

Incidencia de la Hemólisis en el Error del Dosaje en Plasma del Antichagásico Benznidazol

Autores: M. Elena Marson^{*,*}; Solange Giordano^{*}, Guido Mastrantonio^{*,*}; ^{*}DtoCs.Biológicas,FCE(UNLP)/Conicet; ^{*}PlaPiMu-LaSeISic(CIC/UNLP)
emarson@biol.unlp.edu.ar

1. Resumen

El benznidazol (BZN) es el fármaco de primera elección utilizado en los tratamientos para la enfermedad de Chagas, una enfermedad de las denominadas Olvidadas. La disponibilidad de métodos validados para la cuantificación del fármaco en distintos contextos de análisis fue una de las carencias durante mucho tiempo.

Se ha desarrollado y validado un método para la cuantificación de benznidazol en plasma humano. En su aplicación se identificaron limitaciones respecto de los atributos que debieran cumplir las muestras para obtener resultados fiables.

En este trabajo se describe la evaluación sobre la incidencia del grado de hemólisis en el error asociado a la determinación de la concentración de BZN en muestras de plasma humano, según el método descrito. Por análisis ANOVA de un factor, se determinó que los errores relativos en la medida de la concentración de los distintos grados de hemólisis fueron significativos únicamente para el mayor grado de hemólisis.

Palabras clave: Benznidazol-Hemolisis-Chagas

2. Introducción

Los métodos analíticos que deben ser aplicados para el dosaje de fármacos en muestras biológicas están regulados por la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnologías Médicas (ANMAT) mediante varias reglamentaciones. Los parámetros para la validación de un método bioanalítico deben evaluarse según las Disposiciones ANMAT N°2819/04 (anexo XII), N°4844/05 Y N°5040/06. Dichos parámetros incluyen: exactitud, precisión, selectividad, sensibilidad, linealidad, límite de

cuantificación, recuperación y estabilidad o robustez. Sin embargo, para aquellos fármacos que por distintas razones no sean de interés comercial, esta normativa tiene un limitado contexto de aplicación como en el caso de los fármacos destinados al tratamiento de las llamadas Enfermedades Olvidadas.

El BZN es el fármaco de primera elección utilizado en los tratamientos para la enfermedad de Chagas. Si bien fue desarrollado hace más de cuarenta años, su uso como fármaco tripanocida es de naturaleza empírica y existe escaso interés en su investigación y desarrollo por parte de la industria farmacéutica. La enfermedad de Chagas es la enfermedad infecciosa endémica de más impacto sanitario en la Argentina y es considerada emblemáticamente una de las Enfermedades Olvidadas más importantes del continente americano. Durante mucho tiempo, fue una vacancia la disponibilidad de métodos adecuadamente validados para la medición de las concentraciones del BNZ para ser aplicados a estudios clínicos, seguimiento terapéutico o distintos contextos del análisis farmacológico.

Recientemente, los autores han reportado un método desarrollado y validado para la detección y cuantificación por cromatografía de alta performance en fase líquida con detección ultravioleta (HPLC/UV) aplicable a distintas muestras y validada para el dosaje en muestras de plasma humano (Marson et al, 2013). Con este método se han desarrollado diversos estudios farmacológicos (Altcheh et al, 2014; García-Bournissen et al, 2015; Fernández et al, 2016) con el objetivo de mejorar los tratamientos actualmente existentes y avanzar en la resolución de aspectos relacionados con farmacología de la droga que continúan si ser correctamente determinados.

Durante estos estudios se identificaron limitaciones en los atributos que debieran cumplir las muestras para obtener resultados suficientemente fiables. Dichos atributos corresponden a variaciones generadas en la obtención de muestras de pacientes. Es necesario considerarlas puesto que estas variaciones son propias del contexto clínico en que se desarrollan estos estudios, de manera que deben ser

abordados para generar criterios de rechazo de muestras o protocolos que apunten específicamente a considerar dichas variaciones para el reporte final de los resultados.

3. Objetivo del estudio

Evaluar si el error relativo asociado a la medida de la concentración de BZN en muestras de plasma humano es significativamente distinto en muestras con y sin hemólisis detectable al ojo desnudo.

4. Muestras del estudio

Se obtuvieron desde un estudio de bioequivalencia dos lotes de 14 muestras tomadas en distintos tiempos luego de una única dosis fija de BZN para un total de 13 pacientes. Las muestras se clasificaron en cuatro grupos en función del grado de hemólisis que presentaron a ojo desnudo:

Grupo I: muestras sin hemólisis; N total=207

Grupo II: muestras con ligera hemólisis; N total=49

Grupo III: muestras con moderada hemólisis; N total=8

Grupo IV: muestras con abundante hemólisis; N total=7

5. Desarrollo de la evaluación

1) Se realizó test de comparación de dos medias experimentales, para evaluar la homogeneidad de la media de concentración hallada para cada grupo.

2) Se realizó test de ANOVA de un factor, para evaluar el grado de significancia de las varianzas de los errores relativos asociados a la medida de concentración. Para esto se trabajó con el error relativo promedio de cada grupo.

3) Se obtuvieron gráficos con los conjuntos de datos analizados: concentración de BZN vs Erel para cada grupo. Se presenta uno de ellos.

6. Resultados

Se seleccionan los análisis estadísticos, las fórmulas a aplicar y su desarrollo según métodos

descriptos por Miller y Miller (2002). Los datos analizados se especifican en la **Tabla 1**.

Grupo	\overline{BNZ} $\mu\text{g/mL}$	SD	σ^2 BZN	\overline{Erel}	σ^2 \overline{Erel}	N
I	2,021	0,86200	0,74304	0,10764	0,00912	207
II	1,908	0,79094	0,62558	0,11517	0,00799	49
III	2,123	0,71843	0,51614	0,07163	0,00140	8
IV	2,291	1,06131	1,12638	0,22331	0,05800	7

Tabla 1: Parámetros de los grupos evaluados.

\overline{BNZ} : concentración media de BZN; SD: desviación estándar; σ^2 BZN: Varianza de \overline{BNZ} para el grupo. σ^2 \overline{Erel} : Varianza del Error relativo medio para el grupo. N: Tamaño muestral.

Datos adicionales: \overline{Erel} (intergrupos) = 0,12944; varianza (σ_1^2) (intergrupos) = 0,00428

1) Contraste de significación:

En el Test de comparación de dos medias experimentales, se compara la media muestral de cada grupo \bar{X} con presencia de hemólisis (grupos II a IV) respecto del grupo sin hemólisis (grupo I). Se toma como hipótesis nula (H_0) que ambos grupos proporcionan el mismo resultado, es decir $H_0: \mu_1 = \mu_2$, siendo μ_i el valor verdadero (o aceptado) de concentración media. Se necesita probar si $(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)$ difiere significativamente de 0. Cuando no puede probarse que las dos muestras proceden de poblaciones con desviaciones estándar iguales, se calcula el estadístico t y los grados de libertad. Se toma el criterio del programa Excel para ajustar el número que represente los grados de libertad al número entero más próximo al dato obtenido con la fórmula utilizada para dicho fin. Este análisis se describe en la **Tabla 2**.

P	Texp.	Tcrit.	GL	Evaluación
I -> II	0,87	1,64	79,7*	Acepta H_0
I -> III	0,39	1,64	70*	Acepta H_0
I -> IV	0,66	2,45	6	Acepta H_0

Tabla 2: Parámetros para el contraste de significación de medias muestrales.

T crítico: para un P de 0,10 (2 veces 0,05)

P: Prueba de contraste entre grupos

GL: Grados de libertad

Evaluación: Si Texp < Tcrítico \rightarrow Se acepta H_0 ; Si Texp > Tcrítico \rightarrow Se rechaza H_0

* Se toma como valor infinito

De este análisis se desprende que las concentraciones medias de BZN en las distintas poblaciones no son significativamente distintas por lo que se puede hablar de poblaciones homogéneas y es posible evaluar comparativamente los errores relativos de las distintas poblaciones.

2) Análisis de varianza de un factor (ANOVA):

Se evalúa el grado de significancia de las varianzas (σ^2) de los errores asociados a las medidas de concentración. Para esto se trabaja con los errores relativos medios de cada grupo (poblaciones).

El contraste F considera la razón de dos σ^2 muestrales, es decir, la razón de los cuadrados de las desviaciones estándar, entonces $F = \sigma_1^2 / \sigma_i^2$. Los valores σ_1, σ_i , se disponen de modo de que $F \geq 1$, donde σ_1^2 representa a la varianza poblacional intergrupos y σ_i^2 representa a la varianza poblacional intragrupo.

Para probar si es significativa la diferencia entre dos σ^2 muestrales es decir, para probar $H_0: \sigma_1^2 = \sigma_i^2$. El número de grados de libertad del numerador (N) y el denominador (D) son $N_1 - 1$ y $N_2 - 2$, respectivamente.

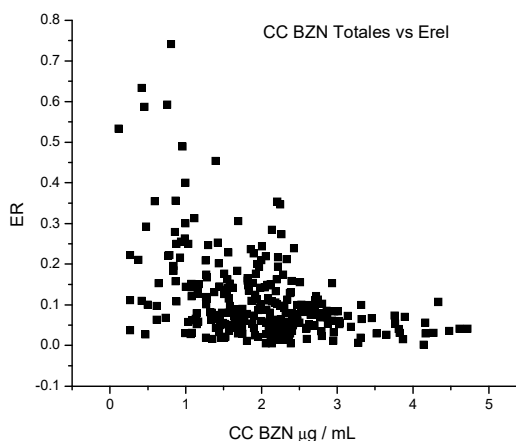
Si la hipótesis nula (H_0) es verdadera entonces la relación de las varianzas debería ser próxima a 1. Las diferencias respecto de 1 se deben a variaciones aleatorias, pero si la diferencia es demasiado grande no se podrá achacar a esta causa. Si el valor calculado F supera un cierto valor crítico (obtenido de tablas), entonces se rechaza la hipótesis nula. El análisis ANOVA se describe en la **Tabla 3**.

G	F	F crítico	$\sigma^2 \overline{\text{Erel}}$	$\overline{\text{Erel}}$	GLN
I	2,13	8,66 (20/3)	0,00912	0,1076 4	206*
II	1,86	8,66 (20/3)	0,00799	0,1151 7	47*
III	3,06	8,88 (7/3)	0,0014	0,0716 3	6
IV	13,5 5	8,94 (6/3)	0,058	0,2233 1	5

Tabla 3: ANOVA de un Factor

G: Grupo hemólisis; **F:** Factor F de σ^2 ; $\sigma^2 \overline{\text{Erel}}$: Varianza del Error relativo medio para el grupo; $\overline{\text{Erel}}$: Error relativo medio. **GLN:** Grados de libertad N (intragrupa) N-2; * se toma el máximo valor que permite la prueba. El grado de libertad intergrupo para todos los casos es de $N - 1 = 3$ dado que son 4 grupos.

Por lo tanto, se acepta la H_0 para los grupos I, II y III dado que $F_{\text{experimental}} > F_{\text{crítico}}$ y se rechaza la H_0 para el grupo IV ya que $F_{\text{experimental}} > F_{\text{crítico}}$.



3) Figura 1: Concentración de BZN vs Error relativo para cada todas las determinaciones.

7. Conclusiones

El contraste de los resultados en cada grupo supone que las poblaciones de donde se extraen las muestras son normales (esto se probó en el punto 1).

La población correspondiente al Grupo IV, definido como de abundante hemólisis, presenta errores relativos a la medida de concentración significativamente distintos que el resto de las poblaciones analizadas, debiéndose aclarar este comportamiento de la medida como parte de los atributos de la robustez del método.

En función de los objetivos de aplicación del método, debe evaluarse la necesidad del rechazo o no incorporación de una muestra del Grupo IV al protocolo de análisis.

8. Referencias

- Altchek J., et al. PLoS Neglected Tropical Diseases **8(5)**: e2907 (2014).
 Fernández M.L., et al. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz **111(3)**:218-221 (2016).
 García-Bournissen F., et al. Archives of Disease in Childhood **100(1)**:90-94 (2015).
 Marson M.E. et al. Therapeutic Drug Monitoring **35**:522-526 (2013).
 Miller J., Miller J. Estadística y quimiometría para química analítica (4ª ed.) Ed. Pearson Educación (2002).

Energía Solar Térmica de Concentración Tecnología de Alto Valor Agregado para la Industria Nacional

Martorelli Luis C.¹, Panaroni Dario², Alvarez Martini Carlos², Corujo Leonardo², Abal Matos Mercedes¹, Mujica Mayra¹, Cervini Federico¹

¹Universidad Nacional de La Plata, ²Comisión de Investigaciones Científicas

lmoptica@yahoo.com.ar

Resumen: El moderno concepto que se aplica hoy a las Energías renovables, por la cual estas deben ser eficiente, limpias y gestionables, tiene su máximo exponente en la Energía Solar térmica de concentración. (ESTC). Desde el año 2012 La Universidad Nacional de La Plata y la Comisión de Investigaciones Científicas de la Pcia de Bs As a través de sus laboratorios LOCE y CEMECA vienen desarrollando varios proyectos de I+D+i en procesos de generación de energía eléctrica y calor de proceso industrial con esta tecnología. En este trabajo se muestran los estudios hechos, sus diseños experimentales, los materiales, métodos y aplicaciones en el campo de plantas solares gestionables y con alto valor agregado para el desarrollo de la industria nacional. La Plataforma Solar de Almería (PSA) Almería España, es el Centro de desarrollo tecnológico para la generación de equipos, tecnologías y referencias normativas para AENOR / ISO. Este Centro a firmado recientemente programas de capacitación y formación de RRHH con la UNLP.

Palabras claves: Plantas Solares, Ópticas de Concentración, Calor de proceso

1.0 Introducción

El Gobierno Nacional ha lanzado el desafío de que la capacidad instalada en Renovables para finales del año 2017, deberá ser del 8 % y para el año 2029 del 20%. Cifras poco probables de alcanzar en las condiciones actuales de lograr importación y nula participación de la industria nacional. La política actual que ha llevado a las licitaciones 2016 y 2017, Ronda 1.0 y Ronda 1.5, ha destinado del orden de 1200 Mw totales, en Energía Solar para el año 2019^[1]. A pesar de este empuje no se esta priorizando el desarrollo mancomunadamente de la Industria nacional, ni la formación académica de nuevos profesionales en estos campos. La ESTC si bien es un campo moderno de desarrollo tecnológico, la industria nacional tendría en estas tecnologías un nuevo campo de evolución, recursos humanos y aplicaciones futuras de amplio valor agregado.

2.0 Objetivos

El presente trabajo tiene como finalidad mostrar los avances que se han hecho en ESTC (UNLP-CIC), que permien actualmente evaluar y determinar los materiales apropiados, los métodos de medición, las falencias en la determinación de solarimetría directa y la evaluación y verificación de tecnología posible para el desarrollo de normas como la ISO 9806/2014 Solar Energy-Solar Thermal Collector-and Test.^[2, 3]

Esta Norma tiene como referencia la ISO 9060; *Solar energy — Specification and classification of instruments for measuring hemispherical solar*

and direct solar radiation, la ISO 9488, *Solar energy — Vocabulary* y la ISO 17025/IRAM 301, *Requisitos técnicos para los laboratorios de ensayos y calibraciones*

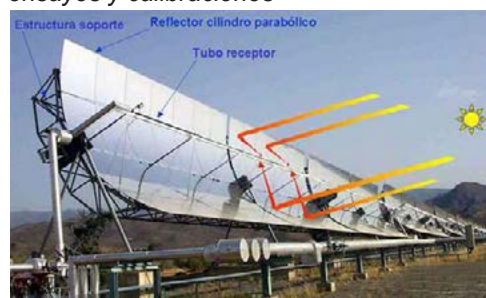


Figura 1. Colector cilíndrico parabólico

La ESTC, se divide en cuatro grandes tecnologías, basados en la óptica de concentración^[4, 5, 6] a- Sistemas de geometría cilíndrica parabólica, b- Sistemas de torre c.- Sistemas facetados de Fresnel y d- parábolas de concentración de foco puntual.



Figura 2. Torre Solar Gemasolar Sevilla 20Mw

3.0 Metodología

Los sistemas de ESTC tiene su punto fundamental en los materiales y geometrías para obtener la mejor y más fina concentración en el denominado plano focal del sistema, este puede ser lineal, o puntual [7, 8, 9, 10].

La ingeniería de diseño de una Planta solar ya sea de Torre o Canal cilíndrico parabólico, para generar 20 Mw de potencia eléctrica a través de un sistema de turbina durante 24 hs, consiste en tres premisas:

1- región de solarimetría que este dentro de los valores estables de 800 a 1000 Wm² (constante solar 1367 Wm²).

2- Un sistema de concentración óptico, que permita además seguir al Sol durante las horas del día es decir radiación directa sobre el plano de concentración.

3- Utilizar como fluido térmico un elemento que sea seguro, nulo contaminante, y que su almacenamiento pueda utilizarse en los máximos periodos de oscuridad existentes en zonas de latitudes bajas, hasta los 35°, generando energía eléctrica durante 10 hs de oscuridad. [9]

4.0 Analisis realizados

Nuestro trabajo, consiste en:

1. Buscar los más aptos diseños ópticos de cónica de revolución
2. Comparar los parámetros de reflexión y transmisión en materiales ópticos
3. Evaluar y analizar curvas térmicas en los planos tridimensionales de los prototipos construidos [2, 3]
4. Evaluar la curvatura, flexión y deformaciones de las ópticas de reflexión
5. Verificar las superficies mecánicas en las monturas de soporte.
6. Aplicar y determinar normativas [2, 3] nacionales e internacionales en la verificación de eficiencia térmica.
7. Efectuar las comparaciones de concentración térmica focal, en función de la época del año
8. Verificar la Energía de concentración en función de la solarimetría local
9. Diseñar plantas solares de pequeño porte con sistemas híbridos para generación eléctrica o calor de proceso [11, 12].
10. Capacitar y formar especialistas en la temática ESTC

5.0 Resultados

Los prototipos construidos, tres sistemas parabólicos de concentración y un cilíndrico lineal, dieron los siguientes resultados.

1. Las superficies de concentración ópticas para temperaturas superiores a 200°C deben ser de cristal reflectivo en segunda superficie.
2. La forma de los cristales debe copiar la geometría de revolución del sistema por curvatura térmica.
3. Para alta concentración se deben utilizar sistemas con seguimiento solar directo
4. El vapor sobre calentado para una turbina roda en los 200°C y 10bar [13].
5. Para la generación de Electricidad las temperaturas de concentración pueden ir desde los 150°C a 1100°C [14].
6. Con sistemas de poco diámetro 1.5m se pueden alcanzar temperaturas focales de 600° C [2, 3].
7. Para zonas de radiación solar por debajo de la media anual de 800Wm², es conveniente utilizar sistemas híbridos, de Cilindros Solares Biomasa (UNLP-CIC)



Figura 3. Prototipo de Concentrador Óptico con motor Stirling Area colectora 12 m² - 5 Kw.

8- Valores nulos de Solarimetría directa en el territorio nacional y pocas áreas cubiertas con radiación global

9- Ambos sistemas, tanto las centrales de torre como los sistemas de cilindros parabólicos pueden adecuarse a plantas solares híbridas.



Figura 4. centrado laser de sistemas opticos concenricos UNLP-CIC.

6.0 Conclusiones

La Primera Planta Solar de Torre de 20 MW, Gemasolar en Sevilla España desde 2012,, entrega vapor sobrecalentado por proceso de concentración solar, generando calor térmico durante 24 hs por sales fundidas.

La República Argentina cuenta con enorme radiación solar en 6 provincias de la zona de Cuyo y del NOA, y con 5 más para la combinación con sistemas híbridos utilizados para la generación de calor de proceso industrial una Planta de generación de 20 Mw de Energía Eléctrica puede ser hoy perfectamente diseñada, desarrollada y construida en un 80% con la Industria nacional. Estas plantas además permitirá descentralizar los actuales polos económicos, industriales y poblacionales creando nuevas economías regionales hasta 1500 Km de la Planta Solar propiamente dicha Como ejemplo detallamos el diseño básico de una Planta Solar para 20 Mw (20.000 habitantes)

- a- Un campo de aproximadamente 350 hectáreas
- b- 250.000 m² de cristal reflectivo en segunda superficie
- c- 320 Km de caños acerados de transporte de fluido térmico
- d- 30.000 Tn de Sales frías (única vez)
- e- 1000 Tn de hierros acerados para soportes
- f- 100 bombas de empuje
- g- Dos tanques de 3000 m³ para sales frías y calientes
- h- Turbina de 20 Mw con vapor sobrecalentado
- i- 2000 personas para el montaje y 400 para su funcionamiento y mantención. De orden de 40 Industrias en obra
- j- Trabajos sistemáticos: limpieza de los cristales, control del seguimiento solar, control de presión y Temperaturas en las cañeras del fluido. Turbina y generación en horas nocturnas
- k- Tiempo de vida útil, del orden de 30 años.
- l- Contaminación nula
- m- Aplicación y verificación de normas en la industria, y en los laboratorios de calibraciones y ensayos bajo ISO 17025/IRAM301 en ópticas, térmicos, eléctricos, vapor y químicos Seguridad industrial e Ingeniería de Diseño

7.0 Bibliografía

- [1] Energía Argentina S.A, Enarsa.
- [2] Martorelli, L. et al. (2013). *Sistemas de Concentradores Ópticos para Energía Solar Evaluaciones Térmicas en Focos Calóricos Tridimensionales*. XXXVIII Jornadas IRAM Universidades.
- [3] Martorelli, L. et al. (2012.) *Análisis y Evaluación de Variables Ópticas en el Desarrollo de Concentradores Solares Ópticos para la Generación de Energía Eléctrica*. XXXVI Jornadas IRAM Universidades.
- [4] *Las Centrales Eléctricas de Colectores Cilíndricos Parabólicos*. Andasol. Documento Solar Millenium de Andasol. España. 2011.
- [5] *Energía Solar Termoeléctrica. Pasos firmes contra el cambio climático*. Documento Greenpace. 2009.
- [6] William B. Stine, Richard B. Diver. *A Compendium of Solar Dish/Stirling Technology*. California State Polytechnic University 1994.
- [7] *EuroDish – Stirling System Description*. Schlaich PS Almería 2003
- [8] Dr. Manuel Romero Álvarez. *ENERGÍA SOLAR TERMOELÉCTRICA*. Plataforma Solar de Almería. 2006.
- [9] Winston R And Enoch J M Spie 1990 *Some Basic Ideas In Concentrators Optics*
- [10] Jorge Lozada San José. *Análisis de un sistema de Disco parabólico con motor Stirling*. Tesina Universidad Carlos III de Madrid. Ingeniería Industrial 2009.
- [11] Jorge Quinteros Grijalva, “*Estudio teórico y experimental de colector solar parabólico para generación de energía eléctrica*”; 2008. Chile.
- [12] Ing. Eduardo Venegas Reyes. “*Sistema para generación y almacenamiento de calor de proceso mediante un concentrador solar de foco puntual*”. 2008. México.
- [13] Dr. Manuel Romero Álvarez (2006). *Energía Solar Termoeléctrica*. Plataforma Solar de Almería.
- [14] José E. Ruelas Ruiza, Nicolás Velázquez Limónb, Ricardo Beltrán Chacónc. “*Diseño de un Concentrador Solar Acoplado a un Motor Stirling Fijo*”. 2011. México