

**CONTRIBUCIÓN A LA OBTENCIÓN DE IMÁGENES
PARAMÉTRICAS EN TOMOGRAFÍA DE
IMPEDANCIA ELÉCTRICA PARA LA CARACTERIZACIÓN DE
TEJIDOS BIOLÓGICOS**

Tesis doctoral presentada en la
Universidad Politécnica de Catalunya
para la obtención del título de doctor

J. Oscar Casas Piedrafita
Director: Dr. Javier Rosell Ferrer

Barcelona, septiembre de 1998

5.1 Introducción

En este capítulo se presentarán los resultados experimentales encontrados con los diferentes métodos de medida de impedancia desarrollados. En primer lugar se mostrarán las medidas monopunto de espectroscopia que han permitido, con medidas *in-vivo* e *in-situ*, la caracterización de los diferentes tejidos y órganos animales, profundizándose más este estudio en el tejido miocárdico. Esta última caracterización se ha completado con la obtención de medidas de impedancia con el sistema de plestimografía, PIEM-3, desarrollado por nuestro grupo de investigación para aplicaciones de cálculo de movimiento de fluidos intra y extracelulares. Este equipo nos ha permitido obtener la evolución temporal de la impedancia a lo largo de un segmento, pudiéndose extraer unas primeras imágenes que representan la evolución temporal de un valor paramétrico en una dimensión lineal. Por último, se presentarán imágenes paramétricas obtenidas a partir de imágenes multifrecuencia de tomografía de impedancia eléctrica, que nos permiten mostrar la evolución de los parámetros espectroscópicos de los cambios relativos de impedancia en una sección.

5.2 Aplicación médica de las medidas de espectroscopia de impedancia eléctrica. Caracterización del tejido miocárdico.

La aplicación médica llevada a cabo más relevante de la espectroscopia de impedancia eléctrica ha sido la caracterización del tejido miocárdico. Este trabajo ha sido realizado en colaboración con el Laboratorio A de Cardiología Experimental del Hospital General Universitari del Vall d'Hebron, dirigido por el Dr. Joan Cinca. El objetivo de esta acción conjunta ha sido la caracterización del miocardio, principalmente durante la isquemia aguda, utilizando la espectroscopia de impedancia eléctrica. Los primeros resultados encontrados por nuestro grupo de investigación fueron presentados por Bragós en el año 1997 (Bragós, 1997; Cinca *et al.*, 1997a). Estos datos son completados en este trabajo con el estudio de la variabilidad de la evolución isquémica del tejido miocárdico para diferentes sujetos, en medidas *in-vivo*, así como con la parametrización, tanto en frecuencia como en tiempo, de las medidas para la optimización del factor de diferenciación respecto al miocardio sano. Así mismo, este estudio se ha completado con la caracterización del miocardio en dos circunstancias nuevas: cuando el tejido miocárdico se ha transformado en tejido conjuntivo, después de aproximadamente un mes de haberse producido la oclusión, formándose lo que se denomina una cicatriz y en el estudio de la recuperación de las propiedades pasivas del miocardio después de realizar una reperfusión posterior a una oclusión de tiempo variable.

5.2.1 Materiales y métodos

Para la realización de estos experimentos se ha utilizado el analizador de impedancias HP4192A con la etapa frontal descrita en el capítulo segundo. El esquema es el que se observa en la figura 5.1.

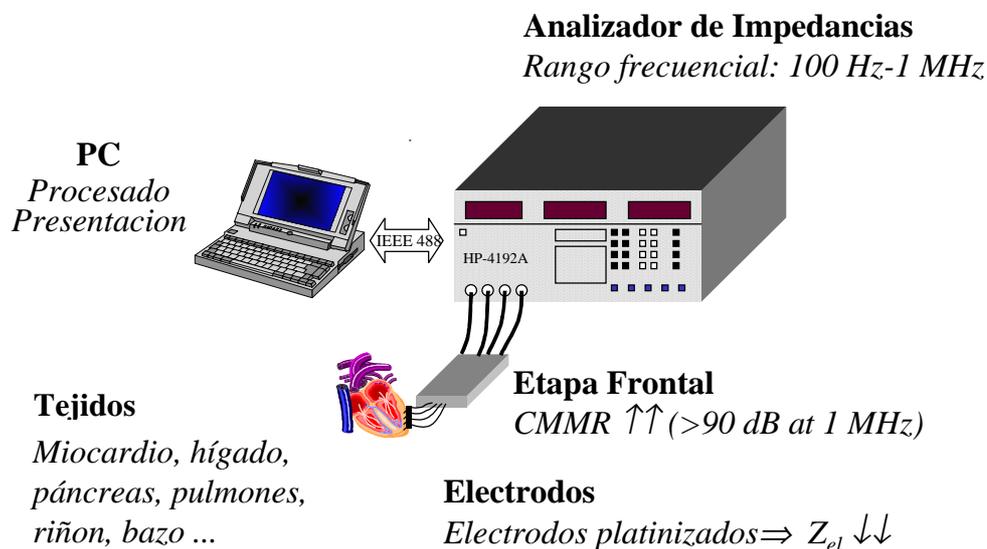


Figura 5.1 Esquema del sistema de medida de espectroscopia de impedancia eléctrica

La medida se realiza utilizando 4 electrodos transmurales de platino de 5 mm de longitud, 0.4 mm de diámetro y con una separación de 2.5 mm (fig. 5.2). Estos electrodos están montados sobre una base aislante que es suturada en el miocardio por sus extremos. La conexión entre los electrodos y la etapa frontal se realiza mediante cables flexibles de 25 cm de longitud, siendo cables coaxiales los de los electrodos inyectores. Esta etapa frontal, a su vez, está conectada al sistema mediante cables coaxiales (RG/174-U) de 1.5 m de longitud. La dimensión de los electrodos ha sido elegida para optimizar el compromiso existente entre las reducidas dimensiones, que son necesarias para medir el tejido cardíaco sin errores debido a la presencia de sangre dentro de la cavidad miocárdica (Fallert, 1993), y las dimensiones grandes necesarias para disminuir la impedancia de los electrodos. Además, como se ha comentado en el capítulo segundo, se ha depositado platino sobre los electrodos mediante un ataque electroquímico. Este proceso aumenta la rugosidad y por tanto el área efectiva del electrodo, consiguiendo una disminución de al menos un factor de 10 en la impedancia de electrodos (fig. 5.3). Con estos electrodos se han podido realizar las medidas en el margen frecuencial de 100 Hz a 1 MHz.

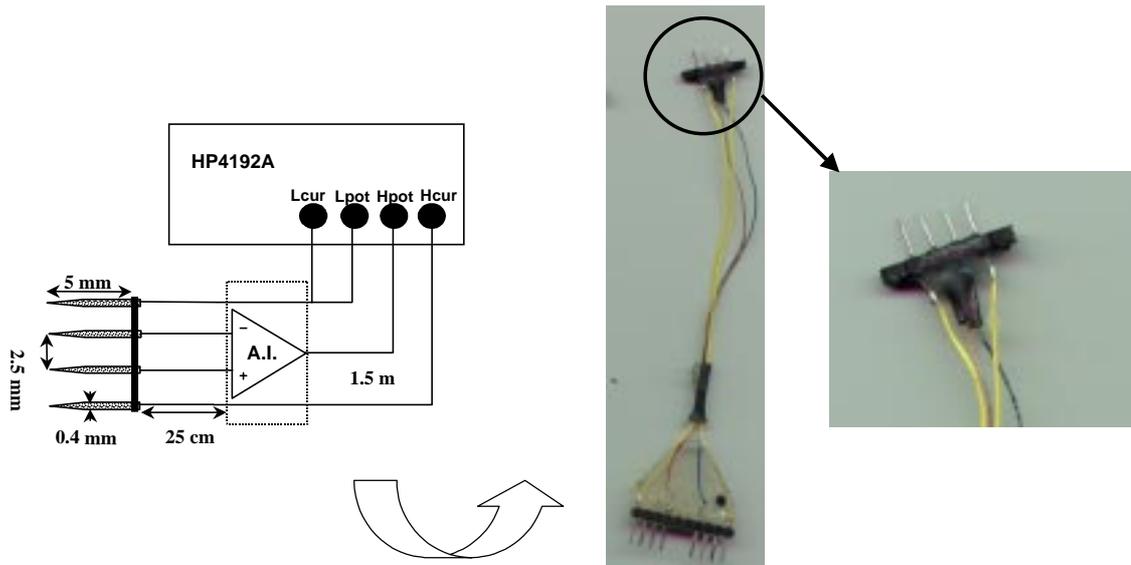
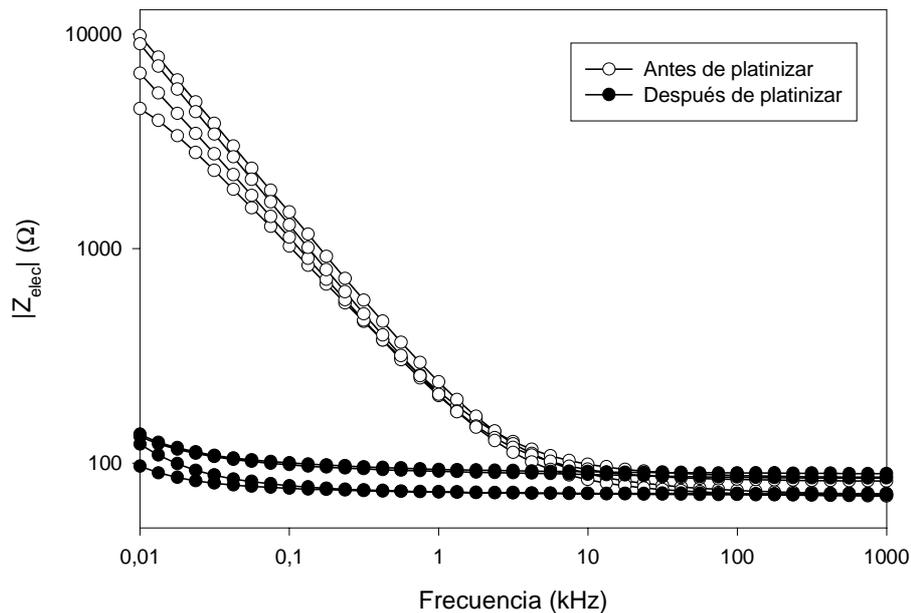


Figura 5.2 Esquema de los electrodos utilizados en las medidas de espectroscopia

El software de control está desarrollado mediante el programa LabWindows CVI (Yañez, 1997) de la casa National Instruments y permite el control del analizador de impedancias HP4192a y la adquisición y representación de las medidas (Bragós *et al.*, 1996a,1996b). La calibración de los resultados se realizará, como se comentó en el capítulo segundo, mediante el método de tres referencias. En los experimentos de isquemia esta calibración es importante por la gran variación que sufren los valores de impedancia a lo largo del tiempo.



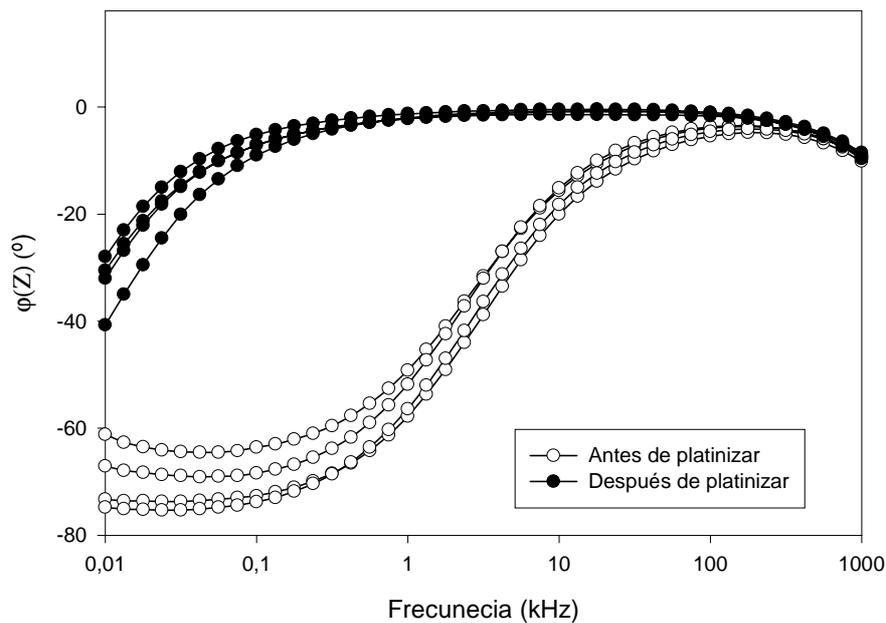


Figura 5.3 Comportamiento frecuencial de la impedancia de los electrodos con y sin platinización.

5.2.2 Resultados experimentales sobre medidas in-vivo.

Se han utilizado cerdos (25-45 kg) del tipo híbrido comercial anestesiados con α -cloralosa: 100 mg/kg iniciales seguidos de una perfusión continua de 25 mg/kg/min. Estos animales han sido ventilados artificialmente (ventilador TransPac 5K257) con una concentración de oxígeno del 41%. Para dejar al descubierto el corazón se les practica una esternotomía media, separándose el pericardio y procediéndose a su suturación en los bordes de la esternotomía para un mejor acceso al corazón. Todos los experimentos han sido aprobados por los comités éticos de la institución donde han sido realizados y por la leyes internacionales que rigen esta experimentación.

La suturación de los electrodos se realiza en el ventrículo izquierdo y en concreto en la futura área isquémica. Además, en algún experimento se ha suturado otro electrodo de iguales características en una zona no isquémica, para ser utilizado como control. (fig. 5.4)

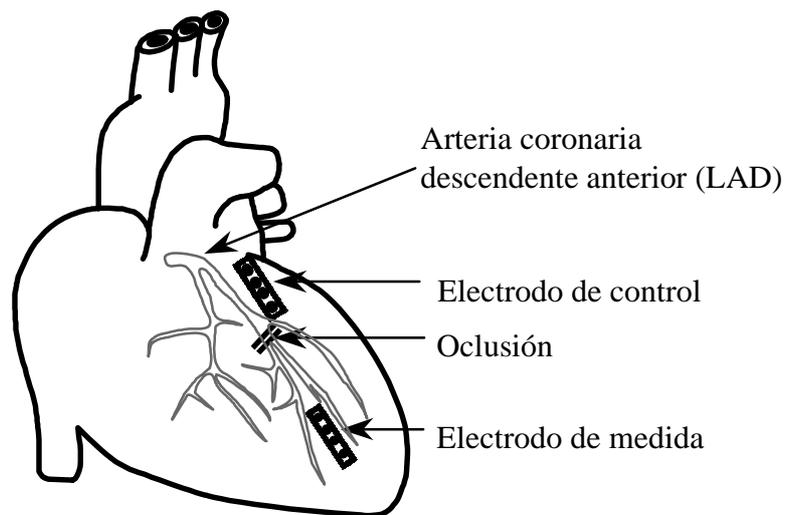


Figura 5.4 Posición de los electrodos de medida en el ventrículo izquierdo del corazón

Para provocar el infarto, que dará lugar a la zona isquémica, se realiza una oclusión en la arteria coronaria descendente anterior (LAD) mediante la utilización de una sutura Prolene 5/0 en la zona indicada en la figura 5.4. Se registran medidas basales antes de realizar la oclusión durante 5-10 minutos, y 150 minutos después de dicha oclusión. Estas medidas se realizan en el margen frecuencial de 100 Hz a 1 MHz, midiéndose 8 valores, logarítmicamente espaciados, en cada década.

Un factor que podría provocar una gran variabilidad en las medidas es la anisotropía presente en los tejidos musculares en general. Sin embargo, aunque ésta está presente en el tejido miocárdico, dada su estructura multicapa, en la que los músculos puede tener una dirección predominante diferente, y el efecto integrador de área que se consigue con el tamaño de los electrodos escogidos y la corriente inyectada, este efecto no se ve reflejado en nuestras medidas, quedando por debajo de su resolución. Esto ha sido comprobado experimentalmente con la realización de medidas en diferentes zonas del miocardio variando la dirección de los electrodos respecto a las fibras.

Una vez adquiridos los valores de impedancia se realiza un promediado de 5 muestras en las medidas in vivo para eliminar el efecto de cambios temporales rápidos provocados por el latido del corazón. Esta información no nos interesa si lo que se quiere es caracterizar la evolución espectroscópica de las impedancias. Sin embargo, se ha comprobado que este rizado está íntimamente relacionado con la movilidad del corazón, pudiéndose extraer a partir de él información acerca de la evolución de la contractibilidad en este tejido.

5.2.3 Caracterización de la isquemia miocárdica.

Los resultados que se presentan en este apartado se han realizado sobre 12 cerdos diferentes. De éstos, en únicamente 7 casos se ha podido completar con éxito el experimento. En los otros 5 casos se ha producido la muerte del animal al no poderse recuperar después de producirse una fibrilación ventricular, normalmente en la fase arrítmica Ib de la isquemia. El análisis histológico del corazón ha demostrado que estos animales padecían una hipertrofia aguda en la pared miocárdica, (fig 5.5), que les impedía alcanzar el flujo mínimo de sangre para poder recuperarse de estas etapas de fibrilación.



Figura 5.5 Corte transversal de miocardio hipertrofico.

En primer lugar se presentarán los resultados de forma cualitativa ayudados de un caso típico, para pasar posteriormente a cuantificar estos resultados mediante el estudio comparativo de los siete casos diferentes.

Si se representa la evolución en el tiempo del espectro de frecuencia (fig 5.6) se observa que el efecto de la isquemia en el comportamiento frecuencial de la impedancia tiene dos fases diferenciadas. En una primera, que se produce al mismo tiempo que la denominada fase Ia en la evolución de la arritmia, se caracteriza por un incremento de la relajación existente a alta frecuencia, alrededor de los 300 kHz, que es la que caracteriza al tejido sano. Esta fase suele durar entre 20 y 30 minutos. A continuación se produce una segunda fase que desde el punto de vista del espectro conlleva la aparición de una nueva relajación a baja frecuencia, alrededor de los 5 kHz, esta fase está íntimamente relacionada con la fase de arritmias Ib, provocada por el cierre de las denominadas *gap junctions* (Frangi, 1997), que permiten la

comunicación entre miocitos. Se produce entonces un crecimiento de ambas relajaciones, más acentuado en la de baja frecuencia, hasta que alrededor de los 100 minutos se llega al máximo. A partir de este instante la evolución es o bien a mantener los valores de impedancia de las dos relajaciones o bien a comenzar una disminución de dichos valores.

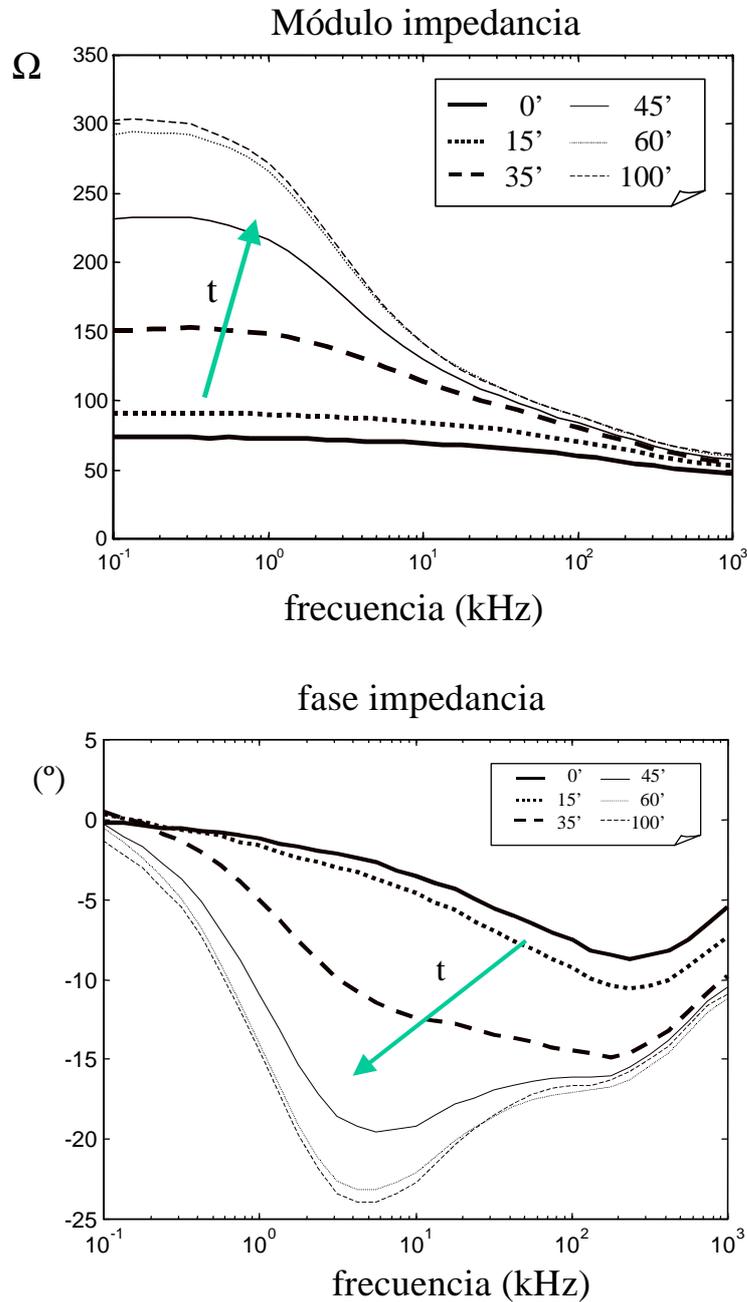


Figura 5.6 Evolución temporal del comportamiento frecuencial de la impedancia del tejido miocárdico isquémico

En la figura 5.7 se muestra la evolución temporal de la impedancia para tres frecuencias típicas, 1 kHz, que es la frecuencia utilizada normalmente por la bibliografía en estudios temporales de isquemia (Fallert,1993), 10 kHz que va ligada a la aparición de la primera relajación, y 300 kHz que representa la evolución temporal de la relajación de alta frecuencia.

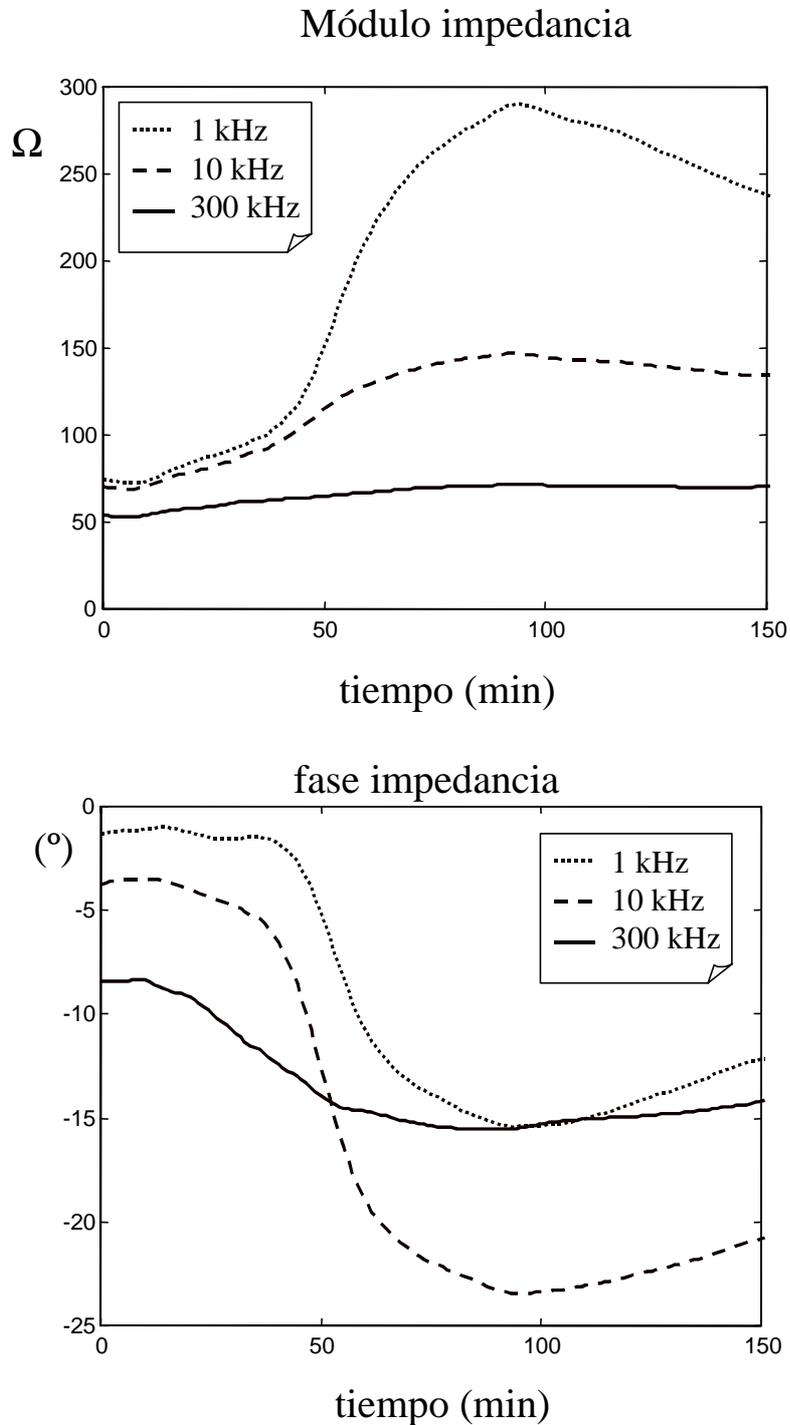


Figura 5.7 Evolución temporal de las impedancias a 1 kHz, 10 kHz y 300 kHz.

A la hora de seleccionar en la representación temporal qué magnitud, módulo o fase, y qué frecuencia permiten una mejor caracterización de la evolución isquémica nos hemos fijado en dos puntos: la sensibilidad de la magnitud representada a los cambios producidos en la isquemia y la facilidad para separar las fases I y II de la evolución isquémica. Desde el punto de vista de sensibilidad, para el módulo, la frecuencia óptima es la de 1 kHz, mientras que para la fase es la de 10 kHz. Estas dos magnitudes, como puede observarse en la figura 5.8 aportan la misma información, teniendo una mayor sensibilidad la fase a 10 kHz.

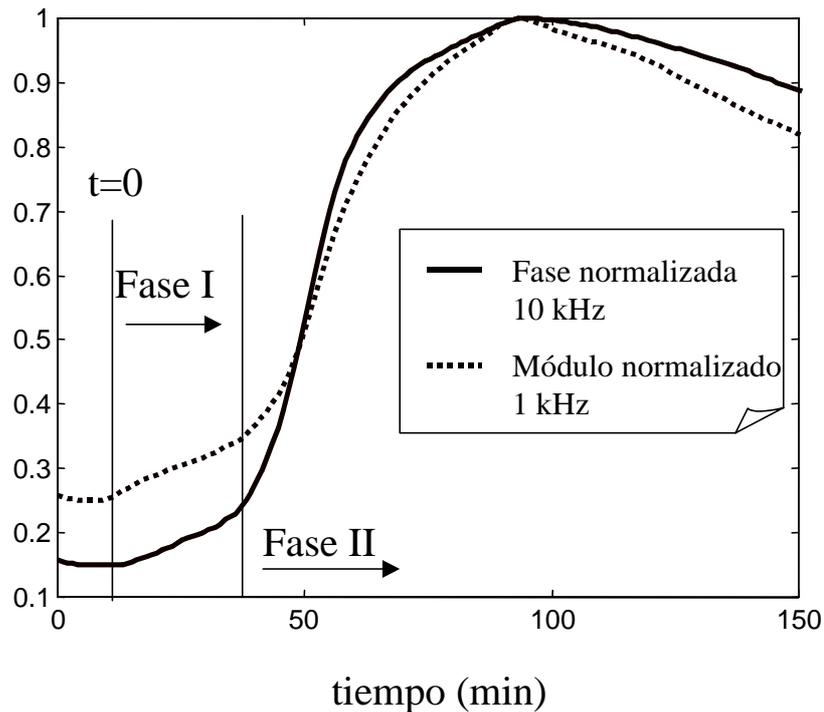


Figura 5.8 Comparación temporal del módulo a 1kHz y la fase a 10 kHz.

En cuanto a la diferenciación entre la fase I y la fase II, donde aparece la relajación de baja frecuencia, estas dos magnitudes se comportan de forma similar. En la evolución temporal de la fase, gráfica 5.7, se observa que esta magnitud a 1 kHz es la que permite con más facilidad el cálculo del instante temporal en que empieza la fase II. Sin embargo, como se verá en el siguiente punto, con los parámetros de la modelización de Cole-Cole es posible cuantificar este tiempo de forma más precisa.

En una aplicación clínica no se dispondrá de la evolución temporal de la impedancia de los pacientes que hayan sufrido una isquemia miocárdica, por lo que si lo que se pretende es poder diferenciar a partir de una única medida el grado de isquemia es mejor trabajar en el dominio frecuencial que en el dominio temporal, ya que la aparición de la relajación de baja frecuencia nos proporciona una herramienta robusta a la hora de diferenciar el tejido miocárdico sano del tejido isquémico.

Otras formas de caracterizar la isquemia es la representación de la evolución tiempo-frecuencia de la impedancia medida a través de los espectrogramas de módulo y fase, (Bragós, 1997) o mediante el estudio de la evolución de los parámetros del modelo de Cole-Cole que ajusta su comportamiento (Casas *et al.*, 1998) (Fig. 5.9)

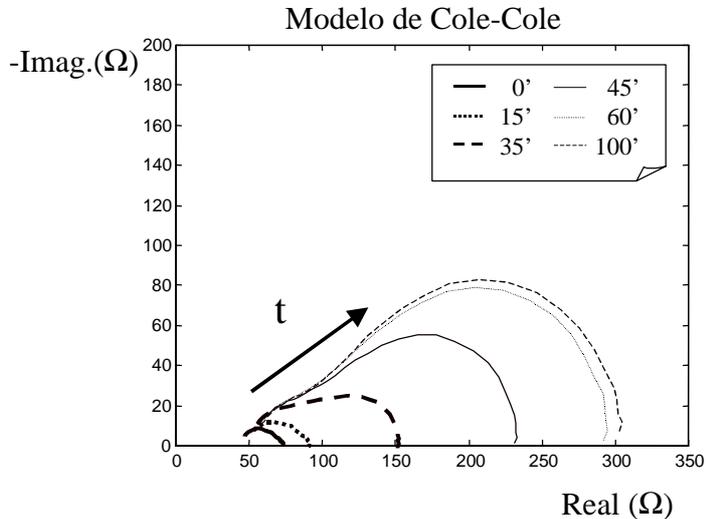


Figura 5.9 Evolución temporal de los arcos del modelo de Cole-Cole

Si se plantea la parametrización de las medidas de impedancia mediante el modelo de Cole-Cole de dos arcos, ésta puede expresarse como

$$Z = R_{\infty T} + \frac{\Delta R_1}{1 + \left(j \frac{f}{f_{c1}} \right)^{(1-\alpha_1)}} + \frac{\Delta R_2}{1 + \left(j \frac{f}{f_{c2}} \right)^{(1-\alpha_2)}}$$

donde $R_{0T} = R_{\infty T} + \Delta R_1 + \Delta R_2$. Las evoluciones temporales de estos parámetros se muestra en las figuras 5.10, 5.12 y 5.13.

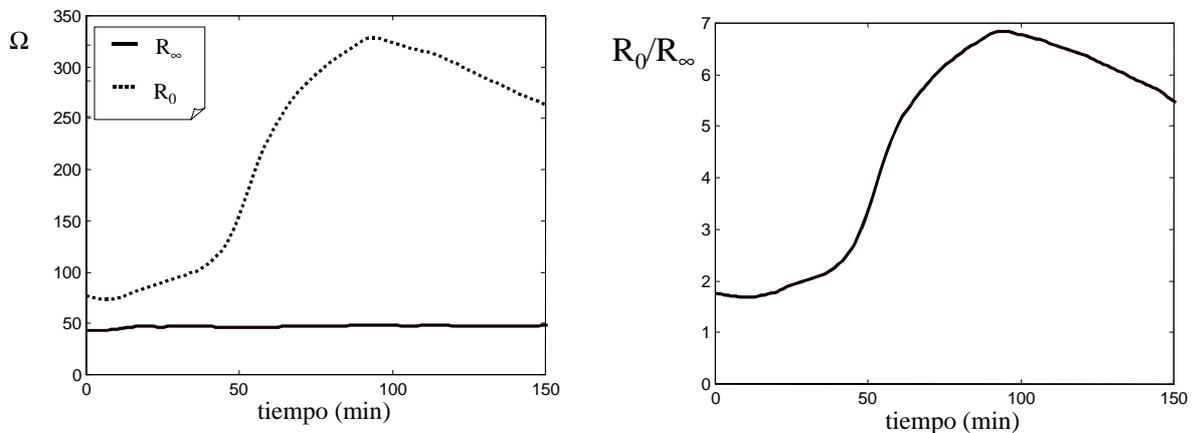


Figura 5.10 Evolución temporal de los parámetros R_{∞} y R_0 del modelo de Cole-Cole

La evolución del parámetro R_0 nos permite extraer la misma información que se obtenía con la evolución temporal del módulo a 1 kHz o la fase a 10 kHz, siendo la sensibilidad muy similar a la del módulo a 1 kHz (fig. 5.11). Además, como el porcentaje de cambio de la alta frecuencia es mínimo, este mismo comportamiento se observa en la relación R_0/R_∞ (fig 5.10). La utilización de este parámetro conlleva dos ventajas: al ser una medida ratiométrica, es insensible al cambio relativo debido al aumento o disminución de la temperatura y por otro lado esta relación es uno de los parámetros que es posible extraer mediante las imágenes paramétricas, por lo que la información que aporta sería posible extraerla con un sistema de tomografía de impedancia eléctrica dinámico multifrecuencia.

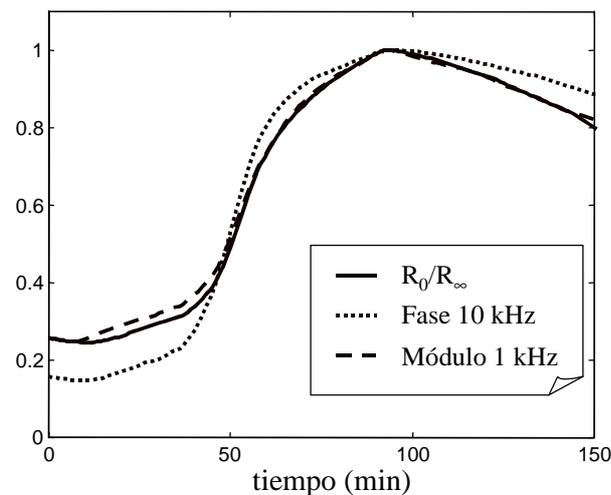


Figura 5.11 Comparación temporal del módulo normalizado a 1 kHz, la fase normalizada a 10 kHz y la relación R_0/R_∞ normalizada

Si se quiere extraer una información más precisa de los cambios que se producen en la medida de la impedancia debidos a cada una de las relajaciones, pudiéndose por tanto calcular de forma más precisa cuándo empieza la fase II es mejor utilizar los parámetros ΔR_1 y ΔR_2 , que muestran la evolución por separado de ambas (fig. 5.12)

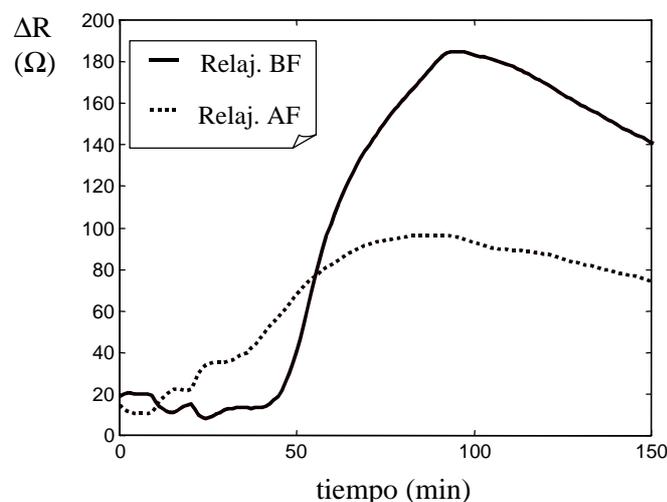


Figura 5.12 Evolución de los parámetros ΔR_1 y ΔR_2 del modelo de Cole-Cole

En cuanto a la evolución del resto de parámetros se ha encontrado que las frecuencias centrales de ambas relajaciones disminuyen a medida que avanza la oclusión, sufriendo un cambio relativo importante (fig. 5.13). Esto hace que estos sean unos buenos parámetros a la hora de diferenciar el tejido isquémico del sano. Los coeficientes de dispersión α son los parámetros que menor variación presentan en los diferentes experimentos realizados, por lo que no serán utilizados como elementos de diferenciación.

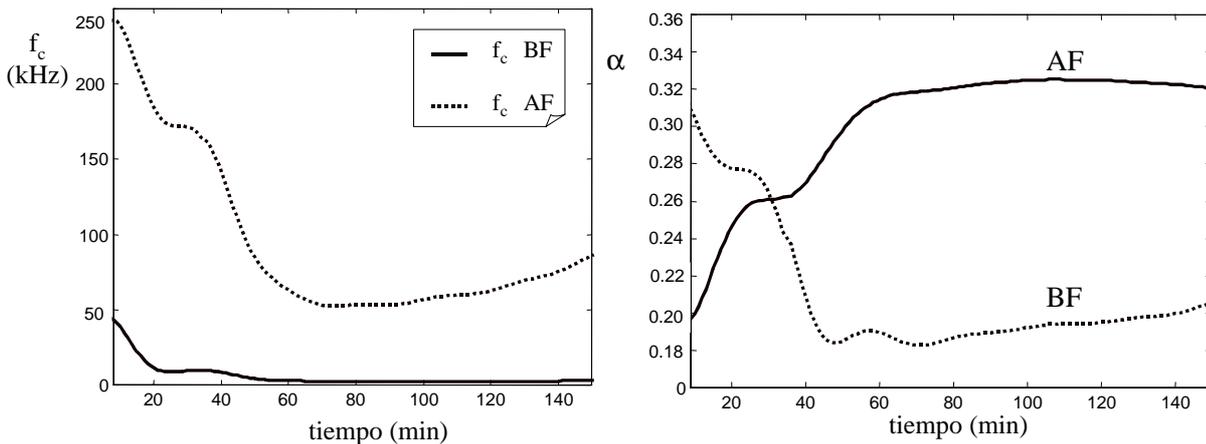


Figura 5.13 Evolución temporal de los parámetros f_{c1} , f_{c2} , α_1 y α_2

A partir de estas medidas es posible extraer asimismo un modelo circuital que intente describir los cambios fisiológicos ocurridos durante la isquemia (Bragós, 1997), (Gersing *et al.*, 1995). Esto es posible realizarlo a partir de las ecuaciones que relacionan los parámetros de Cole-Cole y dichos modelos circuital y que han sido presentadas en el capítulo segundo.

Más difícil es intentar relacionar las medidas con cambios fisiológicos. Parece, como ya se ha comentado, que la aparición de la relajación a baja frecuencia coincide con la fase de arritmias Ib y esto nos permite relacionar este hecho con el cierre de las *gap junctions* que permiten la comunicación celular. Sin embargo, no queda tan claro que esta relajación sea directamente el efecto sobre la impedancia de este hecho, ya que se podría estar midiéndose algún proceso indirecto, pudiendo ser la causa de aparición de esta relajación el desplazamiento de otra de más baja frecuencia (Riu *et al.*, 1996b), (Gersing *et al.*, 1995).

Para extraer los valores que nos permitan caracterizar de una forma cuantitativa este proceso se ha realizado un estudio estadístico, presentando la media y la desviación standard halladas para los siete experimentos realizados. En las figuras 5.14, 5.15 y 5.16 se muestra la evolución del módulo y de la fase para las frecuencias de 1 kHz, 10 kHz y 300 kHz.

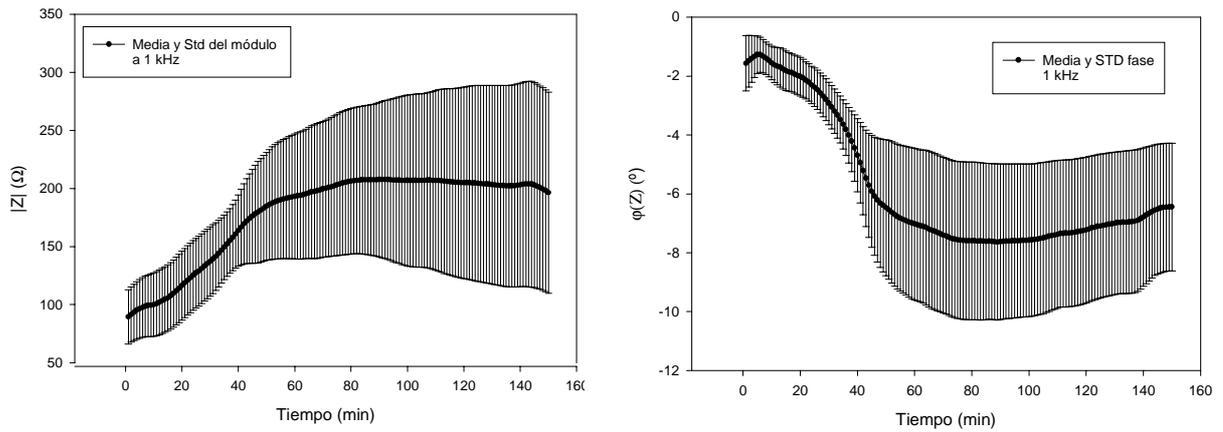


Figura 5.14 Representación de la media y desviación standard de la evolución temporal a 1 kHz

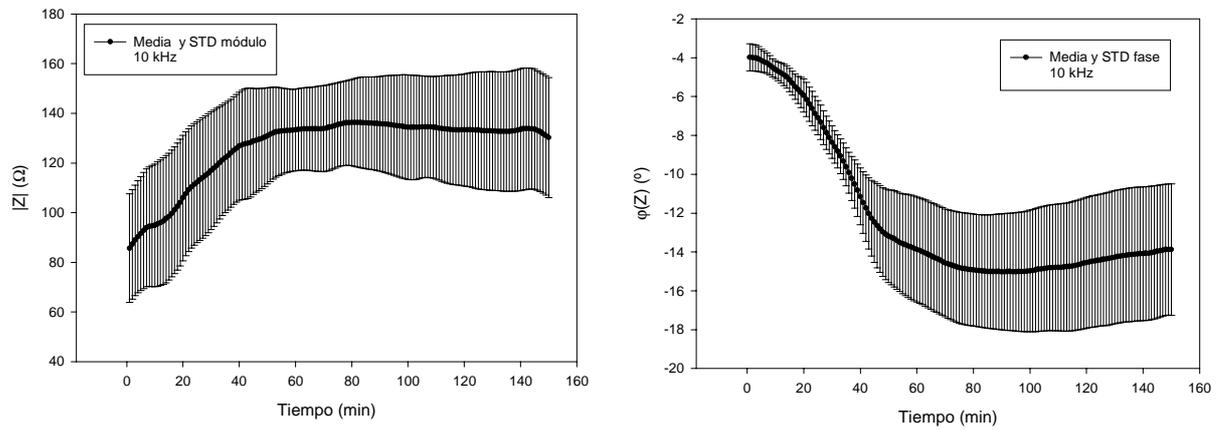


Figura 5.15 Representación de la media y desviación standard de la evolución temporal a 10 kHz

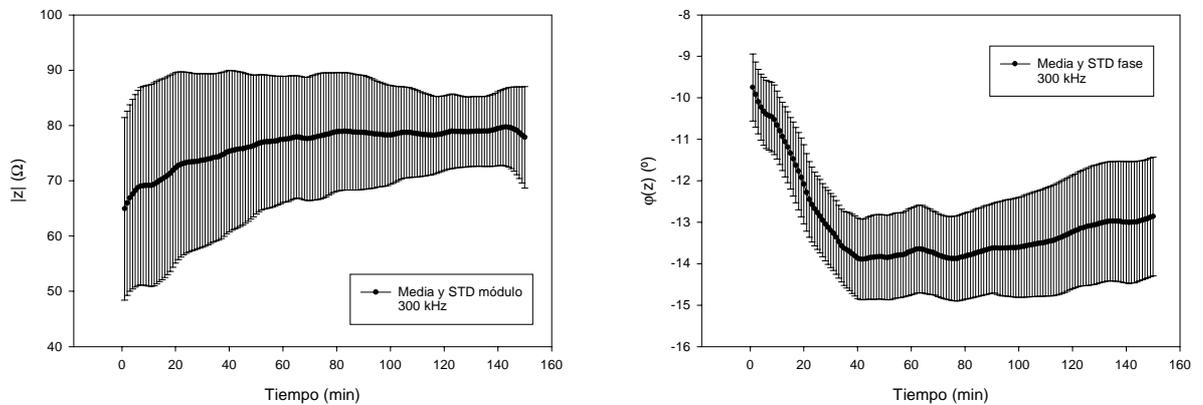


Figura 5.16 Representación de la media y desviación standard de la evolución temporal a 300 kHz

La media de la repuesta temporal se comporta de la misma forma que mostraba el ejemplo primero. Sin embargo, a partir del valor medio de los diferentes casos es más difícil la extracción de los valores de los tiempos que caracterizan las diferentes fases en la evolución de las dos relajaciones presentes en el tejido miocárdico. Esto es debido al reflejo, en los tiempos característicos de las relajaciones, del hecho de que el grado de isquemia conseguido en el área del corazón medida ha variado en cada experimento. Por tanto, la caracterización de dichas relajaciones se realizará a partir de los parámetros ΔR_1 y ΔR_2 , extraídos del modelo de Cole-Cole. Haciendo una comparación de las medias se confirma que la frecuencia de 1 kHz no es la más sensible para la medida de la evolución isquémica sino que ésta corresponde a la frecuencia de la relajación que surge alrededor de los 5-10 kHz, y en concreto a la evolución de su fase (fig 5.17).

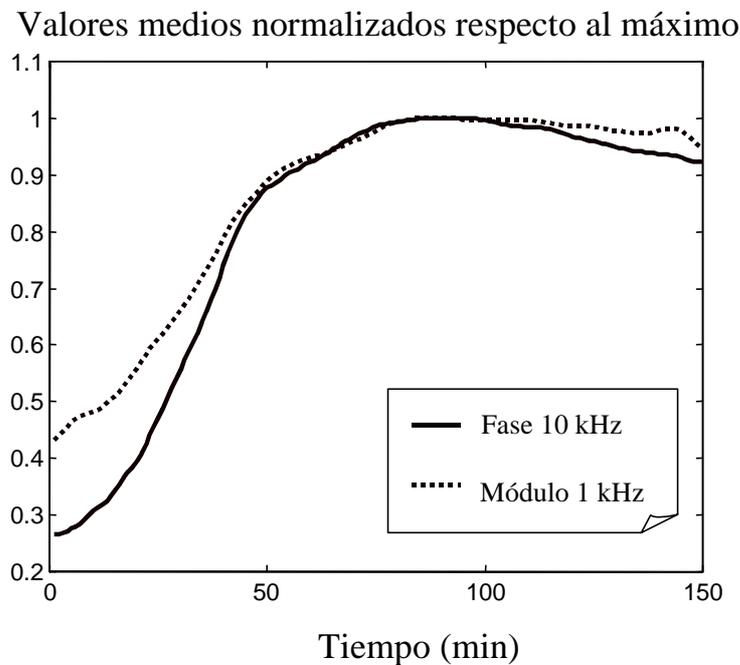


Figura 5.17 Comparación de sensibilidad para la fase a 10 kHz y el módulo a 1 kHz

Asimismo se han calculado la media y la desviación standard en los valores de la respuesta frecuencial para medidas basales y 15, 35, 60 y 100 minutos después de la oclusión, obteniéndose los resultados que se muestran en las figuras 5.18, 5.19, 5.20 y 5.21.

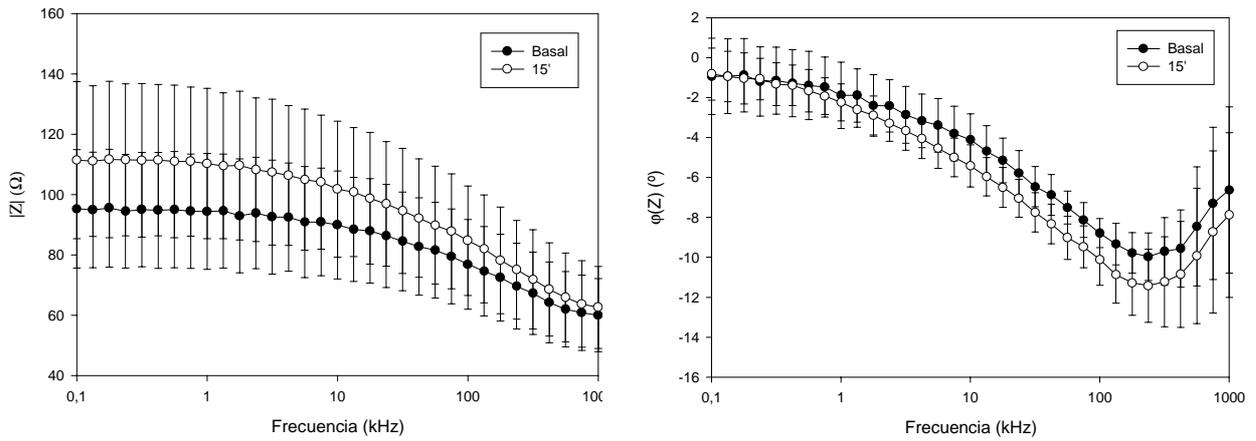


Figura 5.18 Media y desviación standard del comportamiento frecuencial de la Z con 15' de oclusión

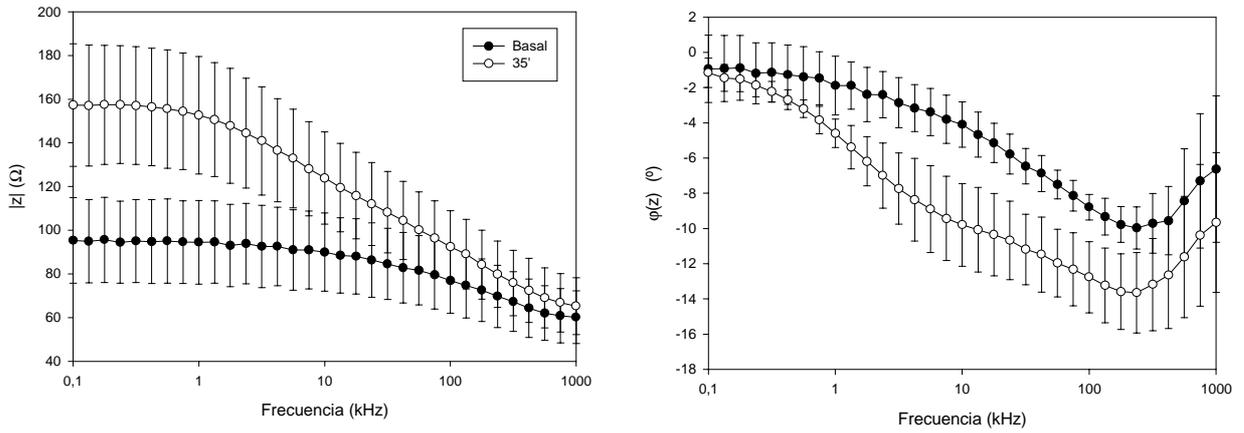


Figura 5.19 Media y desviación standard del comportamiento frecuencial de la Z con 35' de oclusión

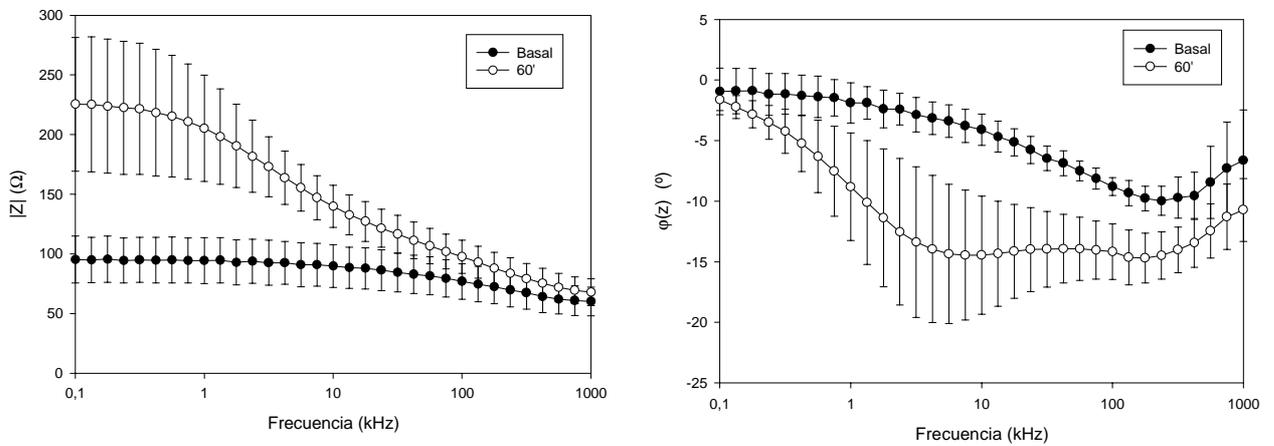


Figura 5.20 Media y desviación standard del comportamiento frecuencial de la Z con 60' de oclusión

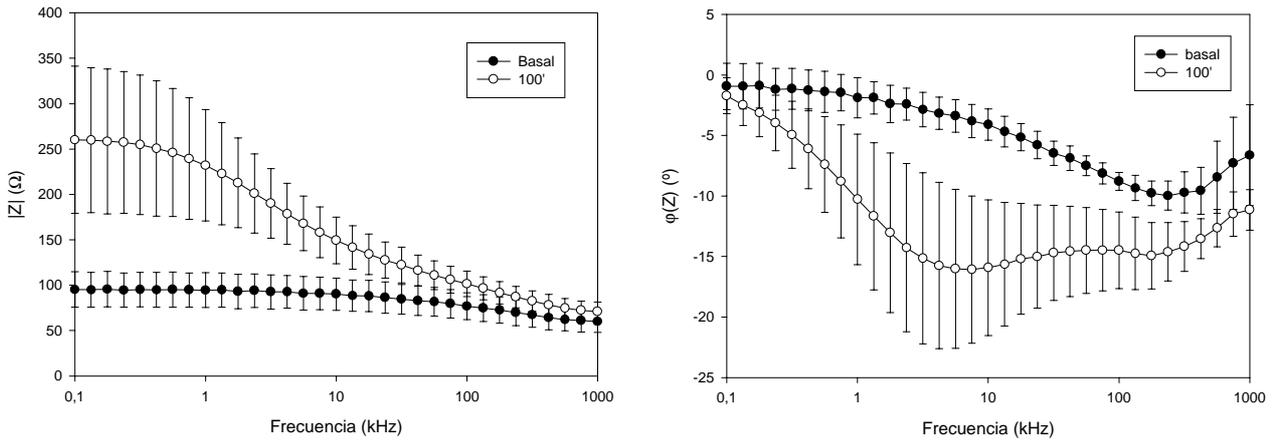


Figura 5.21 Media y desviación standard del comportamiento frecuencial de la Z con 60' de oclusión

Las zonas que tienen una mayor desviación standard son en el módulo, la zona de más baja frecuencia, y en la fase, las frecuencias que abarca la relajación que aparece con la isquemia. Esto se ha comprobado que es debido al diferente nivel isquémico provocado en la zona de medida por la oclusión de la arteria coronaria en los distintos experimentos. Por el mismo motivo en las medida *post-mortem* los resultados tienen menores desviaciones standard (fig 5.22).

A partir de estas figuras es posible concluir que la medida del espectro de frecuencia permite diferenciar entre tejido sano e isquémico, siendo los parámetros que permiten esta diferenciación el módulo a baja frecuencia, la relación de módulos a baja y alta frecuencia, el incremento de fase a 300 kHz y el incremento de fase a 5 kHz (figuras 5.23 y 5.24).

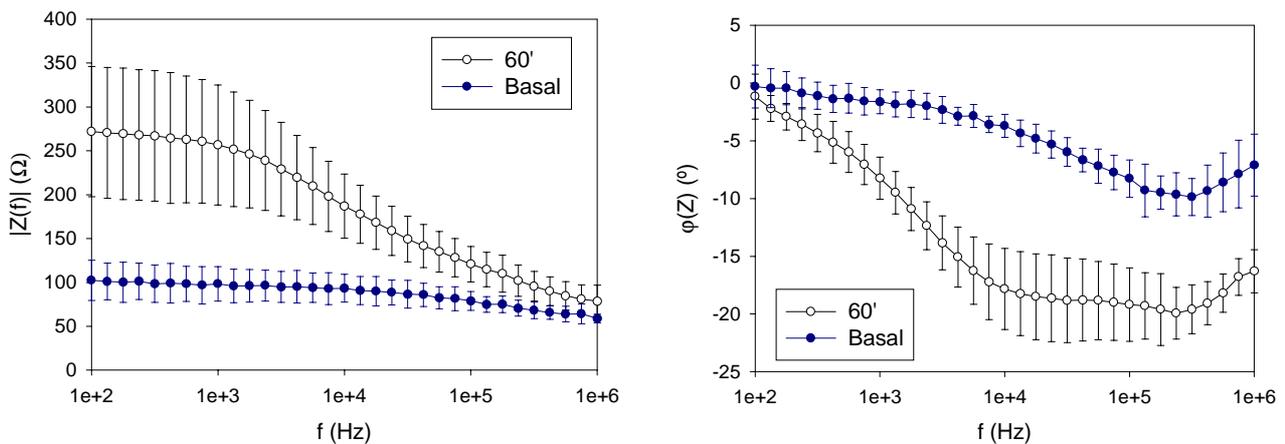


Figura 5.22 Media y desviación standard de la Z basal y 60' después de la oclusión para 4 experimentos post-mortem

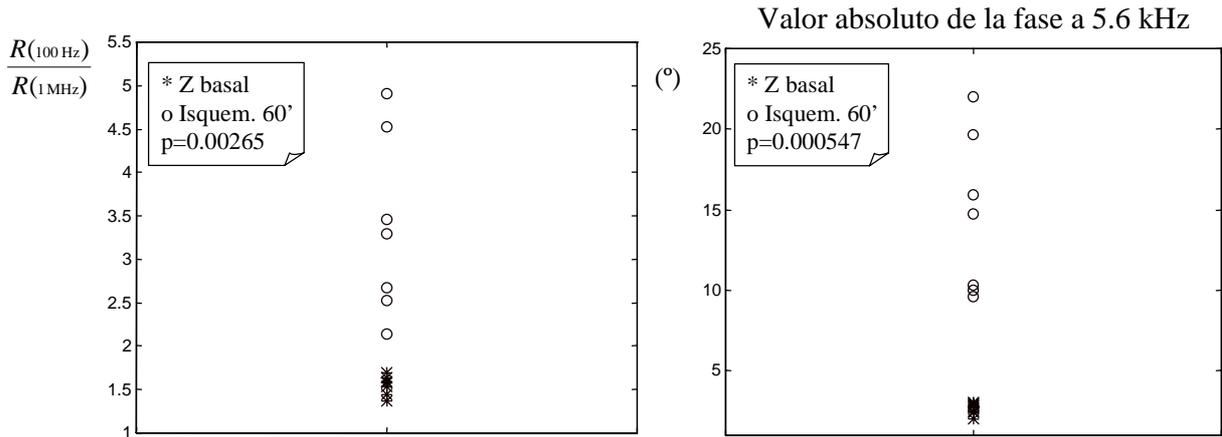


Figura 5.23 Distinguibilidad de miocardio isquémico y miocardio sano con la fase a 5,6 kHz y la relación de módulos a alta y baja frecuencia

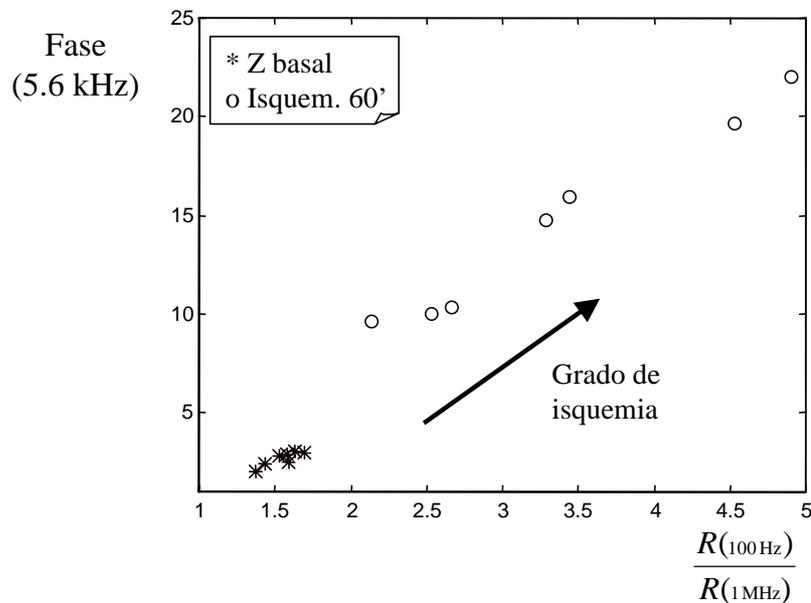


Figura 5.23 Distinguibilidad de miocardio isquémico y miocardio sano en el espacio bidimensional formado por la fase a 5,6 kHz y la relación de módulos a alta y baja frecuencia

Aunque estos dos parámetros aportan la misma información (fig.5.23), es la fase la que permite una mayor diferenciación entre las medidas para el miocardio isquémico y el sano (fig.5.22).

Al igual que en el primer caso, se ha analizado los resultados de aplicar los modelos de Cole-Cole a nuestras medidas. Para ello se han calculado las medias y las desviaciones standard de los diferentes parámetros, encaminado sobre todo este estudio hacia la consecución de los mejores parámetros para la diferenciación de los tejidos.

En primer lugar, en la tabla 5.1 se muestra la estadística hallada para los diferentes parámetros, así como el cálculo realizado para el tiempo de inicio de la fase II mediante los parámetros ΔR_1 y ΔR_2 .

| | Impedancia basal (media \pm STD) | Impedancia Isquémica (60') (media \pm STD) |
|-----------------------------|--|--|
| R_{0T} (Ω) | 95,5 \pm 26,3 | 237,3 \pm 64,3 |
| $R_{\infty T}$ (Ω) | 52,3 \pm 11,2 | 62,2 \pm 12,7 |
| $R_{0T}/R_{\infty T}$ | 1,8 \pm 0,4 | 4,3 \pm 0,9 |
| f_{c1} (kHz) | 16,8 \pm 6,6 | 3,7 \pm 2,1 |
| f_{c2} (kHz) | 188,4 \pm 14,1 | 71,5 \pm 26,7 |
| Inicio fase II (min) | 27,8 \pm 3,3 | |

Tabla 5.1 Resultados estadísticos para los parámetros del modelo de Cole-Cole de 2 arcos

Se han mostrado los valores para estos parámetros ya que son los óptimos para la diferenciación de los tejidos, tal como se muestra en las figuras 5.24 y 5.25

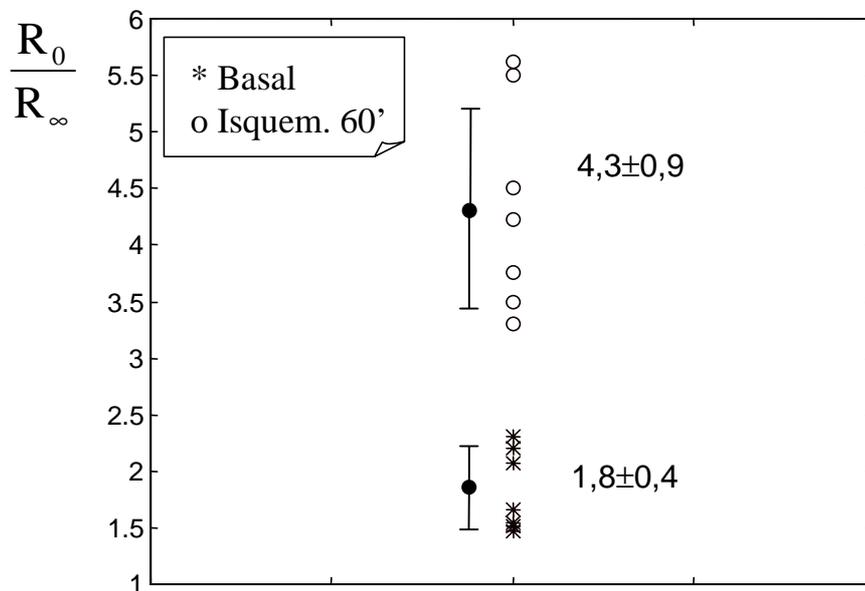


Figura 5.24 Diferenciación de tejidos mediante la relación $R_{0T}/R_{\infty T}$

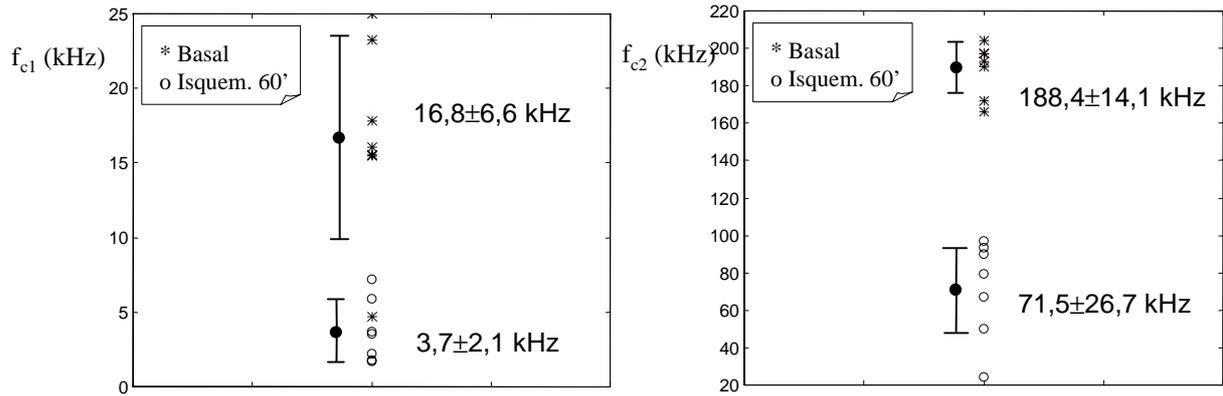


Figura 5.25 Diferenciación de tejidos mediante la variación de las frecuencias centrales de relajación

La aplicación del modelo de Cole-Cole de dos arcos nos ha proporcionado tres parámetros robustos para la diferenciación de los tejidos, sin embargo, en el desarrollo de algoritmos para la obtención de imágenes paramétricas, presentado en el capítulo tercero, sólo se desarrollaron métodos de ajuste a modelos de un sólo arco. Por esto, es interesante saber si realizando la aproximación de un sólo arco somos capaces de realizar la misma diferenciación.

Si se aplica el modelo de un sólo arco a los datos del primer ejemplo presentado se obtienen los siguientes resultados

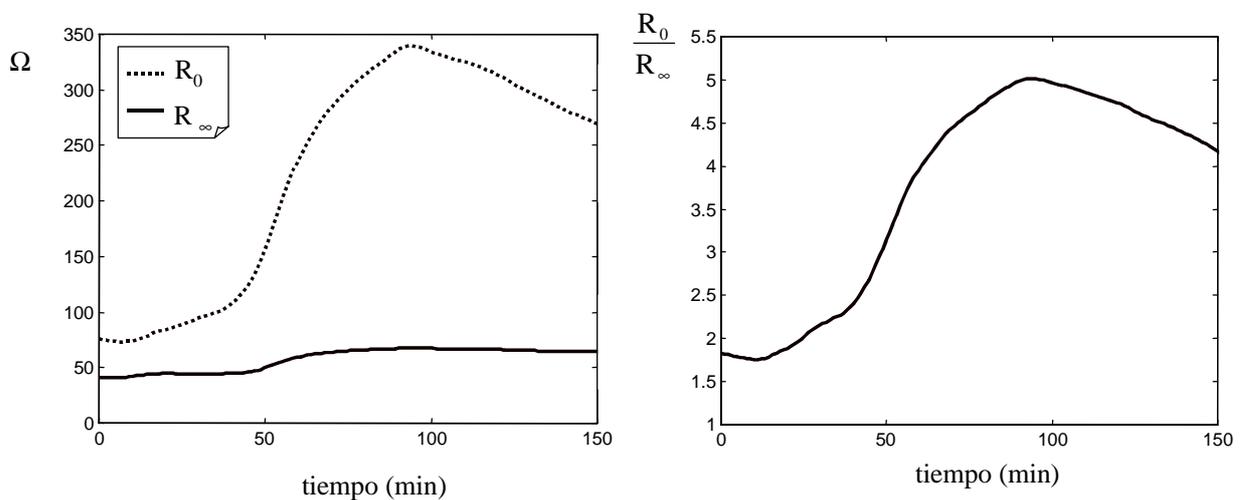


Figura 5.26 Evolución de R_0 y R_∞ para la aproximación con un modelo de Cole-Cole de un sólo arco

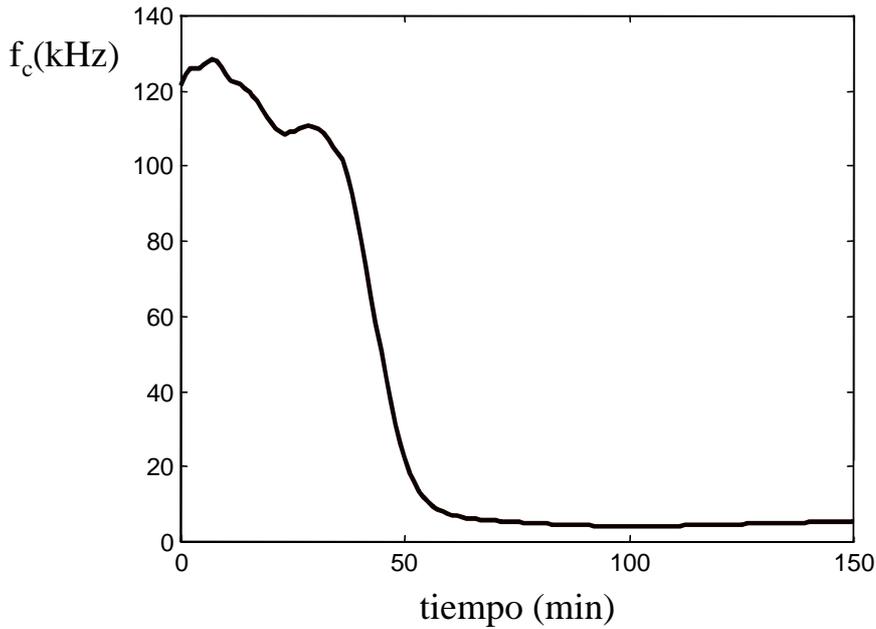


Figura 5.27 Evolución de la f_c para un modelo de Cole-Cole de un arco

Como se observa, los parámetros, R_0/R_∞ y f_c , se siguen comportando como dos buenos factores para realizar la diferenciación entre tejidos, aunque sus valores se han visto reducidos, como muestra la figura 5.28 realizada con los datos sobre siete experimentos

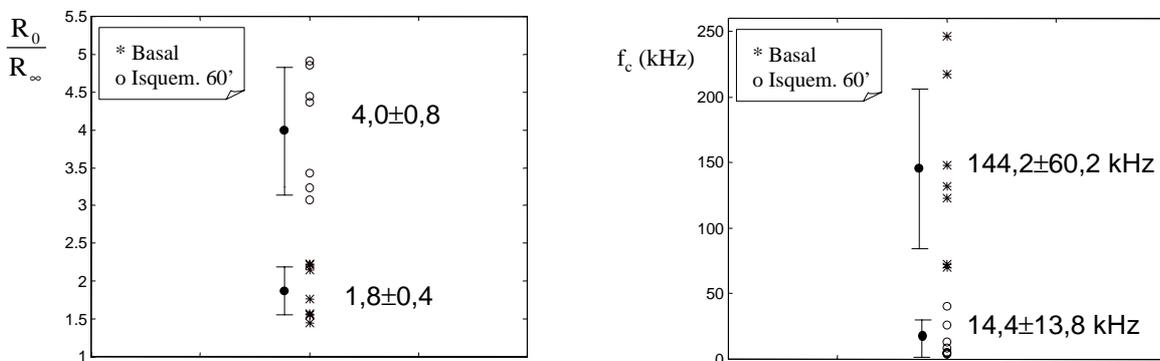


Figura 5.28 Diferenciación del tejido miocárdico sano e isquémico, mediante los parámetros R_0/R_∞ y f_c del modelo de Cole-Cole de una relajación

5.2.4 Caracterización de la cicatriz de miocardio

Una isquemia en una región del miocardio provoca, sino no hay recuperación del tejido, la muerte de las células al no poder realizar las funciones metabólicas básicas. Esto acaba provocando la destrucción de sus membranas y la descomposición del tejido muscular miocárdico. Como repuesta aparece en su lugar un tejido de granulación que posteriormente es sustituido por un tejido conjuntivo colágeno que forma la cicatriz. Al carecer de células musculares esta zona miocárdica reduce sensiblemente su tamaño. (fig 5.27)

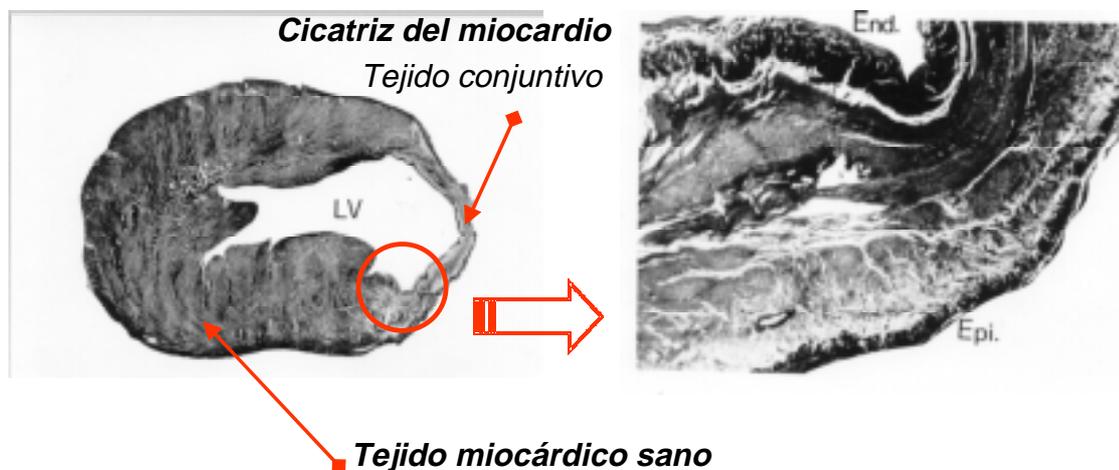


Figura 5.27 Diferenciación fisiológica entre cicatriz y tejido miocárdico sano

Actualmente la detección de regiones de cicatriz en tejido miocárdico se está realizando mediante estudios de absorción de isótopos radiactivos y de contractibilidad, mediante técnicas de gammagrafía e imágenes mediante ultrasonidos. La aplicabilidad, por tanto, de la técnica de impedancias, puede ser por su sencillez un avance importante en este campo.

Para este estudio se han utilizado 5 cerdos, a los que previamente se les había realizado una ligadura en la arteria coronaria anterior. El tiempo transcurrido entre la realización de esta ligadura y el estudio ha sido de 1 mes, tiempo suficiente para la formación de la cicatriz. Las medidas se han realizado con el mismo sistema y en las mismas condiciones que las del apartado anterior, utilizando un margen frecuencial de 1 kHz a 1 MHz debido a la utilización de electrodos no platinizados. A causa de la impedancia más elevada de estos electrodos han aparecido errores en las medidas, sobre todo en la fase a baja frecuencia.

Los resultados se muestran de forma comparativa con el miocardio sano y el miocardio isquémico en la gráfica 5.28. Como se observa la impedancia de la cicatriz no sufre variación alguna con la frecuencia, hecho lógico si se piensa que es un tejido que carece de células

vivas. Su valor óhmico es inferior al que se obtiene en la medida del miocardio sano o isquémico, siendo similar al obtenido en la sangre, aunque sin presentar la relajación que esta última presenta a unos 2-3 MHz (fig 5.29), hecho que permite su diferenciación. Este tejido cicatrizal, de baja impedancia, permite, sin embargo, la transmisión de pulsos de corriente y de cambios en el potencial del segmento ST de la señal de electrocardiografía cuando se produce una isquemia en una zona miocárdica adyacente (Cinca *et al.*,1997b,1998).

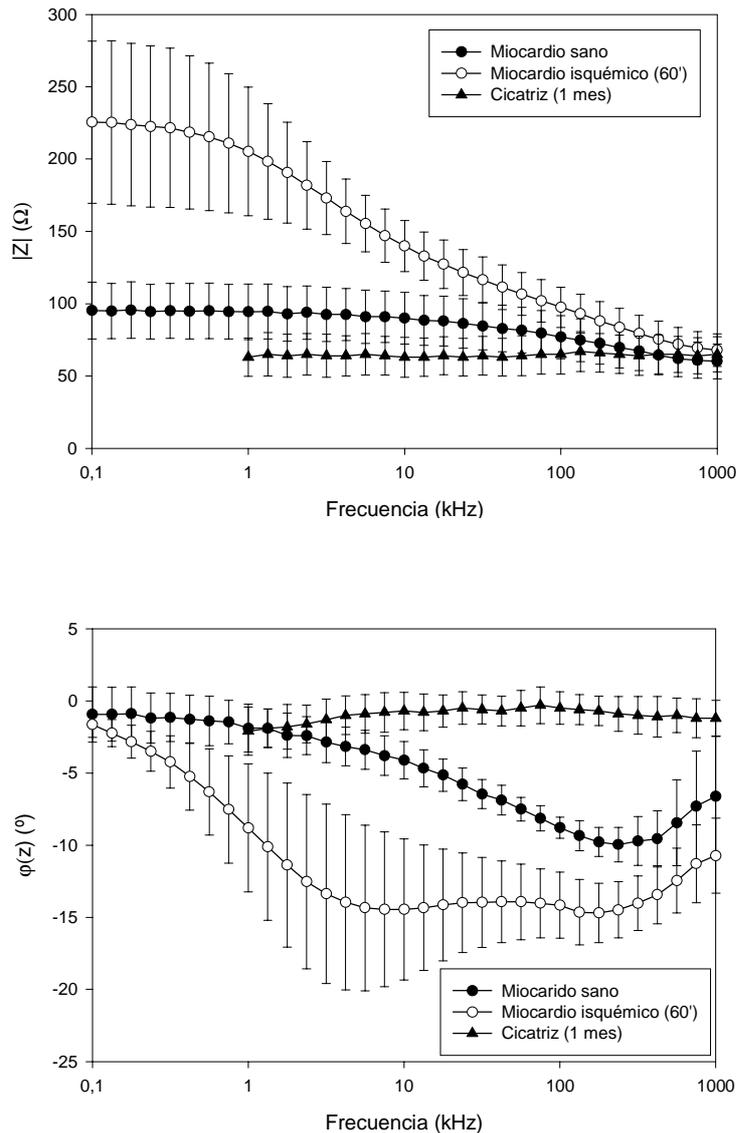


Figura 5.28 Diferenciación frecuencial entre tejido miocárdico sano, tejido isquémico (60') y cicatriz.

Estos datos demuestran que a partir del comportamiento frecuencial es posible realizar la diferenciación entre los tres casos de tejido miocárdico. Esto se puede realizar a partir de la fase a 5 y 300 kHz, así como de la relación del módulo a alta y baja frecuencia (fig 5.30)

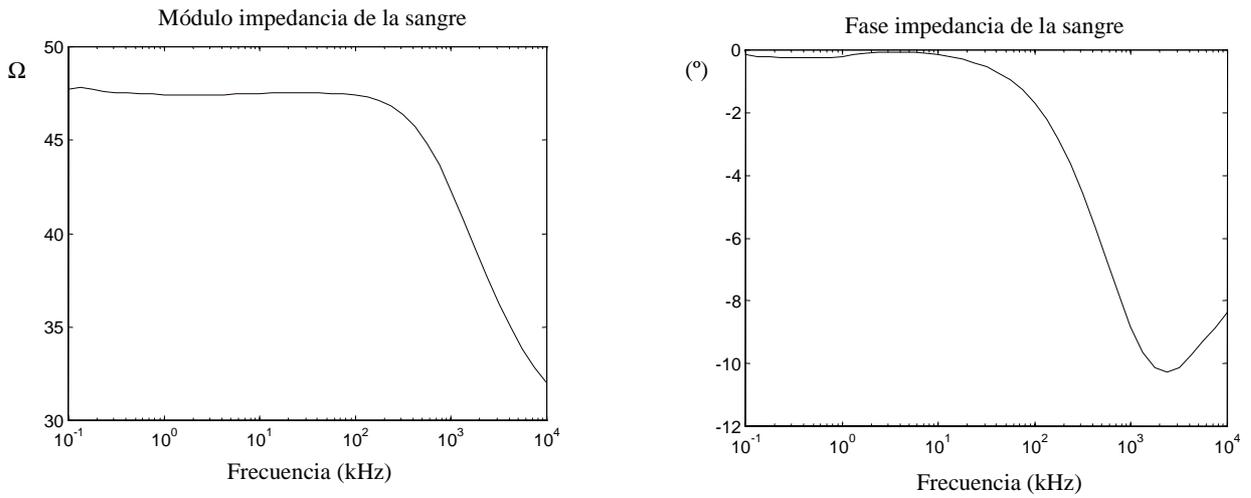


Figura 5.29 Comportamiento frecuencial de la sangre

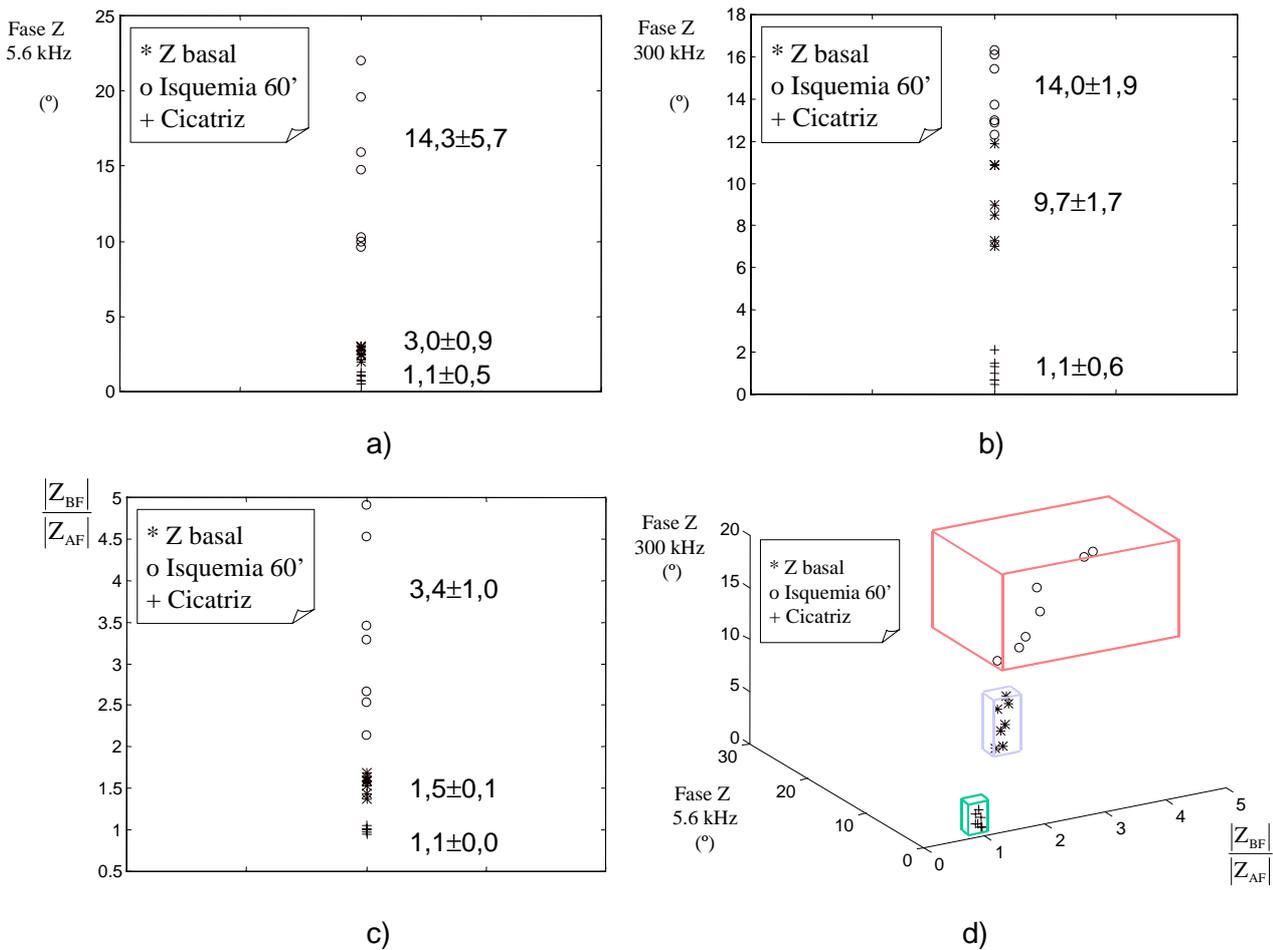


Figura 5.30 Diferentes parámetros para la diferenciación del tejido miocárdico sano, isquémico y cicatriz a) diferenciación mediante la fase a 5,6 kHz b) fase a 300 kHz c) relación de módulos a baja y alta frecuencia d) Separación espacial de los tres parámetros

De las dos magnitudes medidas, fase y módulo, es la fase la más robusta para la diferenciación del tejido cicatrizal del resto del miocardio, tal como se demostró en (Tresánchez *et al.*, 1997). La fase a la frecuencia de 5 kHz (relajación de baja frecuencia) nos permite diferenciar claramente el tejido isquémico de los otros dos, siendo la fase a 300 kHz (relajación de alta frecuencia) la que complementa esta diferenciación, separando el tejido sano de la cicatriz. Estos dos factores pueden ser complementados con la relación de módulos a baja y alta frecuencia, que permite aumentar aún más la separación entre los tres casos. Además esta relación tiene como ventaja la posibilidad de trabajar con ella en tomografía de impedancia eléctrica, mediante la utilización de imágenes paramétricas.

Es posible extraer un factor, F_D , que permite diferenciar las tres situaciones a partir del producto de estas tres magnitudes. El hecho de no utilizar magnitudes normalizadas hace que las fases tengan un mayor peso en este factor que la relación de módulos. Esto es positivo ya que son las fases las que nos dan una mayor diferenciación.

La variación de este factor con los resultados experimentales encontrados, utilizando las medias y desviaciones standard de los diferentes grupos de medidas, es la que se refleja en la tabla 5.2. A partir de estos resultados los umbrales de diferenciación podrían ser los siguientes: a) cicatriz si $F_D < 5$, b) miocardio sano si $5 < F_D < 150$ y c) miocardio isquémico si $F_D > 150$.

| $F_D = \text{Fase}_{5 \text{ kHz}} (^{\circ}) \cdot \text{Fase}_{300 \text{ kHz}} (^{\circ}) \cdot \frac{ Z_{BF} }{ Z_{AF} }$ | | |
|---|-------------|------|
| Miocardio isquémico | Media + STD | 1400 |
| | Media | 680 |
| | Media -STD | 250 |
| Miocardio sano | Media + STD | 71 |
| | Media | 29 |
| | Media -STD | 23 |
| Cicatriz | Media + STD | 2.7 |
| | Media | 1.2 |
| | Media -STD | 0.3 |

Tabla 5.2 Valores experimentales hallados para el factor diferenciador de tejido miocárdico sano, isquémico y cicatriz.

5.2.5 Caracterización del tejido miocárdico reperfundido

En una isquemia miocárdica provocada por la oclusión de una arteria puede ocurrir que al cabo de un tiempo, de forma espontánea o bien forzada, se consiga liberar esta oclusión provocándose una reperfusión del tejido. Dependiendo del tiempo que haya durado la oclusión, el miocardio puede o no recuperar su correcto funcionamiento según el porcentaje de células muertas, debido a la oclusión o al efecto dañino que también provoca la reperfusión.

Nuestro interés se centrará, en este apartado, en el estudio de la posible aplicación de la medida de impedancia eléctrica en la caracterización del estado en que queda el miocardio con posterioridad a un proceso de oclusión y reperfusión. Para ello se han estudiado sobre cerdos diferentes tiempos de oclusión (15, 35 y 75 minutos). El tiempo de reperfusión ha sido en todas ellas de 180 minutos. Las medidas de impedancias se han completado con medidas de contractibilidad, presión, electrocardiografía y un estudio fisiológico que ha permitido cuantificar el porcentaje de células recuperadas en la reperfusión. El margen frecuencial utilizado en estas medidas de impedancia ha sido de 1 kHz a 1 MHz.

El hecho de estar monitorizando al mismo tiempo más de una magnitud física con equipos que poseen conexiones a tierra a conllevado que nuestras medidas se hallan visto afectadas con la aparición de relajaciones "ficticias" que han impedido la obtención de correctas medidas absolutas, teniéndose que realizar la caracterización con el estudio de los cambios relativos de la impedancia. Para validar estas medidas relativas se ha realizado un experimento en el que únicamente se ha realizado la medida de impedancia. El margen frecuencial utilizado ha sido de 100 Hz a 1 MHz, siendo los resultados obtenidos los que se muestran en las figuras 5.31, 5.32 y 5.33.

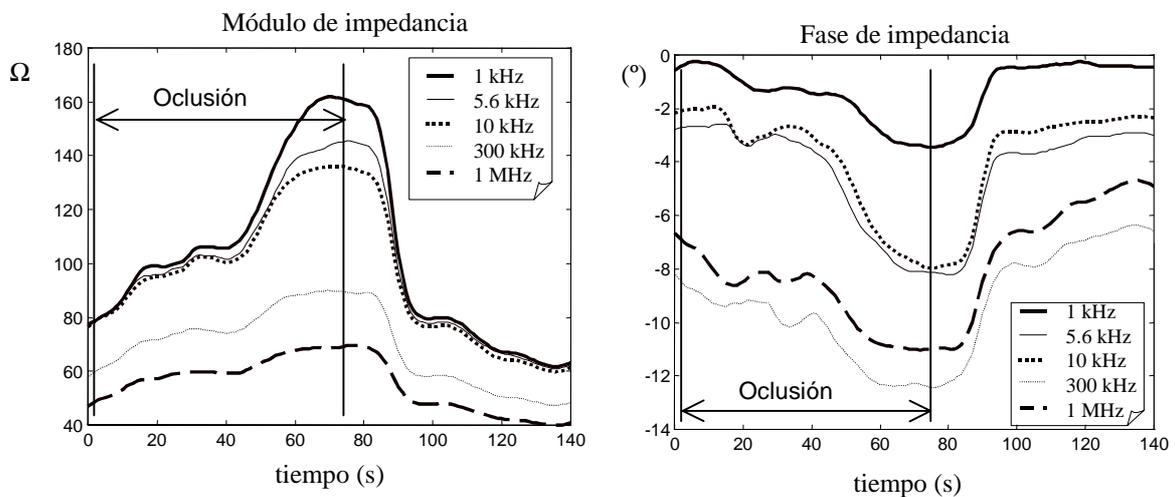


Figura 5.31 Evolución temporal de una oclusión-reperfusión 75 minutos

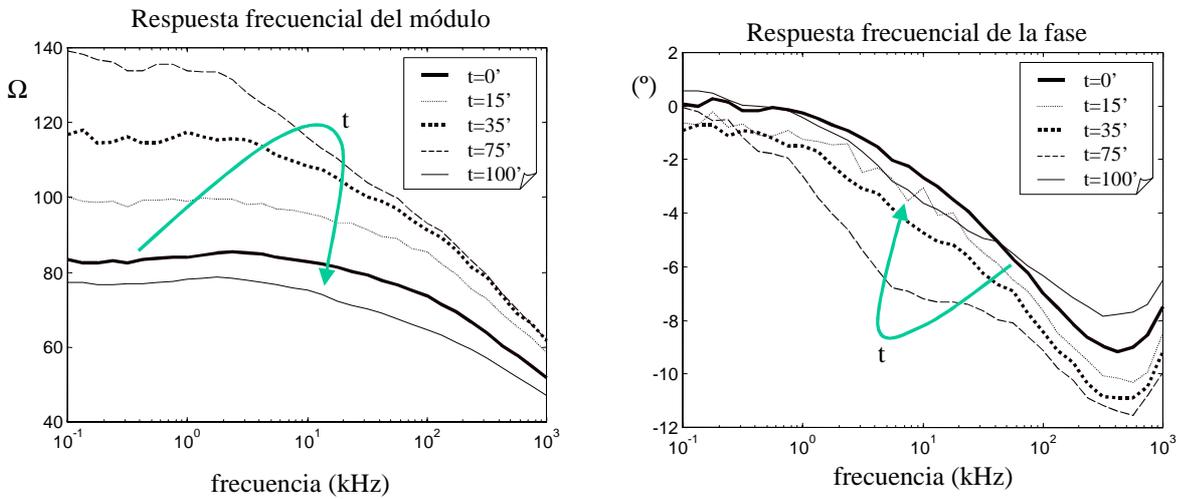


Figura 5.32 Evolución frecuencial de una oclusión-reperusión de 75 minutos

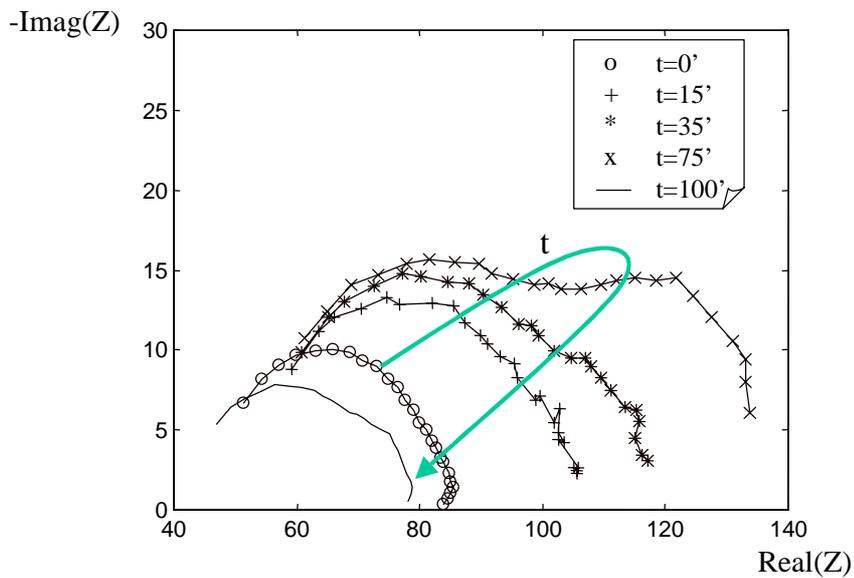


Figura 5.33 Evolución de los arcos del modelo de Cole-Cole en una oclusión-reperusión de 75 min.

La recuperación que se observa tanto en el módulo como en la fase después de la reperusión se puede visualizar de forma más sencilla en la figura 5.34 mediante la representación tiempo-frecuencia de los espectrogramas de módulo y fase (Bragós, 1997)

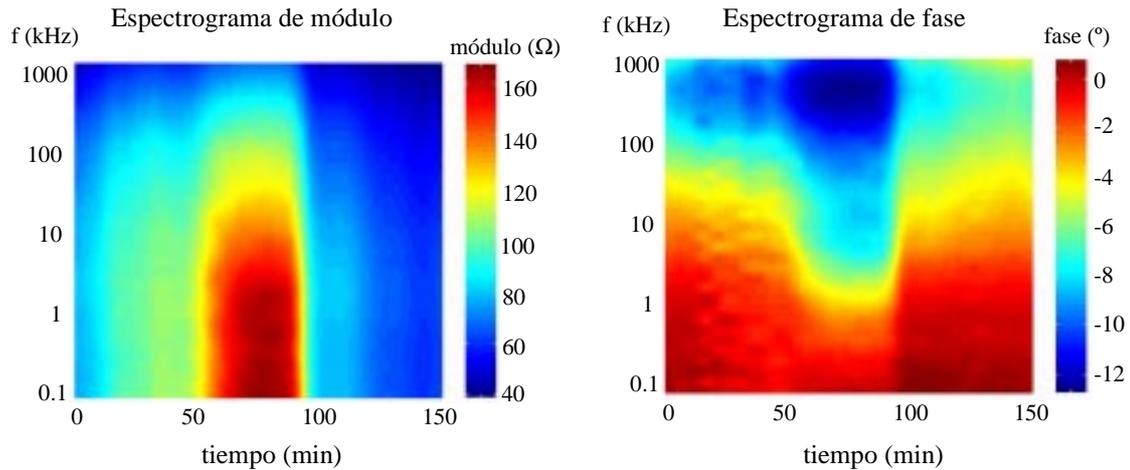


Figura 5.34 Representación de los espectrogramas de módulo y fase en una oclusión-reperusión de 75'

En las figuras anteriores se observa que la reperusión provoca un retorno a las condiciones iniciales, obteniéndose incluso valores de fase y de módulo inferiores a los medidos antes de realizar la oclusión. Este retorno se produce en un reducido espacio de tiempo (5-10 min.) y con igual celeridad para todas las frecuencias, cosa que no sucedía en la evolución de la impedancia con la oclusión (fig 5.35).

Los resultados obtenidos de las medidas de los distintos grupos se recogen en las siguientes gráficas.

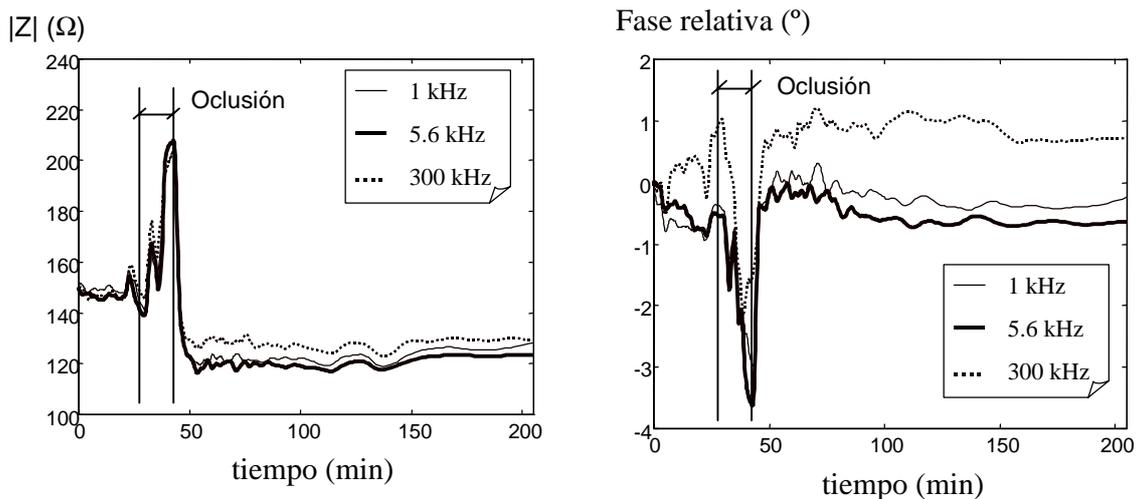


Figura 5.35 Evolución temporal de un experimento del grupo I (oclusiones de 15')

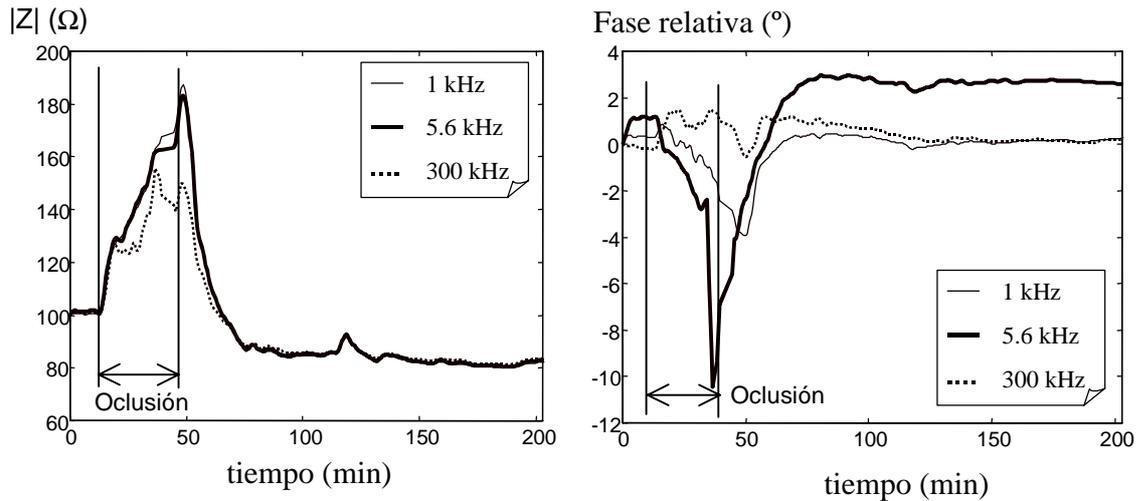


Figura 5.36 Evolución temporal de un experimento del grupo II (oclusiones de 35')

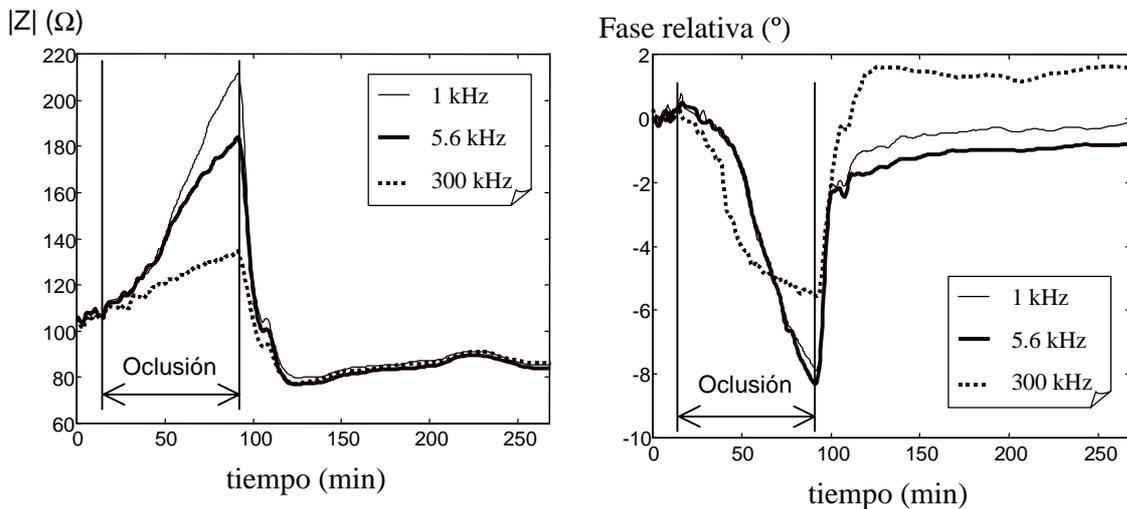


Figura 5.37 Evolución temporal de un experimento del grupo III (oclusiones de 75')

Los resultados nos muestran que hay una recuperación de los valores de impedancia, tanto en módulo como en fase, en casi todos los casos. Sólo en algún caso de la serie de 75 minutos, la fase a bajas frecuencias no acaba de recuperarse del todo, quedando un residuo, poco significativo, de alrededor de un grado (Warren *et al.*, 1998). Sin embargo, en las medidas de contractibilidad, realizadas en los mismos experimentos, se ha observado que aunque en los grupos de 15 y 35 minutos la contractibilidad, al igual que sucedía con la impedancia, recuperaba su valor basal, en el grupo de 75 minutos esto no sucedía en ningún caso, quedando siempre dañada la zona estudiada de miocardio. A esta misma conclusión se llegaba a través del análisis fisiológico de las muestras extraídas del corazón.

Por todo esto, la conclusión que se puede extraer es que con espectroscopia de impedancia eléctrica ha sido imposible realizar una distinción entre el tejido sano y el reperfundido, aunque este último haya quedado dañado. Esto puede ser debido al hecho de que el edema creado en la reperfusión enmascare otros cambios fisiológicos al producirse paralelamente a ellos.

Una posible manera de subsanar esta deficiencia puede ser el estudio, no del espectro de frecuencia, sino del rizado "ruidoso" presente en él, debido al movimiento del miocardio en los latidos cardíacos, ya que es posible correlar este rizado con la contractibilidad de la zona estudiada y la perfusión del tejido.

5.3 Caracterización de otros tejidos biológicos

Con los mismos métodos que se han aplicado sobre el tejido miocárdico, se han hecho medidas de espectroscopia de impedancia eléctrica sobre diferentes tejidos y órganos con dos objetivos. El primero ha sido realizar una caracterización *in-vivo* de estos tejidos, que sirva no sólo para su diferenciación, sino también para la obtención de información para el desarrollo de imágenes paramétricas en TIE. Asimismo se ha caracterizado su evolución frente a la isquemia, estudiándose las características temporales de los diferentes parámetros del modelo de Cole-Cole. Este último estudio es útil para analizar la viabilidad de los tejidos en transplantes.

5.3.1 Caracterización *in-vivo* de los tejidos biológicos

5.3.1.1 Tejidos líquidos

Dos son los tejidos líquidos del cuerpo humano: la sangre y la linfa. De estos dos, el que más interés presenta para aplicaciones médicas es la sangre. Nuestras medidas se han realizado en una cubeta con cuatro electrodos de acero inoxidable situados en el fondo del recipiente (fig 5.38). El margen de medida utilizado se ha extendido hasta los 10 MHz para caracterizar perfectamente la frecuencia de relajación de este tejido, que se sabía, *a priori*, por encima de 1 MHz.

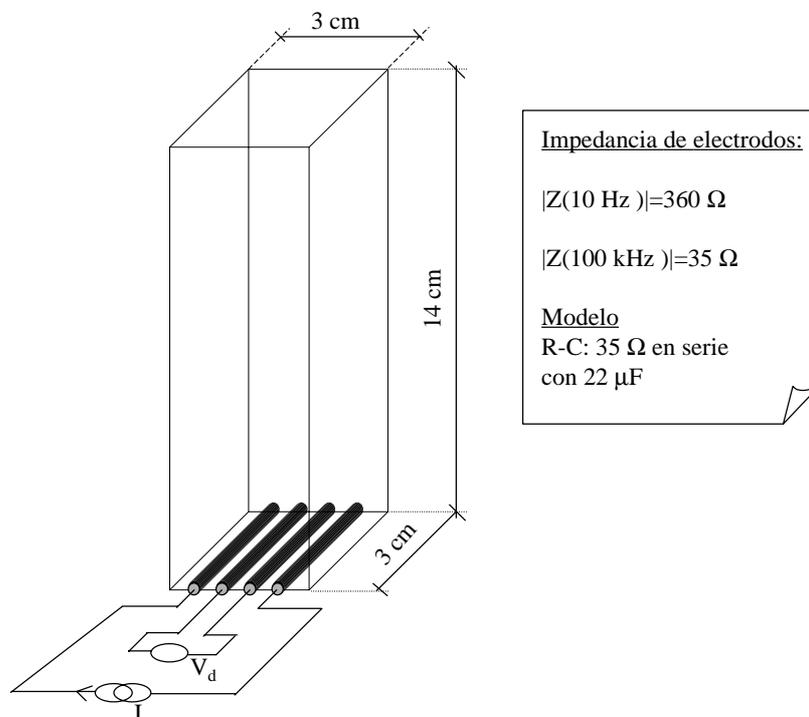


Figura 5.38 Esquema del recipiente y electrodos de medida para tejidos líquidos

La sangre ha sido extraída de los diferentes cerdos a través de un catéter conectado a la arteria femoral. Una vez extraída la sangre con una jeringa, era introducida inmediatamente en nuestra célula de medida, siendo el tiempo empleado en la realización de todo el barrido frecuencial de 40 segundos. Al ser este tiempo reducido, no se han observado problemas debidos a grandes cambios de temperatura, que en el cerdo es de alrededor de 38.5° , y a sedimentación de las muestras. El porcentaje de hematócrito en estos animales, en condiciones normales oscila entre el 40% y el 50%. Los resultados obtenidos se ven en la figura 5.39, donde se muestra la media y desviación estándar de las medidas, y en la tabla 5.3.

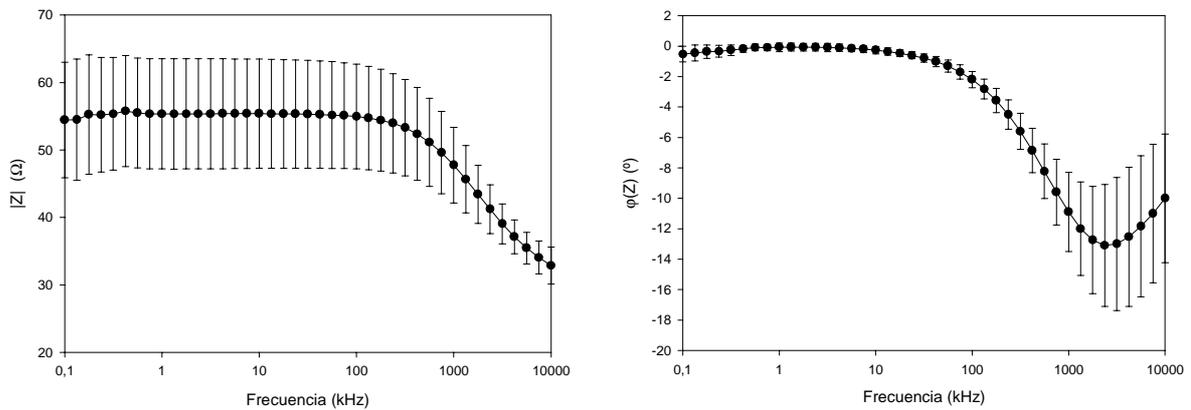


Figura 5.39 Evolución frecuencial de la sangre (media \pm desviación estándar)

| Modelo | Resistividad (Ω m) | | | | |
|-----------|----------------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Cole-Cole | (100 Hz) | R_0/R_{∞} | f_c (MHz) | α | Nº Anim./Muest. |
| Sangre | 1,46 | $1,89 \pm 0,41$ | $2,02 \pm 0,42$ | $0,16 \pm 0,03$ | 4/8 |

Tabla 5.3 Parámetros del modelo de Cole-Cole que caracterizan la relajación de la sangre

5.3.1.2 Tejidos musculares

El método empleado en la realización de las medidas ha sido idéntico para todos los tejidos si exceptuamos los líquidos. Los electrodos empleados son los mismos que los utilizados en la caracterización de tejido miocárdico, siendo suturados a los tejidos para las medidas de evolución isquémica que se presentan en el siguiente apartado, y simplemente clavados en las medidas de caracterización *in-vivo*, de esta forma era posible de forma rápida y sin producir excesivo daño en el órgano, cambiar su posición, consiguiendo diferentes muestras del mismo animal. Estos animales eran cerdos del tipo híbrido comercial (25-45 kg), anestesiados con α -cloralosa y ventilados artificialmente con una concentración de oxígeno del 41%. Para dejar al descubierto los órganos situados en el tórax se les practicaba una esternotomía, realizándose una apertura abdominal para el resto de los tejidos.

El tejido muscular es posible dividirlo en dos grandes grupos: la musculatura lisa y la estriada. La musculatura lisa es un tejido compuesto por miocitos de contracción no voluntaria y relajación lenta, que sirve sobre todo para generar y sostener la tensión muscular en órganos huecos, (tubo digestivo, aparato urinario, sistema vascular y conductos glandulares excretores), la piel y los ojos. La segunda es la musculatura esquelética compuesta por fibras musculares estriadas, que posibilitan la contracción muscular de forma voluntaria. También el tejido muscular del corazón, miocardio, está compuesto por fibras musculares estriadas, pero en este caso no es posible realizar esta contracción voluntariamente. Una característica importante de los tejidos estriados es, como ya se ha comentado con anterioridad, la anisotropía. Es por esto que la caracterización de este tipo de tejido, que se ha realizado mediante medidas sobre cuádriceps crural de cerdo, se halla dividida según la posición de los electrodos se halla hecho longitudinal o transversalmente (fig. 5.40 y 5.41 y tablas 5.4 y 5.5).

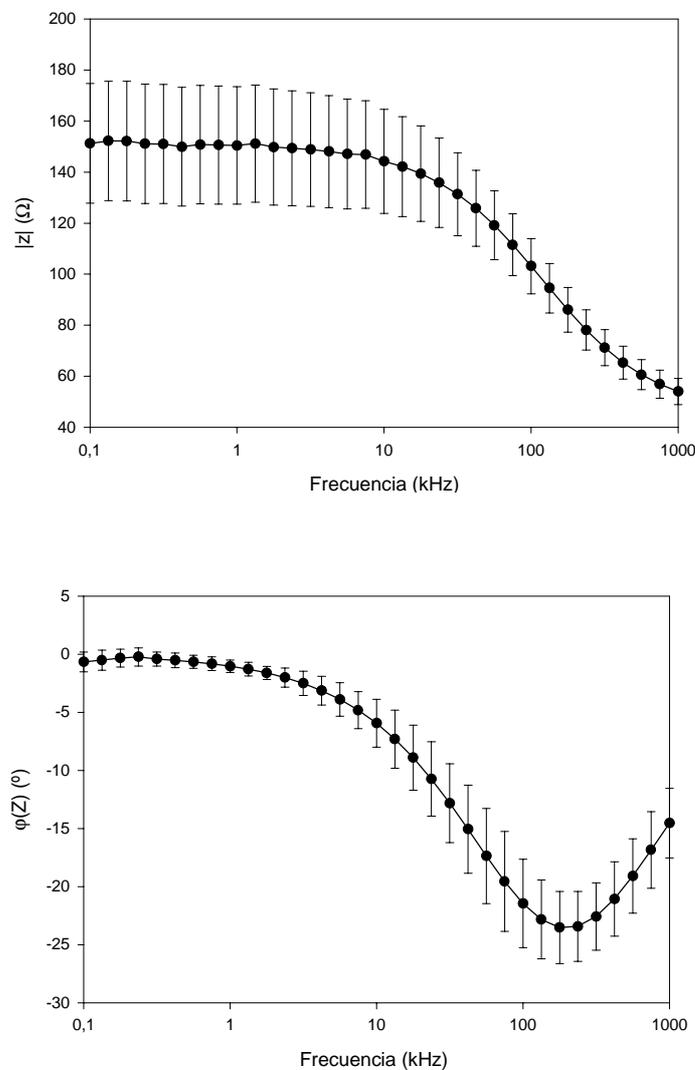


Figura 5.40 Evolución frecuencial del músculo longitudinal del cuádriceps de cerdo

| Modelo | Resistividad (Ωm) | | | | |
|------------|-----------------------------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Cole-Cole | (100 Hz) | R_0/R_∞ | f_c (kHz) | α | Nº Anim./Muest. |
| Músculo II | 3,125 | $3,1\pm 0,3$ | $94,9 \pm 17,5$ | $0,20 \pm 0,03$ | 5/9 |

Tabla 5.4 Parámetros del modelo de Cole-Cole que caracterizan el tejido muscular longitudinal

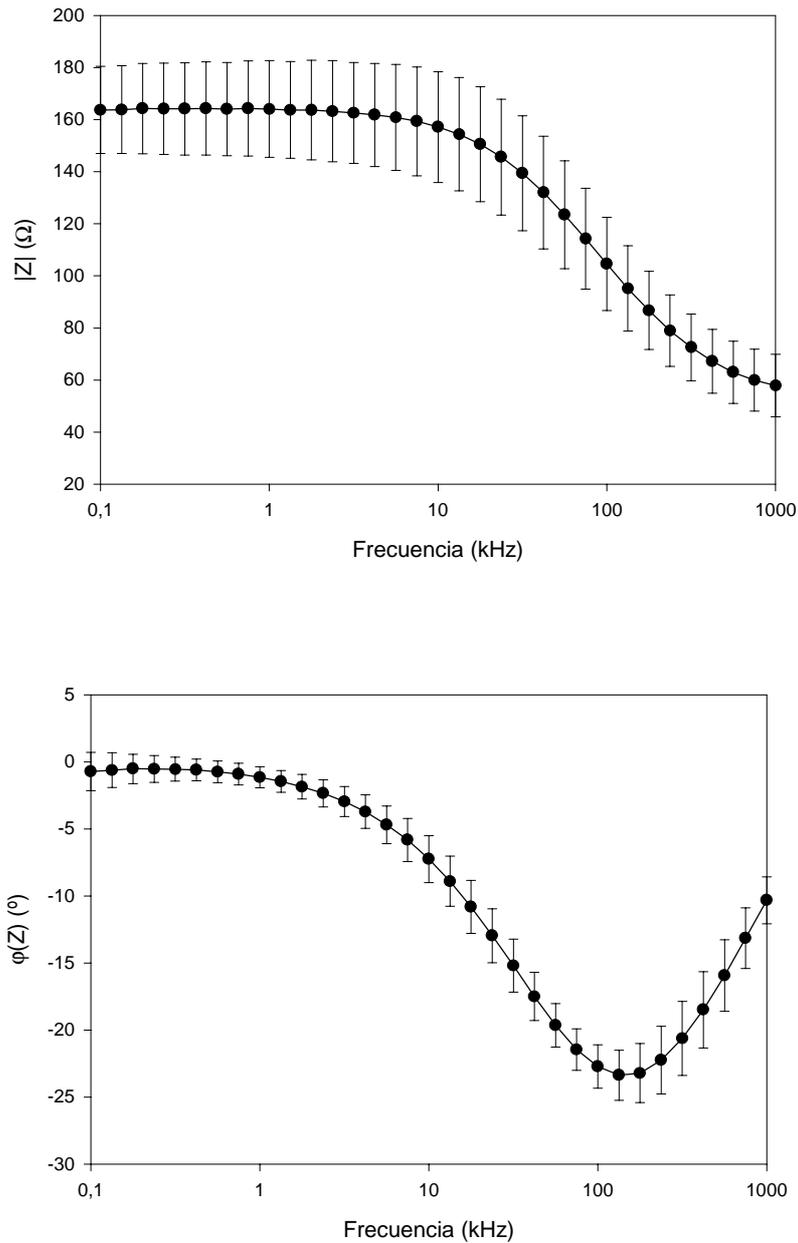


Figura 5.41 Evolución frecuencial del músculo transversal (media \pm desviación estándar)

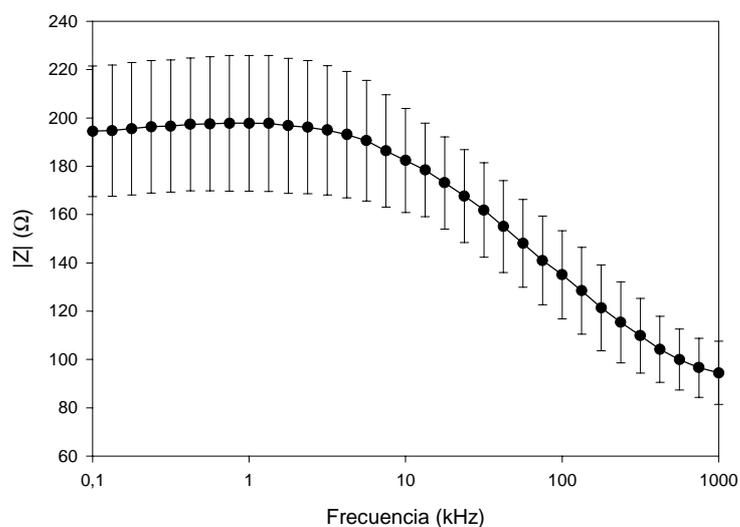
| Modelo | Resistividad (Ωm) | | | | |
|-----------------|-----------------------------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Cole-Cole | (100 Hz) | R_0/R_∞ | f_c (kHz) | α | Nº Anim./Muest. |
| Músculo \perp | 3,5 | 3,3 \pm 0,4 | 63,6 \pm 10,6 | 0,19 \pm 0,05 | 5/9 |

Tabla 5.5 Parámetros del modelo de Cole-Cole para músculo transversal de cuádriceps de cerdo

Como se observa de los resultados presentados el parámetro que mejor permite la diferenciación de la orientación de los electrodos frente a las fibras es la frecuencia central.

5.3.1.3 Hígado, riñón, bazo y páncreas

Todos estos órganos, que tienen una consistencia blanda con alto contenido de agua, presentan características similares (Riu, 1991). En general todos estos órganos tienen una dispersión beta muy distribuida en el margen frecuencial de 10 kHz a 1 MHz, que Stoy et al., en 1982 atribuyó a la presencia de membranas de diferente tamaño. Cabe recordar que estos órganos no son propiamente tejidos sino órganos formados por la agrupación de diferentes tejidos. Este incremento de la dispersión frecuencial de la relajación beta hace que tengan un valor del parámetro α , del modelo de Cole-Cole, superior al encontrado en los tejidos musculares estriados. Esto hace plantearnos la realización del ajuste de los datos a un modelo de Cole-Cole de más de un arco. Los resultados encontrados pueden observarse en las figuras 5.42, 5.43, 5.44 y 5.45 y en las tablas 5.6, 5.7 5.8 y 5.9.



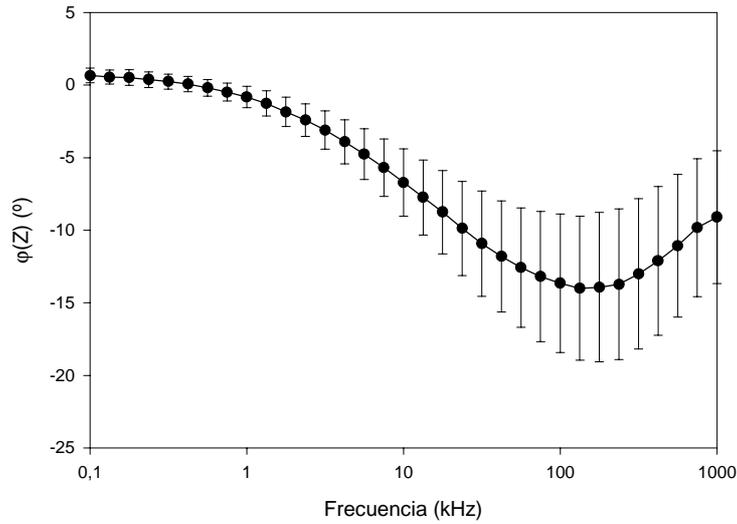


Figura 5.42 Evolución frecuencial del hígado de cerdo (media±desviación estándar)

| Modelo | Resistividad (Ωm) (100 Hz) | R_0/R_∞ | f_c (kHz) | α | Nº Anim./Muest. |
|-----------|---|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Cole-Cole | | | | | |
| Hígado | 4,2 | $2,4 \pm 0,6$ | $70,9 \pm 15,9$ | $0,39 \pm 0,05$ | 8/16 |

Tabla 5.6 Parámetros del modelo de Cole-Cole del hígado de cerdo

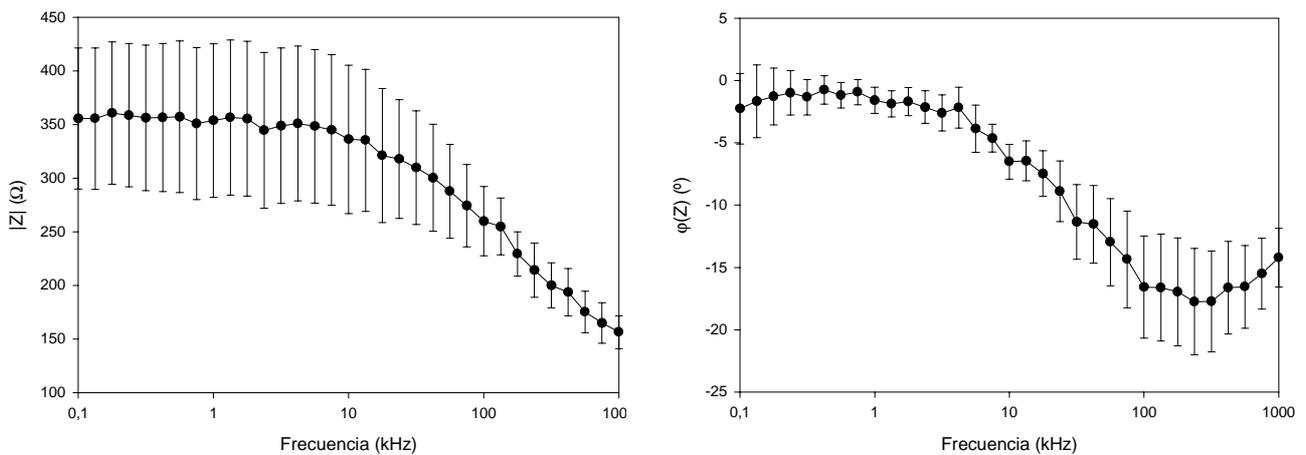


Figura 5.43 Evolución frecuencial del páncreas de cerdo

| Modelo de Cole-Cole | Resistividad (Ω m) (100 Hz) | R_0/R_∞ | fc (kHz) | α | Nº Anim./Muest. |
|---------------------|--|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| Páncreas | 6,5 | $3,1 \pm 0,8$ | $123 \pm 25,2$ | $0,31 \pm 0,05$ | 3/5 |

Tabla 5.7 Parámetros del modelo de Cole-Cole de páncreas de cerdo

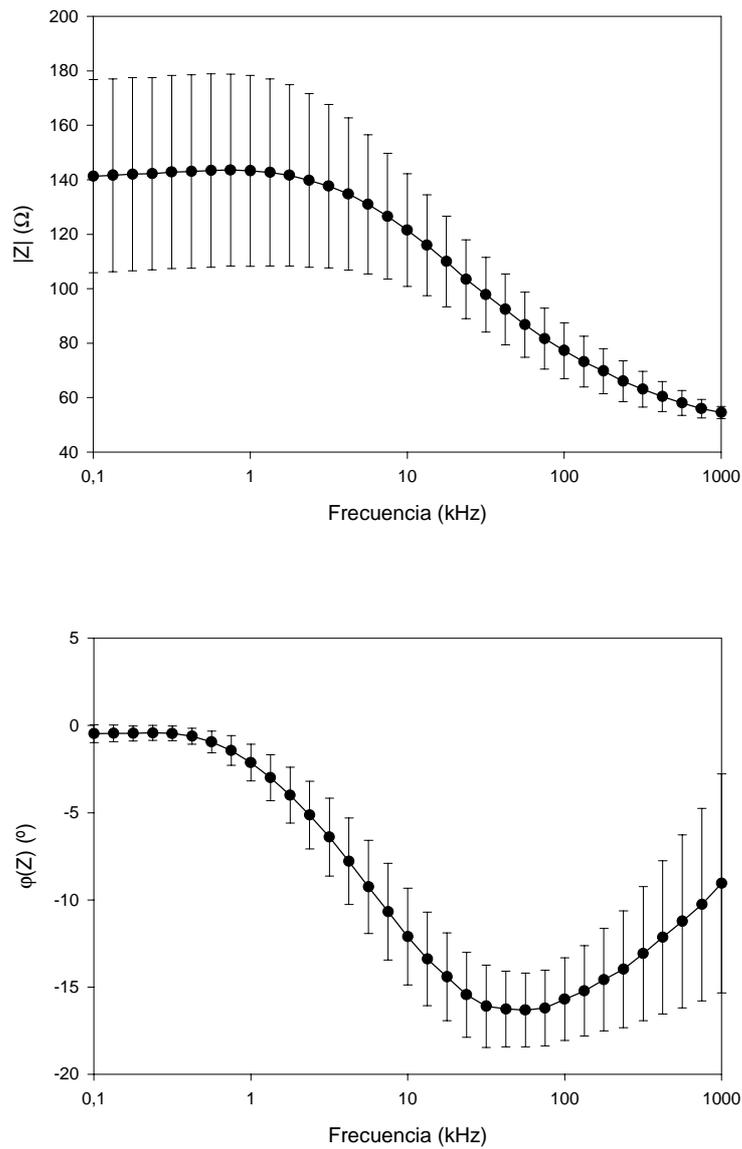


Figura 5.44 Evolución frecuencial del riñón de cerdo

| Modelo | Resistividad (Ωm) | | | | |
|-----------|-----------------------------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| Cole-Cole | (100 Hz) | R_0/R_∞ | f_c (kHz) | α | Nº Anim./Muest. |
| Riñón | 2,9 | $2,5 \pm 0,3$ | $24,8 \pm 7,8$ | $0,26 \pm 0,03$ | 3/5 |

Tabla 5.8 Parámetros del modelo de Cole-Cole de riñón de cerdo

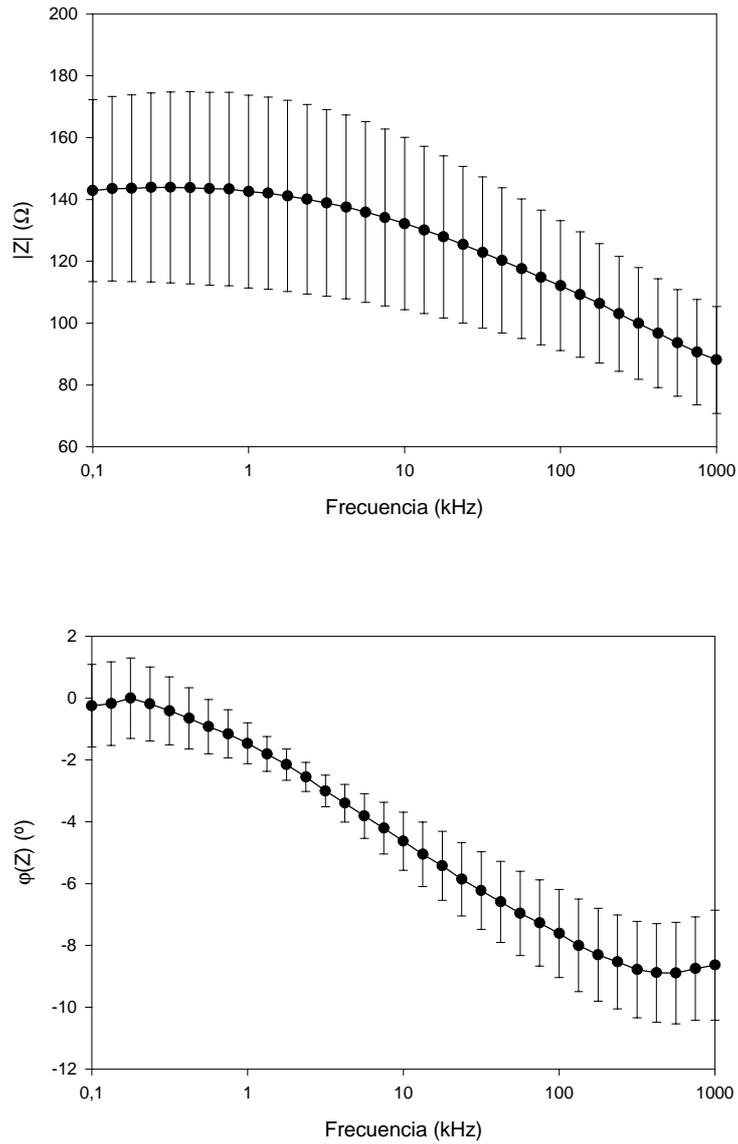


Figura 5.45 Evolución frecuencial del bazo de cerdo

| Modelo | Resistividad (Ωm) | | | | | Nº |
|------------------|---|----------------------------------|-------------------------------|----------------------------|---------------------|-----------|
| Cole-Cole | (100 Hz) | R_0/R_∞ | f_c (kHz) | α | Anim./Muest. | |
| Bazo | 3,0 | 2,4 \pm 0,3 | 230,8 \pm 97,3 | 0,54 \pm 0,05 | 5/10 | |

| Modelo | | | | | | | Nº Anim./Muest. |
|------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------------------------|---------------------------------|------------------------------|------|------------------------|
| Cole-Cole | R_0/R_∞ | f_{c1} (kHz) | α_1 | f_{c2}(kHz) | α_2 | | |
| Bazo | 2,1 \pm 0,3 | 18,4 \pm 6,6 | 0,33 \pm 0,11 | 415,1 \pm 97,2 | 0,30 \pm 0,09 | 5/10 | |

Tabla 5.9 Parámetros del modelo de Cole-Cole para uno y dos arcos de bazo de cerdo

De todos los parámetros del modelo de Cole-Cole vuelve a ser la frecuencia central el que nos permite una mayor diferenciación entre los tejidos.

Los resultados para el páncreas son más ruidosos, ya que al ser un tejido que tiene una anchura muy reducida, y dado que no se deseaba tener influencias de órganos del alrededor, en concreto del hígado, se han realizado las medidas con el tejido separado de su posición natural y "pinchando" con los electrodos varias capas del mismo tejido.

Como se ve, el bazo tiene una dispersión frecuencial de la relajación beta muy grande que queda reflejada por el alto valor del parámetro alfa ($\alpha_m=0,54$). Por ello hemos aplicado un modelo de Cole-Cole de dos arcos, encontrándose unos resultados para las frecuencias de relajación, f_{c1} y f_{c2} , similares a los que obtenían para el tejido miocárdico, comportándose, frente a una isquemia de igual forma, como se verá en el siguiente punto de este capítulo (tabla 5.9). En cuanto al modelo de un solo arco, la variación del parámetro R_0/R_∞ es muy similar en ambos modelos, encontrándose un valor de frecuencia central intermedio entre los hallados en el modelo de dos arcos. El modelo de un sólo arco, aunque no es él que mejor se aproxima a los datos, nos permite realizar su diferenciación y es aplicable en el desarrollo empleado en la realización de imágenes paramétricas.

5.3.1.4 Tejido pulmonar

La principal dificultad para la caracterización del tejido pulmonar es el cambio que sufre, en las medidas in vivo, al tener dos situaciones claramente diferenciadas: los pulmones inflados y los pulmones desinflados. Dado que nuestras medidas son lentas, al utilizar un número grande de frecuencias, nos vemos influenciados por el proceso de respiración del animal, caracterizando de una forma general al tejido pulmonar, sin diferenciar los casos de inspiración y expiración. Los resultados obtenidos se presentan en la figura 5.46 y la tabla 5.10.

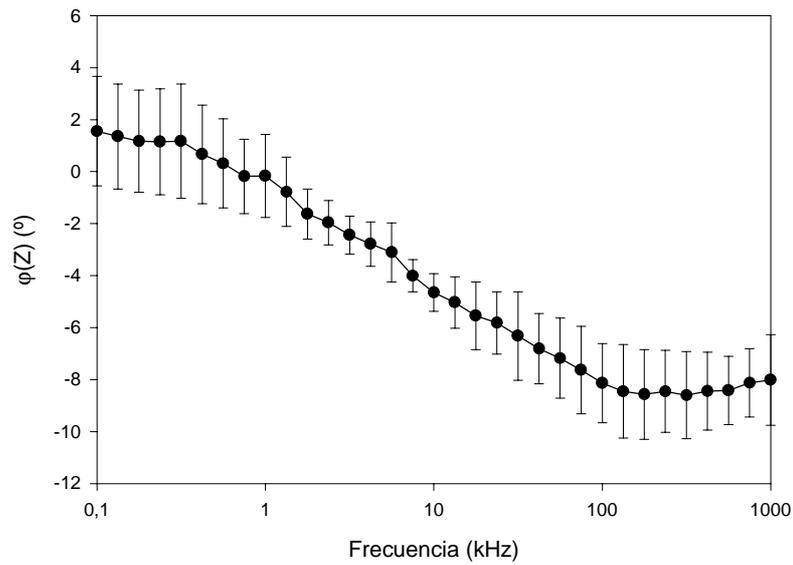
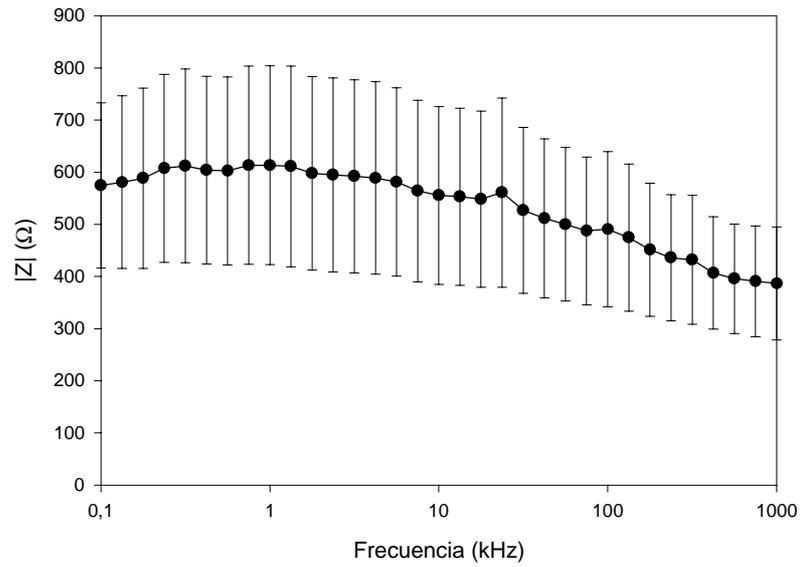


Figura 5.46 Evolución frecuencial del tejido pulmonar de cerdo

| Modelo | Resistividad (Ωm) (100 Hz) | R_0/R_∞ | f_c (kHz) | α | Nº Anim./Muest. |
|----------|---|----------------|------------------|-----------------|-----------------|
| Pulmones | 15,0 | $2,0 \pm 0,4$ | $130,6 \pm 32,3$ | $0,46 \pm 0,13$ | 3/6 |

Tabla 5.10 Parámetros del modelo de Cole-Cole de tejido pulmonar de cerdo

La utilización, como se ha hecho en el caso del miocardio, de la fase o el módulo a una frecuencia concreta como parámetro diferenciador es difícilmente aplicable en el caso de desear distinguir, con un parámetro robusto, los diferentes tejidos estudiados. Es en este punto donde los parámetros del modelo de Cole nos pueden ayudar ya que recogen información de toda la respuesta frecuencial. El resumen de estos parámetros, para los tejidos estudiados, se puede ver en la tabla 5.11.

| Téjido | R_0/R_∞ | f_c (kHz) | α |
|--------------------|----------------|------------------|-----------------|
| Miocardio | $1,8 \pm 0,4$ | $144,2 \pm 60,2$ | $0,39 \pm 0,04$ |
| Cicatriz miocardio | $1,0 \pm 0,0$ | no relajación | no relajación |
| Sangre | $1,9 \pm 0,4$ | 2020 ± 420 | $0,16 \pm 0,03$ |
| Músculo | $3,1 \pm 0,3$ | $94,9 \pm 17,5$ | $0,20 \pm 0,03$ |
| Músculo \perp | $3,3 \pm 0,4$ | $63,6 \pm 10,6$ | $0,19 \pm 0,05$ |
| Hígado | $2,4 \pm 0,6$ | $70,9 \pm 15,9$ | $0,39 \pm 0,05$ |
| Bazo | $2,4 \pm 0,3$ | $230,8 \pm 97,3$ | $0,54 \pm 0,05$ |
| Riñón | $2,5 \pm 0,3$ | $24,8 \pm 7,8$ | $0,26 \pm 0,03$ |
| Pulmones | $2,0 \pm 0,4$ | $130,6 \pm 32,3$ | $0,46 \pm 0,13$ |
| Páncreas | $3,1 \pm 0,8$ | $123,0 \pm 25,2$ | $0,31 \pm 0,05$ |

Tabla 5.11. Valores de los parámetros del modelo de Cole-Cole para los diferentes tejidos estudiados (media \pm desviación estándar)

Una forma visual de realizar la diferenciación de los tejidos es mediante la representación de sus valores en el plano $R_0/R_\infty - f_c$. Los resultados obtenidos se pueden observar en la figura 5.47. Con estos dos parámetros es posible realizar la diferenciación de los tejidos, salvo para los casos de los tejidos musculares y el hígado. Sin embargo la utilización del parámetro α , nos permite su distinción ya que en el hígado coge un valor sensiblemente superior al que se obtiene en los tejidos musculares (tabla 5.11).

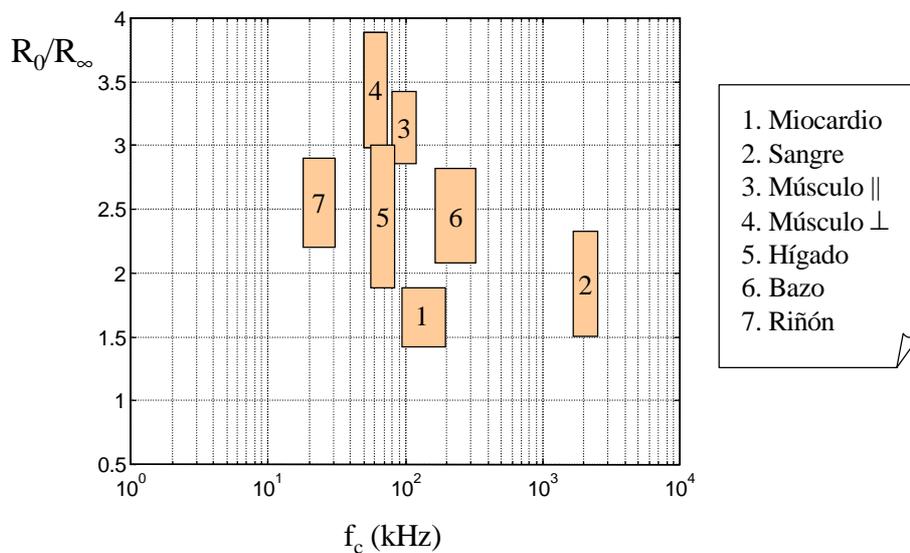


Figura 5.47 Representación de los parámetros de Cole $R_0/R_\infty - f_c$ para los diferentes tejidos estudiados

5.3.2 Caracterización *in-situ* de la evolución isquémica de los tejidos

En la bibliografía, gran parte de las medidas para la caracterización de los tejidos se llevan a cabo con muestras extirpadas (*in-vitro*), que se colocan en una célula de medida de dimensiones conocidas y donde se realiza un control de la temperatura. El problema es, como se ha visto en el tejido miocárdico, que las características de los tejidos cambian notablemente con el tiempo, debido a la isquemia. Por esto, el objetivo que se persigue con la realización de estas medidas es el estudio de la evolución con la isquemia de los parámetros que permiten caracterizar el tejido sano, tanto para limitar los tiempos en que las medidas *in-vitro* son correctas, como para estudiar su aplicabilidad en procesos médicos como puede ser el estudio del deterioro de tejidos en transplantes de órganos.

Las medidas se han realizado también sobre un modelo porcino, y la isquemia era provocada por la muerte del animal. Los tejidos a estudiar no eran extraídos del cuerpo del animal durante todo el experimento, (medidas *in-situ*), realizándose la medida del cambio de temperatura que experimentaba, hecho que nos ha permitido asegurar que los cambios obtenidos en los parámetros no son debidos a este cambio de temperatura. El método de medida empleado es idéntico al de las medidas *in-vivo*, realizándose un estudio de la evolución de las impedancias durante 150 minutos de isquemia, utilizando 8 puntos por década en el margen frecuencial de 100 Hz a 1 MHz. Los órganos sobre los que se han realizado las medidas son el tejido muscular longitudinal, el muscular transversal, el riñón, el bazo y el hígado, más el tejido miocárdico que ya ha sido presentado en el primer punto de este capítulo. Para cada tejido se presentará, por un lado la caracterización directa de las medidas de impedancia, mostrando los espectrogramas de módulo y fase y la comparación de espectros para los caso basal y para el caso de 100 minutos de isquemia y por otro lado se presenta cuál es la evolución de los parámetros del modelo de Cole-Cole aplicado a las medidas. Estos resultados se recogen en las siguientes figuras y tablas.

Músculo longitudinal (3 cerdos)

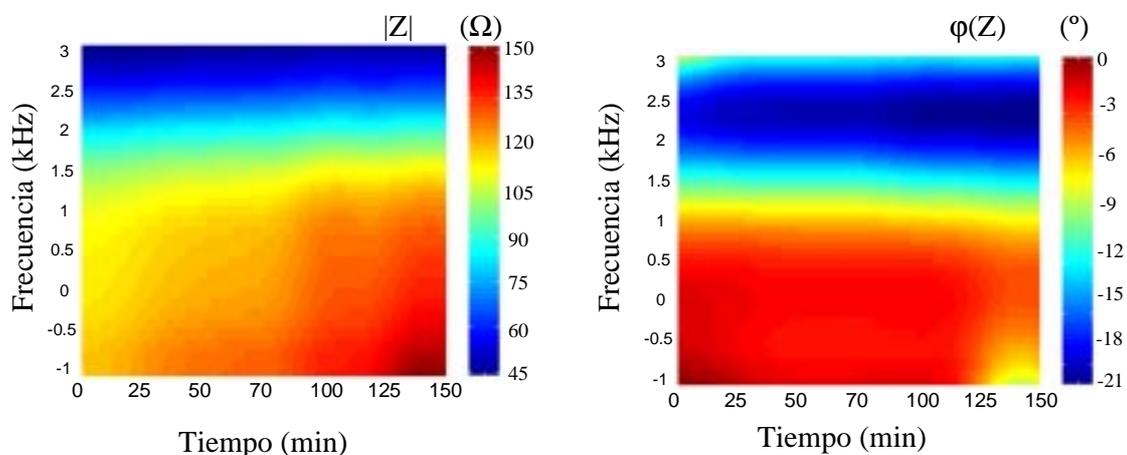


Figura 5.48 Espectrograma de módulo y fase de las medidas de impedancia para músculo longitudinal

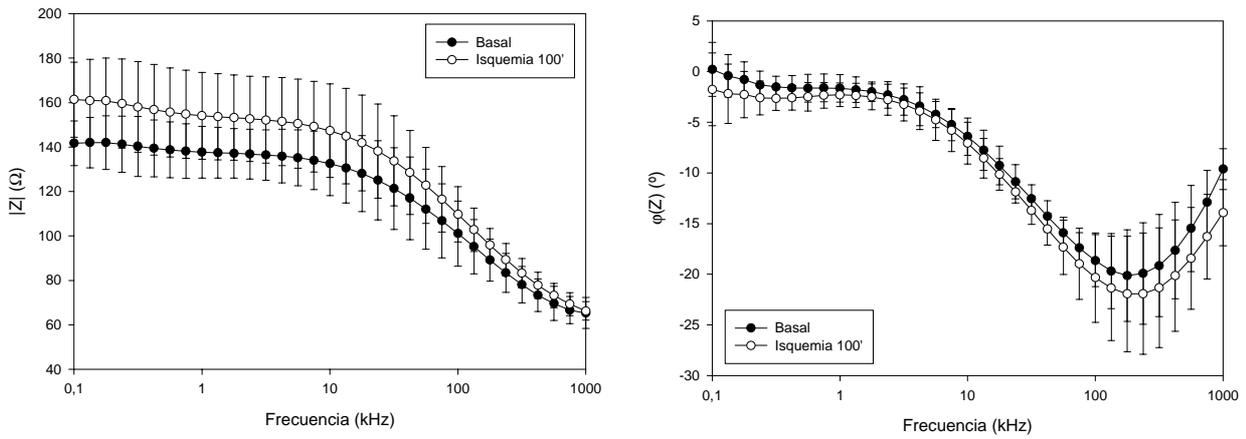


Figura 5.49 Variación del espectro frecuencial del músculo longitudinal del cuádriceps después de 100 minutos de isquemia (media±STD)

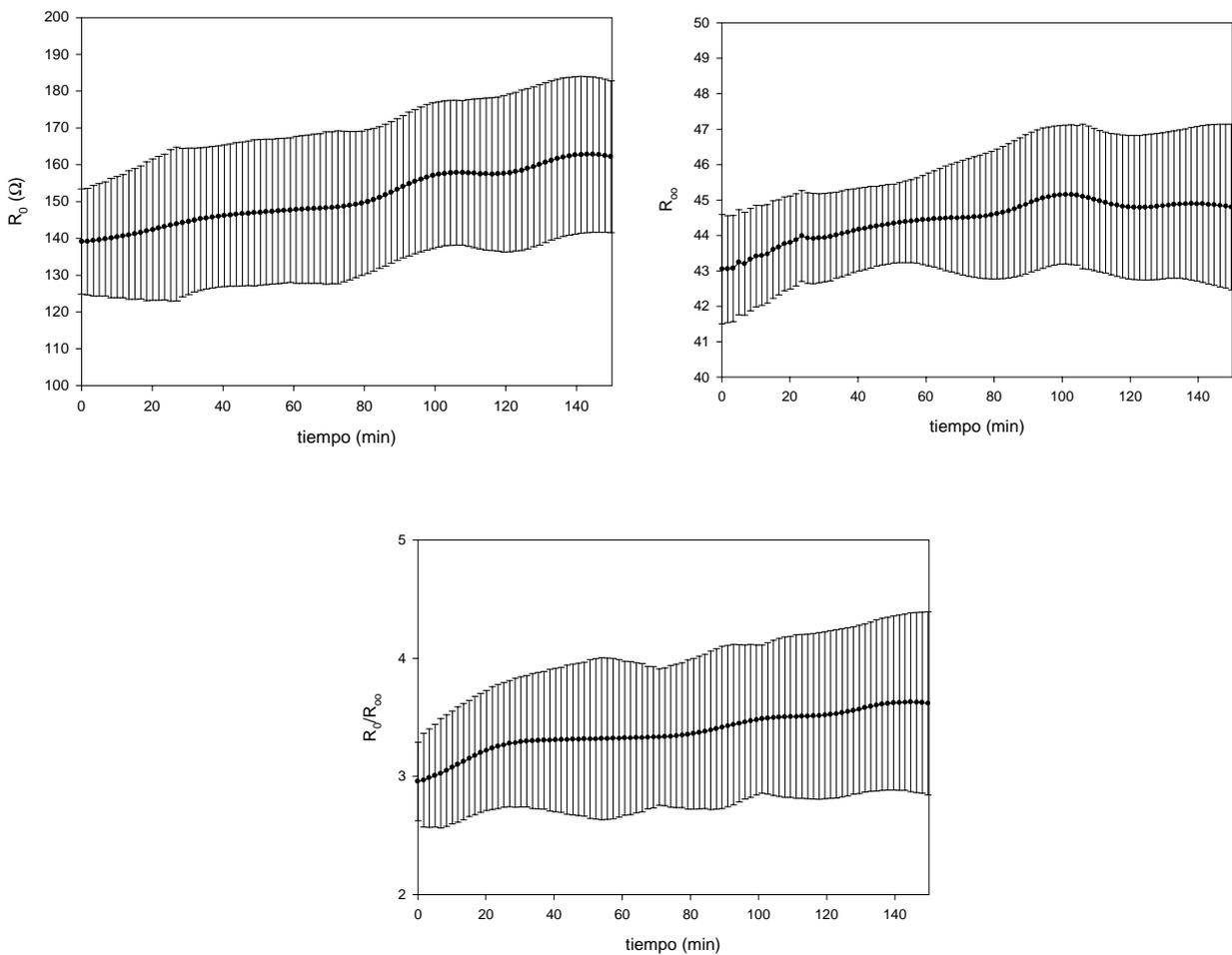


Figura 5.50 Evolución de los parámetros R_0 , R_∞ , R_0/R_∞ del músculo longitudinal de cuádriceps de cerdo con la isquemia (media±STD)

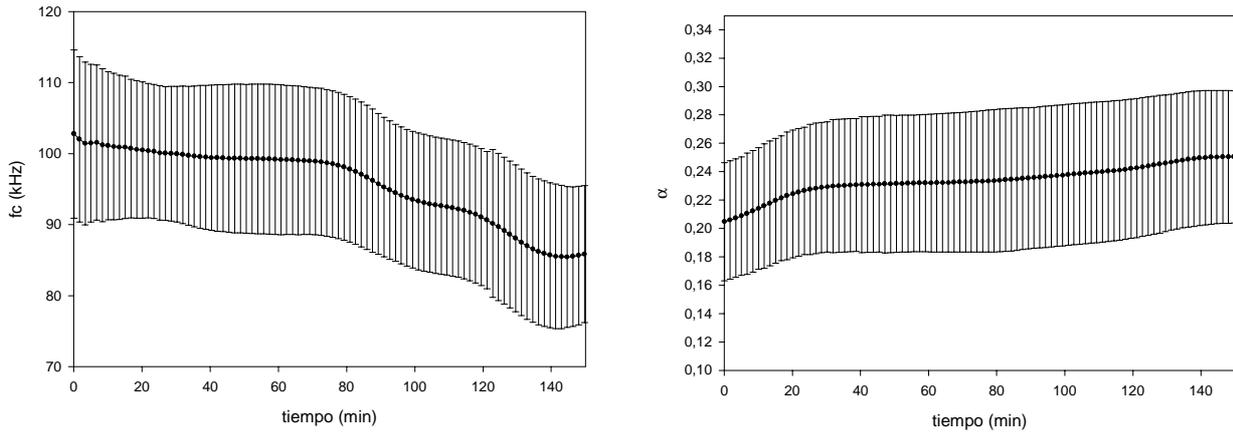


Figura 5.51 Evolución de los parámetros f_c y α con la isquemia para el músculo longitudinal de cuádriceps de cerdo (media \pm std)

La evolución de los parámetros de Cole es similar a la que obteníamos en el tejido miocárdio es decir, una disminución de la frecuencia central y un crecimiento más o menos acentuado del resto de parámetros. En este caso, sin embargo, el cambio en dichos parámetros es mucho más lento que en el caso del miocardio. Esta idea queda patente en el hecho que la isquemia evoluciona más lentamente en los tejidos musculares estriados, pudiéndose recuperar el tejido aún después de haber pasado varias horas, como sucede, por ejemplo, en amputaciones de dedos. Como ya se ha comentado, han sido medidos los cambios de temperatura durante el experimento, observándose un disminución media de 2°C. Este factor impondría un cambio del -4% aproximadamente en la cuantificación de los valores absolutos de la impedancia y del mismo valor pero de signo contrario en la cuantificación de la frecuencia central (Gersing,1998). Su influencia es, por tanto, opuesta a los cambios observados en la evolución de los parámetros del modelo de Cole.

Los cambios relativos obtenidos para los parámetros de Cole-Cole después de 100 minutos de isquemia se recogen en la siguiente tabla

| | R_0 | R_∞ | R_0/R_∞ | f_c | α |
|----------------------------------|--------|------------|----------------|-------|----------|
| Cambio relativo con 100' de isq. | +16,2% | +5,0% | +20,7% | -9,3% | +15% |

Tabla 5.12 Cambio relativo de los parámetros del modelo de Cole de músculo longitudinal con 100 minutos de isquemia

Músculo transversal (3 cerdos)

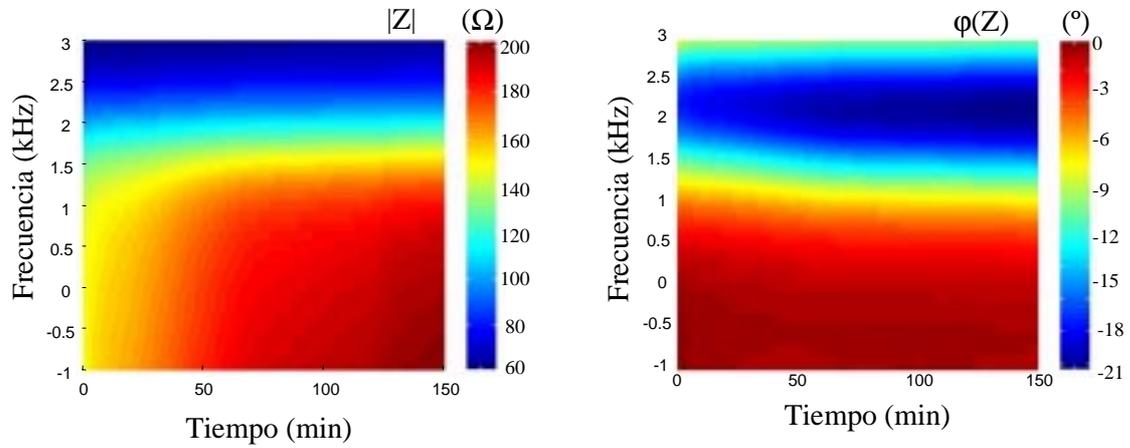


Figura 5.52 Espectrograma de módulo y fase de las medidas de impedancia para músculo transversal

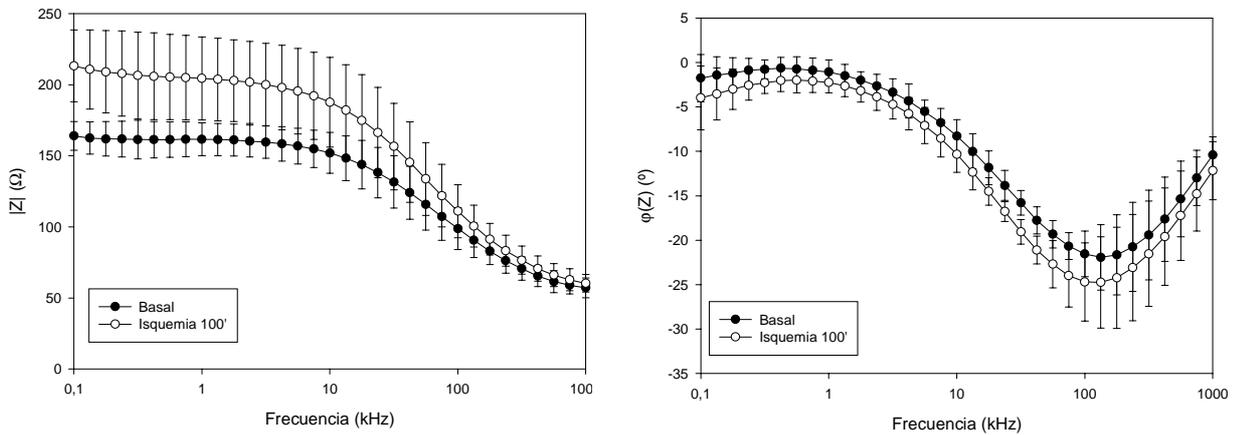


Figura 5.53 Variación del espectro frecuencial del músculo transversal de cuádriceps de cerdo después de 100' minutos de isquemia (media±std)

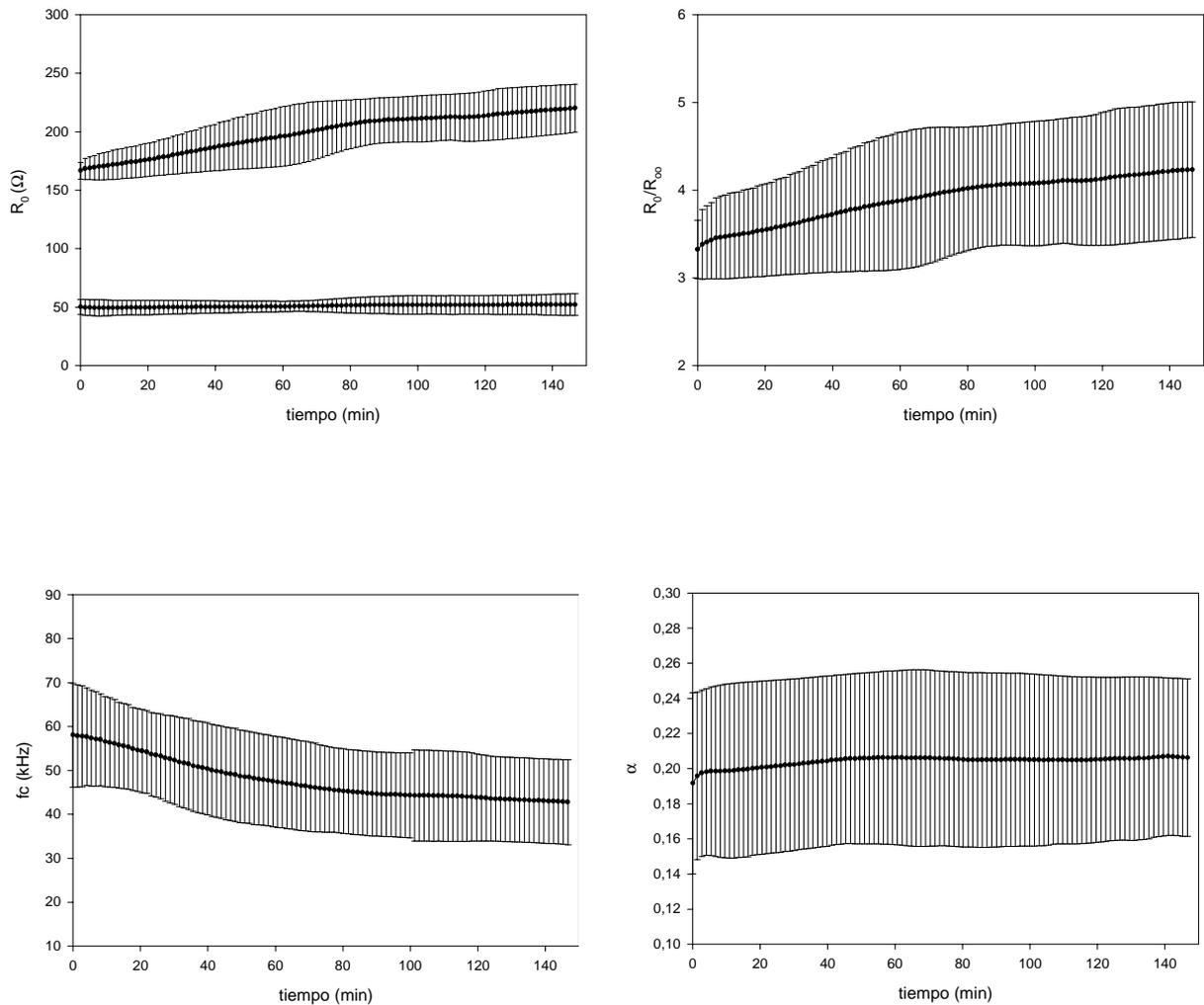


Figura 5.54 Evolución de los parámetros del modelo de cole del músculo transversal de cuádriceps (media \pm std)

Como se observa los resultados para el músculo transversal son similares a los encontrados para el longitudinal hallándose las siguientes variaciones relativas de los parámetros después de 100 minutos de isquemia

| | R_0 | R_∞ | R_0/R_∞ | f_c | α |
|----------------------------------|--------|------------|----------------|--------|----------|
| Cambio relativo con 100' de isq. | +26,7% | +3,6% | +23,6% | -24,2% | +5% |

Tabla 5.13 Cambio relativo de los parámetros del modelo de Cole de músculo transversal con 100 minutos de isquemia

Riñón (1 cerdo)

Sólo se ha podido realizar un experimento de la evolución de la isquemia del riñón por las dificultades que suponía la colocación del electrodo ya que el riñón se encontraba en una posición alejada del corte abdominal realizado. Los resultados encontrados en este experimento han sido:

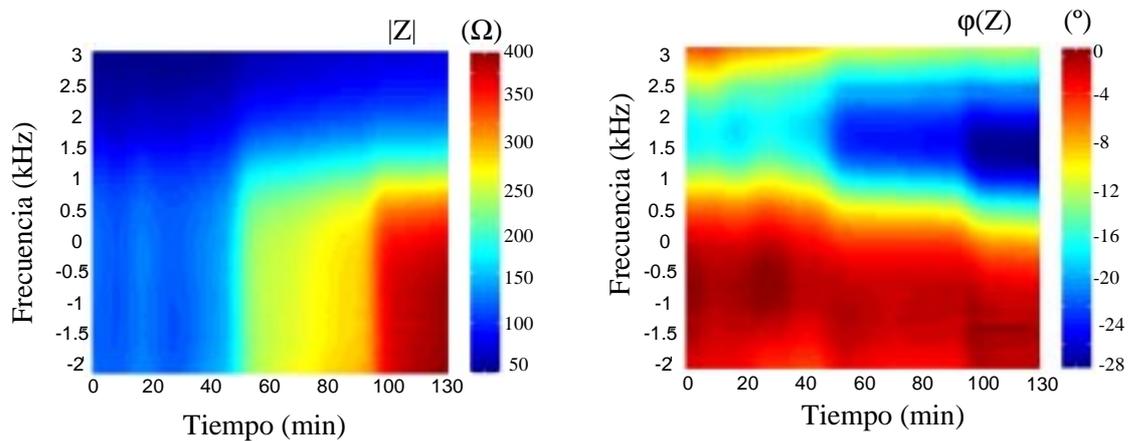


Figura 5.55 Espectrograma de módulo y fase de las medidas de impedancia de riñón de cerdo

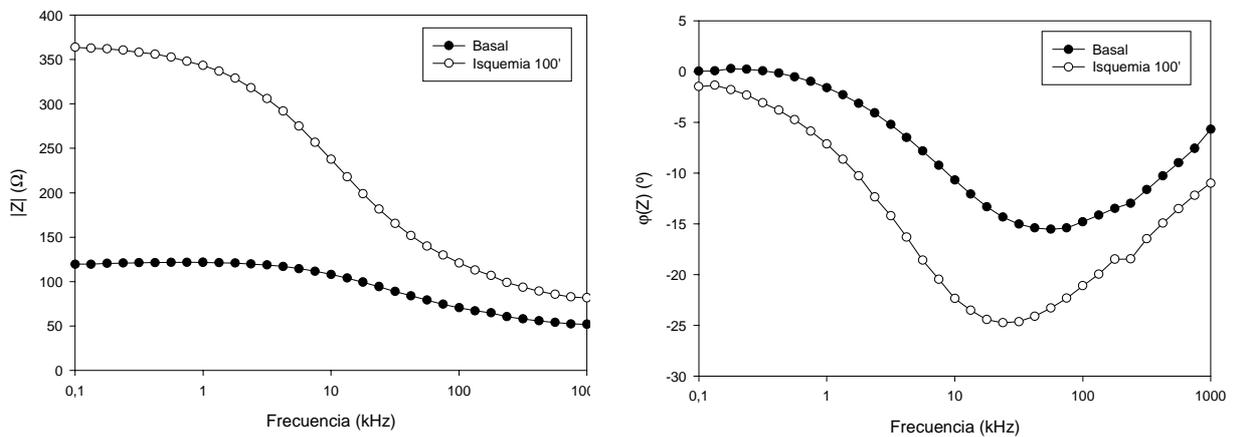


Figura 5.56 Variación del espectro del riñón de cerdo después de 100 minutos de isquemia

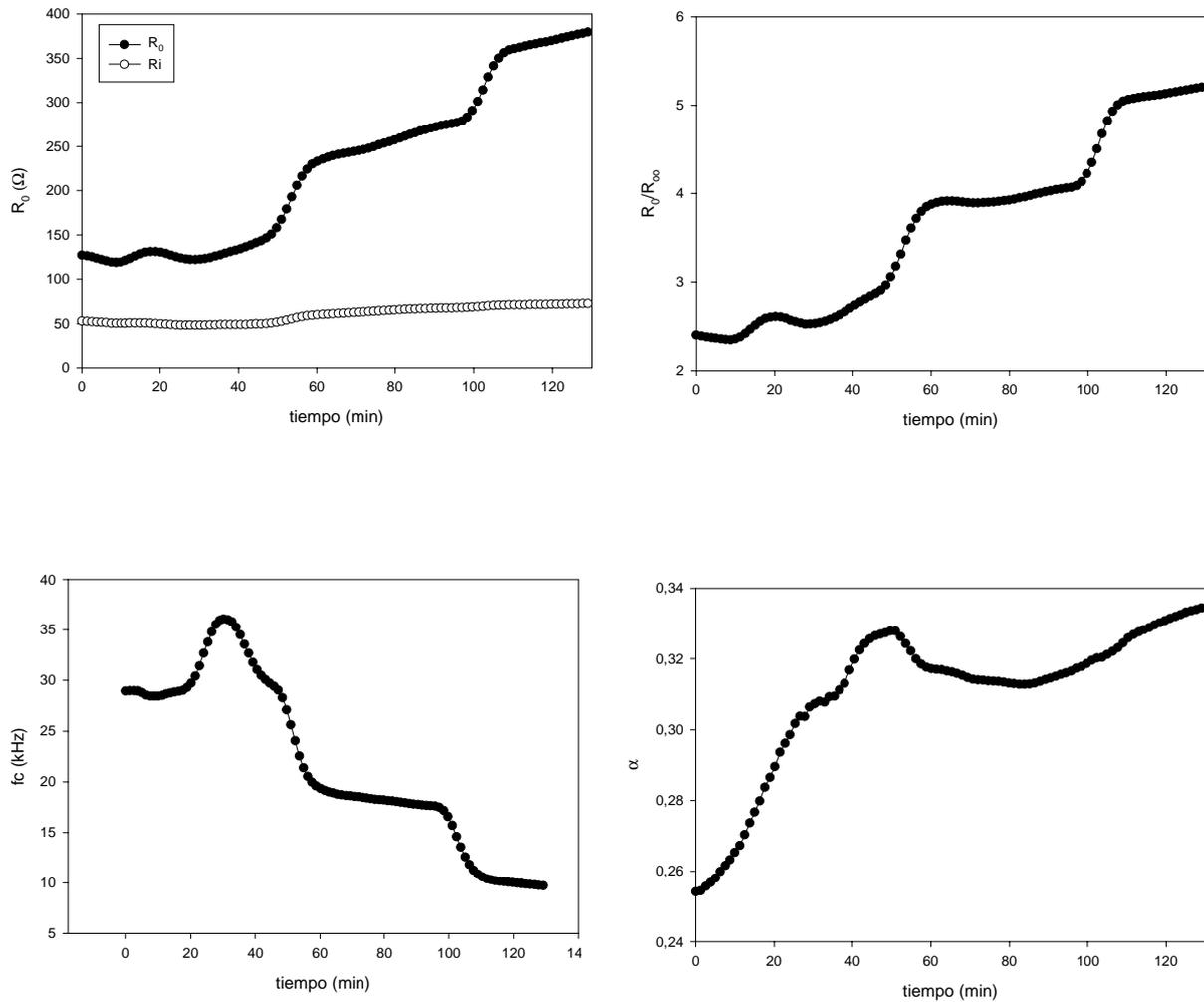


Figura 5.57 Evolución de los parámetros del modelo de Cole de riñón

La evolución de los parámetros vuelve a ser similar a los anteriores tejidos observándose las siguientes variaciones relativas

| | R_0 | R_{∞} | R_0/R_{∞} | f_c | α |
|----------------------------------|-------|--------------|------------------|-------|----------|
| Cambio relativo con 100' de isq. | +126% | +42% | +94% | -63% | +10% |

Tabla 5.14 Cambio relativo de los parámetros del modelo de Cole de riñón con 100 minutos de isquemia

Bazo (5 animales)

Para el estudio del bazo se ha optado por aplicar un modelo de Cole de dos arcos que como se vio en las medidas in-vivo permite una mejor aproximación de los datos

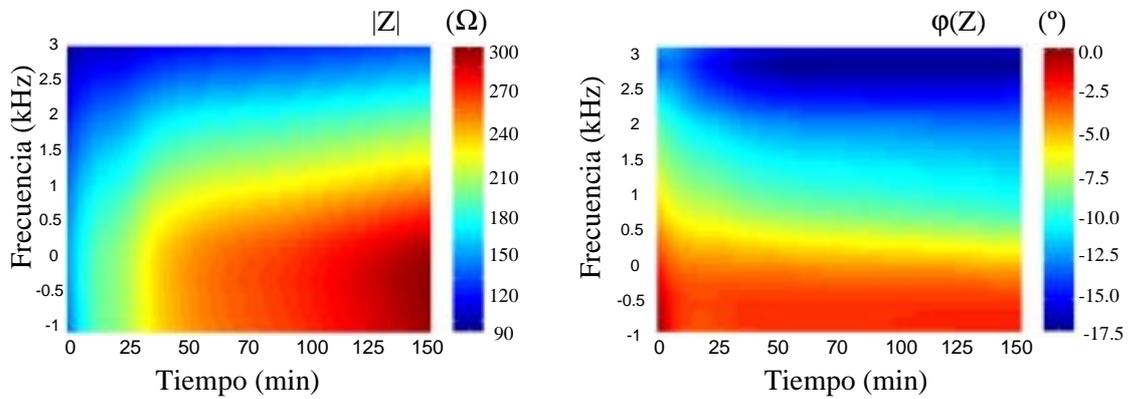


Figura 5.58 Espectrograma de módulo y fase de las medidas de impedancia para bazo de cerdo

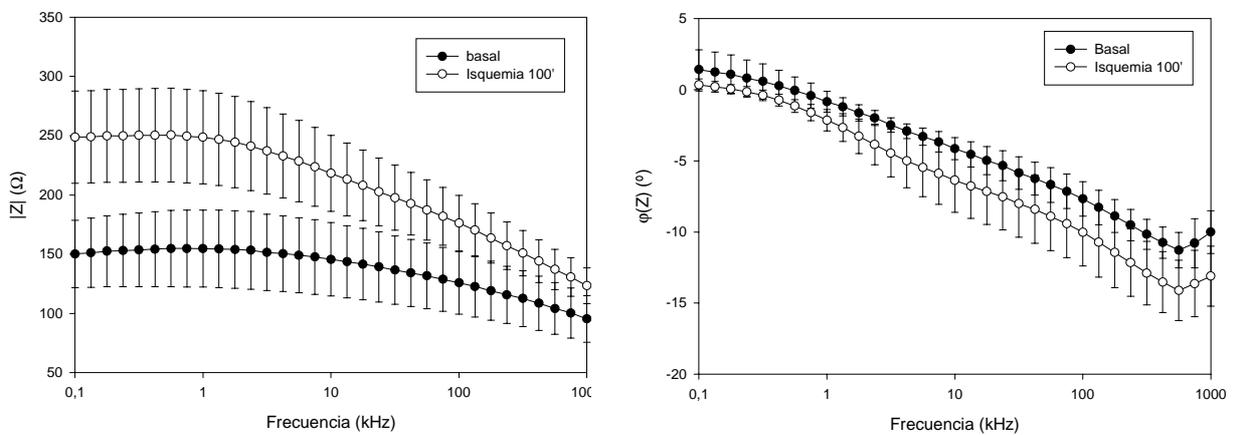


Figura 5.59 Variación del espectro frecuencial del bazo de cerdo después de 100 minutos de isquemia (media \pm STD)

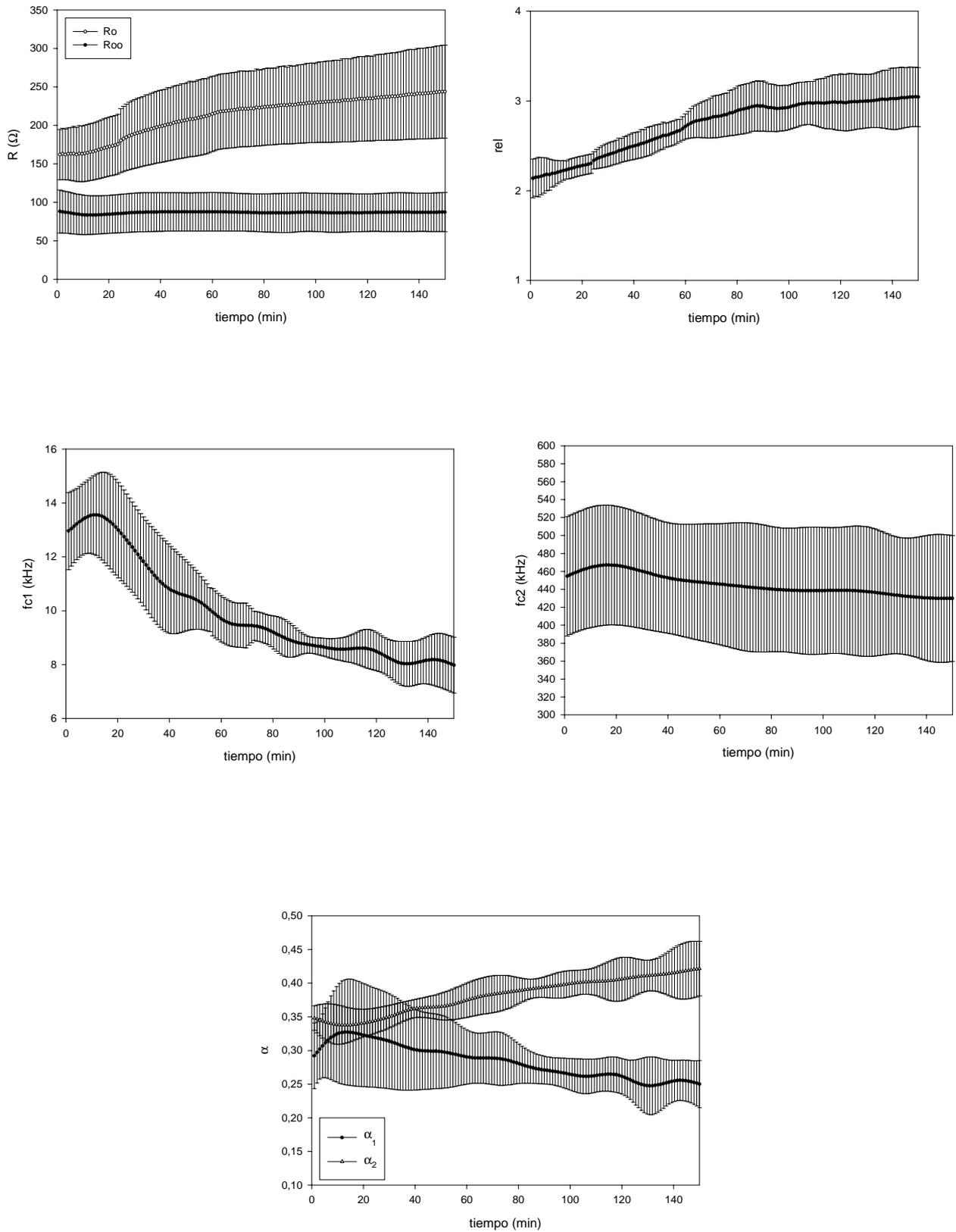


Figura 5.60 Evolución de los parámetros del modelo de Cole del bazo (media \pm STD)

| | R_0 | R_∞ | R_0/R_∞ | f_{c1} | f_{c2} | α_1 | α_2 |
|---------------------------|-------|------------|----------------|----------|----------|------------|------------|
| Cambio relativo 100' isq. | +41% | +5,6% | +37,4% | -33,8% | -2,6% | -10,3% | +14,3% |

Tabla 5.15 Cambio relativo de los parámetros del modelo de Cole de dos arcos para el bazo con 100 minutos de isquemia (media±STD)

Hígado (5 cerdos)

Los resultados encontrados para el tejido hepático son los que se muestran en las siguientes figuras

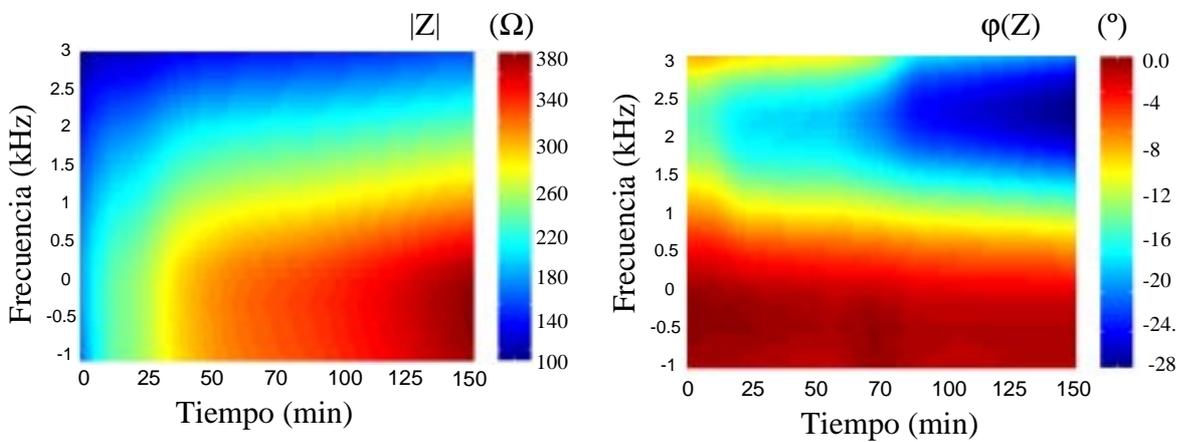


Figura 5.61 Espectrograma de módulo y fase de las medidas de impedancia de hígado de cerdo

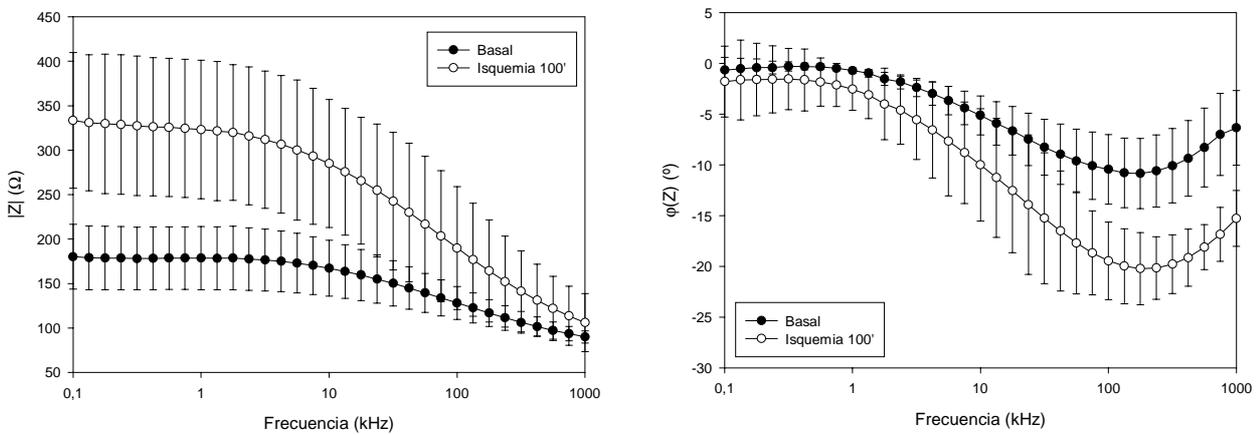


Figura 5.62 Variación del espectro de frecuencia del hígado de cerdo después de 100 minutos de isquemia (media±STD)

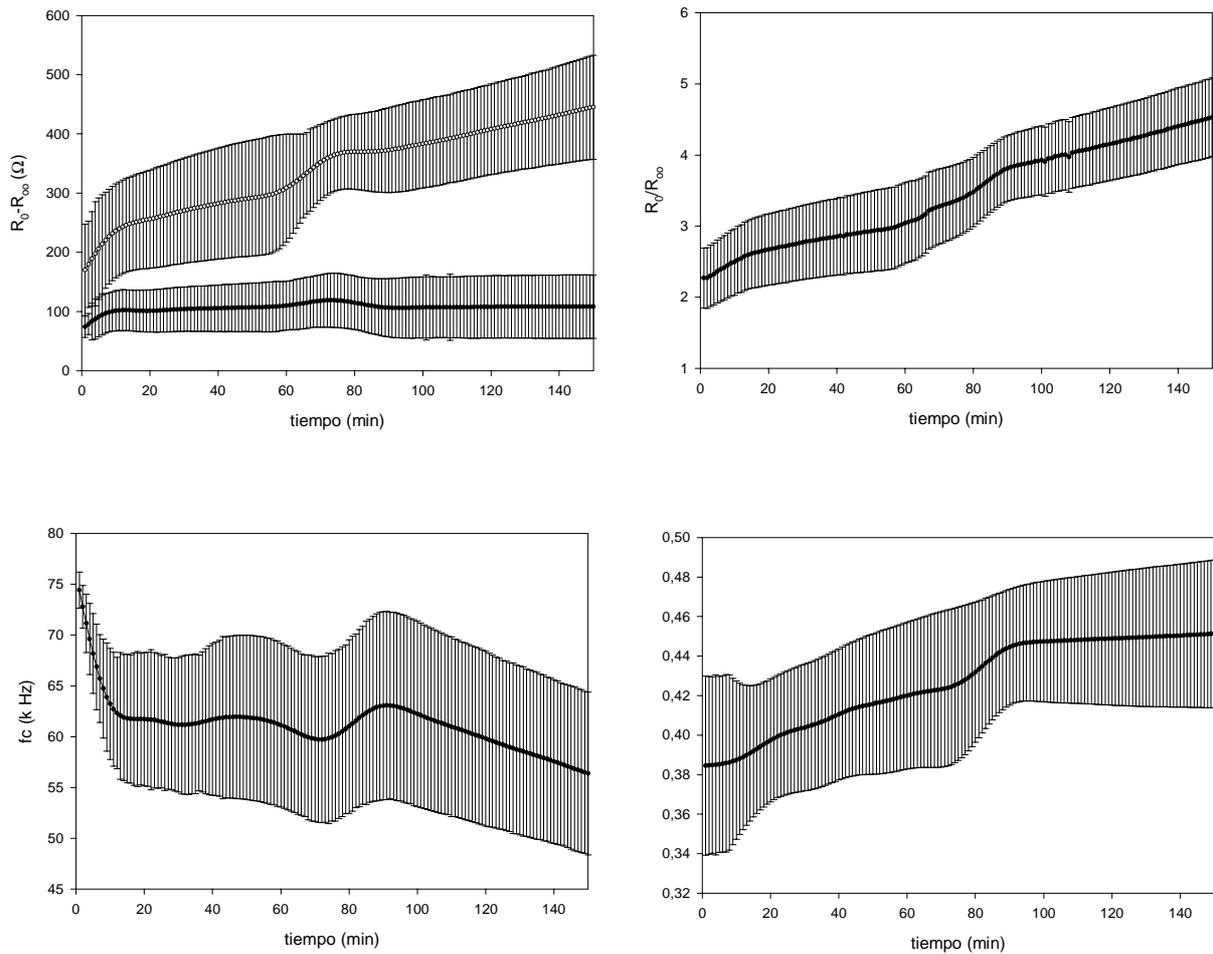


Figura 5.63 Evolución de los parámetros del modelo de Cole del hígado (media \pm STD)

Las variaciones relativas de los parámetros del modelo de Cole después de 100 minutos de isquemia son

| | R_0 | R_∞ | R_0/R_∞ | f_c | α |
|----------------------------------|---------|------------|----------------|--------|----------|
| Cambio relativo con 100' de isq. | +125,6% | +32,5% | +73,1 | -16,2% | +18,4% |

Tabla 5.16 Cambio relativo de los parámetros del modelo de Cole de dos arcos para el bazo con 100 minutos de isquemia (media \pm STD)

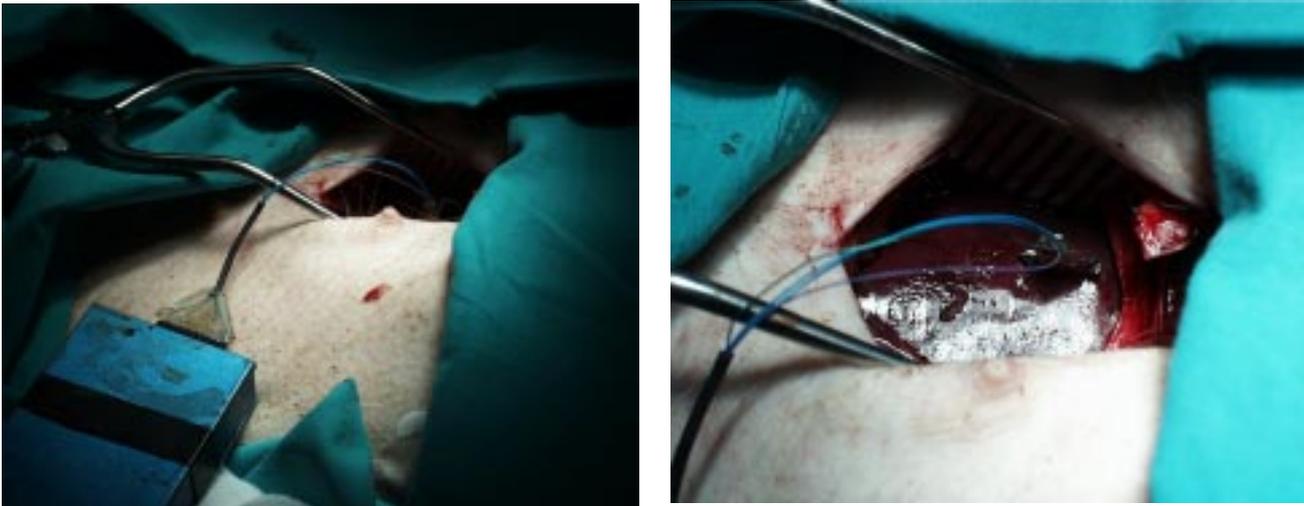


Figura 5.64 Medidas post-mortem del hígado

De todos estos resultados podemos extraer varias conclusiones: la primera es que la evolución de los parámetros del modelo de Cole-Cole es similar para todos los tejidos, siendo de nuevo, en general, los parámetros R_0 , R_0/R_∞ y f_c los más sensibles a la evolución de la isquemia. La segunda es que a través de estos parámetros además se puede cuantificar la evolución del grado de isquemia con el tiempo, observándose, por ejemplo, que en los tejidos musculares estriados la isquemia actúa de forma más lenta, siendo sobre los tejidos hepáticos y renales sobre los que la isquemia evoluciona más rápidamente. El resumen de esta evolución de los parámetros se muestra en la figura 5.65 y en la tabla 5.17

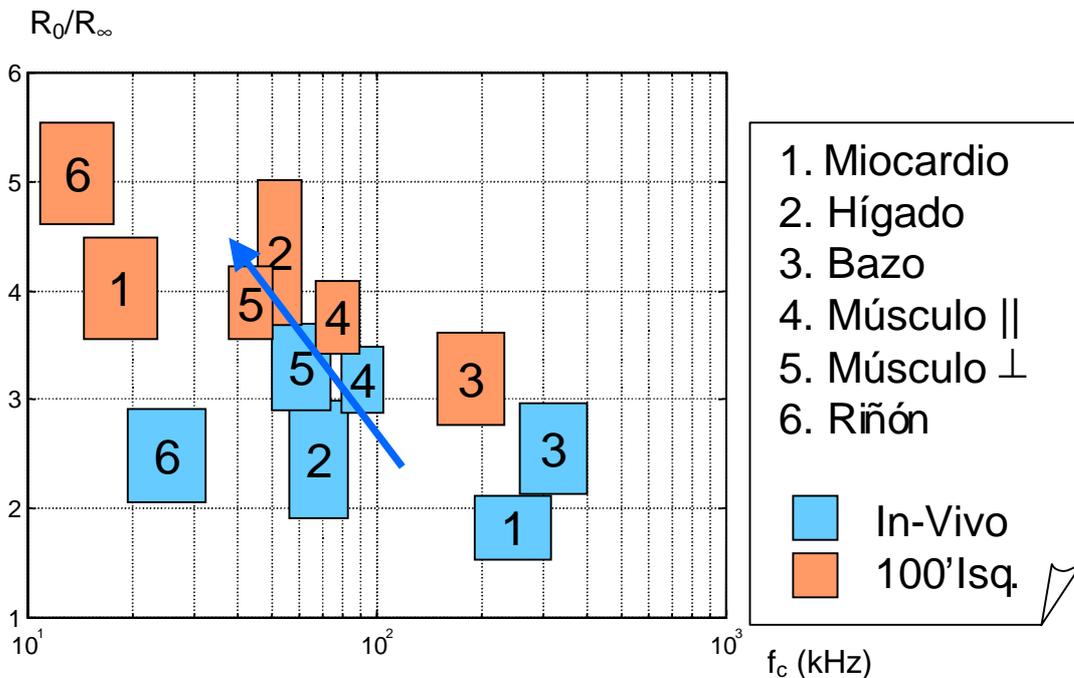


Figura 5.65 Representación en el plano R_0/R_∞ - f_c de la evolución de las impedancias tras 100 minutos de isquemia

| 100' isquemia | Músculo | Músculo ⊥ | Riñón | Bazo | Hígado |
|----------------|---------|-----------|---------|--------|---------|
| R_0 | +16,2% | +26,7% | +126,0% | +41% | +125,6% |
| R_∞ | +5,0% | +3,6% | +42,1% | +5,6% | +32,5% |
| R_0/R_∞ | +20,7% | +23,6% | +94,3% | +37,4% | +73,1% |
| f_c | -9,3% | -24,2% | -63,0% | -33,8% | -16,2% |
| α | +15% | +5,0% | +10,2% | +10,1% | +18,4% |

Tabla 5.17 Resumen de la variación relativa de los parámetros de Cole después de 100 minutos de isquemia

Estos resultados nos permiten concluir que las medidas realizadas *in-vitro* no pueden caracterizar los tejidos vivos ya que en función del tiempo transcurrido desde la extracción del tejido, la isquemia provocada puede haber hecho que los valores de impedancia y los de los posible parámetros de los modelos ajustados hayan variado de forma importante. Esta misma idea queda palpable también en algunas de las medidas que se dan en la bibliografía y que intentan la caracterización de dichos tejidos *in-situ*. En ellas se puede observar la misma tendencia para los parámetros del modelo de Cole que la que se ha encontrado para nuestras medidas que caracterizan la isquemia de los tejidos. Como ejemplo se muestra en la figura 5.65 una comparación entre los valores encontrados con nuestra medidas *in-vivo* e *in-situ* y los encontrados en la bibliografía.

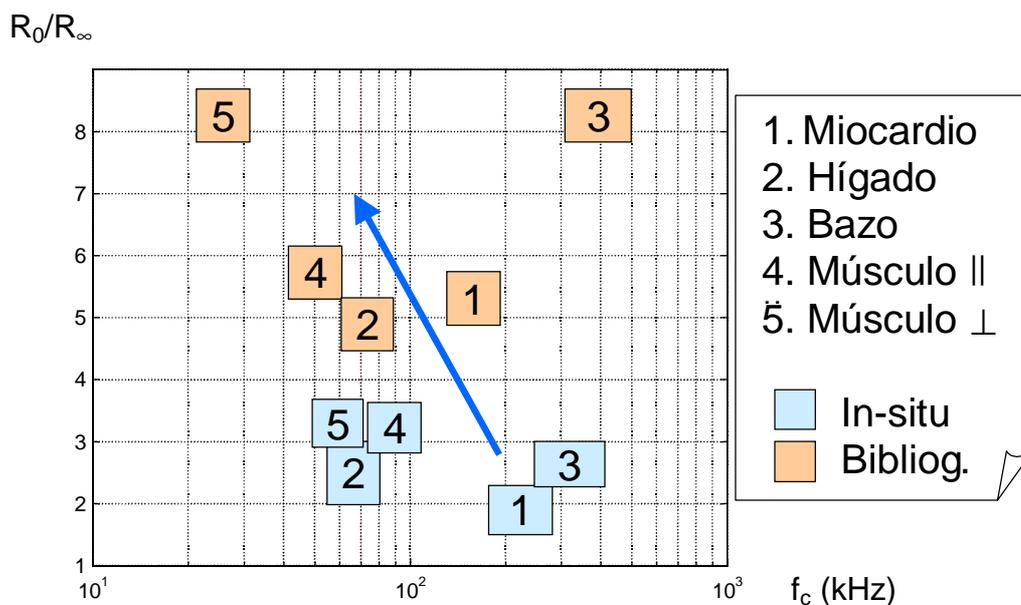


Figura 5.65 Representación en el plano R_0/R_∞ - f_c de la evolución de los parámetros de Cole-Cole medidos *in-vivo* y encontrados en la bibliografía

Se ha demostrado, por tanto, que la espectroscopia de impedancia eléctrica es una técnica que permite la caracterización y diferenciación de los tejidos y seguir la evaluación de la isquemia. Además, así como en el tejido miocárdico se ha comprobado que existe una correlación entre el crecimiento de la relajación a baja frecuencia y la fase de arritmias Ib, que va ligada con el cierre de las *gap-junctions*, en los demás tejidos sería interesante estudiar la relación entre los cambios temporales que sufren las impedancias, o los parámetros de los modelos de Cole-Cole, y algún aspecto fisiológico de interés médico, para potenciar la aplicabilidad de esta técnica y su aplicabilidad en ambientes hospitalarios o para transplantes.

5.4 Obtención de imágenes paramétricas con una agrupación lineal de electrodos. Caracterización del tejido miocárdico

El objetivo de este apartado es presentar imágenes basadas en medidas de impedancia, que no representen la variación de ésta, ya sea temporal o frecuencialmente, sino que presenten el cambio en algún parámetro de un modelo aplicado sobre ellas, que permita la distinción de los diferentes tejidos o de zonas con diferente comportamiento dentro de un mismo tejido. Normalmente la definición de imágenes paramétricas se aplica a la técnica de tomografía de impedancia eléctrica y, como se ha visto en el capítulo tercero, hace referencia a la parametrización mediante modelos de Cole-Cole de los pixels que conforman las imágenes multifrecuencia en TIE. Sin embargo, también es posible hallar este tipo de imágenes a partir de medidas de espectroscopia mediante la utilización de una agrupación lineal de electrodos. En este caso la imagen no representa únicamente variaciones de impedancia, sino que al obtenerse tan sólo la variación de la impedancia en una dimensión espacial, la imagen en dos dimensiones se realiza con la representación de la evolución temporal del parámetro calculado, obteniéndose de esta forma imágenes paramétricas dinámicas. En los siguientes apartados de este capítulo se mostrarán los resultados obtenidos con estas dos técnicas, obteniéndose por un lado imágenes dinámicas utilizando una agrupación lineal de electrodos y que nos han permitido caracterizar la evolución de una isquemia de miocardio y el preconditionamiento que sufre dicho tejido después de varias oclusiones y reperfusiones, y por otro lado, la obtención de imágenes paramétricas en tomografía de impedancia eléctrica sobre maquetas discretas formadas por resistencias y condensadores, sobre tejidos vegetales, y por último, medidas *in-vivo* realizadas sobre abdomen humano.

5.4.1. El sistema de plestimografía PIEM-3

La obtención de imágenes que representen directamente algún valor de impedancia o algún parámetro del modelo de Cole-Cole no tan sólo puede realizarse, como ya se ha comentado, mediante los equipos de tomografía de impedancia eléctrica presentados hasta ahora, sino también es posible realizarlo mediante equipos de plestimografía que permitan la medida espectroscópica a cuatro hilos de más de un segmento. Para la caracterización del tejido miocárdico se ha utilizado, además de las medidas de espectroscopia ya presentadas y realizadas con el analizador de impedancias HP 4192A, el sistema de plestimografía de impedancia eléctrica PIEM-3, (figura 5.66), desarrollado por nuestro grupo de investigación. Éste es un equipo que permite la medida de impedancias a cuatro hilos en diferentes segmentos, permitiendo la programación tanto de los electrodos inyectores como de los detectores entre doce posiciones diferentes.

Este equipo, que ha sido desarrollado principalmente para aplicaciones de detección de cambios de fluidos en composición corporal, es un sistema multifrecuencia que trabaja en el margen frecuencial de 1 kHz a 1 MHz con una resolución de 1 kHz. Con él se ha podido

cuantificar cambios en los medios extra e intracelular en personas, pudiéndose validar los resultados mediante la utilización de la dosimetría y de la utilización del isótopo radiactivo $k40+$. Con los resultados obtenidos se han desarrollado una serie de ecuaciones (Rosell *et al.*,1997) que nos han permitido, a partir de las medidas de impedancia o través de los parámetros de los modelos de Cole-Cole aplicados sobre ellas, la obtención de la cantidad de fluido extra e intracelular presente y lo que es más importante su desplazamiento después de un proceso fisiológico, como puede ser la realización de ejercicio físico intenso, el efecto de la diálisis sobre enfermos renales o los efectos provocados por la microgravedad. En estas situaciones de microgravedad se ha realizado además un estudio de la correlación entre la medidas obtenidas de impedancias y de ritmo cardíaco del sujeto (García-González *et al.*,1997) pudiéndose dar una explicación a la variación de muy baja frecuencia, (centenares de mHz), presentes en las medidas de impedancia (Lozano, 1994).

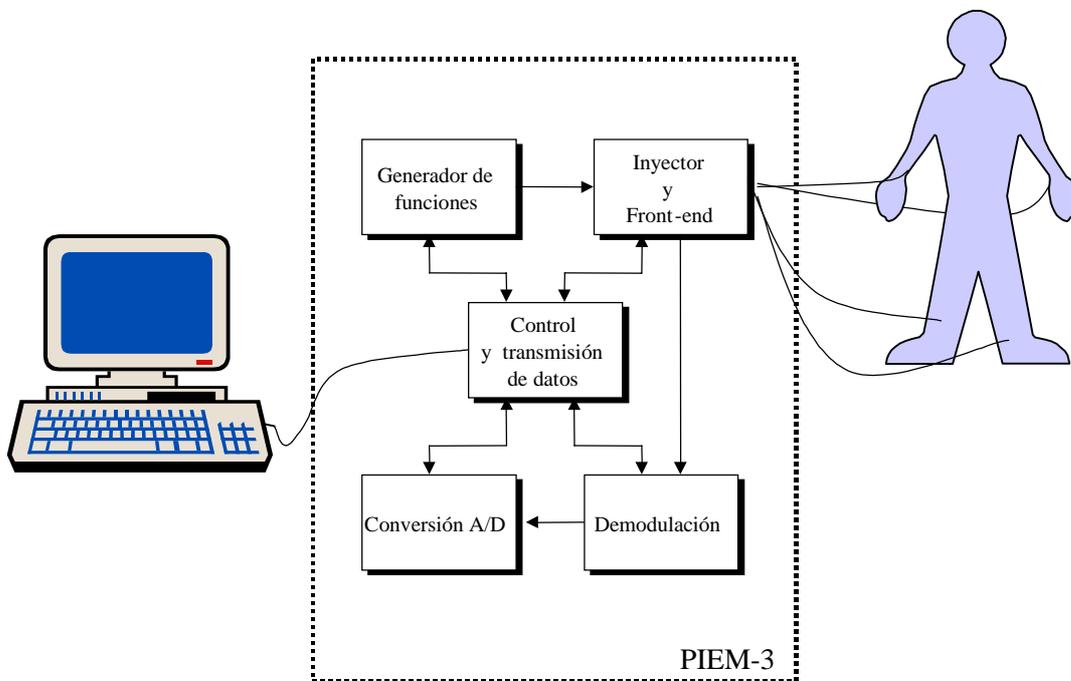


Figura 5.66 Esquema del equipo de plestimografía PIEM-3

5.4.2 Caracterización de la isquemia del tejido miocárdico

Dos son los experimentos que se han realizado con este equipo. En primer lugar se ha caracterizado la evolución espacial de la isquemia, midiendo sus cambios simultáneamente en 7 posiciones diferentes. Por otro lado se ha estudiado el preconditionamiento que sufre el tejido miocárdico después de una oclusión y posterior perfusión. Para realizar estas pruebas se ha utilizado una estructura de electrodos como la que se muestra en la figura 5.67

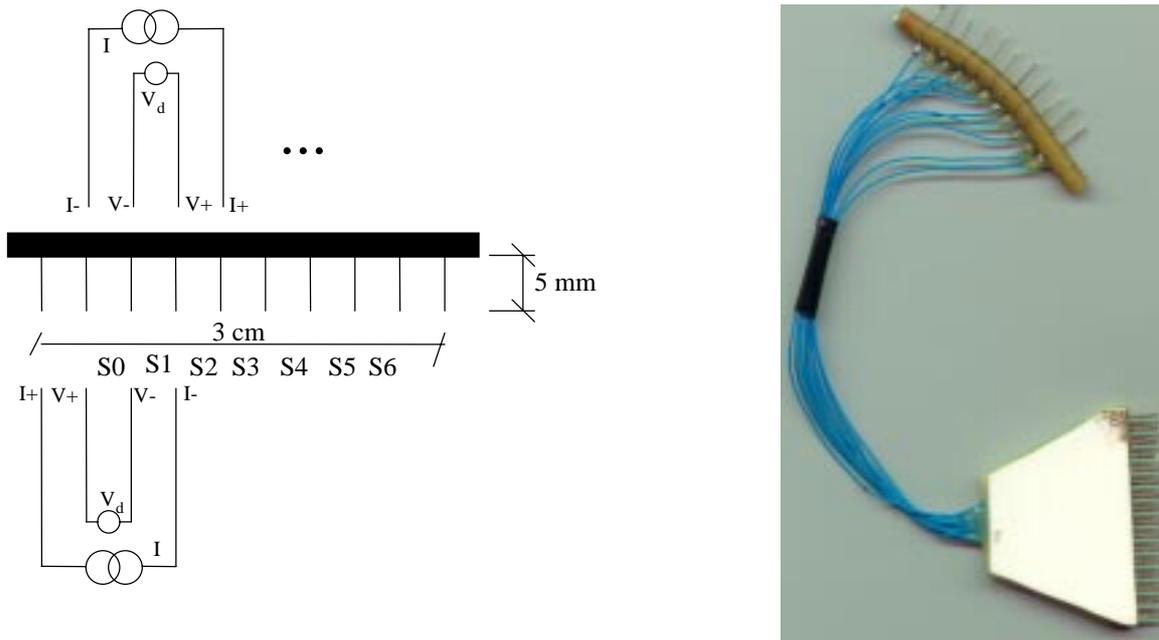


Figura 5.67 Estructura de los electrodos utilizados en las medidas. Posición de la inyección y detección para los segmentos S0 y S1

El método aplicado es similar al utilizado en las medidas de espectroscopia de impedancia eléctrica. Se ha anestesiado al animal, cerdos del tipo híbrido comercial, con α -cloralosa, y se les ha ventilado artificialmente con una concentración de oxígeno del 41%. Después de realizarse una esternotomía media, se han suturado los electrodos sobre el tejido miocárdico, en concreto sobre el ventrículo izquierdo, de tal forma que los primeros electrodos estuvieran dentro de la futura área isquémica y los últimos se vieran poco afectados por la oclusión practicada sobre la arteria coronaria descendente. Se han modificado los programas de adquisición del sistema PIEM-3, utilizados para el cálculo de desplazamientos de fluidos, adaptándose para conseguir realizar medidas sobre el miocardio utilizando dos frecuencias, una a baja frecuencia, 1 kHz y otra a alta, 100 kHz. El tiempo empleado para realizar las medidas con las dos frecuencias de inyección, y en todos los segmentos utilizados ha sido de 3,6 segundos. Los resultados obtenidos se muestran, para cada uno de los segmentos, en las figuras 5.68, 5.69 y 5.70.

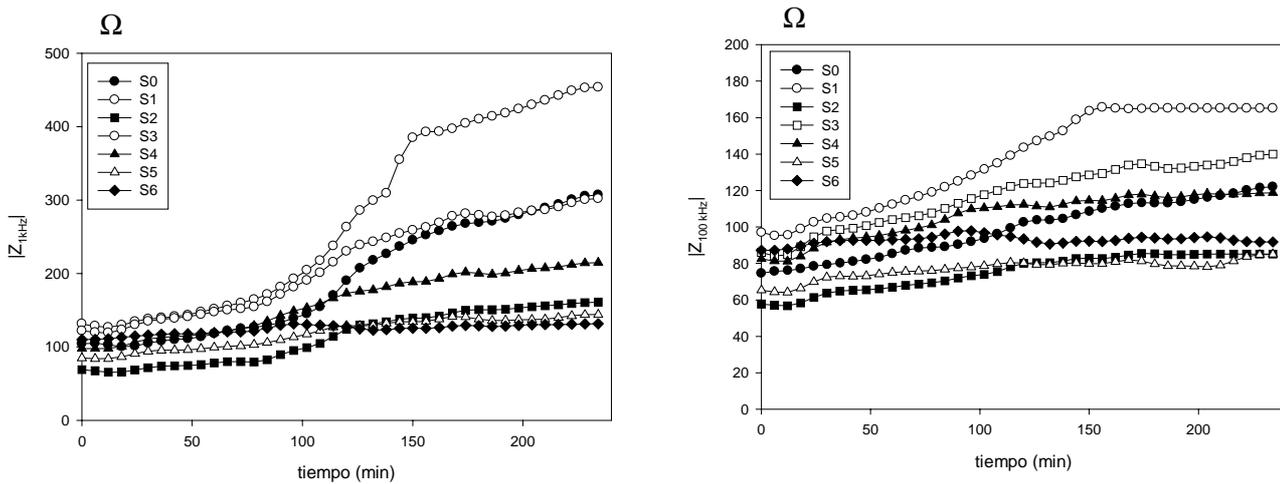


Figura 5.68 Evolución del módulo de la impedancia en los diferentes segmentos para 1 kHz y 100 kHz

En estas figuras se presenta únicamente el módulo y no la fase, ya que al no tener el sistema una elevada impedancia de entrada los errores de la parte imaginaria, debidos a la impedancia de electrodos, son mayores, repercutiendo sobre todo en la medida de la fase a baja frecuencia. Por esto, en todos los experimentos en los que se ha utilizado el equipo PIEM-3 para la caracterización del miocardio, se ha trabajado con el módulo de la impedancia o con parámetros derivados a partir de él.

En la figura 5.68 se observa un diferente crecimiento del módulo de la impedancia según el segmento medido, sin embargo, debido a la diferente constante de célula que tiene cada uno de los segmentos de medida no es posible distinguir con claridad cuál es la zona con mayor grado de isquemia. Cada segmento tendrá una constante de célula distinta debido a las diferencias en la posición relativa de los cuatro electrodos utilizados ya que éstos están sujetos a una goma flexible para facilitar su adaptación a la curvatura del ventrículo izquierdo, así como a sus contracciones. Una forma para solucionar este problema es normalizar los módulos de impedancia de cada segmento respecto al valor que tienen en el instante inicial de la oclusión, que se produjo a los 15 minutos (figura 5.69). Otro método es calcular la relación de módulos a alta y baja frecuencia como se muestra en la figura 5.70.

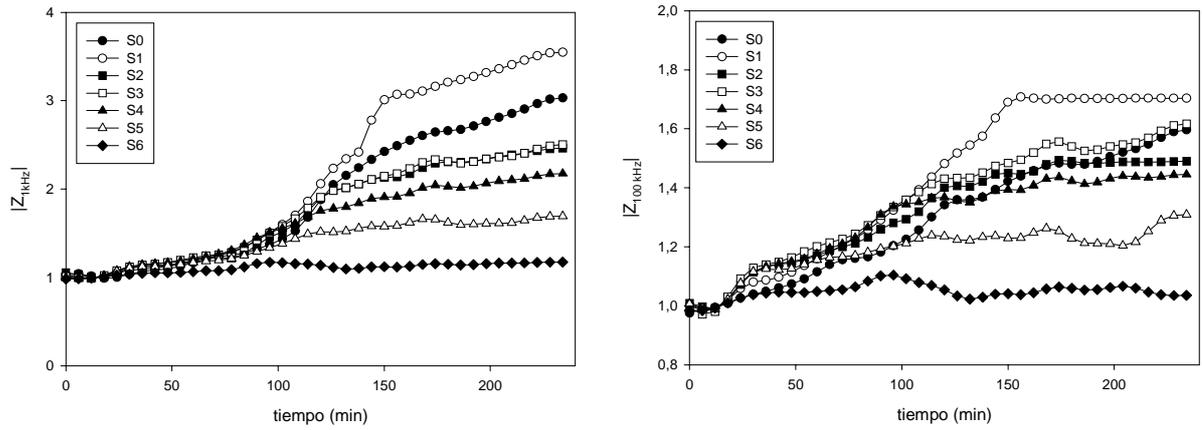


Figura 5.69 Evolución de los valores normalizados de impedancia para 1 y 100 kHz

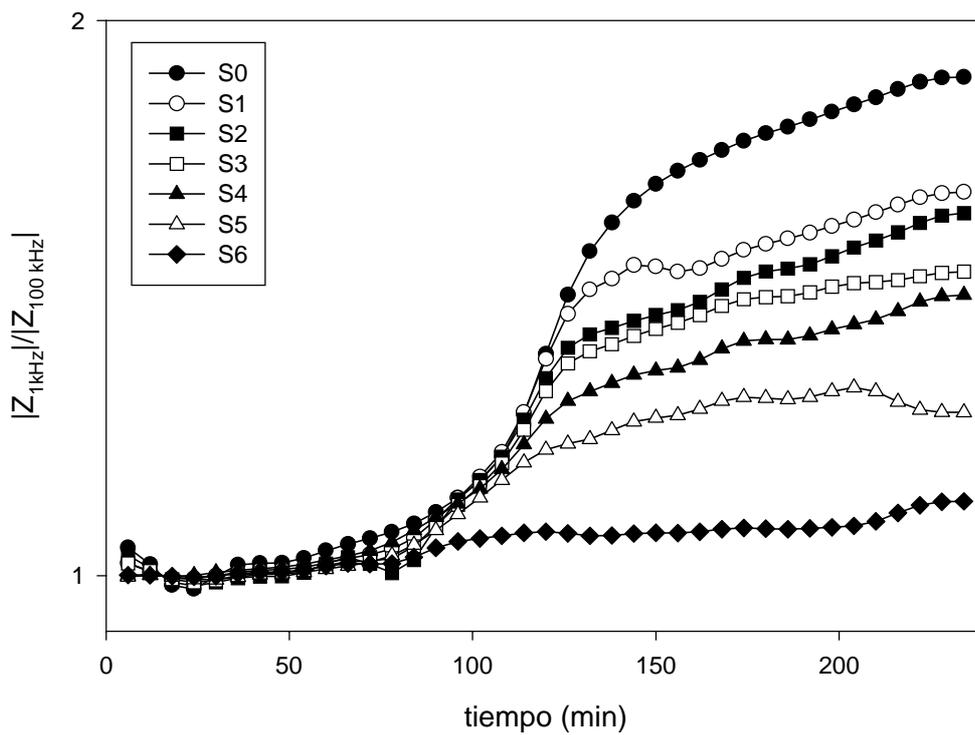


Figura 5.70 Evolución temporal de la relación de módulos a alta y baja frecuencia

Este último parámetro de impedancia normalizada ha resultado ser el más robusto para diferenciar el grado de isquemia, por lo que ha sido el utilizado para representar, mediante

una imagen, la evolución isquémica del miocardio a lo largo de una sección. Esta representación se puede ver en la figura 5.71

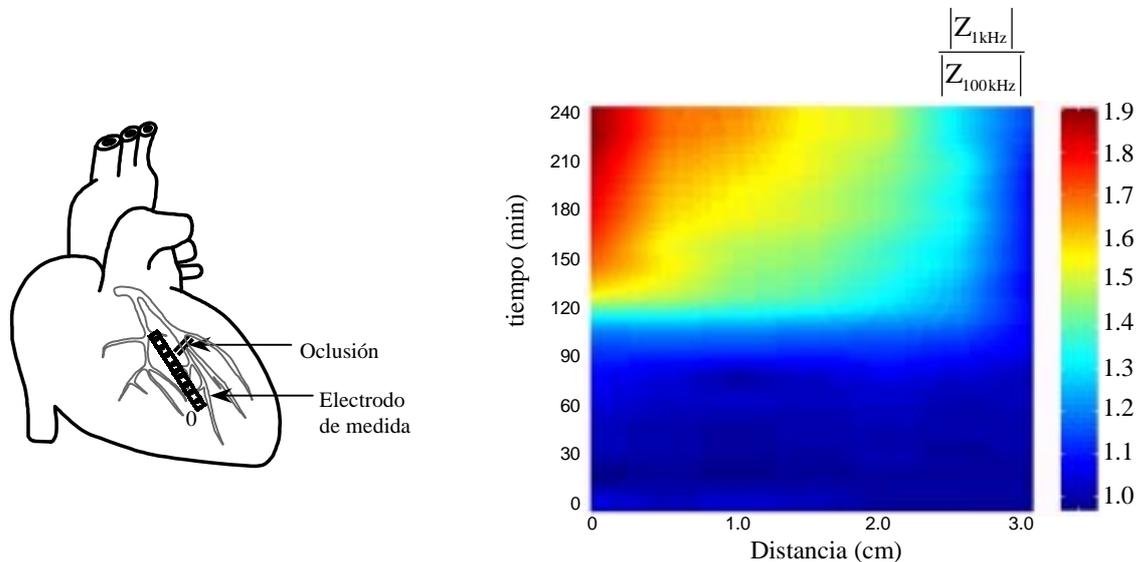


Figura 5.71 Imagen paramétrica que caracteriza la evolución temporal de la isquemia en un segmento del tejido miocárdico

Ha sido, por tanto, posible la obtención de una imagen paramétrica, relación de módulos alta-baja frecuencia, que nos permite estudiar la propagación de la isquemia a lo largo de una sección. Como puede verse en las figuras 5.70 y 5.71, el crecimiento de este parámetro, que representa el grado de pérdida de líquido extracelular (ecuación 5.1) empieza en un instante similar para todas las medidas, obteniéndose a largo plazo un crecimiento mayor en las zonas con mayor grado de isquemia.

$$\frac{|Z_{1\text{kHz}}|}{|Z_{100\text{kHz}}|} \approx \frac{V_T}{V_E} = \frac{V_I + V_E}{V_E} = 1 + \frac{V_I}{V_E} \quad (5.1)$$

De igual forma se ha procedido en las medidas de preconditionamiento. El objetivo era realizar tres oclusiones consecutivas con una duración de 5 minutos y una separación entre cada una de ellas de 20 minutos, pudiéndose estudiar, de esta forma, el preconditionamiento adquirido por el tejido miocárdico en cada uno de los segmentos. El método empleado, tanto en el tratamiento del animal, como en el equipo de adquisición ha sido idéntico al presentado en el experimento anterior, siendo la única diferencia que en este experimento todos los electrodos se han visto afectados en mayor o menor grado, por la isquemia. Los resultados obtenidos se muestran en las figuras 5.72, 5.73 y en las tablas 5.18 y 5.19.

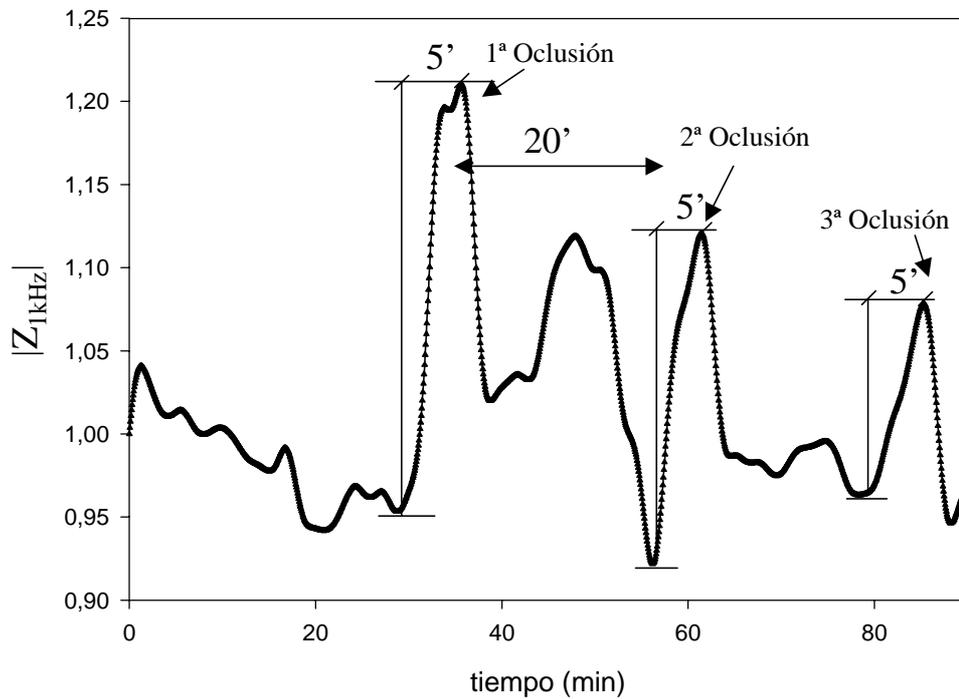


Figura 5.72 Evolución de la impedancia normalizada para 1 kHz para el segmento S2

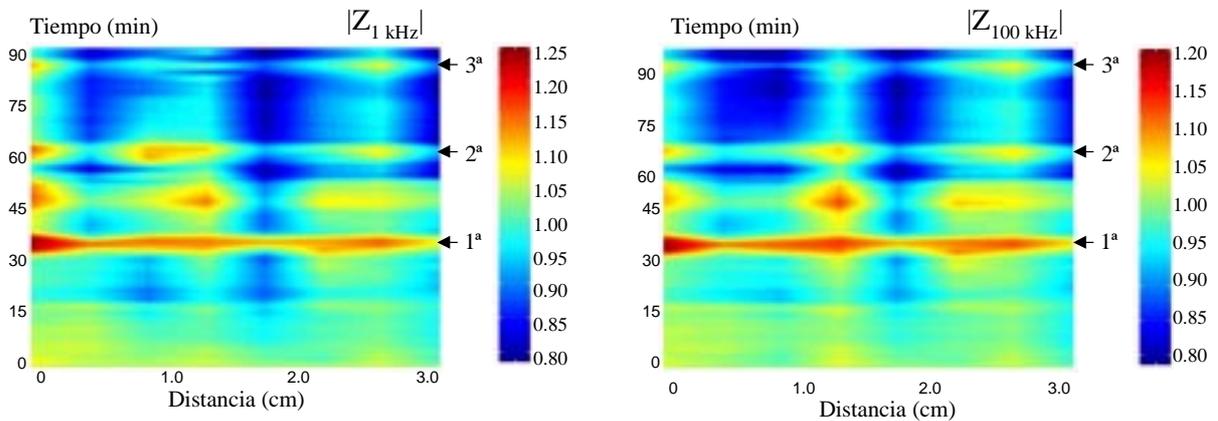


Figura 5.73 Imágenes de la evolución, a lo largo de una sección, de la impedancia normalizada a 1 y 100 kHz. Se han marcado los instantes de las tres oclusiones provocadas, observándose entre la primera y la segunda los efectos de la oclusión no provocada.

Como puede apreciarse en las anteriores figura 5.72, a parte de las tres oclusiones forzadas, se puede apreciar una cuarta entre la primera y la segunda que fue debida a la formación de un trombo que obstruyó la circulación de sangre a través de la arteria descendente.

La cuantificación de estos resultados se ha recogido en las tablas 5.18 y 5.19 donde se muestran los incrementos relativos que sufre el módulo de la impedancia durante cada una de las oclusiones

| f=1 kHz | Oclusión 1^a | Oclusión 2^a | Oclusión 3^a |
|----------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| S0 | 26,8% | 21,3% | 11,5% |
| S1 | 18,9% | 19,1% | 7,6% |
| S2 | 24,8% | 21,5% | 10,5% |
| S3 | 17,6% | 11,6% | 14,9% |
| S4 | 27,7% | 18,3% | 12,9% |
| S5 | 15,9% | 12,8% | 9,4% |
| S6 | 15,6% | 14,7% | 13,2% |
| media | 21,0% | 17,0% | 11,4% |

Tabla 5.18 Cambio relativo para las diferentes oclusiones del módulo de impedancia a 1 kHz.

| f=100 kHz | Oclusión 1^a | Oclusión 2^a | Oclusión 3^a |
|------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| S0 | 20,7% | 20,2% | 10,9% |
| S1 | 15,5% | 14,6% | 7,5% |
| S2 | 18,5% | 20,0% | 10,7% |
| S3 | 15,0% | 8,7% | 5,1% |
| S4 | 20,9% | 15,4% | 10,7% |
| S5 | 14,0% | 10,1% | 8,5% |
| S6 | 14,5% | 14,0% | 10,7% |
| media | 17,0% | 14,7% | 9,2% |

Tabla 5.19 Cambio relativo para las diferentes oclusiones del módulo de impedancia a 100 kHz

Como puede observarse en las anteriores tablas, tanto para 1 kHz como para 100 kHz, cada vez que se produce una nueva oclusión el incremento de la impedancia y por tanto, el grado de isquemia que se consigue es menor, siendo mayor este preconditionamiento cuanto mayor es el número de oclusiones sufridas anteriormente. En nuestro caso, el incremento de impedancia en la tercera oclusión forzada, cuarta oclusión real, es aproximadamente la mitad que el alcanzado en la primera oclusión, en la que el animal aún no estaba preconditionado. Se puede observar, además, la falta de existencia de homogeneidad en la distribución de

fluidos causada por la oclusión, contrariamente a lo que sucedía en los resultados del anterior experimento, donde se observaba un incremento mayor en la impedancia en la misma dirección que la oclusión. Este hecho puede ser debido a la existencia de otras vías, a parte de la arteria coronaria descendente, que podrían permitir, en mayor o menor medida, la irrigación del tejido miocárdico.

A partir de estos resultados es posible concluir que la medida de impedancia mediante una agrupación lineal de electrodos es una técnica que permite la obtención de imágenes paramétricas que pueden caracterizar la evolución temporal de una sección de un tejido.

5.5 Obtención de imágenes paramétricas en tomografía de impedancia eléctrica

5.5.1 Imágenes sobre maquetas de elementos discretos

Las primeras pruebas para validar los métodos desarrollados para la obtención de imágenes paramétricas se han realizado sobre maquetas de elementos discretos. Con ellas es posible implementar de forma fácil diferentes circuitos que permitan la simulación de una relajación en el margen frecuencial de interés. La maqueta utilizada es una red bidimensional de resistencias, con un número finito de elementos, que tiene la ventaja de poder modificar la conductividad de una región, poniendo en paralelo a las resistencias un circuito que simule la variación frecuencial deseada. Los valores de los componentes son calculados a partir de la solución analítica del problema de potencial para situaciones uniformes con geometría rectangular. Como se quiere una maqueta con un perfil circular, más próximo a las dimensiones reales del cuerpo, la maqueta tiene la estructura de la figura 5.74, formada por una red de 10 x 10 elementos resistivos (Riu, 1991)

Como ya se ha comentado en el capítulo segundo, para conseguir de una forma sencilla un elemento que tenga una impedancia variable con la frecuencia es posible utilizar una red como la presentada en la figura 5.75. Ajustando los valores de los condensadores y las resistencias que la forman es posible obtener relajaciones de Debye en el margen frecuencial de medida.

Los valores que se han elegido para realizar las pruebas son los siguientes:

$$R_0=100 \Omega; C_0=500 \text{ pF}; R_1=62 \Omega; C_1=16 \text{ nF}$$

con estos valores, y considerando que las resistencias que conforman la malla tienen un valor de 100 Ω se consigue obtener una frecuencia central de 200 kHz y una relación de resistencias a alta/baja frecuencia de 1,6.

Esta red se ha situado cerca del contorno, para simular lo que nos podemos encontrar al realizar medidas sobre el abdomen humano. Se han realizado medidas multifrecuencia con el sistema de tomografía multifrecuencia TIE-2, que es un sistema serie que permite realizar las medidas utilizando 16 electrodos distintos. En este caso, al utilizar maquetas de elementos discretos, se ha simulado la impedancia de electrodos con una resistencia de 220 Ω en serie con un condensador de 15 nF, y todo ello con una resistencia de 100 k Ω en paralelo. Se han obtenido las matrices de tensiones del contorno, y en concreto la evolución de la parte real de la impedancia, obteniendo a partir de ellas con un algoritmo de retroproyección ponderada las imágenes multifrecuencia que han sido utilizadas para estudiar el comportamiento frecuencial de los diferentes pixels. Estas imágenes multifrecuencia, que se han obtenido utilizando las frecuencias de 8, 16, 31, 62, 125 y 250 kHz se muestran en la figura 5.76 y han sido referenciadas respecto a la frecuencia mayor.

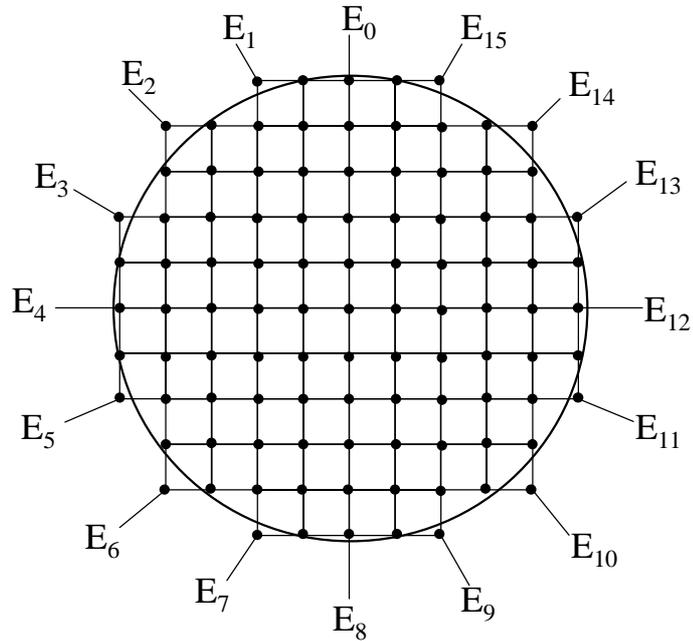


Figura 5.74 Maqueta de elementos discretos utilizada.
Cada línea representa la posición de un elemento resistivo

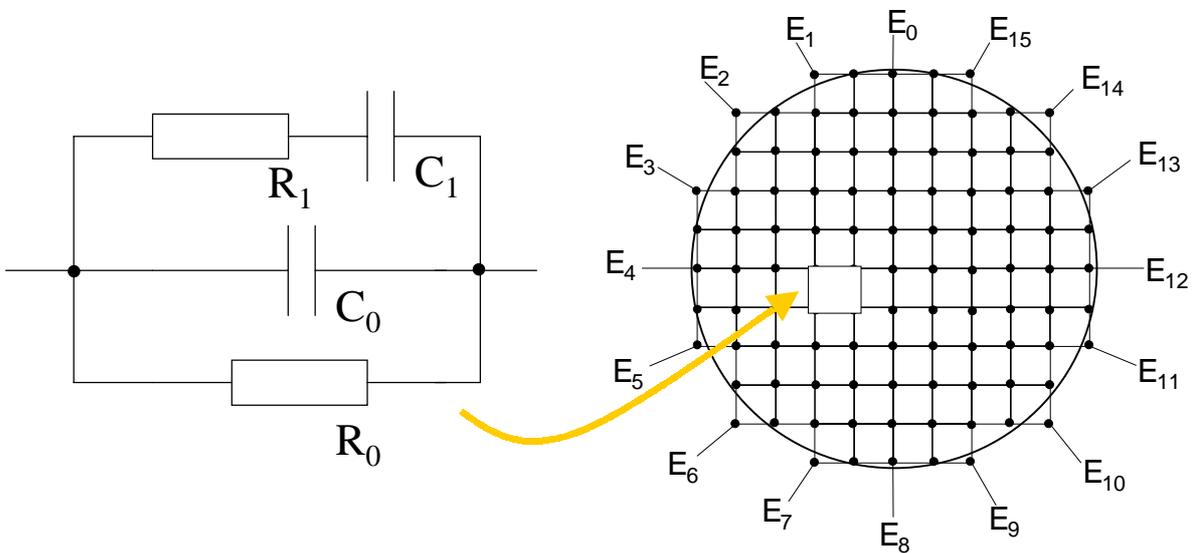


Figura 5.75 Esquema y posicionamiento de los elementos utilizados para simular un comportamiento frecuencial de Debye. Se han colocado 4 elementos situados en la periferia del cuadrado

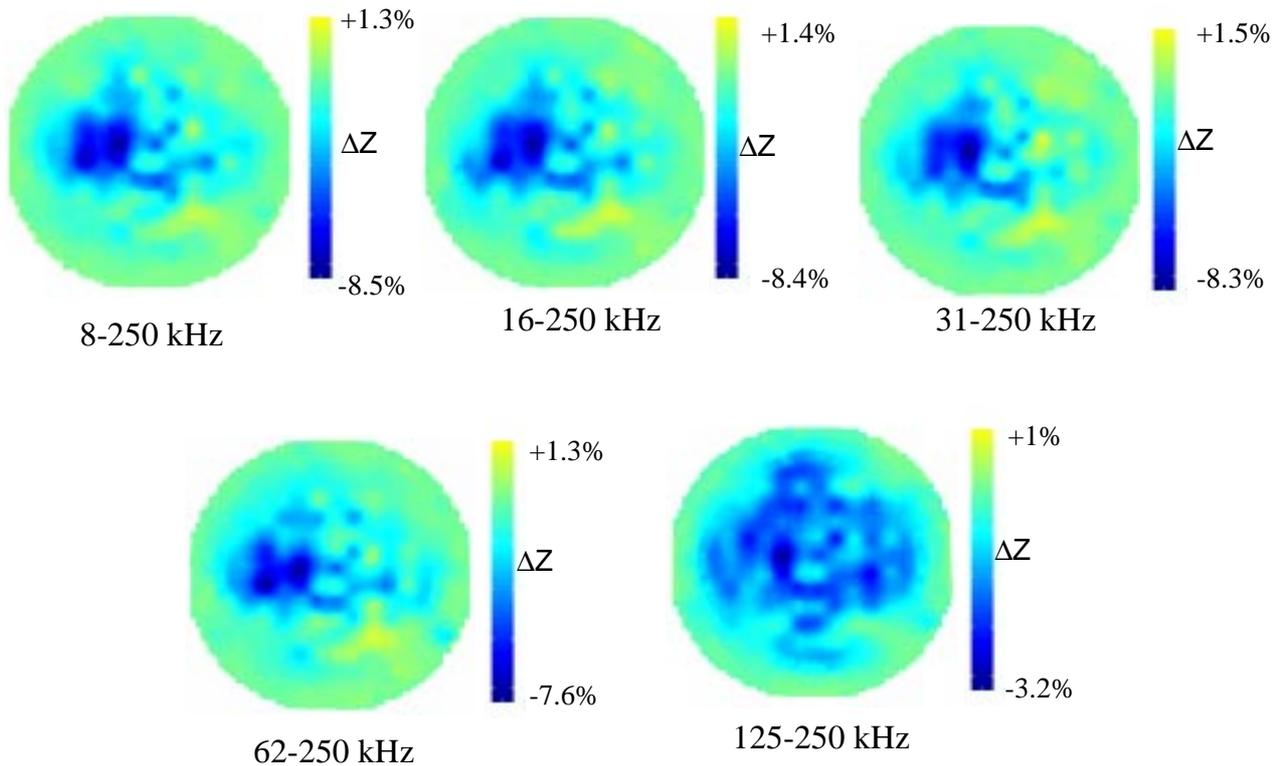


Figura 5.76 Imágenes multifrecuencia de la parte real de la impedancia de la perturbación situada en el contorno de la maqueta tal como se muestra en la figura 5.75

A partir de estas imágenes se ha realizado el estudio frecuencial de los diferentes pixels, utilizando los algoritmos desarrollados en el capítulo tercero. Los resultados que se han encontrado se muestran en la figura 5.77. En ella se muestra la evolución espacial de los parámetros R_0/R_∞ y frecuencia central, no mostrándose la evolución del parámetro α al ser éste nulo al no poderse simular mediante la red de elementos pasivos. La cuantificación de los parámetros, que han sido corregidos con las ecuaciones presentadas en el capítulo tercero y desarrolladas por (Frangi, 1996), nos permite diferenciar la presencia de esta agrupación de elementos, aunque no cuantifica correctamente sus valores. Los valores de la relación de resistencias R_0/R_∞ son subestimados siendo sobrestimados los valores de la frecuencia central. Además, se ha observado la presencia de artefactos en la imagen que han sido eliminados mediante filtrado.

Los errores de cuantificación observados en las imágenes paramétricas pueden tener su origen en tres causas diferentes: la influencia del algoritmo de reconstrucción, la ausencia de convergencia hacia la solución correcta del algoritmo de aproximación al modelo de Cole, estos dos estudiados en el capítulo tercero y por último los errores en el sistema de adquisición.

En las imágenes multifrecuencia podemos observar que existe un ruido presente que se manifiesta principalmente en las posiciones centrales de la imagen y que aparece aun en ausencia de perturbación (fig.5.78). Realizando pruebas sobre una misma maqueta, utilizando el mismo demodulador y variando únicamente la frecuencia de trabajo se ha comprobado una dependencia del ruido con la frecuencia, que puede ser atribuido, una vez descartada la variación frecuencial de la relación señal a ruido del demodulador, al error que provoca la presencia de señal en modo común. Esta señal afectará en mayor medida a los valores detectados diferenciales de menor amplitud que son precisamente los que aportan mayor información de las variaciones en el centro de la sección (Riu, 1991). Esto hace que la relación señal a ruido efectiva del sistema sea menor y por tanto que los algoritmos de ajuste a modelo tengan una peor convergencia tal como se presentó en el capítulo tercero. En (Riu, 1991) se presenta la evolución frecuencial de los errores del sistema, hallándose los siguientes valores para el ruido sistemático: 1,58% para una frecuencia de 16 kHz, 4,1% para 250 kHz y 17,4% para 1 MHz. Éste es superior al hallado para el ruido aleatorio del sistema (NER) que es de 0,06% a 16 kHz, 0,56% a 250 kHz y 0,58% a 1 MHz.

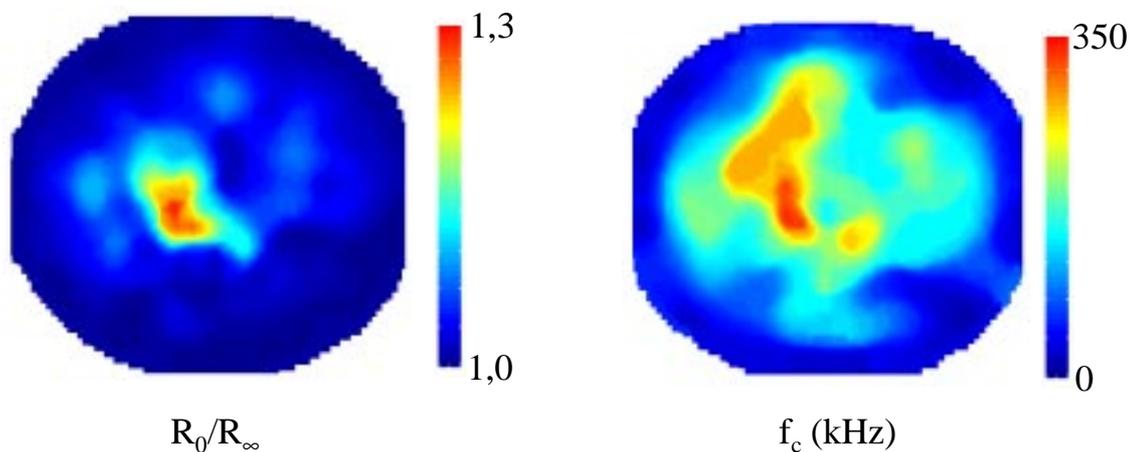


Figura 5.77 Imágenes paramétricas de un phantom de elementos pasivos

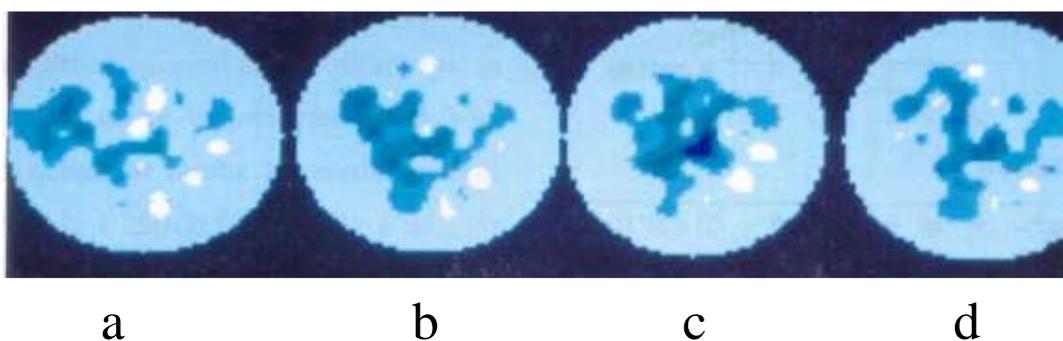


Figura 5.78 Perturbación discreta (2 elementos) a diferentes distancias del centro de la maqueta discreta. (a) $4R/5$, (b) $R/2$, (c) 0 y (d) sin perturbación (Riu, 1991)

5.5.2 Imágenes obtenidas sobre tejidos vegetales

Como ya se ha comentado en el apartado referido a phantoms del capítulo segundo, una forma sencilla de obtener relajaciones reales es la utilización de tejidos biológicos vegetales, como puede ser la patata, la manzana o el calabacín. La gran diferencia de estos tejidos respecto a los tejidos animales es el mayor tamaño de sus células, hecho que provoca que se obtengan unas relajaciones con relaciones R_0/R_∞ mayores y frecuencias centrales menores. Sin embargo, son una buena prueba para validar nuestros algoritmos antes de pasar a las medidas sobre el cuerpo humano. En concreto nuestras medidas se han realizado sobre patatas. El único cambio que se ha realizado respecto al método empleado en las medidas anteriores sobre maquetas ha sido la utilización de un tanque de 20 cms de diámetro con disolución salina (suero fisiológico), en los que se ha introducido, en este caso de forma centrada, un cilindro del tejido a estudiar de 4 cms de altura y 2.5 cms de diámetro (figura 5.79). La medida espectroscópica de la patata nos ha permitido cuantificar sus parámetros característicos. Esta medida se ha realizado con la patata sumergida en suero fisiológico, ya que se obtienen diferencias en las medidas en estas condiciones, que serán las que se tendrán en las medidas de tomografía de impedancia eléctrica, y las medidas de la patata al aire.

Los resultados obtenidos de la evolución frecuencial de la parte real de la impedancia se muestra en la figura 5.80, presentándose en la figura 5.81 las imágenes paramétricas que se pueden extraer a partir de ellas.

5.5.2 Imágenes obtenidas sobre tejidos vegetales

Como ya se ha comentado en el apartado referido a phantoms del capítulo segundo, una forma sencilla de obtener relajaciones reales es la utilización de tejidos biológicos vegetales, como puede ser la patata, la manzana o el calabacín. La gran diferencia de estos tejidos respecto a los tejidos animales es el mayor tamaño de sus células, hecho que provoca que se obtengan unas relajaciones con relaciones R_0/R_∞ mayores y frecuencias características menores. Sin embargo, son una buena prueba para validar nuestros algoritmos antes de pasar a las medidas sobre el cuerpo humano. En concreto nuestras medidas se han realizado sobre patatas. El único cambio que se ha realizado respecto al método empleado en las medidas anteriores sobre maquetas ha sido la utilización de un tanque de 20 cms de diámetro con disolución salina (suero fisiológico), en los que se ha introducido, en este caso de forma centrada, un cilindro del tejido a estudiar de 4 cms de altura y 2,5 cms de diámetro (figura 5.79). Una medida espectroscopica a cuatro hilos de la patata nos ha permitido cuantificar sus parámetros característicos. Esta medida se ha realizado con la patata sumergida en suero fisiológico, ya que se obtienen diferencias en las medidas en estas condiciones, que serán las que se tendrán en las imágenes de tomografía de impedancia eléctrica, y las medidas de la patata al aire.

Los resultados obtenidos de la evolución frecuencial de la parte real de la impedancia se muestra en la figura 5.80, presentándose en la figura 5.81 las imágenes paramétricas que se pueden extraer a partir de ellas.

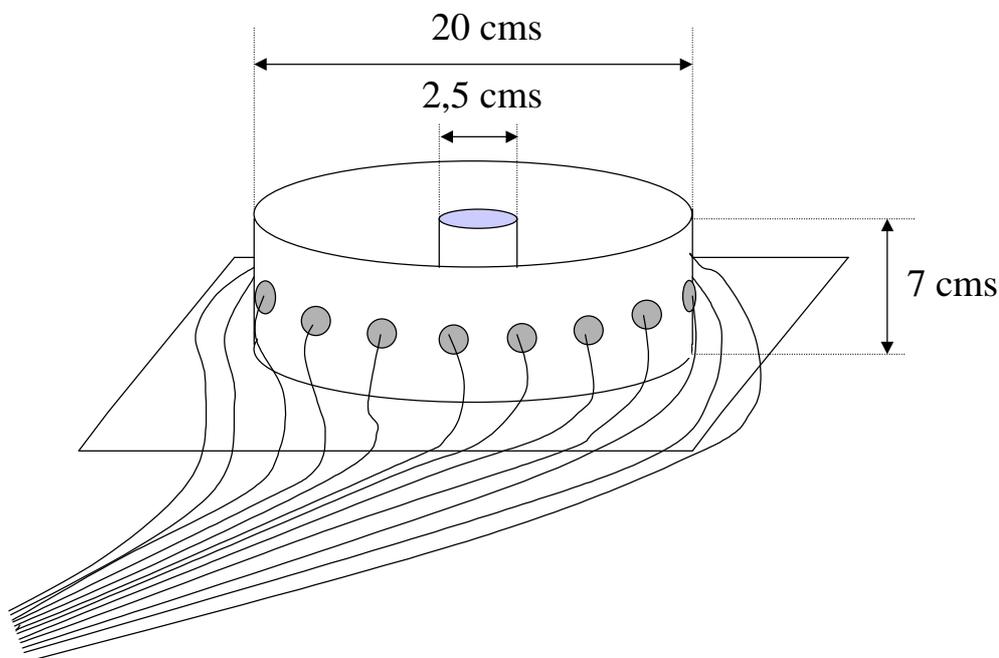


Figura 5.79 Estructura utilizada para la medida de tejidos vegetales

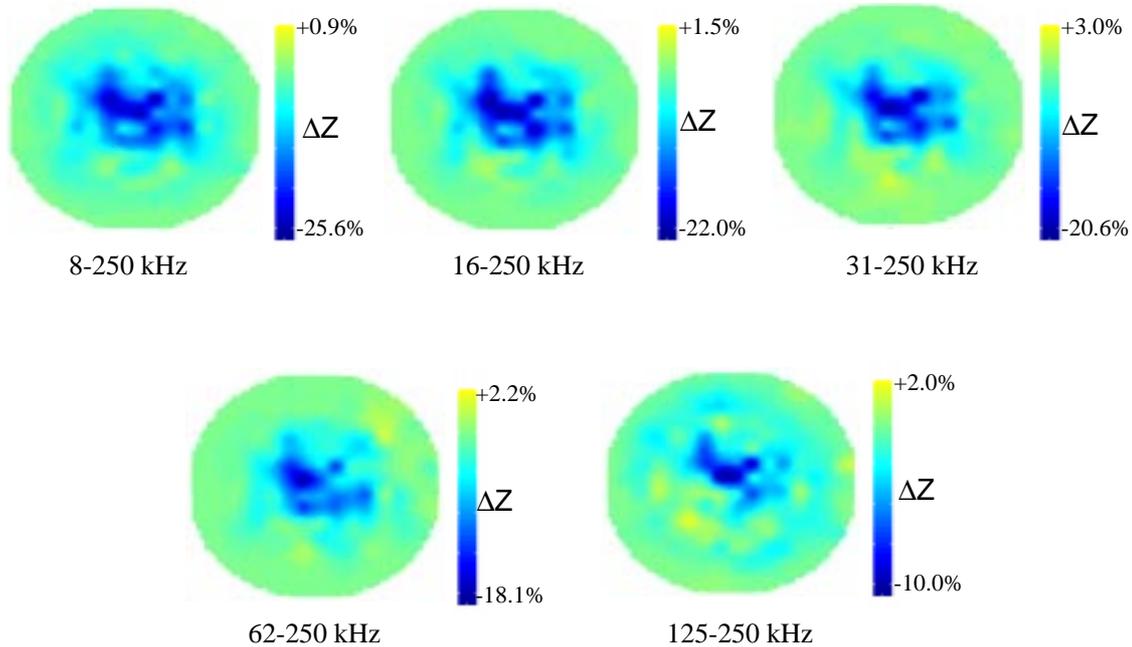


Figura 5.80 Evolución frecuencial de la parte real de la impedancia de la patata

En estas imágenes se encuentran resultados similares a los obtenidos con las medidas sobre los elementos pasivos, ya que se encuentran valores inferiores en la evolución de R_0/R_∞ , que en las medidas de espectroscopia se han obtenido de 5.1, y superiores en la evolución de la frecuencia central que en dichas medidas espectroscópicas es de 15 kHz. El hecho de cuantificar de forma baja el valor de la evolución de la relación de resistencias a alta y baja frecuencia hace que estas imágenes paramétricas no sean, a priori, una buena herramienta para seguir la evolución isquémica de los diferentes órganos.

Una forma posible de reducir la contribución de los errores del sistema de adquisición es mediante la realización de imágenes dinámicas multifrecuencia. Con este método se adquiriría para cada frecuencia la matriz de tensiones con y sin perturbación, reconstruyendo la evolución frecuencial de los cambios respecto a la homogénea. Sin embargo, este método se ha desestimado por la imposibilidad de su aplicación en medidas *in-vivo* que es el objetivo último buscado.

Es posible representar imágenes que muestren la evolución de parámetros diferentes, como pueden ser los extraídos de un modelo circuital, R/S, RC o SC (Lu *et al.*, 1996). Estas imágenes, que no aportan nueva información ya que sus parámetros son una combinación de los calculados en el modelo de Cole, (las relaciones entre ambos modelos se han mostrado

en el capítulo segundo), presentan también limitaciones en la cuantificación y diferenciación de los tejidos, como puede verse en la figura 5.82.

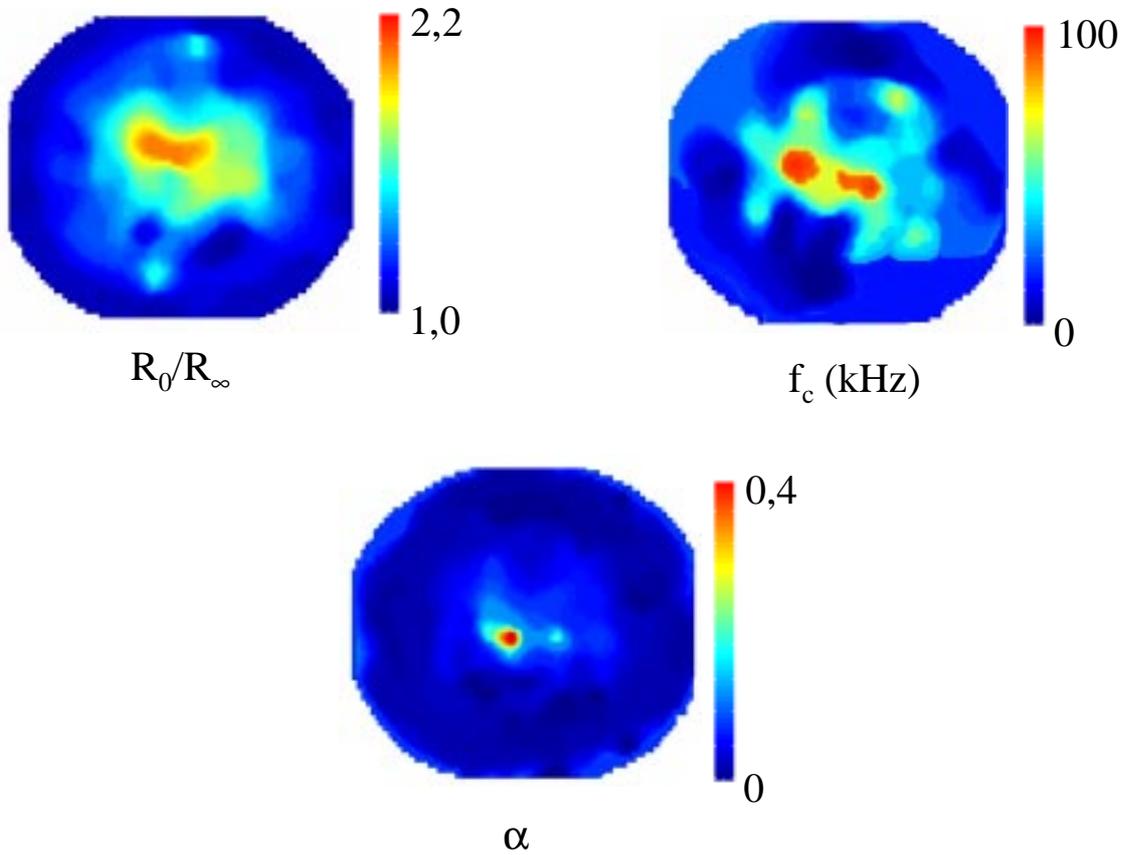


Figura 5.81 Imágenes paramétricas obtenidas de la evolución frecuencial de la patata

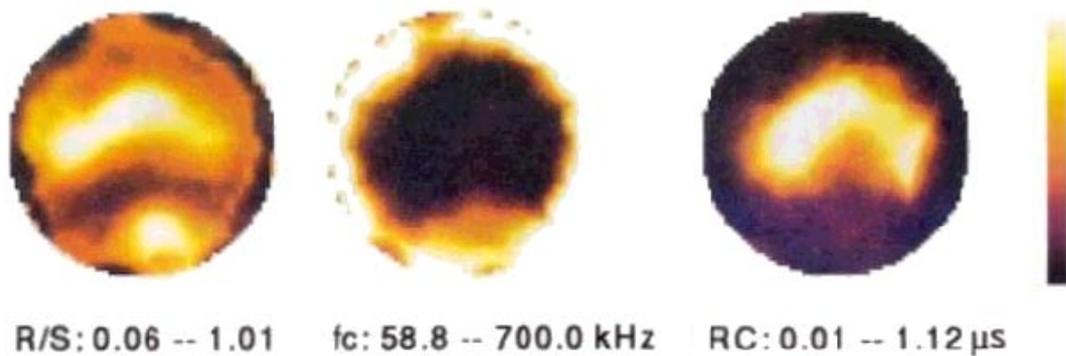


Figura 5.82 Imágenes paramétricas del thorax (Hampshire et al., 1995)

5.5.3 Imágenes paramétricas del abdomen humano

Se ha completado el estudio de la obtención de las imágenes paramétricas con su cálculo en medidas multifrecuencia in-vivo sobre el abdomen humano. El método empleado es el mismo que para las medidas anteriores con una extensión del margen frecuencial empleado a 1 MHz. Debido a esta extensión en el margen frecuencial se ha optado por referenciar las imágenes a la matriz de 8 kHz y no a la de 1 MHz, ya que a esta frecuencia el sistema tiene un error inferior. Las imágenes multifrecuencia obtenidas se presentan en la figura 5.83, para la evolución de la parte real, y en la figura 5.84, para la evolución de la parte imaginaria. Debido a los errores que se encuentran en la parte imaginaria se ha optado, como en los casos anteriores, por la utilización de la parte real para la extracción de los parámetros característicos.

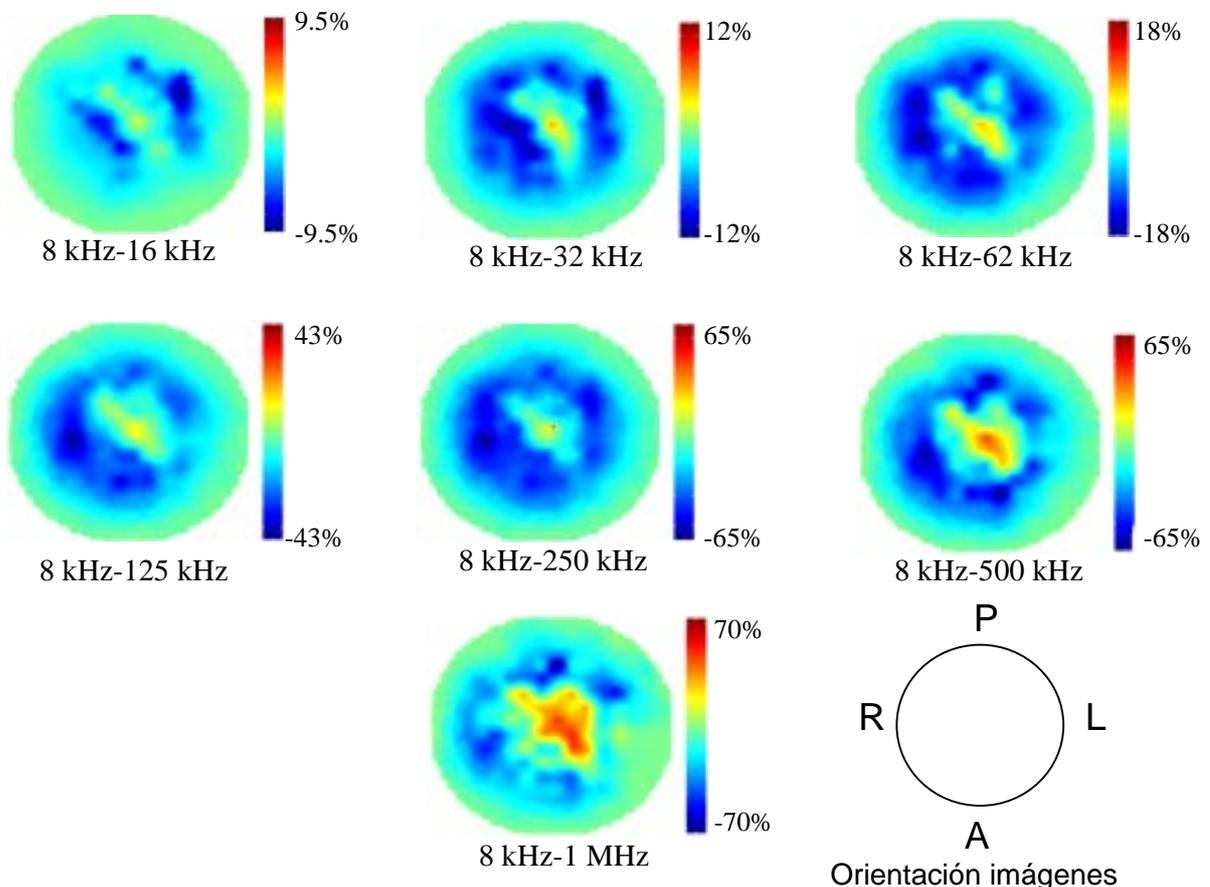


Figura 5.83 Evolución frecuencial de la parte real del abdomen humano

En estas imágenes se observa en la parte central un comportamiento anómalo de la evolución de las impedancias ya que se tiene un crecimiento de la parte real de la impedancia con la frecuencia. Como ya se ha comentado en el apartado 5.5.1, este error es debido a la tensión en modo común presente en las medidas, y que afecta en mayor medida a las tensiones

diferenciales detectadas de valor más pequeño, que son las que tienen una influencia más directa en los valores del centro de la imagen.

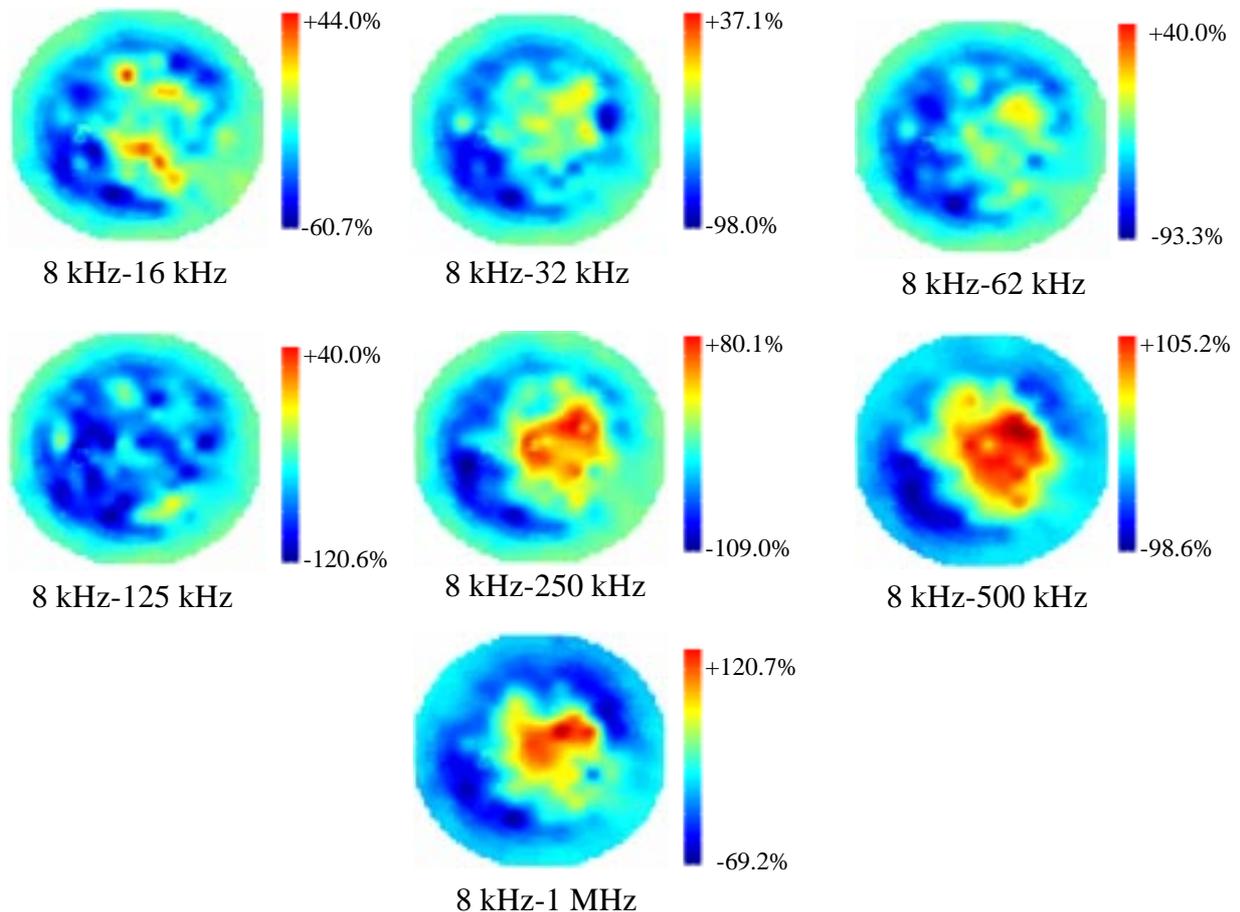


Figura 5.84 Evolución frecuencial de la parte imaginaria del abdomen humano

En la figura 5.85 se presenta un corte de la sección del abdomen humano aproximadamente al mismo nivel donde se han colocado los electrodos de medida. Puede comprobarse la correcta detección que se realiza con las imágenes multifrecuencia de los dos órganos de mayor volumen de esta sección: el hígado y el bazo. Las imágenes paramétricas obtenidas a partir de estas imágenes multifrecuencia se muestran en la siguiente figura 5.86. Los puntos de las imágenes multifrecuencia que tenían un comportamiento anómalo, crecimiento de la parte real de la impedancia con la frecuencia, han sido rechazados a la hora de realizar la parametrización de los diferentes pixels, siendo las imágenes encontradas filtradas mediante un filtro de mediana en dos dimensiones.

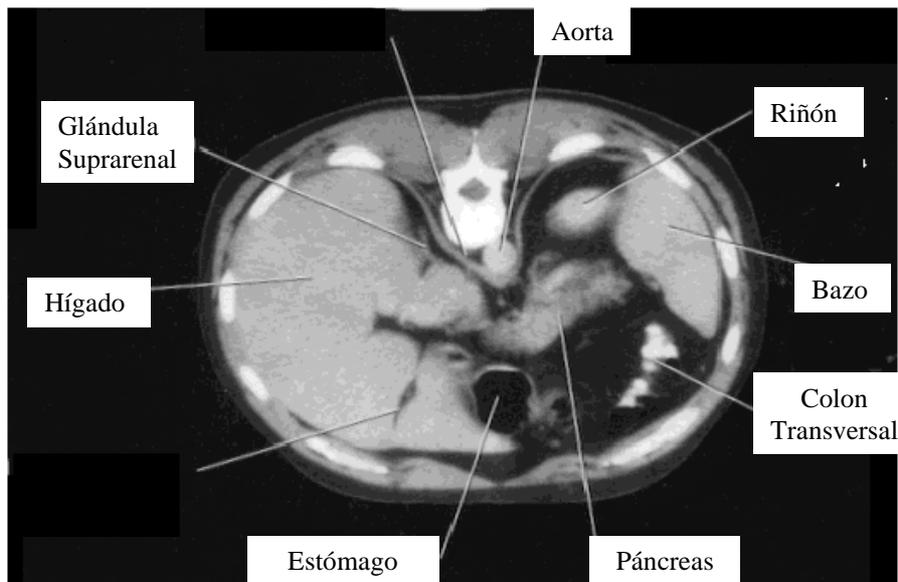


Figura 5.85 Corte del abdomen correspondiente aproximadamente a la altura donde se han colocado los electrodos (Cahill et al., 1990)

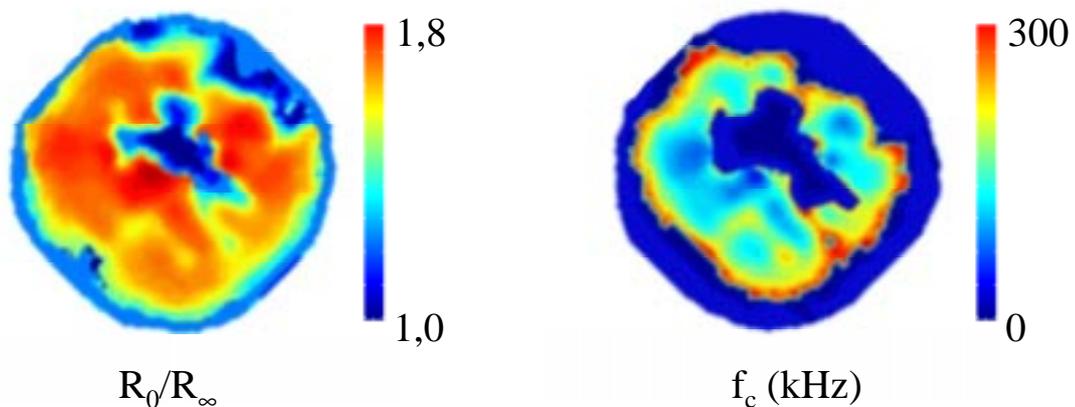


Figura 5.86 Imágenes paramétricas del abdomen humano

Las imágenes paramétricas halladas nos permiten la distinción, al igual que se había visto en las imágenes multifrecuencia, del hígado y el bazo. En cuanto a su cuantificación si se observa la evolución del parámetro R_0/R_∞ , éste no permite la distinción entre ambos órganos ya que el valor encontrado es similar, hecho que coincide con la información que se había obtenido de las medidas espectroscópicas *in-vivo* de los diferentes tejidos. Como sucedía en los anteriores casos existe una subestimación de este parámetro. En cuanto a la frecuencia central, aunque se observan valores ligeramente inferiores en alguna zona del tejido hepático

en comparación con la zona del bazo, estos, no permiten la diferenciación con tanta precisión como con las medidas de espectroscopia donde se había encontrado una frecuencia central para el hígado de unos 70 kHz frente a los 200 kHz que se había hallado en el bazo.

Tanto las imágenes paramétricas del abdomen, como las obtenidas en los casos anteriores, nos muestran las limitaciones existentes si se pretende la caracterización de los tejidos biológicos mediante imágenes paramétricas en tomografía de impedancia eléctrica. La forma que se obtiene es similar a la hallada en las imágenes multifrecuencia, por lo que se consigue obtener la misma información con un número menor de imágenes, sin embargo, la cuantificación de los parámetros no es correcta, limitando a partir de ellos la distinción de los diferentes tejidos. Esta cuantificación errónea es, como se ha visto, debida a las limitaciones del sistema de adquisición y a la influencia de los algoritmos de reconstrucción. El desarrollo de nuevos algoritmos podría mitigar la influencia de esta última limitación. Para solucionar la primera sería necesario, a parte de la mejora de las prestaciones de los sistemas de adquisición, el estudio de nuevas estrategias de inyección que permitieran focalizar las diferentes zonas de la sección, aumentando su sensibilidad.

Una posible aplicación de esta técnica sería la distinción del tejido miocárdico sano, isquémico y cicatricial a través de la obtención de imágenes paramétricas obtenidas de tomografías de impedancias superficiales.

Resumen

En este capítulo se han presentado los resultados obtenidos con las medidas de impedancia eléctrica, realizándose medidas espectroscópicas monopunto, a lo largo de un segmento y de una sección tomográficas, obteniéndose imágenes paramétricas a partir de las dos últimas.

a) Medidas espectroscópicas para la caracterización de tejidos

Con las medidas espectroscópicas a cuatro hilos se ha conseguido tener una caracterización, desde el punto de vista de sus propiedades eléctricas, de los diferentes tejidos, realizándose medidas tanto *in-vivo*, como de la evolución de su isquemia. Dos son los objetivos que se perseguían, por un lado el estudio de una posible aplicación clínica de las medidas de espectroscopia de impedancia eléctrica, y por otro lado la obtención de información a priori para la implementación de imágenes paramétricas en tomografía de impedancia eléctrica. Todas estas medidas se han realizado en colaboración con la unidad de cardiología experimental del hospital universitario del Valle Hebrón.

Medidas sobre el tejido miocárdico:

El primer punto desarrollado ha sido la caracterización, mediante medidas de impedancia, de los cambios en las propiedades pasivas del corazón cuando éste sufre una isquemia aguda. Este trabajo complementa los primeros resultados encontrados por nuestro grupo de investigación, que fueron presentados por Bragós (Bragós, 1997; Bragós *et al.*, 1996a,b). Se ha realizado un estudio de la variabilidad de la evolución isquémica del tejido miocárdico para varios sujetos, mediante medidas *in-vivo*, así como con la parametrización de las medidas para la optimización del factor de diferenciación respecto al miocardio sano. Las conclusiones que se han obtenido con este trabajo han sido:

- El tejido miocárdico sano queda caracterizado con una relajación que en el modelo de Cole-Cole presenta una frecuencia central de aproximadamente 150 kHz. La evolución de la isquemia queda reflejada por un incremento temporal del valor de la impedancia, mayor cuanto menor es la frecuencia. Este hecho queda reflejado en el análisis espectral con la aparición de una nueva relajación, aproximadamente a los 25 minutos, en el margen frecuencial de 1 a 10 kHz. A medida que aumenta el grado de isquemia, aumenta también el desfase en ambas relajaciones, disminuyendo el valor de su frecuencia característica.
- La fase es una magnitud más sensible y robusta que el módulo en el seguimiento de la evolución de la isquemia.
- Es posible caracterizar el grado de isquemia en un tejido miocárdico con una medida puntual a partir del valor de la relación de módulos de impedancia a alta y baja frecuencia, o de la fase a baja frecuencia (5 kHz). Así mismo, los parámetros del modelo de Cole-Cole

que mejor caracterizan la isquemia son la evolución de la relación R_0/R_∞ y la evolución de las frecuencias centrales.

- El mejor parámetro para encontrar el instante de inicio de crecimiento de la segunda relajación, que parece coincidir con la fase arritmiológica Ib provocada por el cierre de las denominadas *gap junctions*, es el parámetro $\Delta R_1 = R_{01} - R_{\infty 1}$, que caracteriza la relajación de baja frecuencia en el modelo de doble arco de Cole-Cole.

Una isquemia en una región del miocardio provoca, sino no hay recuperación del tejido, la muerte de las células al no poder realizar las funciones metabólicas básicas. Esto acaba provocando la destrucción de sus membranas y la descomposición del tejido muscular miocárdico. Como repuesta aparece en su lugar tejido conjuntivo colágeno que conforma una cicatriz. Al carecer de células esta nueva zona miocárdica, no existe variación con la frecuencia ni en el módulo ni en la fase. Se han realizado medidas de impedancia que corroboran esta afirmación. Éstas han sido realizadas sobre cerdos, que un mes después de practicarles una oclusión presentaban una cicatriz en una área ventricular. En este caso también se ha comprobado que la fase es una herramienta más robusta que la evolución del módulo a baja frecuencia (Tresánchez *et al.*, 1997) para diferenciar el tejido sano del cicatrizado.

A partir de todos estos resultados se ha propuesto el siguiente factor para diferenciar el tejido miocárdico sano, del isquémico y de la cicatriz:

$$F_D = \text{Fase}_{5 \text{ kHz}}(^{\circ}) \cdot \text{Fase}_{300 \text{ kHz}}(^{\circ}) \cdot \frac{|Z_{BF}|}{|Z_{AF}|}$$

El hecho de no utilizar magnitudes normalizadas para las fases, hace que éstas, que se ha comprobado son más sensibles, tengan un mayor peso que la relación de impedancias a alta y baja frecuencia. Con este factor ha sido posible diferenciar claramente los tres casos estudiados en las medidas experimentales realizadas.

Una isquemia provocada por la oclusión de una arteria puede, de forma espontánea o bien forzada, liberarse de esta oclusión, provocándose una reperfusión del tejido y su recuperación en función del tiempo que haya permanecido ocluido. Por ello, para caracterizar el miocardio reperfundido se han estudiado tres grupos diferentes según la oclusión durara 15, 35 o 75 minutos. Los resultados obtenidos nos muestran una recuperación en los valores de impedancia, tanto en módulo como en fase en casi todos los casos. Sólo cuando la oclusión ha sido larga (75') ha quedado en algún caso un residuo en la fase, de alrededor de 1° , para las bajas frecuencias (Warren *et al.*, 1998). Sin embargo, un estudio de contractibilidad, ha demostrado que aunque los grupos de 15 y 35 minutos se recuperaban, esto no sucedía en ningún caso de los del grupo de 75 minutos, quedando siempre dañada la zona estudiada de miocardio. La conclusión que puede extraerse de estas medidas es la imposibilidad que se tiene con las medidas de espectroscopia de impedancia eléctrica de realizar una distinción

entre el tejido sano y el reperfundido, aunque este último haya quedado dañado. Una explicación a esto puede ser el hecho de que el edema creado en la reperfusión enmascare otros cambios fisiológicos al producirse paralelamente a ellos.

Medidas sobre otros tejidos y órganos

Además del estudio realizado sobre el tejido miocárdico, se han realizado también medidas sobre otros órganos para conseguir su caracterización *in-vivo* y estudiar la evolución de su isquemia. Las conclusiones que se extraen de este estudio son:

- En las medidas *in-vivo*, los parámetros del modelo de Cole-Cole que permiten diferenciar y caracterizar mejor los tejidos son R_0/R_∞ y la frecuencia central.
- Estos mismos parámetros son los que mejor caracterizan la evolución de la isquemia de los diferentes tejidos. En ella se ha comprobado que siempre hay un crecimiento de la relación R_0/R_∞ y un decrecimiento de la frecuencia central, que se producen de forma más o menos rápida en función de las características de los tejidos que se esté estudiando. El hígado es uno de los órganos donde la isquemia actúa más rápidamente, 75% de cambio en R_0/R_∞ después de 100 minutos de isquemia, siendo, de los medidos, los tejidos musculares donde más lentamente evoluciona la isquemia, 20% de cambio en R_0/R_∞ después de 100 minutos de isquemia.
- El cambio que provoca la evolución de la isquemia en las medidas de impedancia de los tejidos posibilita que esta técnica sea potencialmente una buena herramienta para el estudio del estado de los órganos en operaciones de tranplantes, pero imposibilita, la caracterización *in-vivo* de los tejidos con medidas *in-vitro*, haciendo peor esta aproximación cuanto más tiempo haya transcurrido desde la extracción del órgano.

b) Obtención de imágenes paramétricas

Para realizar la caracterización de los tejidos mediante el uso de imágenes paramétricas se han utilizado dos técnicas diferentes. La primera, basada en la utilización de un sistema de plestimografía eléctrica que nos ha permitido la obtención de medidas multifrecuencia de espectroscopia de impedancia eléctrica a lo largo de una dimensión, nos ha permitido representar en una imagen la evolución temporal y longitudinal de los diferentes parámetros. Las medidas realizadas con esta técnica han servido para completar la caracterización del tejido miocárdico, estudiándose la evolución de una isquemia y el preconditionamiento que sufre el tejido después de repetidos procesos de oclusión-reperfusión. Los parámetros representados que han permitido realizar mejor su caracterización han sido la relación de módulos de impedancia a alta y baja frecuencia (1-100 kHz) y los valores normalizados de dichos módulos respecto al valor obtenido en el instante de la oclusión.

La segunda técnica obtiene imágenes paramétricas a partir de imágenes multifrecuencia de impedancia eléctrica. Se realiza, por tanto, la caracterización de una sección del objeto a estudiar. Los parámetros elegidos han sido los del modelo de Cole-Cole aplicado a la evolución frecuencial de los diferentes pixels que conforman las imágenes. Se han obtenido imágenes sobre *phantoms* basados en elementos pasivos, sobre tejidos vegetales y sobre abdomen humano. A partir de los resultados hallados es posible concluir que las imágenes obtenidas presentan una subestimación de R_0/R_∞ y una sobrestimación de la frecuencia característica, que son los dos parámetros que mejor caracterizan y diferencian los tejidos. Estos errores de cuantificación son debidos a la influencia de los errores del sistema de adquisición y a los errores que provocan los algoritmos de reconstrucción en la cuantificación de los valores de cambio de impedancia y los algoritmos de extracción de parámetros. Para mejorar los resultados puede ser útil la utilización de la información *a priori* que podemos extraer de las medidas espectroscópicas de impedancia. A pesar de estas limitaciones, estas imágenes son una herramienta útil, ya que es posible diferenciar los tejidos u órganos a estudiar, simplificando la representación de la información que aportan las imágenes multifrecuencia.