAR and Measurement of Temperature Change of Human Head Due To The Mobile Phone Waves At Frequencies 900 MHz and 1800 MHz. *Advances in Physics Theories and Applications*, 16, 54–63.
- Aingaran, M., Zhang, R., Law, S. K., Peng, Z., Undisz, A., Meyer, E., Diez-silva, M., Burke, T. a., Spielmann, T., Teck, C., Suresh, S., Dao, M., Marti, M., Lim, C. T., Suresh, S., Dao, M., & Marti, M. (2013). Host cell deformability is linked to transmission in the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Cellular Microbiology*, 14(7), 983–993. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2012.01786.x>.Host
- Alsuhaim, H. S. (2014). *Biological Effects of Low Power Microwaves: Experimental Evaluation at Molecular and Cellular levels*. (August).
- Bergman, T. L., Incropera, F. P., Lavine, A. S., & DeWitt, D. P. (2011). *Introduction to Heat Transfer*. Retrieved from <https://books.google.com.pa/books?id=YBaNaLurTD4C>
- Blake, A. S., Petley, G. W., & Deakin, C. D. (2000). Effects of changes in packed cell volume on the specific heat capacity of blood: implications for studies measuring heat exchange in extracorporeal circuits. *British Journal of Anaesthesia*, 84(1), 28–32. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bja.a013376>
- Britannica, E. (2014). *Energía*. Retrieved from <https://books.google.es/books?id=KsYRAwAAQBAJ>
- Brodland, G. W. (2015). How Computational Models Can Help Unlock Biological Systems. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 47–48, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.07.001>
- Calderaro, A., Piccolo, G., Gorrini, C., Rossi, S., Montecchini, S., Dell'Anna, M. L., De Conto, F., Medici, M. C., Chezzi, C., & Arcangeletti, M. C. (2013). Accurate identification of the six human *Plasmodium* spp. causing imported malaria, including *Plasmodium ovale wallikeri* and *Plasmodium knowlesi*. *Malaria Journal*, 12(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-12-321>
- Choma, J., & Chen, W.-K. (2007). *Feedback networks: theory and circuit applications*. Retrieved from <https://books.google.com/books?id=EWAIYfilhfwC&pg=PA225&dq=isbn=9810227701>
- Ciesielski, M., Mochnacki, B., & Szopa, R. (2011). Numerical modeling of biological tissue heating. Admissible thermal dose. *Scientific Research of the Institute of Mathematics and Computer Science*, 1(10), 11–20.
- Das, S., Saha, B., Hati, A. K., & Roy, S. (2018). Evidence of artemisinin-resistant *plasmodium falciparum* malaria in eastern India. *New England Journal of Medicine*, 379(20), 1962–1964. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1713777>

- Dobson, R., Wu, R., & Callaghan, P. (2012). Blood glucose monitoring using microwave cavity perturbation. *Electronics Letters*, 48(15), 905. <https://doi.org/10.1049/el.2012.1811>
- Dudley, P. N., Bonazza, R., Jones, T. T., Wyneken, J., & Porter, W. P. (2014). Leatherbacks swimming in silico: Modeling and verifying their momentum and heat balance using computational fluid dynamics. *PLoS ONE*, 9(10), e110701. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110701>
- Ehrlich, R., Roelofs, L., Stoner, R., Tuszynski, J., Hellman, F., Diamond, P., McKay, S. R., & Christian, W. (2013). Electricity and Magnetism Simulations. In *Computers in Physics*. <https://doi.org/10.1063/1.4822395>
- Ellingson, S. W. (2018). Radio Systems Engineering. In *Radio Systems Engineering*. <https://doi.org/10.1017/cbo9781107705852>
- Gallup, J. L., & Sachs, J. D. (2001). The economic burden of malaria. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 64(1-2 SUPPL.), 85–96. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2001.64.85>
- Geankoplis, C. J. (2003). *Transport Processes and Separation Process Principles*. Retrieved from <https://books.google.com.pa/books?id=JFISAAAACAAJ>
- Gherardini, L., Ciuti, G., Tognarelli, S., & Cinti, C. (2014). Searching for the perfect wave: The effect of radiofrequency electromagnetic fields on cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(4), 5366–5387. <https://doi.org/10.3390/ijms15045366>
- Ghosh, S., Matsuoka, Y., Asai, Y., Hsin, K. Y., & Kitano, H. (2011). Software for systems biology: From tools to integrated platforms. *Nature Reviews Genetics*, 12(12), 821–832. <https://doi.org/10.1038/nrg3096>
- Gonzalez, G. (1996). Microwave transistor amplifiers analysis and design. In *Digest of Papers - IEEE Radio Frequency Integrated Circuits Symposium* (2nd ed.). <https://doi.org/10.1109/RFIC.2005.1489794>
- Griffiths, D. J. (2017). *Introduction to Electrodynamics* (4th ed.). <https://doi.org/10.1017/9781108333511>
- Griffiths, D. J., & Inglefield, C. (2005). *Introduction to Electrodynamics*. *American Journal of Physics*, Vol. 73, pp. 574–574. <https://doi.org/10.1119/1.4766311>
- Hackett, S., Hamzah, J., Davis, T. M. E., & St Pierre, T. G. (2009). Magnetic susceptibility of iron in malaria-infected red blood cells. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1792(2), 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2008.11.001>
- Haemmerich, D., Schutt, D. J., Dos Santos, I., Webster, J. G., & Mahvi, D. M. (2005). Measurement of temperature-dependent specific heat of biological tissues. *Physiological Measurement*, 26(1), 59–67. <https://doi.org/10.1088/0967-3334/26/1/006>

- Hailu, A., Lindtjørn, B., Deressa, W., Gari, T., Loha, E., & Robberstad, B. (2017). Economic burden of malaria and predictors of cost variability to rural households in south-central Ethiopia. *PLoS ONE*, *12*(10), 340. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185315>
- Hirashima, T., Kato, K., Shindo, Y., Iwazaki, R., Yabuhara, T., Uzuka, T., Takahashi, H., & Fujii, Y. (2008). Heating properties of re-entrant resonant cavity applicator for brain tumor with simple head model. *Conference Proceedings : ... Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Conference, 2008*, 234–237. <https://doi.org/10.1109/IEMBS.2008.4649133>
- Hosseini, S. M., & Feng, J. J. (2012). How malaria parasites reduce the deformability of infected red blood cells. *Biophysical Journal*, *103*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2012.05.026>
- Imwong, M., Hien, T. T., Thuy-Nhien, N. T., Dondorp, A. M., & White, N. J. (2017). Spread of a single multidrug resistant malaria parasite lineage (PfPailin) to Vietnam. *The Lancet Infectious Diseases*, *17*(10), 1022–1023. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30524-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30524-8)
- Iseki, Y., Kato, K., Nakane, K., Shindo, Y., Tsuchiya, K., Kubo, M., Takahashi, H., Uzuka, T., & Fujii, Y. (2011). A new heating method with dielectric bolus using resonant cavity applicator for brain tumors. *Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBS*, 333–336. <https://doi.org/10.1109/IEMBS.2011.6090086>
- Jin, J. (1998). *Electromagnetic Analysis and Design in Magnetic Resonance Imaging*. Retrieved from <https://books.google.com.pa/books?id=2u0Lo28RGsMC>
- Kanai, Y., Engineering, E., Tsukamots, T., Toyama, K., Saitoh, Y., Miyakawa, M., Engineering, I., & Kashiwa, T. (1996). *a Hyperthermic Treatment in a Reentrant Resonant Cavity Applicator*. *32*(3), 1661–1664.
- Kim, S., Kim, J., Kim, K., Lee, J. H., Babajanyan, A., Friedman, B., & Lee, K. (2014). In vitro monitoring of goat-blood glycemia with a microwave biosensor. *Current Applied Physics*, *14*(4), 563–569. <https://doi.org/10.1016/j.cap.2014.01.011>
- Kim, S., Melikyan, H., Kim, J., Babajanyan, A., Lee, J. H., Enkhtur, L., Friedman, B., & Lee, K. (2012). Noninvasive in vitro measurement of pig-blood d-glucose by using a microwave cavity sensor. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *96*(3), 379–384. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2012.01.018>
- Kitano, H. (2002). Computational systems biology. *Nature*, *420*(6912), 206–210. <https://doi.org/10.1038/nature01254>
- Lai, H. C., & Singh, N. P. (2010). Medical applications of electromagnetic fields. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*.

<https://doi.org/10.1088/1755-1315/10/1/012006>

- Lambros, C., & Vanderberg, J. P. (1979). Synchronization of Plasmodium falciparum erythrocytic stages in culture. *The Journal of Parasitology*, 65(3), 418–420. <https://doi.org/10.2307/3280287>
- Liu, Y. J., Qiao, a K., Nan, Q., & Yang, X. Y. (2006). Thermal characteristics of microwave ablation in the vicinity of an arterial bifurcation. *International Journal of Hyperthermia: The Official Journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group*, 22(6), 491–506. <https://doi.org/10.1080/02656730600905686>
- Lonappan, A., Thomas, V., Bindu, G., Rajasekaran, C., & Mathew, K. T. (2007). Nondestructive measurement of human blood at microwave frequencies. *Journal of Electromagnetic Waves and Applications*, 21(8), 1131–1139. <https://doi.org/10.1163/156939307781749740>
- Lonappan, A., Thomas, V., Jacob, J., Rajasekaran, C., & Matthew, K. T. (2009). A Novel Method of Detecting Malaria using Microwaves. *Microwave and Optical Technology Letters*, 54(12), 2781–2784. <https://doi.org/10.1002/mop>
- Marqa, M., Colin, P., Nevoux, P., Mordon, S. R., & Betrouni, N. (2011). Focal Laser Ablation of Prostate Cancer: Numerical Simulation of Temperature and Damage Distribution. *BioMedical Engineering OnLine*, 1–12.
- Mata-Cantero, L., Lafuente, M. J., Sanz, L., & Rodriguez, M. S. (2014). Magnetic isolation of Plasmodium falciparum schizonts iRBCs to generate a high parasitaemia and synchronized in vitro culture. *Malaria Journal*, 13(1), 112. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-112>
- McIntosh, R. L., McKenzie, R. J., Iskra, S., Carratelli, A., & Standaert, P. (2003). Computation of SAR in Cell Culture Flasks Exposed to 900 MHz GSM Type Signals in a Modified TEM Cell. *Applied Computational Electromagnetics Society Journal*, 18 I(3), 107–113.
- Meshnick, S. R., & Dobson, M. J. (2001). The History of Antimalarial Drugs. *Antimalarial Chemotherapy: Mechanisms of Action, Resistance, and New Directions in Drug Discovery*. <https://doi.org/10.1385/1-59259-111-6:15>
- Miyakoshi, J. (2013). Cellular and molecular responses to radio-frequency electromagnetic fields. *Proceedings of the IEEE*, 101(6), 1494–1502. <https://doi.org/10.1109/JPROC.2013.2248111>
- Nam, J., Huang, H., Lim, H., Lim, C., & Shin, S. (2013). Magnetic separation of malaria-infected red blood cells in various developmental stages. *Analytical Chemistry*, 85(15), 7316–7323. <https://doi.org/10.1021/ac4012057>
- National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering. (2013). Computational Modeling.
- Nonvignon, J., Aryeetey, G. C., Malm, K. L., Agyemang, S. A., Aubyn, V. N. A., Peprah, N. Y., Bart-Plange, C. N., & Aikins, M. (2016). Economic burden of

- malaria on businesses in Ghana: A case for private sector investment in malaria control. *Malaria Journal*, 15(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12936-016-1506-0>
- Oh, S., Yen-Chul, R., Guisepe, C., Sica, C. T., & M., C. C. (2014). Measurement of SAR-induced temperature increase in a phantom and in vivo with comparison to numerical simulation. *Magnetic Resonance in Medicine*, 71(5), 1923–1931. <https://doi.org/10.1002/nbm.3066>. Non-invasive
- Or-Tzadikario, S., & Gefen, A. (2011). Confocal-based cell-specific finite element modeling extended to study variable cell shapes and intracellular structures: The example of the adipocyte. *Journal of Biomechanics*, 44(3), 567–573. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2010.09.012>
- Pal, A., Indireskumar, K., Schwizer, W., Abrahamsson, B., Fried, M., & Brasseur, J. G. (2004). Gastric flow and mixing studied using computer simulation. *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society*, 271(1557), 2587–2594. <https://doi.org/10.1098/rspb.2004.2886>
- Panagopoulos, D. J., Johansson, O., & Carlo, G. L. (2013). Evaluation of Specific Absorption Rate as a Dosimetric Quantity for Electromagnetic Fields Bioeffects. *PLoS ONE*, 8(6). <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/annotation/58c704d9-7cc4-4e4b-873b-214e6e2655ba>
- Payne, D. (1987). Spread of chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum*. *Parasitology Today*, 3(8), 241–246. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(87\)90147-5](https://doi.org/10.1016/0169-4758(87)90147-5)
- Peng, Z., Asaro, R. J., & Zhu, Q. (2011). Multiscale modelling of erythrocytes in Stokes flow. *Journal of Fluid Mechanics*, 686, 299–337. <https://doi.org/10.1017/jfm.2011.332>
- Pozar, D. M. (2012). Microwave engineering. In *IEEE Potentials*. <https://doi.org/TK7876.P69> 2011
- Prakash, P., Converse, M. C., Mahvi, D. M., & Webster, J. G. (2006). Measurement of the specific heat capacity of liver phantom. *Physiological Measurement*, 27(10). <https://doi.org/10.1088/0967-3334/27/10/N01>
- Purcell, E. (2011). *Electricity and Magnetism* (2nd ed.). <https://doi.org/10.1017/CBO9781139005043>
- Purdy, M., Robinson, M., Wei, K., & Rublin, D. (2013). Perspective piece: The economic case for combating malaria. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 89(5), 819–823. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.12-0689>
- Ramasamy, R. (2014). Zoonotic Malaria - Global Overview and Research and Policy Needs. *Frontiers in Public Health*, 2(August), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2014.00123>
- Rani, M. U., Baba, V. S. S. N. S., & Gundala, S. (2018). *Analysis of SAR in Human*

Blood , Bones and Muscles due to Mobile Waves at 900MHz , 1800MHz and 2400MHz. 13(5), 2125–2129.

- Resnick, R., Halliday, D., & Krane, K. S. (2002). *Physics*. Retrieved from <https://books.google.com.pa/books?id=QzAvAAAACAAJ>
- Ross, C. L., Siriwardane, M., Almeida-Porada, G., Porada, C. D., Brink, P., Christ, G. J., & Harrison, B. S. (2015). The effect of low-frequency electromagnetic field on human bone marrow stem/progenitor cell differentiation. *Stem Cell Research*, 15(1), 96–108. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2015.04.009>
- Schuster, F. L. (2002). Cultivation of plasmodium spp. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(3), 355–364. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.3.355-364.2002>
- Shamis, Y., Taube, A., Mitik-Dineva, N., Croft, R., Crawford, R. J., & Ivanova, E. P. (2011). Specific Electromagnetic Effects of Microwave Radiation on Escherichia coli. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(9), 3017–3022. <https://doi.org/10.1128/aem.01899-10>
- Siauve, N., & Lormel, C. (2012). Interstitial microwave hyperthermia treatment investigations. *Journal of Physics: Conference Series*, 395(1), 012001. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/395/1/012001>
- Sibley, C. H. (2015). Observing in real time the evolution of artemisinin resistance in Plasmodium falciparum. *BMC Medicine*, 13(1), 67. <https://doi.org/10.1186/s12916-015-0316-5>
- Smith, J. M., Van Ness, H. C., & Abbott, M. M. (2005). *Introduction to Chemical Engineering Thermodynamics*. Retrieved from <https://books.google.com.pa/books?id=pHtXQwAACAAJ>
- Sorrentino, R., & Bianchi, G. (2010). Microwave and RF Engineering. *Microwave and RF Engineering*. <https://doi.org/10.1002/9780470660201>
- Standard, I., Wave, F., Simulation, E. F., & Validation, R. (2017). *ANSYS HFSS High Frequency Electromagnetic Solvers*. Retrieved from <http://www.ansys.com/products/electronics/ansys-hfss/hfss-capabilities#cap2>
- Sutbeyaz, S. T., Sezer, N., & Koseoglu, B. F. (2006). The effect of pulsed electromagnetic fields in the treatment of cervical osteoarthritis: A randomized, double-blind, sham-controlled trial. *Rheumatology International*, 26(4), 320–324. <https://doi.org/10.1007/s00296-005-0600-3>
- Tange, Y., Kanai, Y., & Saitoh, Y. (2008a). Electromagnetic-thermal analysis of an RF rectangular resonant cavity applicator for hyperthermia targeting deep-seated tumors using a human model with blood flow and fat layer. *Conference Proceedings : ... Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Conference*, 2008, 4368–4371. <https://doi.org/10.1109/IEMBS.2008.4650178>

- Tange, Y., Kanai, Y., & Saitoh, Y. (2008b). Numerical and Experimental Studies on Heating Characteristics of an RF Rectangular Resonant Cavity Applicator for Hyperthermic Treatment of Deep-seated Tumors Using a Human Model Equipped with Conductive Caps. *Thermal Medicine*, Vol. 24, pp. 73–81. <https://doi.org/10.3191/thermalmed.24.73>
- Thompson, M., Brown, R., & Grimberg, B. (2011). *Plasmodium falciparum Response to Oscillating Weak Magnetic Fields*.
- Wah, B. (2008). Finite element method. *Wiley Encyclopedia of Computer Science and Engineering*, 1–12. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470050118.ecse159/full>
- Wang, D., & Eisner, J. M. (2018). Synthetic Data Made to Order: The Case of Parsing. In *Emnlp* (Vol. 1997). <https://doi.org/10.1109/IEEESTD.1998.87897>
- Waples, D. W., & Waples, J. S. (2004). A review and evaluation of specific heat capacities of rocks, minerals, and subsurface fluids. Part 2: Fluids and porous rocks. *Natural Resources Research*, 13(2), 123–130. <https://doi.org/10.1023/B:NARR.0000032648.15016.49>
- Watanabe, K., Arakawa, J., Sibahuji, K., Shindo, Y., Kato, K., Kurosaki, H., & Takahashi, K. (2013). New heating system using resonant cavity applicator with electrical shield for rheumatoid arthritis. *Proceedings of the 2013 International Conference on Electromagnetics in Advanced Applications, ICEAA 2013*, 336–339. <https://doi.org/10.1109/ICEAA.2013.6632249>
- White, N. J. (2004). Sulfadoxine-pyrimethamine for the treatment of malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 85(4), 556–557. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(91\)90261-v](https://doi.org/10.1016/0035-9203(91)90261-v)
- Ashley, E. A. ... White, N. J. (2014). Spread of Artemisinin Resistance in *Plasmodium falciparum* Malaria. *New England Journal of Medicine*, 371(5), 411–423. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1314981>
- WHO. (2011). *World Malaria Report*. Retrieved from http://www.who.int/ith/ITH_chapter_7.pdf
- WHO. (2016). *World Malaria report*. [https://doi.org/ISBN 9789241564106](https://doi.org/ISBN%209789241564106)
- WHO. (2018). World Malaria Report 2018. In *World Malaria Report*. Retrieved from www.who.int/malaria
- Winslow, D. J., & Connor, D. H. (1967). Human malaria. *Medical Times*, 95(6), 593–608. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6042253>
- Wong, D. W.-C., Niu, W., Wang, Y., & Zhang, M. (2016). Finite Element Analysis of Foot and Ankle Impact Injury: Risk Evaluation of Calcaneus and Talus Fracture. *Plos One*, 11(4), e0154435. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154435>
- Wu, T., & Feng, J. J. (2013). Simulation of malaria-infected red blood cells in

- microfluidic channels: Passage and blockage. *Biomicrofluidics*, 7(4), 1–18. <https://doi.org/10.1063/1.4817959>
- Yang, W., Sokhansanj, S., Tang, J., & Winter, P. (2002). Determination of thermal conductivity, specific heat and thermal diffusivity of borage seeds. *Biosystems Engineering*, 82(2), 169–176. <https://doi.org/10.1006/bioe.2002.0066>
- Zielenkiewicz, W., & Margas, E. (2006). Theory of Calorimetry. In *Theory of Calorimetry*. <https://doi.org/10.1007/0-306-48418-8>
- Zimmerman, J. W., Jimenez, H., Pennison, M. J., Brezovich, I., Morgan, D., Mudry, A., Costa, F. P., Barbault, A., & Pasche, B. (2013). Targeted treatment of cancer with radiofrequency electromagnetic fields amplitude-modulated at tumor-specific frequencies. *Chinese Journal of Cancer*, 32(11), 573–581. <https://doi.org/10.5732/cjc.013.10177>

Capitulo VII: Anexos

Glosario

1. **Calor Específico:** La cantidad de energía necesaria para calentar 1 gramo de un material a un grado Celsius.
2. **Calorímetro:** Un instrumento cantidad de calor suministrado o absorbido por un material.
3. **Cavidad Resonante:** Un resonador consistiendo en una estructura metálica cerrada que almacena energía eléctrica y magnética.
4. **Malaria:** Una enfermedad causada por el parásito del genero *Plasmodium*
5. **Modelo de Elemento Finito:** Un análisis numérico basado en ecuaciones diferenciales, consiste en analizar un modelo dividiéndolos en varias partes más sencillas.
6. **Parámetros de dispersión:** Describe el comportamiento de las señales eléctricas dentro de un sistema con relación a la entrada y salida de energía.
7. **rpm:** Revoluciones por minuto.
8. **RPMI:** Medio para crecer cultivo celular.
9. **RPS:** RPMI suplementado con suero humano.
10. **Señales a Radiofrecuencia:** Son campos electromagnéticos con frecuencias entre 30Hz a 300GHz.
11. **Tasa de absorción específica:** La cantidad de energía absorbida por un cuerpo biológico al ser expuestos a ondas de radiofrecuencia.

Presentaciones relacionadas con el estudio

Ngo, K. D., Plazaola, C., González, G., Spadafora, C., & Zambrano, M. (2019). Thermo-Energetic Study in Blood Infected with Plasmodium falciparum radiated at 2.45GHz. *Proceedings of the 49th European Microwave Conference*, 276–279.