

**ESPECTRÓMETRO DE
IMPEDANCIA PARA
MONITOREO DE DAÑO
ISQUÉMICO TISULAR**

Maestría en Ingeniería Biomédica

SALAH OTHMAN

UAM IZTAPALAPA
Av. Michoacán y la Purísima, 09340, México, D.F., México

Asesor: Dr. Emilio Sacristán Rock

Sinodales:

Ernesto Suaste Gómez

Joaquín Azpiroz Leehan

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

**En el nombre de Dios,
el Clemente,
el Misericordioso...**

Agradecimientos

Antes que nada doy alabanzas a **Dios**, quien me ha permitido llevar a buen término esta obra, la cual espero sea aplicada en beneficio de la humanidad.

Dedico con mucho cariño este trabajo al espíritu de mi Padre, a mi Madre, mis hermanas y mis hermanos.

Un especial agradecimiento al Dr. Emilio Sacristán Rock por su asesoría y apoyo científico, y técnico para esta tesis, pero más que nada por su amistad y calidad humana.

Agradezco a la Escuela Militar de Graduados de Sanidad, en especial a la Dra. Cleva Guadalupe Villanueva y a todo el personal del laboratorio de farmacología, y a mi compañero César Antonio González Díaz por su valiosa cooperación y apoyo logístico en el desarrollo de los experimentos.

Gracias a todos los profesores del Departamento de Ingeniería Biomédica en la UAM por sus enormes deseos de enseñar, en especial a los maestros Miguel Cadena Méndez, Tomás Aljama Corrales, por su apoyo científico, y los profesores Miguel Angel Martínez Roque, Miguel Angel Bautista León, y Donaciano Jiménez Vázquez por su apoyo en la sección electrónica.

Hago un agradecimiento especial a mi amigo y compañero en el laboratorio Andro A. Solis M. por su invaluable apoyo para llevar a buen término esta tesis gracias a sus correcciones y recomendaciones.

Agradezco a todos mis compañeros en la Maestría por su apoyo moral y su ayuda cada vez que fue requerida, y en especial a Raúl Narváez Sánchez por su apoyo en el aspecto fisiológico.

Agradezco a Julien Pardinilla de Francia por su cooperación en la construcción de sondas y ayuda en los experimentos.

Agradezco al Sr. Isam Ramahi, por su apoyo moral y económico.

Agradezco al Gobierno de México, en especial a la Secretaría de Relaciones Exteriores, y al Gobierno de Siria por haberme otorgado una beca para realizar mis estudios de posgrado en México.

Indice

<i>Capítulo</i>	<i>página</i>
Agradecimientos	i
Indice	ii
1. Introducción	1
1.1. Identificación del problema	1
1.1.1. Condición de choque y resucitación	1
1.1.2. Detección choque y su tratamiento	2
1.2. Objetivos	4
1.3. Hipótesis y aproximación a la investigación	5
2. Antecedentes	6
2.1. La isquemia en el tejido	6
2.1.1. La mucosa intestinal durante el estado de choque	7
2.1.2. Medición indirecta del pH intramucoso por medio de tonometría gastro-intestinal	7
2.1.3. Daño a la mucosa intestinal	9
2.2. Técnicas para medición y monitoreo de isquemia y perfusión tisular	10
2.2.1. Comparación de varias técnicas de medición y monitoreo de isquemia y perfusión del tejido	11
2.2.2. Técnicas basadas en impedancia para el monitoreo de la isquemia y la perfusión del tejido	12
2.3. Espectroscopía de impedancia	13
2.3.1. Definición y principios de espectroscopía de impedancia	13
2.3.2. Aplicación de la espectroscopía de impedancia a los tejidos biológicos	14
2.4. Las propiedades eléctricas de los tejidos	15
Dispersión del tejido	16
2.5. Resumen	20
3. Diseño del hardware del espectrómetro de impedancia	21
3.1. Descripción de los términos y principios básicos	21
3.2. Diseño del sistema de espectrometría de impedancia	23
3.2.1. Descripción de los módulos que componen el espectrómetro de impedancia	23
3.2.2. Modulación y demodulación aplicada a espectroscopia de impedancia	26
3.2.2.1. Amplitud modulada	26
3.2.2.2. Demodulación	28
3.2.3. Descripción general de la operación del espectrómetro de impedancia	30
3.2.4. Descripción de la captura de datos y su recuperación por medio de la modulación y demodulación síncronas	30
3.2.5. Descripción del muestreo de datos	33
3.3. Características de diseño del hardware del espectrómetro de impedancia	36
3.3.1. Descripción de los módulos de fuente y medición de corriente	36
3.3.2. Descripción del módulo de mezcladores	42
3.3.3. Descripción del módulo de adquisición de datos	46
3.3.4. Resumen del modelo electrónico del espectrómetro y las ecuaciones matemáticas de la diferentes etapas	48
3.3.5. Descripción del módulo de comunicaciones	49
3.3.6. Calibración del sistema	50

3.3.6.1. Calibración del hardware del espectrómetro de impedancia.	50
3.3.6.2. Calibración la corriente de la fuente de corriente.	50
3.3.6.3. Calibración de ganancia para los amplificadores de instrumentación	51
3.3.6.4. Calibración Los multiplicadores	51
3.3.6.5. Calibración de los filtros pasabanda	52
3.3.6.6. Calibración de ganancia de los amplificadores operacionales de salida de ambos canales (señal del tejido y referencia)	53
3.3.6.7. Calibración mediante software Cálculo las curvas de calibración	54 54
3.3.7. Diseño del software del espectrómetro de impedancia	55
3.3.7.1. Medición de impedancias	55
3.3.7.2. Calculo de la impedancia compleja	56
3.3.7.2.1. Cálculo de amplitud	56
3.3.7.2.2. Cálculo de fase por medio de la correlación	56
3.3.8. Descripción del módulo de electrodos	57
4. Caracterización del funcionamiento del sistema.	60
4.1. Caracterización del funcionamiento del sistema en el Laboratorio de Instrumentación Biomédica	60
4.2. Caracterización del funcionamiento del sistema in vivo, en el Laboratorio de Farmacología de la Escuela Médico-Militar	63
5. resultados	65
5.1. Resultados de calibraciones del sistema de hardware	65
5.1.1. Resultados de calibración de la fuente de corriente.	65
5.1.2. Resultados de calibración de los filtros pasa-banda usados en el espectrómetro de impedancia.	66
5.2. Resultados de calibración del software	68
5.3. Resultados de los experimentos	71
5.3.1. Resultados en el Laboratorio de instrumentación Biomédica (UAM)	71
5.3.2. Resultados in vivo	80
6. Discusión de los Experimentos	87
6.1. Discusión del diseño del espectrómetro de impedancia	87
6.2. Discusión de la calibración	88
6.3. Discusión de los experimentos de caracterización	89
6.4. Discusión de los experimentos de animales in vivo	89
6.5. Discusión del diseño de las sondas y su desempeño en el sistema	92
7. Conclusiones y trabajos futuros	93
7.1. Evaluación del espectrómetro de impedancia y su teoría	93
7.2. Evaluación de los resultados del espectrómetro de impedancia	93
7.3. Algoritmos para medir y monitoreo la isquemia del tejido.	94
Referencias	96
Apéndice	99
Algoritmo para calcular los coeficientes de calibración para los polinomios	99
Algoritmo para leer las señales de cada espectro y calcular amplitudes y fases	100
Algoritmo para calcular la amplitud y fase de las señales del tejido y referencia	101
Programa de control y adquisición de señales del espectrómetro de impedancia	102

Capítulo 1

1. Introducción

1.1. Identificación del problema

La posibilidad de determinar la viabilidad de un tejido se presenta como un área de gran importancia en el ambiente clínico. Para este propósito muchos procedimientos han sido desarrollados y sin embargo, por una variedad de razones, en la práctica los médicos todavía utilizan aspectos visuales y mediciones de temperatura para evaluar dicha viabilidad. Debido a esto y conforme pasan los años, el interés de desarrollar una técnica universal eficiente y confiable para valorar la viabilidad del tejido ha aumentado. Un ejemplo clásico en donde la estimación de este aspecto es de importancia extrema es la condición de *choque* y la subsecuente *resucitación* en terapia intensiva.

1.1.1 Condición de choque y resucitación

La *condición de choque* se define como aquella en la cual el suministro de oxígeno cae por debajo de la demanda energética de los tejidos del cuerpo. Se caracteriza por falta de oxígeno, consumo de oxígeno dependiente del suministro, y metabolismo anaeróbico con sobreproducción de ácido láctico y bióxido de carbono. El choque se divide en fase compensatoria, o compensable, cuando la respuesta autonómica del individuo es capaz de sostener variables hemodinámicas como presión arterial media y gasto cardiaco a pesar de una situación patológica sostenida, y fase no compensada, o no compensable, cuando la situación patológica ha sobrepasado la capacidad autonómica del individuo, e incluso puede superar los actos de reanimación del médico tratante, por lo cual conduce a una sub-fase final, llamada irreversible, cuando el individuo ha entrado en falla orgánica multisistémica. La resucitación (compensación) solo se puede completar cuando toda evidencia de la mala oxigenación del tejido defectuoso se haya eliminado. Una gran proporción de pacientes sometidos a cirugía mayor o que se encuentran en terapia intensiva y que parecen adecuadamente resucitados de acuerdo al criterio convencional presentan una deficiencia de oxígeno o acidosis en el tejido y en realidad se encuentran por definición aún en estado de choque o incompletamente resucitados. Sin embargo se trata de un *choque en fase compensatoria* que no siempre es un choque manifiesto. [2]

En el paciente que presenta un estado de choque compensatorio, la presión sanguínea, producción de orina, perfusión cutánea y gases sanguíneos suelen ser normales. La insuficiente oxigenación del tejido durante el choque compensatorio se hace difícilmente evidente mediante un examen clínico, ya que se concentra en los órganos espláncnicos, y especialmente en la mucosa intestinal. La importancia de la falsa naturaleza del choque compensatorio en cuanto a un diagnóstico correcto recae no solamente en su presencia en pacientes de cirugía mayor o de enfermedad crítica, sino también en la mortalidad con la cual se asocia, y para la cual en particular la oxigenación defectuosa de la mucosa intestinal parece ser la principal razón. [2]

La importancia de detectar tempranamente el choque radica en la reducción de la mortalidad y/o costos de los hospitales debidos al esfuerzo 'hiper-resucitativo' que previene el choque compensatorio en pacientes sometidos a cirugía mayor [2].

A continuación se discuten las razones por las cuales el choque se concentra en los órganos espláncnicos y especialmente en la mucosa gastrointestinal, las técnicas de detección, y la forma en que éstas contribuyen a disminuir la tasa de mortalidad para

pacientes de cuidado intensivo. Por último, se consideran algunas estrategias para prevenir y revertir el choque compensatorio en la mucosa intestinal y se examinan sus consecuencias.

1.1.2. Detección del choque, y su tratamiento

Las variables tradicionales medidas para valorar la suficiencia de la terapia de "resucitación" (pulso, presión sanguínea, producción de orina, perfusión cutánea y análisis de gases sanguíneos) permiten únicamente la detección de estados hipotensivo del choque, pero no la del estado de choque compensatorio. Las mediciones globales de aporte de oxígeno, tasa de su consumo, razón de extracción (O_2ER), saturación venosa mixta (SVO_2) y lactato sanguíneo han sido utilizadas para demostrar la inadecuada oxigenación del tejido durante el choque. Sin embargo, estas mediciones son pobremente sensibles y nada específicas a la adecuada oxigenación del tejido durante el choque compensatorio, la cual se presenta en algunos tejidos y no en otros. Además, es difícil, si no imposible, especialmente en casos de septicemia, determinar qué tan adecuada es la oxigenación del tejido utilizando mediciones relativas, como el DO_2 (índice de suministro de oxígeno), o absolutas, como la medición de lactato sanguíneo, producto de más de una variable [3].

Por otro lado, la medición regional de PO_2 en la piel o el tejido subcutáneo y del pH intramucoso en el intestino son más sensibles a la insuficiencia de oxigenación del tejido en estado de choque hemorrágico y resucitación que mediciones globales del suministro de oxígeno [2]. El PO_2 en la piel o el tejido subcutáneo es una medida sensible y continua (aunque relativa) del suministro de oxígeno para estos tejidos, pero no permite determinar cuál de ellos es capaz de extraer y utilizar el oxígeno en cantidad tal que satisfaga sus necesidades metabólicas, especialmente durante una septicemia. Sin embargo, la medición del pH intramucoso en el intestino realizada indirectamente mediante un tonómetro TRIP intraluminal [2] provee una medición regional absoluta de la suficiencia de oxigenación del tejido en la región del cuerpo que se ve afectada durante el choque compensatorio [9].

El cuidado del paciente crítico en peligro de choque puede incluir una gran gama de medidas preventivas y reactivas. Antes que nada es importante prevenir o limitar una situación de isquemia en la mucosa mediante técnicas de resucitación hemodinámica agresiva, vasodilatadores para aumentar la perfusión local, oxigenación intraluminal y reducción de los requerimientos de oxígeno, eliminando focos de pus y/o enfriando el tejido. El peligro debido a las bacterias normales en el lumen intestinal puede ser reducido por tratamiento antibiótico, lavado intestinal y limpieza de focos de infección. La auto-digestión de la pared intestinal puede prevenirse mediante la reducción del pH luminal y la remoción o inhibición de proteasas pancreáticas. Una vez el daño isquémico ha llegado a cierto punto es importante prevenir daño adicional por reperfusión y radicales libres mediante eliminadores farmacológicos de estos radicales y la limitación gradual de la perfusión [10]. Es importante mantener también la habilidad de los tejidos dañados para repararse a través de una nutrición parenteral adecuada y reinicio temprano de nutrición enteral. Finalmente, es importante reconocer el potencial letal de la mucosa dañada y no intentar salvar tejidos de viabilidad dudosa, dando preferencia al aislamiento y extirpación de éstos cuando sea necesario [3].

En resumen, hace falta una técnica instrumental de bajo costo, que sea aplicable universalmente, no invasiva, poco compleja, continua, eficiente, precisa, que monitoree cuantitativa y rápidamente la viabilidad de la mucosa intestinal, que pueda también aplicarse a otros tejidos biológicos que presenten problemas clínicamente significativos y generales. Sus soluciones deben ser originales y aplicables para un

gran número de situaciones, no deben ser triviales y deben presentar ventajas sobre aquellas obtenidas mediante métodos existentes. Podemos concluir que este es un problema interesante y complejo, y que sus soluciones requieren un enfoque científico completo.

1.2. Objetivos

El objetivo principal de esta línea de investigación es el desarrollo y evaluación de un nuevo dispositivo de monitoreo tisular para pacientes en estado crítico en peligro de choque y falla orgánica múltiple. En los últimos años se ha reconocido la importancia de los tejidos viscerales, y en especial de la mucosa intestinal, en el proceso de descompensación por choque. Se han desarrollado métodos de monitoreo para determinar las condiciones del flujo sanguíneo, pH, pO₂, y pCO₂, para detectar la hipoperfusión, hipoxia e isquemia local en la mucosa. Sin embargo lo más importante a determinar para diagnosticar y guiar la terapia no es la presencia de isquemia, sino la viabilidad del tejido y el daño isquémico ocasionado. En particular, es importante poder determinar si el daño de la mucosa es irreversible y si se ha perdido su función protectora, permitiendo el paso de bacterias al sistema circulatorio.

En esta investigación se propone el desarrollo de un sistema basado en *espectrometría de impedancia* para monitorear la permeabilidad iónica e integridad de las paredes celulares de la mucosa, al igual que el volumen sanguíneo tisular a fin de determinar el grado de daño isquémico.

Objetivos generales

Los objetivos generales que se proponen para este proyecto son:

1. Diseñar y construir un espectrómetro de impedancia basado en una computadora personal portátil. El instrumento será capaz de medir la impedancia tisular en un dado rango de frecuencias de interés (100 Hz a 1 MHz).
 - Diseñar y construir un sistema portátil totalmente automático para la medición de la impedancia compleja del tejido en el rango de frecuencias escogido, y exportar los resultados obtenidos a la computadora a través de una tarjeta de adquisición.
 - Desarrollar los algoritmos de control del sistema para obtener, analizar, y presentar los espectros de impedancia del tejido y los diferentes niveles de isquemia asociados.
2. Realizar una evaluación cualitativa del instrumento funcionando *in vivo* buscando detectar en los espectros los diferentes niveles de daño isquémico.

1.3. Hipótesis y aproximación a la investigación

Para esta investigación se han planteado dos hipótesis centrales:

- (a) Las mediciones de espectroscopía de impedancia compleja del tejido en un rango de frecuencias dado (100 Hz a 1 MHz) pueden proveer datos que en su estructura reflejan información sobre el nivel de daño isquémico en el tejido, y que pueden ser afectados por algunas variables (tales como la geometría del tejido, la concentración de electrolitos, la temperatura, etc.).
- (b) Es posible desarrollar un algoritmo que emplee los datos complejos del espectro de impedancia del tejido para estimar cualitativa y cuantitativamente los niveles absolutos de daño isquémico en el tejido.

Se ha escogido una técnica basada en los principios de espectroscopía de impedancia para resolver el problema principal de la investigación por las siguientes razones:

- Las mediciones de impedancia no son dañinas para el tejido y pueden realizarse de forma no invasiva, no interfieren con la operación de otros aparatos clínicos y su sensibilidad no está limitada a tejidos subcutáneos, sino que se pueden también emplear para tejidos enteros. Los electrodos de medición de impedancia y en general todo el sistema de medición son fáciles de armar y manejar.
- Varias investigaciones han demostrado que la impedancia de un tejido isquémico tiene algunas propiedades diferentes comparado con tejidos no isquémicos.
- La aplicación de técnicas de espectroscopía de impedancia para mediciones de isquemia en la mucosa intestinal es una metodología original. Expandirá el conocimiento existente en el campo de los estudios de la isquemia.

En este trabajo se pretende probar estas dos hipótesis desarrollando un instrumento de medición de impedancia compleja del tejido sobre el rango de frecuencias señalado. Este instrumento debe tener parámetros de operación fácilmente ajustables (como la selección de frecuencias de impedancia, la amplitud de corriente de excitación aplicada al tejido, etc.). Debe, por otro lado, ser un instrumento portátil, para lo cual operará con una batería. Debe también cumplir las regulaciones de seguridad para funcionar en un ambiente clínico: ser certero, seguro, simple de usar y de bajo costo. Los datos mediante él obtenidos deben almacenarse, analizarse y presentarse en una computadora personal utilizando los programas apropiados. La computadora debe recibir los datos de las mediciones desde el instrumento a través de una tarjeta de adquisición. El sistema de *software* deberá hacer dos cosas principalmente: monitorear la isquemia y medir el nivel de daño en el tejido.

Capítulo 2

2. Antecedentes

En esta sección, se presentan cuatro conceptos fundamentales para esta investigación:

- 1) Isquemia del tejido.
- 2) Técnicas de medición y monitoreo de isquemia y reperfusión del tejido.
- 3) Propiedades eléctricas del tejido.
- 4) Espectroscopía de impedancia.

La información relevante se basa en trabajos producidos por diversos investigadores, y se presenta de una manera concisa, como base teórica firme y completa para la investigación.

2.1. La isquemia en el tejido

Como se señaló, el objetivo de este proyecto es desarrollar un instrumento para la medición y caracterización de la isquemia y debido a ello es importante entender completamente su fisiopatología, los parámetros involucrados que deben medirse, y cuáles de éstos cambian con el tiempo o el agravamiento de la condición y cuáles son constantes.

El término '*isquemia*' se refiere a la condición en la cual el flujo sanguíneo no es suficiente para cubrir las necesidades metabólicas de un tejido. Cuando el suministro de nutriente y oxígeno para un tejido se reduce o detiene por algún tiempo, el tejido entra en isquemia. Al reducir el suministro de oxígeno, el metabolismo de las células se vuelve anaeróbico, con la consecuente producción de ácido láctico y reducción de energía celular. Además, el desalojo de los productos de deshecho como agua, iones, y bióxido de carbono, se hace más lento o se detiene por completo. En isquemia leve (de tiempo corto o suministro disminuido pero no ausente) todos los cambios mencionados son reversibles; si la isquemia se intensifica, se hacen irreversibles, el tejido utiliza toda la energía almacenada y muere.

El daño isquémico se caracteriza por consumo de oxígeno limitado al suministro, metabolismo anaeróbico, evacuación celular insuficiente y reducción del volumen extracelular. La acumulación de ácido láctico y ácido carbónico (por exceso de CO₂) produce caída del pH. Después de un período de isquemia se produce acumulación de iones y aumento en la osmolaridad intracelular. La isquemia también se caracteriza por incremento en la permeabilidad de las membranas que induce edema en el tejido y una reducción de los procesos activos de transporte.

La *reperfusión* es el proceso en el que se restablece el flujo sanguíneo al tejido. Todos los parámetros regresarán a sus valores normales si la reperfusión se da en un corto período de tiempo (de 15 a 30 minutos) post isquemia. Entre mayor sea el período de isquemia, mayor es el daño tisular y la severidad del choque, debido a acumulación de la enzima xantina oxidasa, la cual, ante la reoxigenación causada por la reperfusión, genera radicales libres derivados del oxígeno. Estos radicales son destructores altamente efectivos de tejido y aceleran la demolición de la barrera mucosa.

A continuación se discuten varios de los efectos que la isquemia temprana tiene en la mucosa intestinal, cambios en el equilibrio del metabolismo corporal y cambios

fisiopatológicos en el tejido isquémico, en particular los cambios que ocurren en el pH tisular.

2.1.1. La mucosa intestinal durante el estado de choque

Se definió el *estado de choque* como una condición crítica durante la cual el suministro de oxígeno cae por debajo de la demanda energética de los tejidos. La importancia de los órganos espláncnicos en el choque radica en que estos órganos son el blanco principal de cualquier insuficiencia en el suministro de oxígeno, ya que los mecanismos compensatorios del cuerpo favorecen y protegen la perfusión del corazón y el cerebro, y secundariamente de los músculos esqueléticos. En particular la mucosa gastrointestinal se ve comprometida tan pronto se presenta la irregularidad en cualquier otra parte del cuerpo. Luego, esta mucosa contribuye en forma crítica a la progresión del choque y la subsecuente falla múltiple de órganos al mermarse su función vital como barrera protectora. La figura 2.1 ilustra la patogénesis de falla múltiple de órganos, y el papel fundamental de la mucosa en este proceso [4].

El daño a las membranas permite en primera instancia el paso de endotoxinas, en particular el lipopolisacárido (LPS). Más adelante se promueve la translocación de bacterias enteras a la circulación linfática y portal, y a la cavidad peritoneal. El daño también expone a la pared intestinal a procesos de autodigestión y úlceras.

La probabilidad de falla múltiple de órganos y muerte se encuentra directamente relacionada con este daño isquémico.

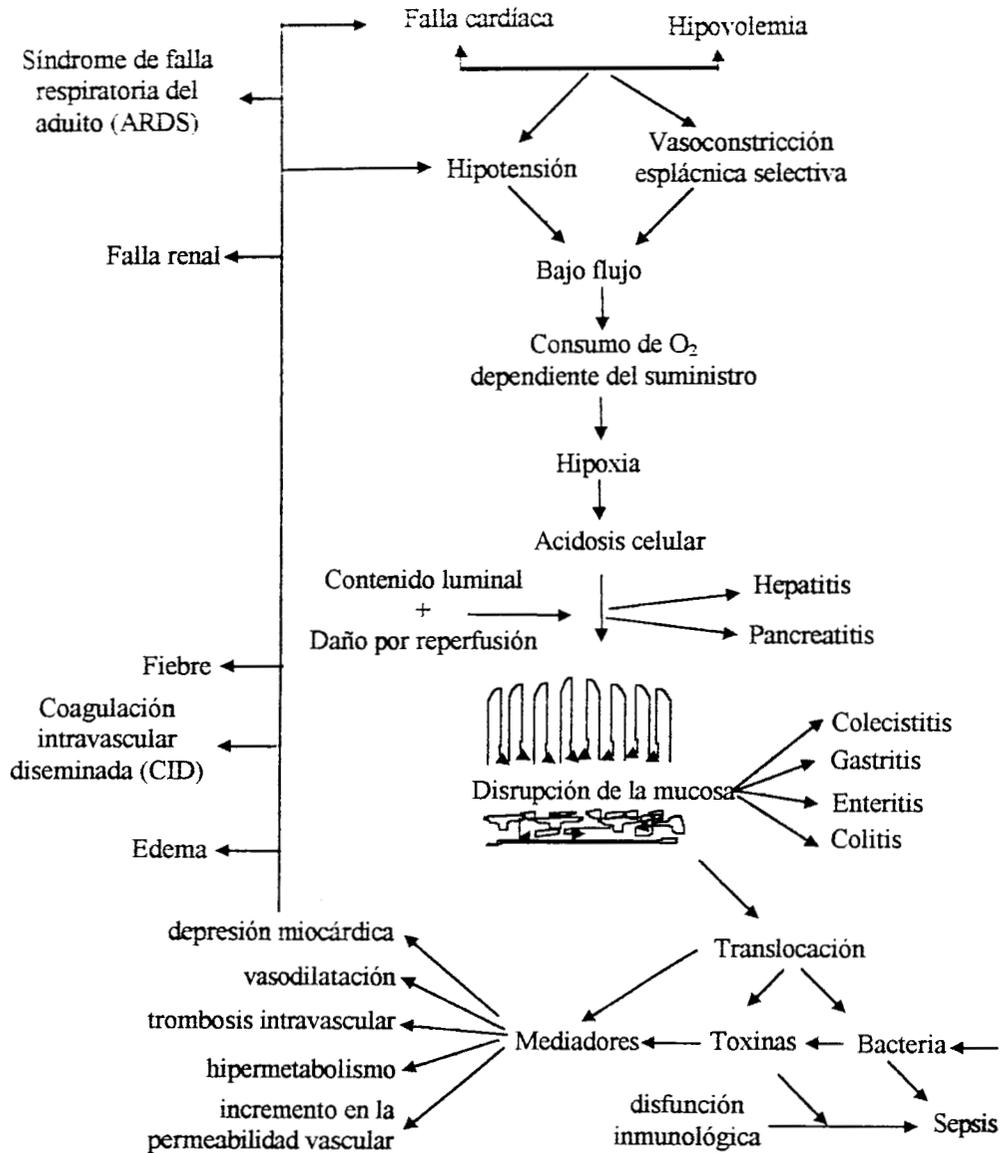
2.1.2. Medición indirecta del pH intramucoso por medio de tonometría gastro-intestinal

La medición indirecta del pH intramucoso, calculada a partir del PCO_2 en el fluido luminal y la concentración de bicarbonato en la sangre arterial, se fundamenta en el conocimiento de que el PCO_2 en la mucosa se equilibra con el PCO_2 en el fluido luminal y puede ser deducida a partir de éste. Por otro lado, también depende del hecho de que se asume que la concentración de bicarbonato en el tejido es aproximadamente aquella que se deriva para ésta de la sangre arterial. La medición es entonces un reflejo más preciso del pH de las capas superficiales de la mucosa que de las capas profundas. El PCO_2 del fluido luminal se encuentra en equilibrio con el PCO_2 del tejido. La medición indirecta del pH intramucoso se correlaciona estrechamente con mediciones hechas directamente con el pH micropipeta, pero tiende a subestimar la severidad de los ácidos tisulares presentes a bajo flujo y especialmente en el estado en el que no hay flujo debido a la diferencias entre la cantidad de bicarbonato arterial y del tejido [12]. El método indirecto no daña los tejidos y no tiene sensores que requieran recalibración [2].

El único método que ha demostrado valor para este tipo de pacientes y ha encontrado un uso clínico regular es la medición indirecta del pH intramucoso (pHi), por tonometría gástrica o colónica. Este método, desarrollado por Fiddian-Green [5,6], utiliza una sonda intestinal que lleva un globo de silicona en la punta distal, con una pared muy delgada y permeable a gases. El globo se infla con 2.5 ml de solución salina, una vez localizada en el estómago o colon. La presión parcial de CO_2 se equilibra rápidamente con la del tejido de la mucosa por difusión. Después de un tiempo de equilibrio la muestra de solución salina es sustraída y analizada en un gasómetro junto con una muestra de sangre arterial. El pHi (pH intramucoso) es calculado usando la ecuación de Henderson-Hasselbach:

$$pH = 6.1 + \log \left[\frac{[HCO_3^-]}{\alpha(PCO_2)} \right]$$

donde α representa la solubilidad del CO_2 en plasma ($\alpha = 0.03$), 6.1 es el llamado pKa, valor de pH en el que se equilibran las concentraciones de $[H_2CO_3]$ y $[HCO_3^-]$. Un pH por debajo del pH normal de 7.35 indica isquemia en la mucosa.



Causas y efectos de la isquemia esplácnica

Fig. 2.1. Patogénesis de falla múltiple de órganos y papel fundamental de la mucosa intestinal durante la isquemia. Reproducido y traducido de "Splanchnic Ischemia and Multiple Organ Failure" [4]

2.1.3. Daño a la mucosa intestinal

En experimentos hechos con cerdos, se observó que un descenso del pH intramucoso produce un aumento de la permeabilidad mucosa [14]. El incremento de la permeabilidad de la mucosa durante la isquemia se desarrolla antes de presentarse cualquier evidencia histológica de daño a la mucosa [13]. Puede también seguir un desarrollo de la evidencia endoscópica e histológica del daño mucoso, cuya severidad se incrementa con la intensidad y duración de la liberación de ácidos intramucosos que le antecede. El desarrollo de los ácidos intramucosos puede preceder al desarrollo de estas evidencias macroscópicas del daño mucoso y a toda evidencia clínica de la isquemia intestinal por muchas horas y aún días [2].

El daño isquémico en la mucosa comienza en las capas superficiales y se extiende progresivamente al interior [13]. Los músculos constituyen la última parte de la pared intestinal en ser afectada, por tanto no muestran evidencia de daño tisular hasta que se exponen a oclusiones vasculares totales por varias horas. El infarto transmural ocurre después de al menos 8 horas de isquemia severa. (figura 2.2) [13]. Para pacientes en estado crítico, un grado bajo de isquemia no oclusiva de la mucosa puede persistir por días o semanas sin convertirse en infarto transmural. Para el caso de pacientes con isquemia crónica, grados bajos de isquemia de la mucosa pueden también persistir por meses sin convertirse en infarto siempre y cuando la isquemia se limite a las capas superficiales de la mucosa y la tasa de incremento de la destrucción celular en la región sea igual a la tasa de incremento de células renovadas y reconstruidas a partir de secciones no isquémicas [2].

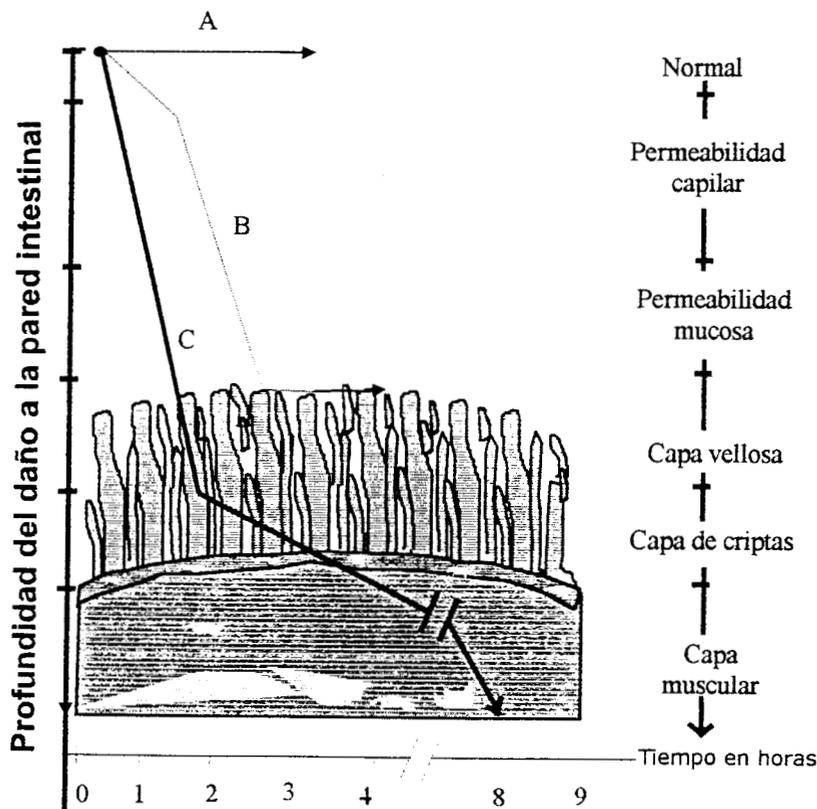


Figura 2.2. El grado de daño isquémico a la pared intestinal graficado contra la duración de la isquemia. Las tres curvas (A, B y C) representan oclusiones vasculares. Reproducido y traducido de Hagiund et al [13].

La mucosa intestinal es especialmente susceptible a los radicales libres derivados del oxígeno liberados por la reoxigenación de la mucosa hipóxica [15]. El grado del daño por reperfusión es también una función de la severidad de la acidosis intramucosa presente antes de la reperfusión [16]. Ni el daño por reperfusión ni el incremento en la permeabilidad de la mucosa suceden sin una previa acidosis intramucosa. La severidad del daño por reperfusión inducida por shock en animales se atenúa al prevenir dicha reperfusión por medio de inhibidores de la xantina oxidasa como el *alopurinol*, o por quelantes de radicales libres como la superóxido dismutasa.

2.2. Técnicas para medición y monitoreo de isquemia y perfusión tisular [1]

Para el desarrollo de este proyecto es importante conocer la instrumentación y los sistemas existentes utilizados para la evaluación clínica de la isquemia. Para desarrollar el mejor instrumento posible, tenemos que conocer los principios sobre los cuales las técnicas existentes se basan, sus ventajas y sus desventajas. Este material se presenta a continuación.

Existen muchos métodos disponibles que pueden ser utilizados para medir y/o monitorear la isquemia y la perfusión del tejido, sin embargo, la mayoría de ellos no son convenientes para nuestra aplicación. Para poder seleccionar y aplicar una técnica óptima para nuestro caso, podemos referirnos a Dunn [18] y Jones [19], quienes definen las características de un sistema 'ideal' para monitorear la isquemia y perfusión de tejido transplantado:

1. *inofensivo para el paciente*
2. *no invasivo o mínimamente invasivo*
3. *certero y confiable (sensible y específico)*
4. *que proporcione una respuesta rápida a los cambios en la perfusión*
5. *de sencilla utilización para poder ser empleado por todo el personal*
6. *aplicable a todos tipos de tejido transplantado*
7. *capaz de dar lecturas discretas o continuas a lo largo de un monitoreo constante prolongado*
8. *que proporcione resultados objetivos (cuantificables) y repetibles*
9. *capaz de distinguir entre problemas venosos y arteriales*
10. *barato*
11. *estable durante estudios largos (con una duración de varios días)*
12. *portátil*

En esta sección se describen brevemente diferentes métodos para la medición y/o monitoreo de la isquemia y la perfusión, y se comparan en forma crítica contra otros métodos, describiendo sus ventajas y desventajas. Los sistemas de monitoreo basados en métodos de impedancia se describen con más detalle al final del capítulo.

2.2.1. Comparación de varias técnicas de medición y monitoreo de isquemia y perfusión del tejido

Los métodos para medir y monitorear la isquemia y perfusión del tejido pueden dividirse en dos categorías: monitoreo directo de la perfusión y monitoreo de las consecuencias de variación en la perfusión. Los monitores de perfusión directos se basan en diferentes mecanismos: el efecto Doppler ultrasónico y lúminico usando láser, barrido dúplex, teñido por resina fluorescente, la fotopletismografía, la angioscopia, la arteriografía, y mediciones de impedancia. La mayoría de estos métodos se utilizan para tejidos superficiales y no sirven para el tejido gastrointestinal.

- **Doppler Ultrasónico:** Para esta técnica, una sonda miniatura de Doppler ultrasónico se implanta quirúrgicamente alrededor de la arteria de suministro principal del tejido monitoreado. Este método tiene varios severos inconvenientes: se requiere de otro procedimiento quirúrgico para remover la sonda, ésta puede ser mal colocada, la punta de la sonda puede producir oclusión arterial, y además, este método no posee sensibilidad para distinguir entre diversos grados de oclusión venosa.
- **Doppler lúminico usando Láser:** Utiliza un rayo láser para detectar de forma no invasiva el flujo sanguíneo en las áreas cutáneas del tejido. La sonda puede medir flujo únicamente hasta una profundidad de uno a dos milímetros, lo cual no es suficiente para reflejar el flujo a través de todo el tejido, y no es fácil utilizarlo para monitoreo en la mucosa.
- **Barrido dúplex:** Posee un dispositivo de Doppler ultrasónico mas sofisticado que incorpora un generador convencional de imágenes de ultrasonido de modo B. Este generador de imágenes localiza las venas o arterias subcutáneas de interés y la instrumentación Doppler determina la velocidad del flujo. Es una técnica no invasiva, pero adolece de la mayoría de las desventajas del Doppler convencional.
- **Teñido por resina fluorescente:** Una resina fluorescente se administra de forma intravenosa al paciente. Diez o veinte minutos después, ésta se ha distribuido uniformemente a través de las partes del cuerpo que presentan el fenómeno de perfusión. En ese momento, si la piel se expone a luz ultravioleta, la resina emite una luz fluorescente. Su intensidad depende de la cantidad de resina en cada punto en particular, la cual a su vez depende de la perfusión. La más grande limitación de este método es que no es una técnica continua ni cuantitativa. Es necesaria una poca de habilidad y experiencia para poder evaluar los resultados.
- **Fotopletismografía:** Se basa en el fenómeno de reflexión y absorción de luz por el flujo sanguíneo al hacer pasar un haz luminoso a través del tejido. Este método no es invasivo, pero no sirve en la mucosa.
- **Angioscopia microvascular por fibra óptica:** Es una técnica endoscópica en la cual se utiliza una fibra óptica delgada para ver la estructura de los vasos sanguíneos. Esta técnica permite una penetración real en los vasos, y es apropiada para la evaluación de resultados de cirugía, sin embargo, es totalmente invasiva, y no puede ser usada para aplicaciones de monitoreo.
- **Arteriografía:** Es una técnica de imagenología de rayos-X, en la cual un material contrastante se inyecta en el flujo sanguíneo, pudiendo así observar, registrar y analizar su patrón de flujo. Esta es una técnica invasiva, la cual requiere mucho equipo y por tanto no puede ser usada para monitoreo a pie de cama.

La segunda categoría, la cual se refiere a los métodos de monitoreo de isquemia por medio de las consecuencias de la perfusión incluye: método termométrico, mediciones de PO₂ transcutáneo, mediciones de pH y espectroscopia de impedancia.

- **Monitor termométrico:** Mide la temperatura del tejido. Este método es simple, pero tiene muchas limitaciones: su respuesta es muy lenta, el tejido puede ser calentado o enfriado por fuentes externas, no sirve para la mucosa intestinal, etc. A pesar de estos problemas, este método se utiliza en muchas clínicas debido a su ya mencionada simpleza,
- **Medición del PO_2 transcutáneo:** Se han obtenido mediciones exitosas mediante monitoreo no invasivo de isquemia [7]. El PO_2 es un indicador muy sensible a la circulación local y se usa para la detección temprana de la isquemia.[1] Sin embargo, este método solamente puede ser usado para tejido subcutáneo, y no necesariamente detecta daño isquémico.
- **Mediciones de pH:** Han demostrado una mejor capacidad de monitoreo. Se pueden implementar microelectrodos de pH en el tejido de interés y estos indican el valor objetivo de isquemia en el tejido [18,23]. La debilidad de este método es que es invasivo y que requiere de calibración al empezar un proceso de monitoreo tomando una muestra de sangre y midiendo su pH con un analizador de gases.

2.2.2. Técnicas basadas en impedancia para el monitoreo de la isquemia y la perfusión del tejido

Tres grupos de investigadores han proporcionado las mediciones de impedancia para el monitoreo de la perfusión continua y directa del tejido. Concannon et al [20] midieron la impedancia del tejido a una sola frecuencia utilizando para ello un electrodo de cuatro agujas implementado en tejido muscular. Mostraron así que la impedancia cambia con el flujo pulsátil de sangre presente en la muestra de tejido. Cuando ocurre una oclusión arterial este componente pulsátil de impedancia desaparece. En el caso de oclusión venosa la amplitud del componente pulsátil de la impedancia disminuye. Harrison et al [21] reportaron resultados similares. En este caso midieron la impedancia del tejido utilizando el mismo método pero con electrodos de cuatro hilos mucho más pequeños, colocados de manera invasiva sobre la superficie del tejido [22,23,24]. Ambos investigadores propusieron técnicas basadas en impedancia las cuales sufren de varios severos inconvenientes: son invasivas, no proporcionan mediciones absolutas de la isquemia y la perfusión, no pueden detectar oclusiones en arterias y/o venas pequeñas, la oclusión venosa es difícil de detectar en general, y no pueden proporcionar una medición cuantitativa de la isquemia del tejido.

Por último, no hay que olvidar el trabajo de Ristic [1], cuyo objetivo era la evaluación del daño isquémico mediante espectroscopía de impedancia y mediciones en tejido muscular, y cuyos resultados aseguran que la espectroscopía de impedancia puede evaluar el nivel de daño tisular.

2.3. Espectroscopía de impedancia

El objetivo de este proyecto es desarrollar un instrumento basado en los principios de espectroscopía de impedancia y por ello es importante presentar primero sus fundamentos, ventajas, desventajas y limitaciones. El material requerido para obtener el entendimiento básico en esta área se presenta en esta sección. Primero se define la espectroscopía de impedancia y se discuten sus principios. Mas adelante se presentan ejemplos de sus aplicaciones relevantes para nuestro proyecto.

Las mediciones de impedancia eléctrica se han utilizado para estudiar sistemas biológicos desde fines del siglo pasado. La mayoría de los estudios realizados incluyen mediciones de impedancia compleja de diferentes tejidos o células en suspensión. Para ello y para el análisis de los datos obtenidos, surgió un nuevo campo denominado 'espectroscopía de impedancia'.

2.3.1. Definición y principios de espectroscopia de impedancia

Podemos aceptar la definición de espectroscopía de impedancia como aquella dada por Macdonald [22] y Ristic [1]: "**Espectroscopía de impedancia** es un término general que sublima la medición de pequeñas señales eléctricas lineales y el análisis subsecuente de su respuesta para producir información útil acerca de las propiedades fisicoquímicas de un sistema". La espectroscopía de impedancia tiene dos componentes: métodos de medición y técnicas para analizar e interpretar los resultados.

Los métodos de medición en este caso son técnicas para caracterizar la impedancia compleja de un material en un determinado rango de frecuencias. La espectroscopía de impedancia no se limita a mediciones de impedancia. Se puede también medir admitancia compleja, constantes dieléctricas, etc. Sin embargo, aunque las mediciones son en principio simples, en la práctica presentan complicaciones debido a muchas razones. El rango de frecuencias de medición puede extenderse sobre varios ordenes de magnitud (en algunos casos involucrando mas de doce órdenes), y por otro lado, los valores de la impedancia pueden también abarcar varios ordenes de magnitud en el rango de frecuencias de interés (debido a los componentes resistivos y capacitivos del material). La operación de los electrodos utilizados como interfaz con el material de interés depende del voltaje de corriente directa (DC) entre los electrodos y el material. El sistema de medición debe proveer y controlar este voltaje DC. Todos estos factores combinados hacen que la medición fluctúe mucho. Un diagrama a bloques de un sistema de medición de impedancia se muestra en la figura 3.3.

El análisis e interpretación de los datos obtenidos es necesario para la caracterización del material estudiado. La primera etapa consiste generalmente en un análisis de los espectros de frecuencia de los datos obtenidos. El análisis gráfico lleva al experimentador a formarse una idea sobre la estructura física y los procesos que se presentan en el material.

Existen otras formas visuales en que pueden presentarse los datos. Las gráficas de impedancia contra frecuencia (espectro) que ya hemos mencionado son frecuentemente útiles en los casos en donde el material medido es en general conductivo. En casos no-conductivos, los espectros de admitancia y de constante dieléctrica son mas útiles. Si la impedancia medida tiene propiedades capacitivas más que inductivas, resulta de mayor utilidad graficar la reactancia negativa ($-Im\{Z\}$) como función de la resistencia ($Re\{Z\}$) en el plano complejo (en un gráfico de Nyquist). También son muy útiles las gráficas tridimensionales en donde la admitancia imaginaria se grafica contra la admitancia real y contra el logaritmo de la frecuencia (o el logaritmo de la admitancia imaginaria se grafica contra el logaritmo de la inmitancia

real y contra el logaritmo de la frecuencia). Estas gráficas 3D permiten una mejor comprensión de los datos medidos y, además, los eventuales errores en las mediciones son más fáciles de detectar.

Para la caracterización completa del material, es necesario estimar los parámetros del sistema a partir del conjunto de los datos medidos. Las gráficas obtenidas pueden ser utilizadas únicamente para estimar algunos parámetros pero en general se requiere la obtención de parámetros con mayor precisión. Esto es posible únicamente si se obtiene un modelo matemático de la respuesta del material medido. En ese caso, los datos medidos pueden adaptarse al modelo utilizando algunas técnicas de regresión u otras como por ejemplo la *'adaptación compleja no lineal de datos por mínimos cuadrados'* de Ristic [1]. Esta técnica estima parámetros del modelo y su desviación estándar, y determina como pueden los datos adaptarse al modelo. Una vez calculados los parámetros del modelo es posible encontrar los parámetros del sistema para lograr una caracterización completa del material.

2.3.2. Aplicación de la espectroscopía de impedancia a los tejidos biológicos

Una gran cantidad de investigaciones se han realizado para caracterizar las propiedades eléctricas fundamentales del tejido. Algunos resultados de mediciones de impedancia para diferentes tejidos y células en suspensión pueden encontrarse en diversas publicaciones [1,23]. Estos trabajos nos llevan a varias conclusiones. La conclusión más relevante es que los conocimientos existentes no nos permiten utilizar la impedancia de materiales biológicos para la caracterización y diferenciación efectiva del tejido. La impedancia depende de muchos factores como la estructura del material biológico, la concentración de iones, la cantidad de agua, el volumen y geometría del material biológico, los procesos fisiológicos, la temperatura de la muestra, el tipo de mediciones, y el tipo de electrodos empleados. La impedancia medida en el mismo material biológico puede tener diferentes valores si cualquiera de estos factores varía, haciendo que la desviación estándar de la impedancia medida sea muy grande como para poder hacer una diferenciación correcta del tejido.

La aplicación de los principios de la espectroscopía de impedancia permiten una mejor caracterización de los materiales biológicos. Las mediciones de espectroscopía de impedancia son más precisas que otras mediciones de impedancia porque se miden sobre un rango de frecuencias y a partir de los datos obtenidos se extrae un modelo matemático del material medido. Los parámetros del sistema que se extraen así poseen un menor nivel de ruido y son más precisos. Además existen un gran número de parámetros adecuados para la caracterización de materiales y, por el contrario, para las simples mediciones de impedancia, solamente los componentes resistivos y capacitivos del material, medidos a una sola frecuencia, se utilizan para la caracterización. Otra ventaja es que los parámetros extraídos del sistema no dependen de la frecuencia de medición. La espectroscopía de impedancia nos permite seleccionar las frecuencias a las cuales la impedancia del material se ve influenciada por los *mecanismos de relajación* de interés (ver *'dispersión del tejido'* en la sección 2.4) y extraer esos parámetros en particular.

Un trabajo importante sobre caracterización y modelado matemático del tejido ha sido realizado por Ristic [1]. En él se investigaron las características de impedancia de tumores en ratones durante cambios histológicos progresivos producidos por hipertermia. Por otro lado, aplicaron la espectroscopía de impedancia para la caracterización y modelado matemático de eritrocitos humanos [35].

La espectroscopía de impedancia puede también ser utilizada para estudiar los cambios de volumen compartamental del cuerpo [24]. La impedancia del tejido a baja frecuencia se ve influenciada únicamente por la impedancia del fluido extracelular, mientras que la impedancia del tejido a alta frecuencia se ve influenciada por la impedancia de los fluidos intracelular y extracelular. Algunos parámetros de alta y baja frecuencia pueden utilizarse para estimar la razón de los volúmenes de fluido intracelular y extracelular.

2.4. Las propiedades eléctricas de los tejidos

Para desarrollar nuestro instrumento, es necesario saber lo que va a medir, el rango de valores de interés, etc. Para desarrollar un algoritmo de estimación del nivel de isquemia, es necesario familiarizarnos con el tipo de cambios inducidos en las propiedades eléctricas de los tejidos. A continuación se presenta la teoría requerida.

La conducción de corriente eléctrica en el tejido biológico se realiza por medio de iones como portadores de carga predominantes. Las propiedades eléctricas más comunes para la caracterización del tejido son:

La impedancia eléctrica (Z), la admitancia (Y), el Módulo M , y la constante dieléctrica (ϵ):

$$Z = R + jX$$

$$Y = G + jC = 1/Z$$

$$M = M' + jM'' = j\omega Z$$

$$\epsilon = \epsilon' - j\epsilon'' = Y / j\omega$$

en donde:

R es la impedancia DC del tejido, la parte real de la impedancia compleja

X es la reactancia del tejido, la parte imaginaria de la impedancia compleja

G es la conductancia DC del tejido; la parte real de la admitancia compleja, y C es la susceptancia del tejido la parte imaginaria de la admitancia compleja;

M' es la parte real del módulo M

M'' es la parte imaginaria del módulo M

ϵ' es la parte real de la constante dieléctrica ϵ

ϵ'' es la parte imaginaria de la constante dieléctrica ϵ

Se han realizado muchas investigaciones sobre las propiedades eléctricas del tejido biológico. La mayoría de los trabajos se relacionan con las propiedades eléctricas *pasivas* medidas utilizando estímulos de baja intensidad aplicados de forma en que se cumple con la ley de Ohm. Para estímulos de alta intensidad las propiedades eléctricas de los tejidos se presentan como función de la densidad de corriente. Es decir, sus respuestas se hacen no lineales. No se han publicado muchas investigaciones sobre las limitaciones de linealidad del tejido biológico. El umbral de linealidad depende del sistema específico y puede no ser estable. Generalmente, esto también depende de la frecuencia de los estímulos aplicados (el umbral se encuentra a menor impedancia a bajas frecuencias). Podemos decir que aproximadamente el tejido tiene características eléctricas con una densidad de corriente de excitación menor a 1 mA/cm² a 10 Hz [1].

Dispersión del tejido

Las características eléctricas de los tejidos biológicos son dependientes de la frecuencia. En la figura 2.3 se muestra un ejemplo típico de la constante dieléctrica del tejido como una función de la frecuencia. Existen tres regiones de dispersión (α , β , γ), cada una correspondiente a un mecanismo de relajación en particular [1,25]. Una curva similar puede trazarse para la impedancia o la resistencia.

Dispersión α : La dispersión α aparece a frecuencias relativamente bajas (1 KHz o menos). Depende de muchos factores fisiológicos (como la concentración de electrolitos en el tejido). Es la consecuencia de varios mecanismos. Se cree que los tres mecanismos siguientes son los más significativos:

- *mecanismo de compuerta:* la membrana celular puede tener poros responsables del intercambio iónico entre el interior y el exterior.
- *estructura de la membrana celular:* la membrana puede estar constituida de al menos dos capas de moléculas diferentes (como lípidos o proteínas).
- *conductancia superficial debido a la atmósfera iónica:* Existe una atmósfera iónica alrededor de las células la cual puede causar procesos de relajamiento.

La dispersión α es muy difícil de medir en los tejidos musculares. Ocurre a frecuencias muy bajas (típicamente menores a 10 Hz) y el cambio en impedancia es menor a 1 o 2%. [1]

Dispersión β : La dispersión β se presenta para frecuencias por encima de la región de dispersión α (mayor a 1 KHz). Este comportamiento de dispersión se debe a la estructura celular del tejido, y su constante dieléctrica mayor a frecuencias bajas se debe a la membrana de la célula. Relativamente, esta dispersión es fácil de determinar para el tejido muscular. Típicamente, su frecuencia central se encuentra dentro del rango de 10 KHz a 50 KHz, y el cambio en la impedancia es del 40 al 60%.

Dispersión γ : La dispersión γ aparece a frecuencias muy altas (más de 100 MHz). A estas frecuencias, las propiedades eléctricas del tejido están determinadas por su cantidad de agua y de electrolitos, así como de su contenido de proteína. La conductancia del tejido se incrementa rápidamente a más de 1 GHz y su constante dieléctrica se decrementa a más de 3 GHz. Ambos efectos se deben al comportamiento del agua a altas frecuencias. Una correcta medición de la impedancia *in vivo* a estas frecuencias es muy difícil de lograr.

La mayoría de las investigaciones en esta área se han realizado para determinar las propiedades eléctricas del tejido *in situ*. El comportamiento de las dispersiones α y β en relación con el tiempo, después de un ataque de isquemia, ha sido investigado [25] y se derivaron algunas conclusiones:

- Después de los cambios iniciales debido a la isquemia, la conductividad del tejido es dependiente del tiempo durante las primeras veinticuatro horas después de la obtención de la muestra de

tejido. Posteriormente la conductividad empieza a incrementarse hasta que ocurre un colapso casi completo de la estructura celular del tejido.

- La resistencia a frecuencia altas (mayores a aquellas de la región de dispersión β) no es muy significativa para la isquemia y la posterior degradación y muerte del tejido. Esta independencia se debe a la condición de las membranas celulares en la cual los flujos intracelular y extracelular se igualan casi por completo debido a su comparable fuerza iónica.
- Los pequeños cambios dependientes del tiempo en la resistencia a altas frecuencias indica una diferencia pequeña entre los valores de resistencia interna y externa, los cuales no pueden ser mantenidos durante el rompimiento de las células.
- En el tejido la dispersión α termina mas rápido que la dispersión β . Además, la dispersión α depende estrechamente de las condiciones bajo las cuales se conserva la muestra.

La dispersión α es más sensible que la dispersión β a varios procesos fisiológicos, como consecuencia de los diferentes mecanismos de relajamiento. Por ello, la dispersión β es mas adecuada para determinar las propiedades eléctricas del tejido isquémico.

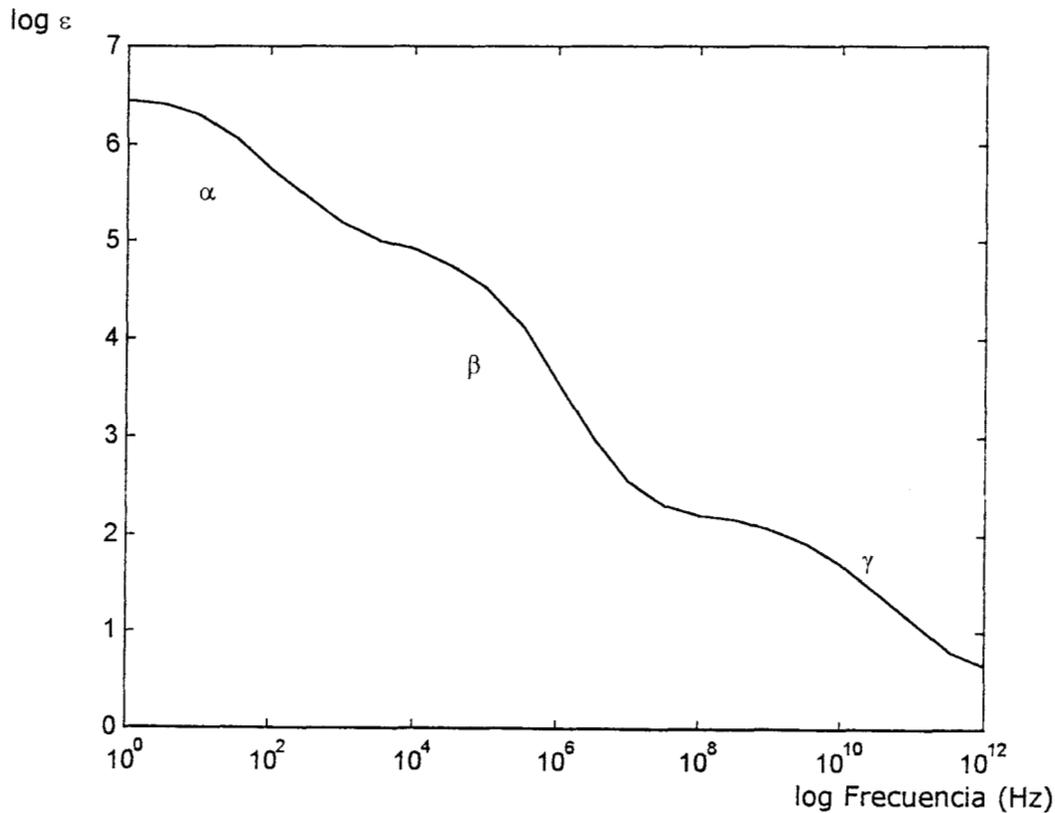


Figura 2.3. Típica constante dieléctrica del tejido muscular como función de la frecuencia. Se identifican tres etapas principales de decaimiento, denominadas respectivamente dispersión α , β , y γ . Traducida y reproducida de [1].

Modelo eléctrico macroscópico del tejido

Se han establecido algunos algoritmos básicos para analizar las propiedades eléctricas del tejido a partir de las mediciones experimentales de sus propiedades. Las mediciones de impedancia compleja de tejidos muestran un único comportamiento cuando la reactancia en serie equivalente del tejido se grafica en el plano de impedancia compleja como una función de la resistencia en serie equivalente (ver figura 2.4). Esta gráfica tiene la forma de un *bucle*, el cual es el arco menor de un círculo cuyo centro se mantiene por debajo del eje real de la impedancia. Tiene un cruce de frecuencia por cero en R_0 y otro cruce de frecuencia en infinito R_∞ . La depresión en el centro del arco por debajo del eje real se expresa en términos de un ángulo $\alpha\pi/2$.

Varios experimentos han demostrado que la concordancia de los datos experimentales con el diagrama circular es excelente y que la reproductibilidad de los datos obtenidos para diversos tejidos también es muy buena [8,25].

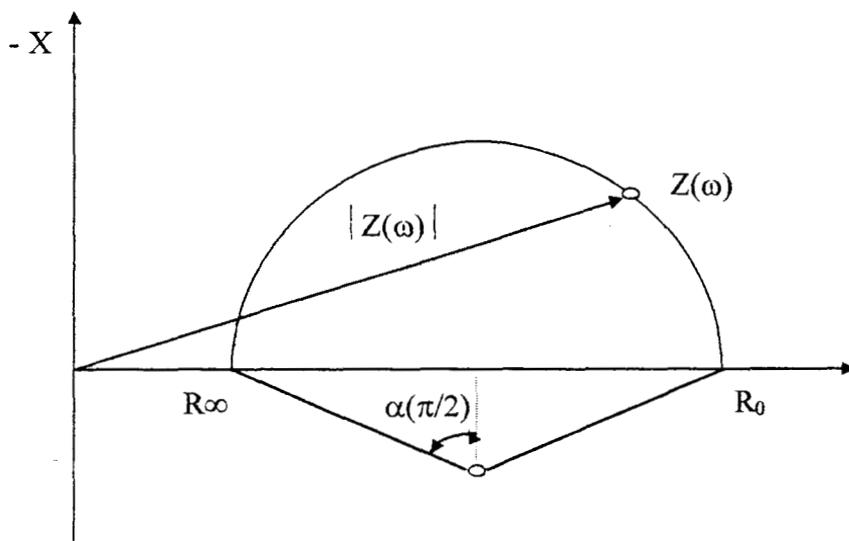


Figura 2.4. Un diagrama típico de reactancia negativa del tejido ($-X$) graficado contra la resistencia del tejido (R). La impedancia compleja del tejido biológico tiene la forma de un bucle en el que las frecuencias crecen de derecha a izquierda. R_0 es la resistencia a frecuencia cero y R_∞ es la resistencia a frecuencia infinita. La depresión del centro del arco se expresa como un ángulo $\alpha\pi/2$. [1], y[8]

Cole y Cole propusieron una expresión empírica para modelar la impedancia [26,27]:

$$\begin{aligned} \epsilon &= \epsilon_\infty + (\epsilon_0 + \epsilon_\infty) / (1 + (j\omega\tau_0)^{(1-\alpha)}) \\ Z &= R + jX = R_\infty + (R_0 - R_\infty) / (1 + (j\omega T_0)^\alpha) \end{aligned}$$

en donde τ_0 es la constante de tiempo característica. Estas expresiones tienen un gran parecido con un circuito RC en paralelo. Sin embargo, el parámetro que los diferencia

es α . Para circuitos eléctricos RC $\alpha=1$, pero para tejidos biológicos α tiene un valor de 0.7. Esto causa que el centro del círculo de la figura 2.4 se mueva hacia abajo del eje real. Se han desarrollado varias hipótesis para explicar éste comportamiento de la impedancia, sin embargo, ninguna teoría ha sido aceptada en forma unánime. La explicación mayormente aceptada asume que la impedancia de la membrana celular tiene un ángulo de fase constante. Así, muchas membranas celulares podrían representarse por una combinación de capacitancia y resistencia dependientes de la frecuencia. Los datos experimentales muestran que el ángulo de fase de esta combinación capacitancia - resistencia variable permanece mas o menos constante sobre un amplio rango de frecuencia. De acuerdo con esta teoría, las membranas vivas tendrían que ser consideradas como dieléctricos pasivos no conductivos.

Características eléctricas del tejido isquémico

Las investigaciones de las propiedades eléctricas del tejido isquémico presentadas en la literatura pueden dividirse en dos categorías: estudios de propiedades del tejido con isquemia inducida y estudios de las propiedades del tejido *postmortem*. Pocos pertenecen a la primera categoría. Estos se llevaron a cabo principalmente sobre músculos cardíacos y tejidos cerebrales. En todos los trabajos, las mediciones de impedancia se hicieron para determinar la resistencia intracelular y extracelular en el tejido con perfusión controlada o con oxigenación sanguínea controlada. Las mediciones se hicieron de 20 a 30 minutos después de que la isquemia se indujo. [1]

Basado en el análisis de la literatura, [1,28] organizó las consecuencias de un corte en la perfusión del tejido muscular en el siguiente orden:

- Si el corte de perfusión es debido a oclusiones en el tejido cardíaco, la resistividad extracelular se incrementa casi de inmediato en un treinta por ciento, gracias a la caída en el volumen intravascular [1,29].
- El cese de perfusión produce hipoxia, falta de glucosa y falta de descarga extracelular, con una consecuente acumulación de productos metabólicos e iones, es decir, produce un incremento en la osmolaridad extracelular. Después de aproximadamente 5 minutos, la resistencia extracelular del tejido cardíaco se incrementa gradualmente. Después de 20 minutos alcanza un nivel del 70% por encima de los valores previos a la oclusión [1,29].
- Durante la isquemia los procesos de oxidación normales se interrumpen, momentáneamente se estimula la glicólisis y subsecuentemente se bloquea mientras se decrementa el pH intracelular[1].
- Los procesos metabólicos anaeróbicos intracelulares causan nuevos productos osmóticos por conversión metabólica de moléculas de menor osmolaridad, mas grandes y de menor actividad (conversión de glicógeno en lactato e hidrólisis de componentes de fosfato de mayor energía). En 45 o 60 minutos, esto produce un rápido incremento en la osmolaridad del tejido de aproximadamente 35 mOsm/kg, y produce un hinchamiento de la célula [1,28]. Los procesos anaeróbicos inducen un decremento constante y continuo del pH del tejido durante por lo menos 25 horas (como se determinó en estudios *postmortem*, [1]).
- El agotamiento de fuentes de energía y la falla en los mecanismos de transporte activo de la membrana producen el equilibrio de pequeñas moléculas (Na^+ , K^+ y Cl^-) en la membrana celular. Las células poseen altas concentraciones de proteína, por lo que sufren de hinchamiento osmótico coloidal adicional.
- El descenso del pH decrementa la resistividad del citoplasma, e induce desacoplamiento celular, un incremento significativo en la resistividad de la

membrana. El hinchamiento celular y el desacoplamiento producen un incremento gradual de la resistividad intracelular equivalente, la cual comienza aproximadamente 10 minutos después del cese de perfusión [29].

- Estudios de isquemia en tejido cerebral felino (por oclusión arterial en el cerebro medio), muestran que la resistencia extracelular se incrementó continuamente durante los 30 minutos que duraron los experimentos. Sin embargo, la resistencia intracelular muestra un decremento constante más lento.
- La hinchazón celular es causada por la transferencia de agua del tejido adyacente no isquémico y a través de rutas venosas.
- La secuencia descrita produce un 300% de incremento en la resistividad del tejido cardíaco canino 2.5 horas después de una oclusión arterial (a una frecuencia de 5 kHz).
- Estudios muestran que a partir del ataque de isquemia (debido al fallecimiento) se presenta un incremento transitorio en la resistividad del tejido, el cual dura de 2 a 8 horas. Después de este período, la resistividad disminuye.
- Estudios sobre hipoxia en ventrículos vacunos utilizando soluciones sin glucosa muestran que la resistencia longitudinal interna se incrementa en promedio un 171% después de 30 minutos, y un 300% después de 60 minutos [1].

2.5. Resumen

Basados en el material disponible en la literatura y el presentado en secciones previas de este capítulo, podemos concluir lo siguiente:

- Existen muchas situaciones de patología clínica en las cuales el tejido se ve amenazado por la isquemia
- Cuando el tejido entra en un estado de isquemia sus células se hinchan y el volumen de los fluidos intracelular y extracelular cambia. Por otro lado, el cambio en la distribución de concentración iónica es pequeño.
- La impedancia del tejido cambia debido a estas variaciones.
- En la actualidad no existe una técnica de medición del daño isquémico que satisfaga los requerimientos para un monitor de uso clínico útil.
- Una correlación cualitativa entre la isquemia y la impedancia medida en el tejido ha sido observada por muchos investigadores.
- Hasta ahora, aunque observada, tal correlación cuantitativa entre la isquemia y la impedancia medida en el tejido no ha podido ser establecida.
- La aplicación de los principios de la espectrometría de impedancia mejora la adquisición y el análisis de las propiedades eléctricas de los tejidos.
- El comportamiento de impedancia del tejido isquémico en la región de dispersión β , el cual nos interesa particularmente, puede aproximarse mediante el modelo matemático explicado en la sección 2.4.
- El pH del tejido representa un buen estimador del nivel de isquemia en el tejido.

Capítulo 3

3. Diseño del Hardware del Espectrómetro de impedancia

Para realizar mediciones de impedancia compleja en un tejido se diseñó y construyó un instrumento especializado llamado *espectrómetro de impedancia*, el cual puede medir la impedancia compleja del tejido a frecuencias arbitrarias desde 100 Hz hasta 1 MHz. Este instrumento se compone de dos partes principales: la parte correspondiente al instrumento en sí y la parte correspondiente al control, la cual se basa en una computadora (PC). La parte de instrumentación mide la impedancia compleja del tejido sobre el rango de frecuencia requerido. La PC controla las operaciones del instrumento, la recolección de datos y el almacenamiento y análisis de éstos.

Los espectrómetros de impedancia se encuentran disponibles comercialmente y varias compañías los producen. Estos pueden dividirse en dos grupos: a) instrumentos electrónicos muy precisos y versátiles (e.g. HP4194A, \$31,000)[1], demasiado grandes, caros y pesados (37 kg) como para ser utilizados en un ambiente clínico, y que no satisfacen las normas de seguridad, y b) instrumentos de impedancia diseñados para uso clínico (para mediciones del porcentaje de grasa corporal) que sin embargo no tienen la precisión, flexibilidad y calidad requerida para este proyecto. Por eso, para nuestros objetivos no es posible utilizar un instrumento existente por lo que se tuvo que desarrollar y construir uno adecuado a nuestras necesidades.

En este capítulo se describen los principios básicos de la operación y diseño del hardware del espectrómetro de impedancia. Primero se discuten y comparan las diferentes técnicas de medición de impedancia, subrayando ciertas especificaciones que deben cumplir. A continuación se discuten los conceptos básicos de operación del instrumento y se explica su estructura. Finalmente se presenta en detalle el diseño del hardware del prototipo del espectrómetro de impedancia para el tejido y su funcionamiento.

3.1. Descripción de los términos y principios básicos

Existen dos técnicas básicas para medir la impedancia en el tejido biológico: la *técnica de puente* y el *detector sensible a la fase*. Tradicionalmente los métodos de puente han sido los más usados. Su ventaja es la precisión y la alta resolución de sus mediciones. Sin embargo, las mediciones requieren de mucho tiempo, lo cual es un problema durante el trabajo *in vivo* en donde los cambios en la impedancia del tejido con el tiempo dependen de los procesos fisiológicos del tejido. Desarrollos recientes en los diseños de sistemas de puente han disminuido el tiempo requerido para las mediciones, pero a cambio de una disminución en la precisión.

En la actualidad los métodos de detectores de fase están ganando terreno. Nuestro diseño se basa en la técnica del detector de fase por las siguientes razones:

- Es capaz de realizar mediciones precisas dentro de un rango de frecuencia dado
- Tiene la capacidad de hacer mediciones rápidas en forma automática
- Posee simplicidad en su diseño y operación

Ambos métodos mencionados pueden medir la impedancia del tejido empleando sistemas de dos o cuatro electrodos, los cuales sirven de interfase entre el instrumento y el tejido. En el sistema de dos electrodos una señal de excitación de onda sinusoidal

(ya sea de corriente o voltaje) se aplica al tejido a través de ambos electrodos. El sistema mide la corriente que pasa a través del tejido a los electrodos. La impedancia se define como el voltaje medido entre la corriente. Esta impedancia es la suma de la impedancia del tejido entre los electrodos y la impedancia de las interfaces electrodo-tejido (error de medición).

Para evitar este error se utiliza el sistema de cuatro electrodos (ver figura 3.1). En este sistema los electrodos exteriores inyectan una corriente de excitación en el tejido. La corriente a su vez genera un voltaje, el cual es medido por los electrodos interiores. La impedancia de entrada del sistema de medición de voltaje debe ser varios órdenes de magnitud mayor que la impedancia del tejido medido y que aquella de la interfase electrodo-tejido. Así, toda la corriente inyectada pasa a través del tejido, solamente una proporción despreciable pasa a través de los electrodos interiores y éstos no cambian la distribución de corriente. Además, el voltaje de la interfase electrodo-tejido para los electrodos interiores es despreciable y el voltaje medido es igual al voltaje en el tejido. La impedancia total (definida como el voltaje medido entre la corriente inyectada) representa la impedancia del tejido únicamente.

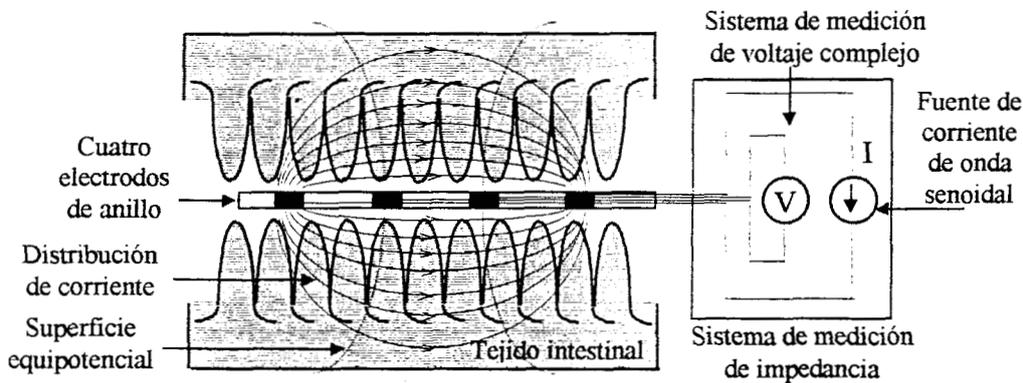


Figura 3.1. Sistema de cuatro electrodos para la medición de la impedancia compleja del tejido. La fuente de corriente produce una excitación senoidal constante en el tejido a través de los dos electrodos exteriores. Las mediciones complejas de voltaje se realizan mediante los dos electrodos interiores.

Los sistemas de medición de impedancia pueden inyectar corriente al tejido mediante una fuente de voltaje o de corriente. En nuestro sistema (figura 3.1.) utilizaremos una fuente de corriente ya que una fuente de voltaje no es conveniente para los tejidos biológicos por las siguientes razones:

- La corriente de excitación depende de la impedancia del tejido y no es fácil de controlarla si se utiliza una fuente de voltaje
- La densidad de corriente de excitación debe estar en un rango específico menor a 1 mA/cm^2 para mantener la impedancia del tejido en un rango real
- Una densidad de corriente alta puede inducir potenciales de acción en las células del tejido los cuales pueden causar contracciones e interferir con la medición de la impedancia

La corriente de excitación inyectada se distribuye en el tejido siguiendo la ley de Ohm y forma superficies equipotenciales (figura 3.2). Cada electrodo se encuentra a un potencial dado, lo cual depende de la posición de los electrodos, la distribución de

corriente a través del tejido y las características eléctricas y geométricas de éste. Los dos electrodos interiores miden el voltaje a través del tejido entre las dos superficies equipotenciales correspondientes. La impedancia medida es igual al voltaje entre los dos electrodos interiores dividido entre la corriente inyectada. La impedancia del tejido definida de esta forma corresponde a un volumen tridimensional de tejido con límites definidos por las superficies equipotenciales (correspondientes al área sombrada en la figura 3.2).

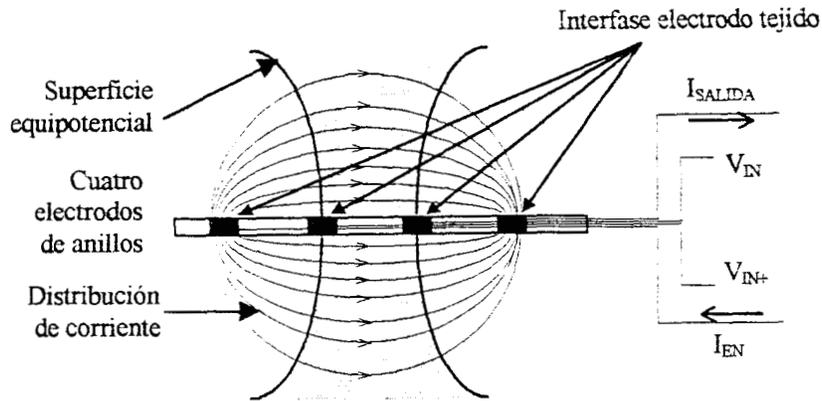


figura 3.2. Sistema de medición de impedancia del tejido con cuatro electrodos. La corriente de excitación pasa al tejido a través de las interfaces electrodo-tejido y se distribuye de forma heterogénea. Al pasar a través del tejido la corriente forma superficies equipotenciales. La impedancia del tejido definida como $(V_{IN+} - V_{IN})/I_{out}$ es la impedancia del volumen del tejido representada por el área sombrada.

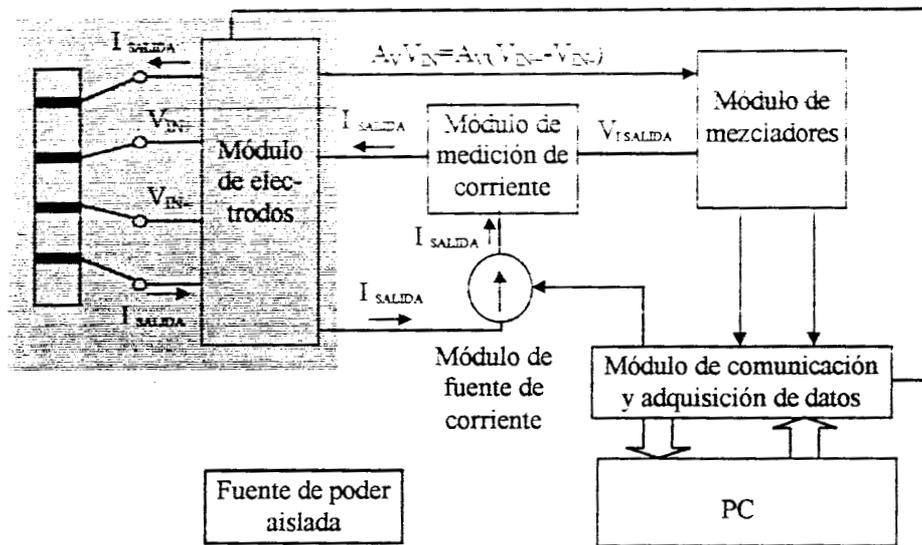
3.2. Diseño del sistema de espectrometría de impedancia

En esta sección se describe el espectrómetro de impedancia de acuerdo a sus módulos principales. La operación del sistema se describirá también de forma modular. Una descripción más detallada del sistema que describe los componentes dentro los módulos se discute más adelante.

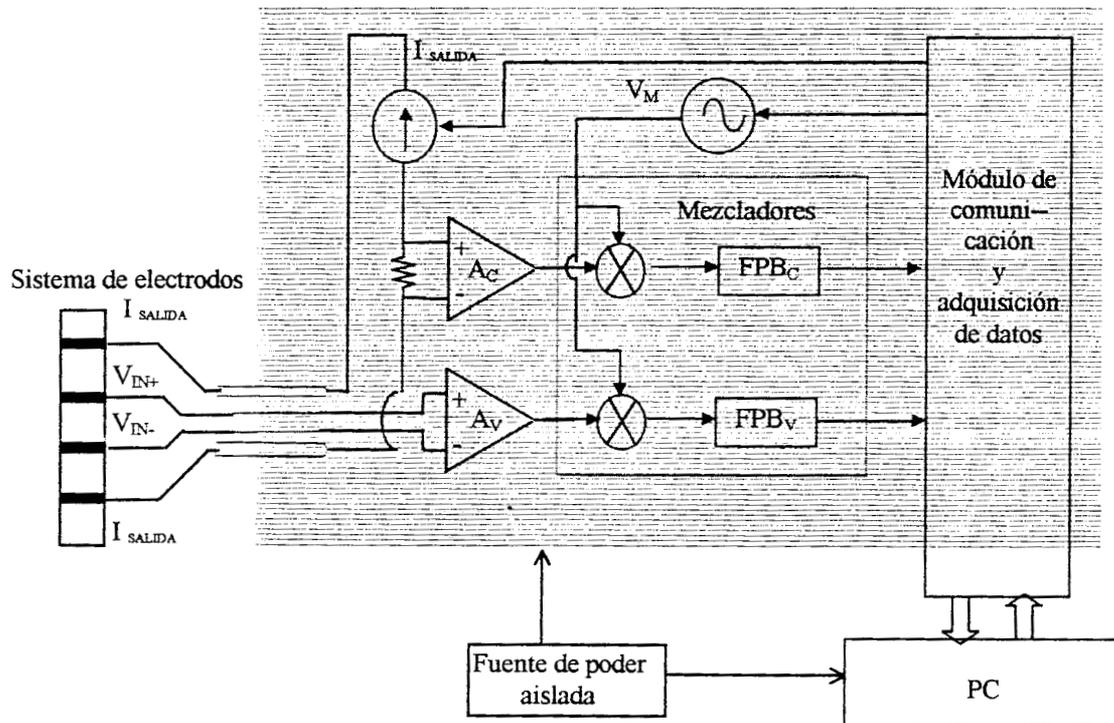
3.2.1. Descripción de los módulos que componen el espectrómetro de impedancia

Un diagrama a bloques del espectrómetro se presenta en la figura 3.3. Puede ser dividido físicamente en dos partes: el instrumento y el montaje del electrodo (figura 3.3.b). La parte del instrumento puede a su vez ser subdividida en varios módulos (figura 3.3.a): el módulo de la fuente de corriente, el módulo de los moduladores, el módulo de adquisición de datos, el módulo de comunicación y el módulo de alimentación.

El sistema de medición contiene cuatro electrodos que sirven como interfase con el tejido (figura 3.1). Los electrodos exteriores se utilizan para inyectar una corriente de excitación (la cual llamaremos *corriente de salida*) y los interiores



a)



b)

Figura 3.3. a) Diagrama a bloques del espectrómetro de impedancia, mostrando la estructura de los diversos módulos que lo componen. b) Diagrama a bloques más detallado. El sistema de electrodos hace de interfase con el tejido, inyectando una corriente de excitación y midiendo el voltaje correspondiente del tejido. El amplificador A_c procesa el voltaje medido lo digitaliza y lo envía a la PC.

para medir el voltaje en el tejido (que a su vez denominaremos como *voltaje de entrada*). El sistema de electrodos tiene que ser de tamaño adecuado a la aplicación, ligero, fácil de conectar al tejido, y puede poseer electrodos intercambiables. El sistema de electrodos se conecta al módulo instrumental por medio de un cable coaxial blindado de longitud dependiente de la aplicación.

La parte instrumental del espectrómetro realiza varias funciones. Primero, genera la corriente de salida empleando el módulo de la fuente de corriente. La corriente tiene una forma de onda senoidal de frecuencia arbitraria con mínima distorsión armónica. Su frecuencia se controla por medio de la PC.

La corriente de salida generada se vuelve a medir como referencia por medio del módulo de medición de corriente. Este módulo cambia la corriente de salida a voltaje (que llamaremos *voltaje de referencia*) por medio de una resistencia. El voltaje así generado se amplifica mediante un amplificador de instrumentación (A_c), se modula en el módulo de modulación y se lee por medio del módulo de adquisición de datos (ver figura 3.3). La corriente de salida pasa por este módulo sin modificación alguna.

Más adelante la corriente de salida pasa por medio del cable blindado al sistema de electrodos y se inyecta en el tejido (figura 3.3.b). El voltaje de entrada así generado (entre los electrodos) se amplifica mediante un amplificador diferencial de instrumentación (A_v) y posteriormente pasa al módulo de modulación y al de adquisición de datos.

El módulo de modulación se encuentra antes del módulo de adquisición de datos y contiene dos mezcladores o moduladores similares para procesar el voltaje de entrada y el voltaje de corriente, modulando estas señales mediante una portadora para trasladar las frecuencias del espectro a una sola frecuencia, la cual es examinada por el módulo de adquisición.

El módulo de adquisición de datos convierte las dos señales analógicas provenientes de los moduladores a señales digitales que pueden entonces ser almacenadas y procesadas por la computadora, la cual a su vez determina la frecuencia de muestreo.

El módulo de alimentación provee los voltajes de polarización requeridos para la operación del sistema (+/- 15 V y 5 V).

3.2.2. Modulación y demodulación aplicada a la espectroscopía de impedancia

En la espectroscopía de impedancia se utiliza un barrido en frecuencia (de 100 Hz a 1 MHz) y se adquieren señales a diferentes frecuencias, por lo que es un proceso complejo. Mediante la modulación y posterior demodulación de las señales se puede realizar este objetivo fácilmente. En esta sección se describen las técnicas de modulación y demodulación en amplitud aplicadas al sistema.

3.2.2.1. Amplitud modulada

Las señales de baja frecuencia o de información no pueden transmitirse mediante antenas o cables de forma razonable pero pueden transmitirse utilizándolas para cambiar o modular algunas de las características de una onda portadora de mayor frecuencia. Si la característica de la onda portadora que se modifica es en proporción a la señal de información es la amplitud, el proceso se denomina *amplitud modulada (AM)*. El modificar la frecuencia o el ángulo de fase de la onda portadora resulta en frecuencia modulada (FM) y fase modulada (PM) respectivamente[32].

Por supuesto, la señal original de información debe recuperarse mediante un proceso inverso denominado *demodulación o detección*.

El multiplicador usado como modulador

La amplitud modulada es el resultado de un proceso de multiplicación. Si se aplica a la entrada x de un multiplicador, la señal de ganancia variable E_m se aplica a la entrada y del multiplicador, de modo que la salida V_o tiene la misma envolvente que E_m . Entonces, el multiplicador puede considerarse como un dispositivo de ganancia controlada por voltaje, así como un modulador de amplitud.

Descripción matemática del modulador balanceado

Si se aplica una onda cosenoidal portadora E_c de alta frecuencia a una de las entradas de un multiplicador y se aplica una señal de información E_m de baja frecuencia (onda moduladora) a la segunda entrada del modulador podremos entonces escribir (suponiendo para efectos de análisis que ambas señales son cosenoidales): para prueba y análisis, tanto E_c como E_m serán ondas senoidales que se describen como sigue:

$$E_c = E_{cp} \cos \omega_c t \quad \text{señal portadora}$$

donde E_{cp} es el valor pico de la onda portadora y ω_c es la frecuencia portadora, y

$$E_m = E_{mp} \cos \omega_m t \quad \text{señal moduladora}$$

donde E_{mp} es el valor pico de la onda moduladora y ω_m es la frecuencia moduladora.

Aplicando la señal portadora E_c a la entrada x de un multiplicador y denominándola como E_x , y la señal moduladora E_m a la entrada y del multiplicador y denominándola E_y , podemos expresar la señal de salida V_o como un el producto de ambas entradas:

$$V_o = E_c E_m = E_{cp} E_{mp} (\cos \omega_c t) (\cos \omega_m t) \quad \text{a}$$

la ecuación se denomina el *término producto* de dos ondas senoidales con frecuencias diferentes.

La ecuación anterior puede reescribirse utilizando la siguiente identidad trigonométrica:

$$(\cos A) (\cos B) = \frac{1}{2} [\cos(A + B) + \cos(A - B)]$$

de forma que obtenemos:

$$V_o = \frac{1}{2} (E_{cp} E_{mp}) [\cos(\omega_c + \omega_m)t + \cos(\omega_c - \omega_m)t]$$

Como puede observarse, V_o es entonces una señal compuesta de dos ondas cosenoidales con frecuencias diferentes, correspondientes a la suma $(\omega_c + \omega_m)$ y la diferencia $(\omega_c - \omega_m)$ de las frecuencias de las señales originales, tal como se muestra en la figura 3.4.

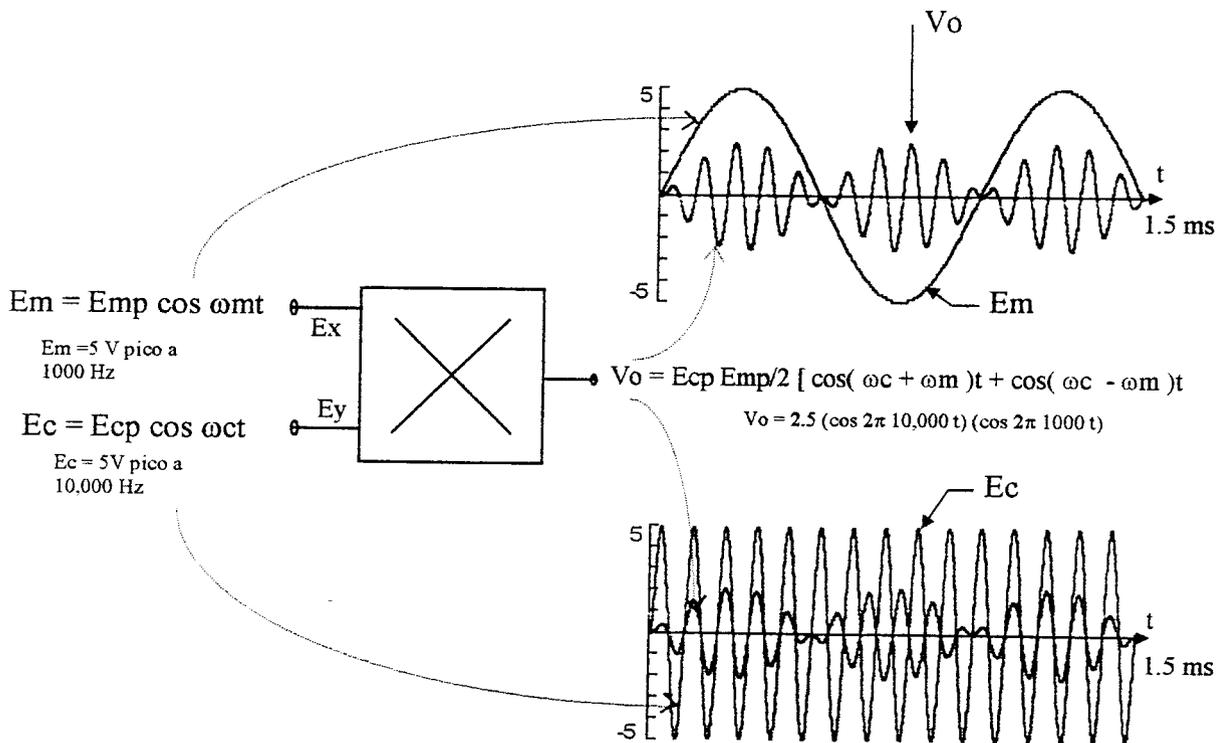


Figura 3.4. El multiplicador como modulador balanceado.

3.2.2.2. Demodulación

La demodulación o detección es el proceso seguido para recuperar una señal E_m a partir de una señal modulada (en este caso en amplitud mediante la señal del tejido) V_o . Para ello se aplica la señal e_{AM} a la entrada de un multiplicador. La señal de entrada se multiplica por la demoduladora E_m y se obtiene una señal compuesta de dos bandas, suma y resta de frecuencias, como se muestra en la figura 3.6. Una vez hecho esto se utiliza un filtro pasabanda para extraer la señal de interés.

Escribiendo,

$$e_{AM}(t) = E_{AM} \cos \omega_c t$$

como la señal modulada en amplitud (producida al modular en amplitud de acuerdo a la señal del tejido) con una frecuencia ω_c , y multiplicando por la señal moduladora

$$e_m(t) = E_m \cos \omega_m t$$

señal moduladora con una frecuencia ω_m , obtenemos una diferencia de frecuencias $\omega_{if} = \omega_c - \omega_m$, y una salida $e_o(t)$ con dos bandas laterales de suma y diferencia, de la siguiente forma:

$$e_o = e_{AM}(t) e_m(t)$$

$$e_o = E_c E_m / 2 [\cos(\omega_c + \omega_m)t + \cos(\omega_c - \omega_m)].$$

Hay que notar que el espectro se traslada a ambas, la frecuencia de suma ($\omega_c + \omega_m$) y a la frecuencia de diferencia ($\omega_c - \omega_m$). Pasando esta señal por un filtro pasabanda con frecuencia central ajustada a la diferencia ($\omega_c - \omega_m$) se revela la información proporcionada por la señal del tejido.

Un ejemplo de demodulación síncrona con valores de frecuencia resumidos en la figura 3.5. y cuyos espectros se muestran en la figura 3.6. se describe a continuación.

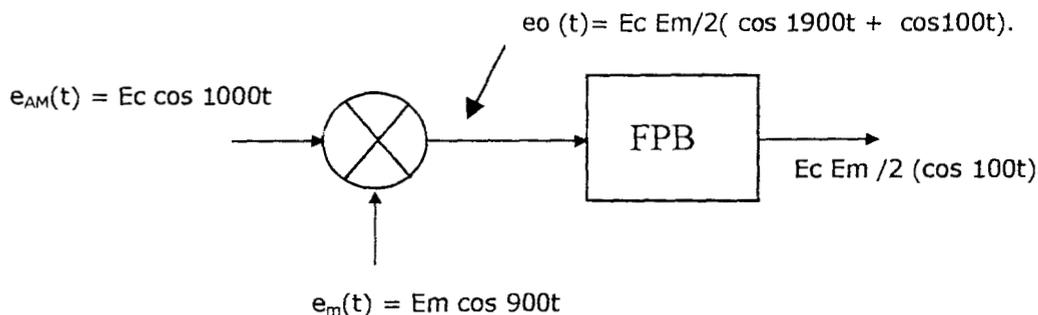
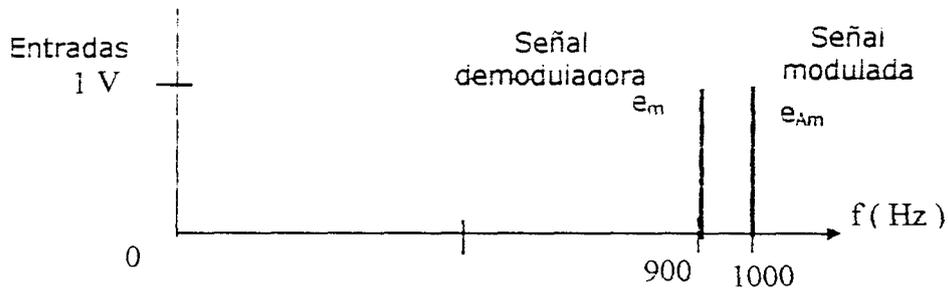
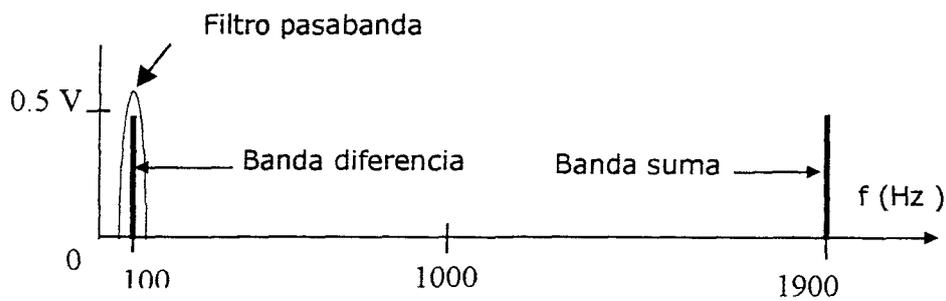


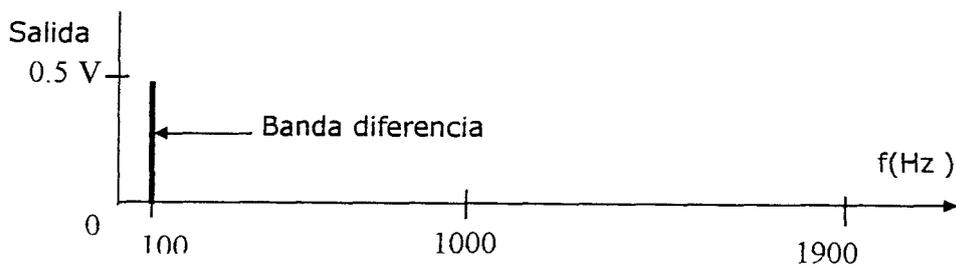
Figura 3.5. Esquema del proceso de demodulación síncrona aplicada a nuestro sistema. Las entradas al multiplicador son $e_{AM}(t)$ a una frecuencia de 1KHz y E_m a 900 Hz (existiendo entre ambas una diferencia de 100 Hz). La salida del multiplicador $e_o(t)$ es una señal con dos frecuencias laterales (suma 1900 Hz y diferencia 100 Hz). Pasando esta señal por un filtro pasa banda (FPB) de ganancia unitaria centrado en 100 Hz, se obtiene a la salida únicamente la banda de diferencia. Esta señal contiene una amplitud y fase proporcionales a la señal del tejido.



(a) Espectro de las señales de entrada con frecuencias $\omega_c = 1\text{KHz}$ y $\omega_m = 900\text{ Hz}$.



(b) Espectro de las señales de entrada al filtro con frecuencias $\omega_c + \omega_m = 1900\text{ Hz}$ y $\omega_c - \omega_m = 100\text{ Hz}$.



(c) Espectros de la señal de salida del filtro, a una frecuencia de 100 Hz.

Figura 3.6. Entradas y salidas del ejemplo de demodulación síncrona descrito en la figura 3.5. a) Señales de entrada al multiplicador, b) Señales de salida del multiplicador, entradas del filtro pasa banda y c) Señal de salida del filtro.

3.2.3. Descripción general de la operación del espectrómetro de impedancia

Las mediciones completas de impedancia consisten en mediciones de voltaje de entrada alternados con mediciones de corriente de salida para varias frecuencias a lo largo de un rango de interés. Para cada medición se inicializa cada componente del espectrómetro. Esto se hace gracias a la PC, la cual realiza las siguientes funciones:

- Selecciona la frecuencia de medición y calcula la frecuencia de referencia
- Convierte ambas frecuencias a palabras binarias
- Programa los dos generadores de funciones sinusoidales con estas frecuencias
- Despliega las dos señales de salida (la señal del tejido y la de la referencia) a la mayor frecuencia de muestreo
- Almacena en un archivo los datos de las dos señales para cada frecuencia.
- Para todo el espectro de frecuencia los nombres de los archivos de datos se fijan como cuatro caracteres definidos por el usuario mas cuatro caracteres que indican el valor de la frecuencia de medición
- Procesa las señales utilizando el paquete comercial MATLAB:
 - ❖ Calcula la magnitud y fase de la impedancia del tejido
 - ❖ Calcula la parte real e imaginaria de la señal del tejido
 - ❖ Calcula el espectro de frecuencia de la impedancia y su frecuencia de corte, realizando cualquier ajuste o interpolación necesaria.

3.2.4. Descripción de la captura de datos y su recuperación por medio de la modulación y demodulación síncronas.

Ambas señales de medición de corriente, el voltaje de referencia v_r y el voltaje del tejido v_c se generan a partir de la misma corriente i_c , descrita por

$$i_c = I_c \cos \omega_c t$$

en donde I_c es el valor pico de la corriente y ω_c es su frecuencia. El voltaje de carga del tejido se genera al pasar i_c a través de la impedancia del tejido z_c , la cual puede ser compleja, y que puede representarse como

$$z_c = Z_{cr} + jZ_{cim}$$

donde Z_{cr} y Z_{cim} son las componentes real e imaginaria respectivamente. Por otro lado, también podemos describir la impedancia en términos de su amplitud Z_c y fase θ como sigue:

$$z_c = Z_c \angle \theta$$

donde

$$Z_c^2 = Z_{cr}^2 + Z_{cim}^2$$
$$\theta = \arctan (Z_{cim} / Z_{cr})$$

y el voltaje de salida del tejido está dado por

$$v_c = V_c \cos (\omega_c t + \theta)$$

Donde

$$V_c = I_c Z_c$$

corresponde al valor pico de la señal del tejido y θ es la fase generada por la impedancia del tejido, la cual es la misma que la generada entre la corriente y el voltaje generado en la impedancia compleja del tejido.

La señal de medición de corriente de referencia se genera haciendo pasar la corriente I_c a través de la impedancia de referencia Z_r , la cual es puramente resistiva

$$Z_r = Z_r$$

y el voltaje así generado se describe como

$$v_r = V_r \cos(\omega_c t)$$

donde

$$V_r = Z_r I_c$$

es el valor pico de la señal de referencia. Este voltaje se encuentra en fase con la corriente dado que se genera mediante una impedancia real.

Las señales de voltajes descritas se modulan en amplitud con una ganancia proporcional a la impedancia del tejido y la referencia respectivamente (ver sección 2.5). La ganancia correspondiente al tejido puede variar con el tiempo debido a los cambios en la impedancia con el tiempo y los diferentes estados biológicos y daños a los que ha sido expuesto. Es precisamente la detección de éstos el objetivo principal de este proyecto y del instrumento propuesto. Por otro lado, la señal de referencia es constante en todas las mediciones y no tiene fase, por lo que la fase generada por el componente complejo de la impedancia del tejido refleja los cambios en ésta. Estos cambios serán transmitidos al espectrómetro de impedancia por medio de voltajes modulados en amplitud con una ganancia proporcional a ellos.

En la etapa siguiente es necesario detectar dichos cambios en los voltajes para poder cuantificarlos y analizarlos, y para ello primero se demodulan de forma sincrónica. Este proceso consiste en un detector que multiplica las señales moduladas en amplitud por otra señal e_{dm} de frecuencia ω_m , una frecuencia demoduladora. Esta corresponde a una frecuencia que mantiene siempre una diferencia fija con la portadora original ω_c . Este proceso es diferente que el proceso de demodulación clásico, y se basa en un nuevo método descrito por Steven Kun y sus colegas [7][9]. Este método se basa en el principio de mantener la diferencia entre la frecuencia de la señal de voltaje del tejido ω_c y la frecuencia de señal demoduladora ω_m constante sobre todo el rango del espectro de frecuencias. Esto se realiza gracias a la generación digital de señales precisas mediante el *Analog Devices AD7008*. En esta aplicación se utilizan dos de estos demoduladores síncronos idénticos en estructura, ganancia y frecuencia demoduladora. En la figura 3.11 se muestra su estructura.

Matemáticamente podemos describir el proceso de la siguiente forma. Las dos entradas del primer multiplicador son v_c y e_m , dados por

$$\begin{aligned} v_c &= V_c \cos(\omega_c t + \theta) \\ e_m &= E_m \cos \omega_m t \end{aligned}$$

El voltaje de salida v_{Acm} es el producto de estos dos voltajes,

$$v_{Acm} = v_c e_m = V_c E_m [\cos(\omega_c t + \theta) \cos \omega_m t]$$

$$v_{Acm} = V_{Acm} \{1/2 [\cos((\omega_c + \omega_m)t + \theta) + \cos((\omega_c - \omega_m)t + \theta)]\}$$

donde $V_{Acm} = V_c E_m$.

Aquí, θ corresponde a la fase entre los dos canales de demodulación y se refleja en las dos bandas laterales, la de suma $[(\omega_c + \omega_m)t + \theta]$ y diferencia $[(\omega_c - \omega_m)t + \theta]$. Las dos entradas del *segundo* multiplicador son v_r y e_m , dados por

$$v_r = V_r \cos(\omega_c t)$$

$$e_m = E_m \cos \omega_m t$$

El voltaje de salida v_{Arm} como en el caso anterior también el producto de estos dos voltajes

$$v_{Arm} = v_r e_m = V_r E_m \cos \omega_c t \cos \omega_m t$$

$$v_{Arm} = V_{Acm} \{1/2 [\cos(\omega_c + \omega_m)t + \cos(\omega_c - \omega_m)t]\}$$

donde $V_{Acm} = V_r E_m$.

y contiene dos bandas laterales, de suma $(\omega_c + \omega_m)$ y diferencia $(\omega_c - \omega_m)$. Denominando como $\omega_{IF} = \omega_c - \omega_m$ a la diferencia de frecuencia entre las salidas de los demoduladores, se construyen dos filtros pasabanda con una frecuencia central de la banda paso de ω_{IF} y un buen factor de calidad Q , como en la figura 3.14. Pasando cada una de las señales por un filtro obtendremos únicamente la componente diferencial, expresada como

$$e_{Amc} = E_{Acm} \cos((\omega_c - \omega_m)t + \theta) = E_{Acm} \cos(\omega_{IF} t + \theta)$$

$$e_{Arm} = E_{Arm} \cos(\omega_c - \omega_m)t = E_{Arm} \cos(\omega_{IF} t)$$

donde e_{Amc} es la señal de información de impedancia del tejido obtenida a las salida del primer filtro y e_{Arm} es la señal de referencia. Como se muestra en las ecuaciones, la fase entre las dos señales de salida de los filtros es la misma fase que se generó en la impedancia del tejido tomando en cuenta que la carga de referencia es únicamente resistiva.

Para nuestra aplicación se escogió una frecuencia de diferencia ω_{IF} de 100 Hz. Siempre que se varía el valor de la frecuencia de la corriente inyectada ω_c en el sistema de la sonda de cuatro electrodos debe cambiarse la frecuencia demoduladora para mantener la diferencia $\omega_{IF} = \omega_c - \omega_m$ constante (100 Hz) y fija en todo el rango de frecuencias del espectro usando los generadores de funciones AD7008 que generan señales con frecuencias determinadas digitalmente.

Estas dos señales se convierten en señales digitales mediante una tarjeta de adquisición DAS08 y se introducen a la computadora para su procesamiento, extracción de información útil y almacenamiento.

3.2.5. Descripción del muestreo de datos

Ambas, la señal senoidal de corriente de salida v_r (*señal de referencia*), y la señal del tejido v_c son generadas por la misma corriente y bajo las mismas condiciones. Esto permite aplicar una técnica conocida como *muestreo sincronizado* en el proceso de adquisición de datos. Esta técnica se basa en el principio de sincronía entre la frecuencia de muestreo y la frecuencia de la señal de onda senoidal adquirida.

Un ejemplo de como el muestreo sincronizado puede utilizarse para medir la amplitud y fase de la señal senoidal debida a la impedancia compleja del tejido. Para evaluar los parámetros, el sistema necesita adquirir las muestras de las dos señales en el tiempo t , muestra de cada señal en forma frecuente, asegurando mantener sus relaciones con el tiempo.

La definición de una secuencia periódica con período T_0 , es aquella para la que [33, 34]:

$$s(t) = s(t + T_0) \text{ para toda } t$$

si el período de muestreo es T , entonces:

$$\begin{aligned} s[n] = s(nT) = s(nT + T_0) & \text{ para toda } n \\ nT + T_0 = mT & \text{ m entero} \end{aligned}$$

y cuando

$$T_0 = NT, \quad m = n + N$$

Así,

$$s[n] = s(nT + NT) = s[n + N]$$

es una secuencia periódica de período N , con N entero. Por ejemplo, si

$$s(t) = \cos(\omega_{IF} t)$$

y muestremos con período T , obtenemos:

$$\begin{aligned} S[nT] &= \cos(\omega_{IF} nT) \\ S[n] &= \cos(\omega n), \quad \text{con, } \omega = \omega_{IF} T, \end{aligned}$$

si $S[n]$ debe ser periódica entonces:

$$S[n] = S[n + N]$$

para toda n y con N entera

$$\begin{aligned} S[n + N] &= \cos(\omega n + \omega N) \\ S[n + N] &= \cos(\omega n) \cos(\omega N) - \sin(\omega n) \sin(\omega N) \end{aligned}$$

y debido a la periodicidad

$$\cos(\omega N) = 1 \text{ y } \sin(\omega N) = 0$$

por lo tanto

$$\begin{aligned} T_o &= NT \\ \omega N &= 2\pi \end{aligned}$$

En este proyecto se pueden describir las secuencias de las señales como

$$\begin{aligned} e_{A_{mxc}} &= E_{ACm} \cos((\omega_c - \omega_m)t + \theta) = E_{ACm} \cos(\omega_{IF} t + \theta), \\ e_{A_{rm}} &= E_{Arm} \cos(\omega_c - \omega_m)t = E_{Arm} \cos(\omega_{IF} t) \end{aligned}$$

donde $\omega_{IF} = (\omega_c - \omega_m)$, y θ es la fase entre estas dos señales (ve capítulo 3.2.3),

$$e_{A_{cm}}[n] = E_{ACm} \cos(\omega_{IF} nT + \theta[n]); \text{ y}$$

$$e_{A_{rm}}[n] = E_{Arm} \cos(\omega_{IF} nT) \quad \text{con, } \omega = \omega_{IF} T,$$

$$\begin{aligned} e_{A_{cm}}[n + N] &= E_{ACm} \cos(\omega n + \omega N + \theta[n]) \\ e_{A_{rm}}[n + N] &= E_{Arm} \cos(\omega n + \omega N); \end{aligned}$$

y como $\omega N = 2\pi$, entonces

$$\begin{aligned} e_{A_{cm}}[n] &= E_{ACm} \cos(\omega n + \theta[n]) \\ e_{A_{rm}}[n] &= E_{Arm} \cos(\omega n) \end{aligned}$$

$\theta[n]$ puede ser descrita como $\theta[n] = K T$, donde K es el número mínimo de muestras entre dos máximos, mínimos, o cruces por cero consecutivos en el tiempo entre dos señales como se muestra en la figura 3.5. Para calcular la fase correspondiente podemos escribir:

$$\begin{aligned} T_o &= NT \\ \omega N &= 2\pi \\ \theta[n] &= k T \\ \theta &= (K/N) * 2\pi \text{ radianes} \\ \theta &= (K/N) * 360 \text{ grados} \end{aligned}$$

y se concluye que como N debe ser entera, $e_{A_{rm}}[n]$ será periódica con período $2\pi / \omega$ siempre y cuando este cociente sea entero.

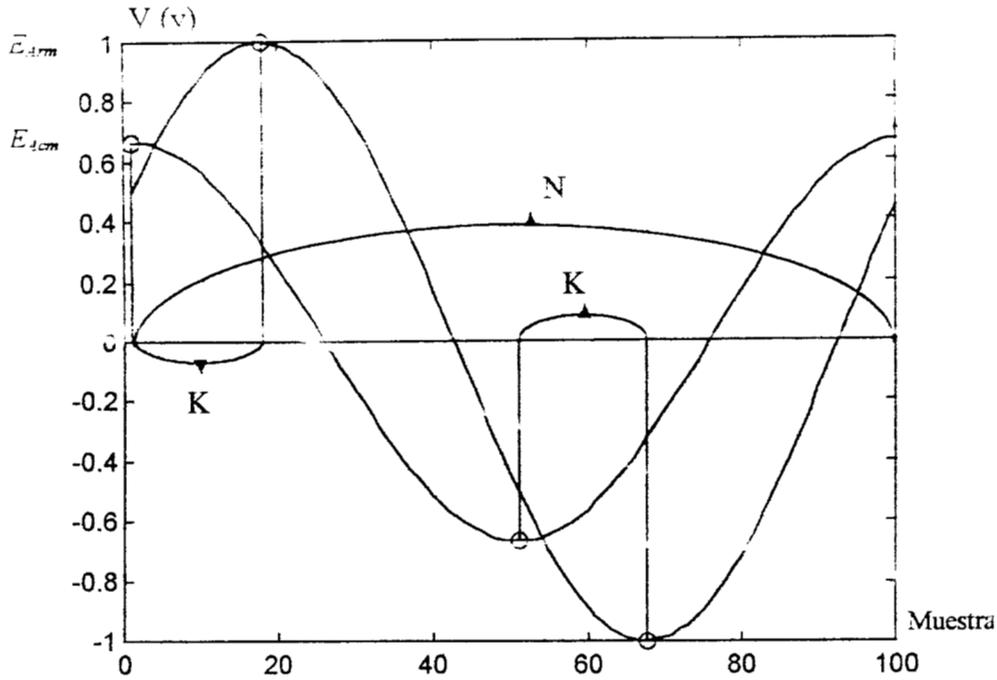


Figura 3.7. Las dos señales mostradas tienen el mismo período y una diferencia de fase K . La diferencia de fase se puede calcular como $\theta = (K/N) * 360$ grados.

Cuando la ganancia de ambos canales es la misma la amplitud de salida de las dos señales es proporcional a su carga, como ya hemos mencionado, y como la carga de referencia se conoce ($Z_r = 47 \Omega$ en esta aplicación), proporcionado la amplitud de salida de las dos señales se puede calcular la magnitud de la impedancia de carga Z_c :

$$Z_c = E_{ACm} * Z_r / E_{Arm}$$

Al muestrear ambas señales (e_{Am} y e_{Arm}) a la misma frecuencia, las señales digitales de cada parte tendrán un valor proporcional en amplitud y la misma fase en comparación con las señales originales analógicas.

3.3. Características de diseño del hardware del espectrómetro de impedancia

En esta sección se describe en detalle la operación de cada módulo del instrumento que se propone. Primero se presenta el diseño de *hardware* para el generador de corriente de salida (el cual produce la corriente que se inyecta al tejido). Posteriormente se presenta el sistema de electrodos y su diseño. Por último se discute el sistema completo para el procesamiento y adquisición de datos, así como un protocolo en software para el control del sistema.

3.3.1. Descripción de los módulos de fuente y medición de corriente

El módulo de fuente de corriente produce una corriente alterna de salida con una amplitud constante a una frecuencia arbitraria. El diagrama del circuito simplificado para generar la corriente de salida en el espectrómetro de impedancia, el módulo de fuente de corriente, se muestra en la figura 3.8. Este módulo se compone de un generador de ondas senoidales y una fuente de corriente constante como puede también apreciarse en la figura.

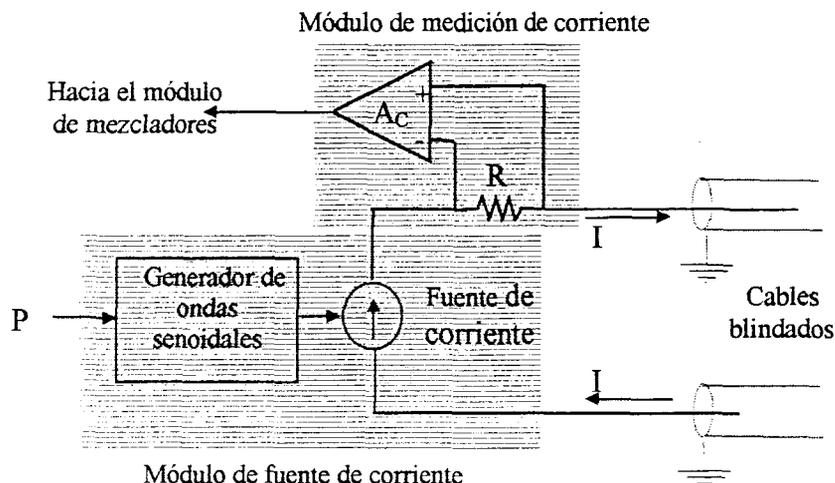


Figura 3.8. Diagrama simplificado del circuito del módulo para generar la corriente de salida. El generador de onda senoidal produce un voltaje alterno, el cual se amplifica mediante un amplificador operacional con una ganancia controlada por un potenciómetro. La fuente de corriente convierte el voltaje senoidal a corriente de salida (es una fuente de corriente controlada por voltaje). Para encontrar la amplitud y fase de esta corriente de salida se emplea el módulo de medición de corriente, el cual genera un voltaje proporcional a la corriente. Finalmente la corriente se transfiere a los electrodos a través de un par de cables blindados.

La corriente pasa a través del módulo de medición de corriente para así determinar su amplitud y fase. La corriente pasa entonces a través del cable blindado hasta los electrodos, en donde es inyectada al tejido.

El generador de onda senoidal del sistema produce una señal a una frecuencia arbitraria determinada por la PC y se basa en un circuito integrado de *Analog Devices*, el modulador digital AD7008. Este componente genera una señal de onda senoidal a una frecuencia máxima de 2.11 MHz con una relación señal a ruido de 50 dB y una distorsión armónica total de -55 dB a 1 MHz.

El principio de operación del generador se presenta en la figura 3.10. El AD7008 contiene un contador digital programable (denominado *acumulador de fase* en la figura 3.5), tablas de funciones seno y coseno (4096 muestras por período) en ROM y un canal de diez bits para conversión de datos digitales a analógicos (DAC). El acumulador de fase genera la dirección local para las muestras en la ROM y El AD7008 lee dos muestras de la ROM al mismo tiempo (muestras en fase y en cuadratura). Estas muestras son multiplicadas digitalmente (moduladas) por los valores almacenados en el registro IQMOD y se suman. Finalmente, el DAC convierte las muestras en una señal analógica.

El AD7008 tiene además dos registros de frecuencia (FREQ) programables. Los datos que determinan la frecuencia de salida del AD7008 están almacenados en uno o ambos registros FREQ. Solamente un registro FREQ puede usarse a la vez (solo un registro determina la frecuencia de salida en un momento dado) y éste se selecciona por medio de la señal FSELECT. Así, alternando entre ambos registros, el AD7008 permite fácilmente la modulación binaria en frecuencia de la señal de salida.

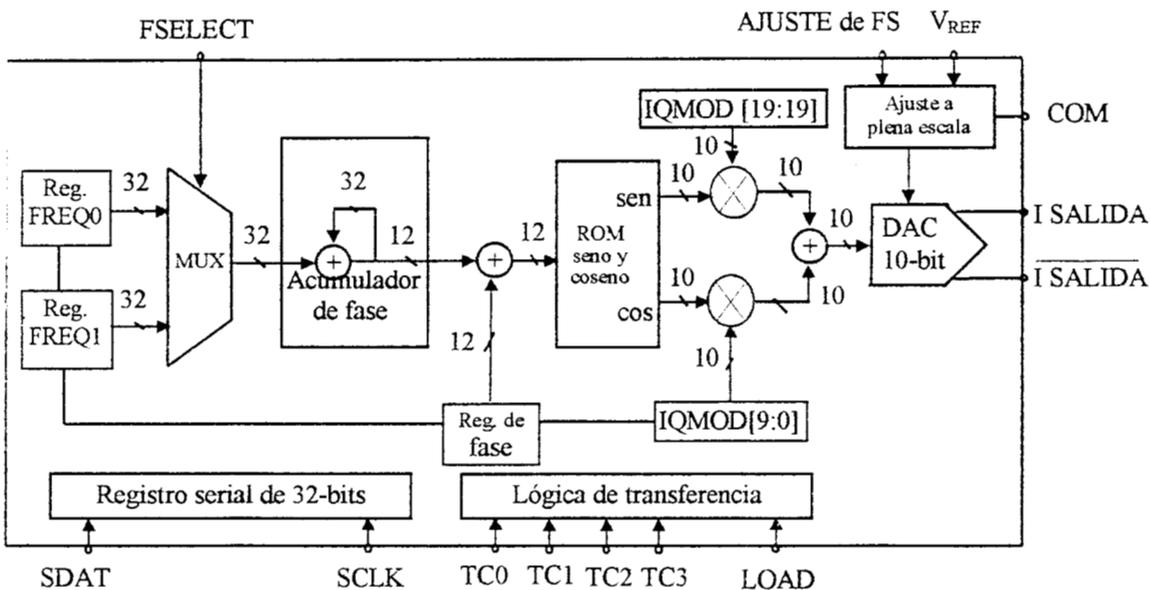


Figura 3.9. El AD7008 de Analog Devices, un modulador directo de síntesis digital (DDS), representado por un diagrama de bloques funcionales (sin mostrar las entradas de datos en paralelo). Este componente es un oscilador controlado numéricamente empleando un acumulador de fase, tablas ROM de seno y coseno, y un convertidor D/A. Puede ser usado para síntesis de frecuencia, modulación en amplitud, frecuencia y fase (en fase y cuadratura), y demodulación digital. Es programable mediante un microprocesador a través de una interfase serie o paralelo.

El acumulador de fase genera la frecuencia de la señal de salida usando los datos de entrada provenientes del registro FREQ seleccionado. El valor del registro FREQ y el valor del acumulador de fase se suman y el resultado se almacena de nuevo en el acumulador de fase, todo en sincronía con el reloj principal. El dato digital en el acumulador representa un número entre 0 y $2^{32} - 1$. Este valor está asociado con el ángulo de la función senoidal que se lee de la tabla ROM y además con la fase de la señal de salida. Los doce bits más significativos del acumulador de fase representan la dirección local para la lectura de muestras de la tabla ROM (un 0 representa la dirección 0 de la ROM que contiene una muestra de una onda senoidal con ángulo de fase de cero (2π) radianes, un 1 representa la dirección 1 de la ROM que contiene una

muestra con ángulo de fase de $2\pi/2^{12}$ radianes, 2^{11} corresponde a una señal con ángulo de fase de π radianes, etc.). El número almacenado en el acumulador se incrementa constantemente en forma sincrónica con el reloj principal, con el consiguiente incremento constante en el ángulo de fase de las muestras de la senoide leída y de la señal de onda senoidal de salida. Cuando el número en el acumulador rebasa su máximo valor ($2^{32} - 1$), continúa contando desde cero. De forma análoga, el ángulo pasa de 2π a 0 radianes y, al ser equivalentes los dos ángulos, no hay interrupción en la señal de salida.

La frecuencia de la señal de salida está determinada por un registro **FREQ** y puede calcularse usando la ecuación siguiente:

$$f_{OUT} = f_{code} / 2^{32} * f_{CLOCK}$$

donde f_{code} es un número entre 0 y $2^{32}-1$ almacenado en el registro **FREQ** denominado *código de frecuencia* y f_{CLOCK} es la frecuencia del reloj principal.

Otra característica del AD7008 es que se puede desfazar adicionalmente la señal de salida a través del registro **PHASE**.

Para nuestros objetivos, el AD7008 debe ser capaz de generar una onda senoidal pura a una frecuencia arbitraria. En la figura 3.8 se presenta el diagrama simplificado a bloques del AD7008, junto con sus conexiones entrada/salida. La computadora determina la frecuencia de salida escribiendo un *código de frecuencia* dado al registro **FREQ0** y mandando una señal de sincronía al AD7008 y al módulo de adquisición de datos. Para simplificar el procedimiento, estas dos funciones se realizan en dos pasos, utilizando el hardware digital especializado que forma parte del módulo de comunicación. En la primera etapa se escribe el código de frecuencia en el registro serial de 32 bits del AD7008 (el cual se discute más adelante). En la segunda etapa, el sistema realiza lo siguiente:

- Selecciona el registro **FREQ1** (cuyo valor es cero) al activar **FSELECT**.
- Prepara el acumulador de fase (salida cero) mediante una señal de **RESET**.
- Copia el valor del registro serial de 32 bits al registro al escribir el *nibble* 1100 en **TC[3:0]** y manda una señal de **LOAD**.
- Empieza a generar la señal de onda senoidal de salida con fase de 0 radianes desde el momento en que el registro **FREQ0** se selecciona al desactivar **FSELECT**.

Todas las señales de entrada se encuentran sincronizadas con el reloj principal.

Ejemplo de programación de la frecuencia de la corriente de salida

Si la frecuencia de la corriente de salida deseada es $f_{señal} = 1$ KHz, y el reloj principal del sistema se encuentra a $f_{reloj_principal} = 10$ MHz, entonces el código de frecuencia puede ser calculado así:

$$f_{code} = \text{int}(2^{32} * f_{señal} / f_{reloj_principal} + 0.5) = \text{int}(2^{32} * 1 \text{ KHz} / 10 \text{ MHz} + 0.5) = 429497$$

Debido al redondeo en el código de frecuencia (**int**), el valor de salida no es exactamente 1 KHz. La salida de frecuencia real se calcula así:

$$f_{señal} = f_{reloj_principal} * f_{code} / 2^{32} = 10 \text{ MHz} * 429497 / 2^{32} = 1000.0006 \text{ Hz.}$$

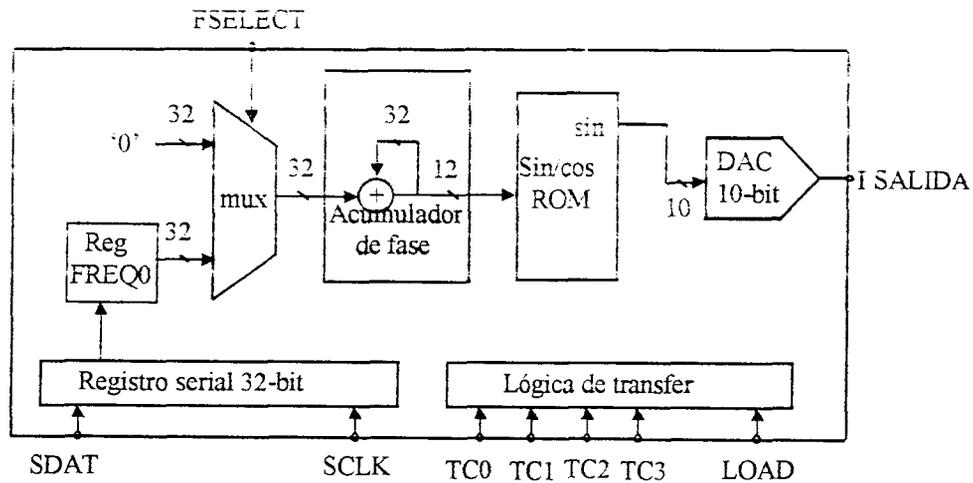


Figura 3.10. Diagrama de bloques funcionales del AD7008 como un generador de señal senoidal de frecuencia programable. Los datos que determinan la frecuencia de la señal se mandan a través de la interfase serial al registro *FREQ0*. El acumulador de fase genera direcciones que se usan para leer las tablas seno y coseno almacenadas en ROM. Las muestras se mandan al convertidor D/A, el cual genera a partir de ellas una señal analógica.

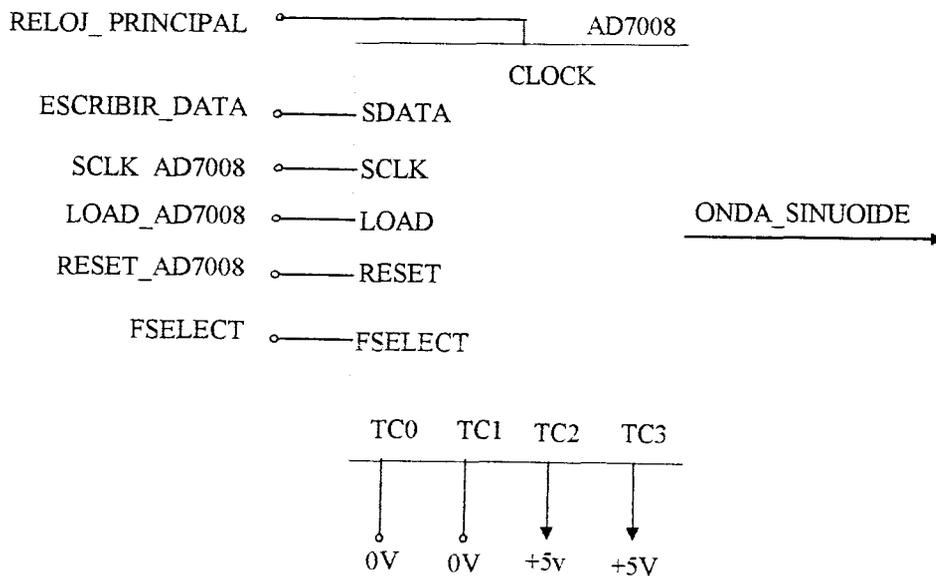


Figura 3.11. El AD7008. Diagrama de conexiones externas.

Entradas del módulo

Las señales de entrada vienen de la PC a través del módulo de comunicación. La computadora puede darle el código de frecuencia al generador de onda de la siguiente forma: primero manda la dirección 1 al módulo de comunicación y después manda los 32 bits del código de frecuencia.

La fuente de corriente genera una corriente de salida proporcional al voltaje de entrada (o lo que es lo mismo, al voltaje de salida del generador de onda senoidal). Puede generar corriente alterna con una frecuencia máxima de 1 MHz. El diagrama simplificado de la fuente se muestra en la figura 3.9 y se basa en un amplificador operacional TL084 de Analog Devices. Este operacional tiene una impedancia de entrada alta. En operación de lazo abierto, la corriente que pasa a través de la entrada inversora es $-(V_{+IN} - V_{-IN}/R_{IN})$. Esta corriente es la misma en el lazo de salida (debido a las propiedades de los amplificadores operacionales). Esta propiedad permite usar el amplificador operacional como un fuente de corriente con una salida proporcional al voltaje de entrada, constante a una frecuencia arbitraria, para un rango de impedancia de carga determinado por el voltaje generado en la carga (alrededor de $\pm 10V$) y el voltaje de alimentación del amplificador ($\pm 15V$). La corriente de salida máxima es aproximadamente de 15 mA.

El problema que presenta el TL084 es la presencia de componentes de DC en la corriente de salida y la pobre respuesta en frecuencia en comparación con el rango de frecuencias en que se desea una operación lineal.

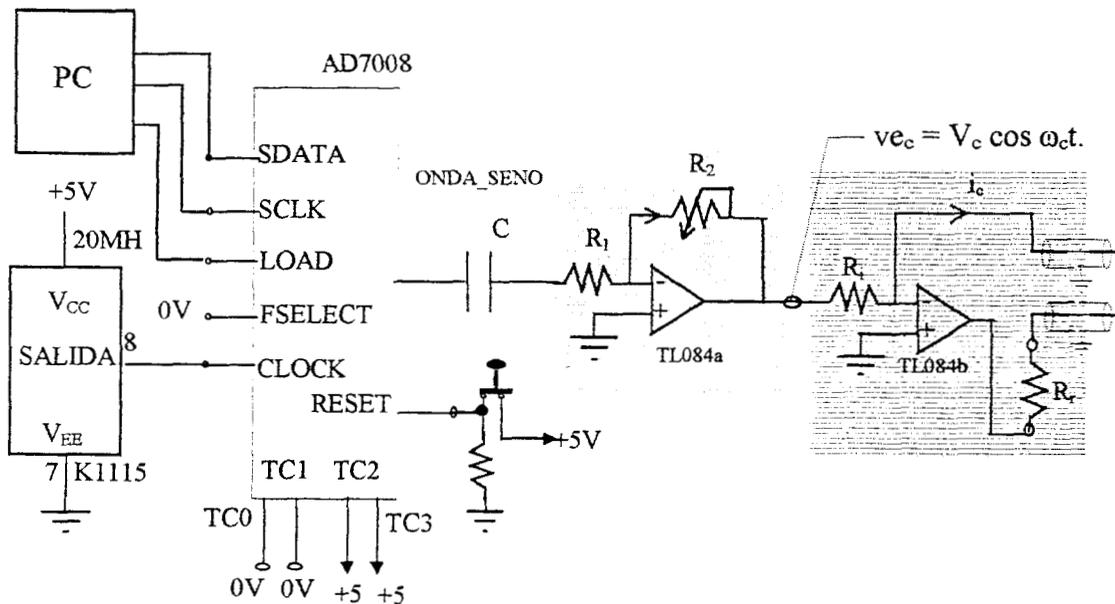


Figura 3.12. Esquema de la fuente de corriente. Se muestra aquí el control de corriente, de frecuencia y de amplitud. El AD7008 controla la frecuencia, y el amplificador operacional TL084a controla la amplitud mediante R_2/R_1 . El TL084b lleva la señal al tejido a través de cables blindados.

El TL084 se escogió debido a su estabilidad en el rango de frecuencias de operación del instrumento, su corriente constante y reproducible, y su amplio ancho de banda (el cual nos permite trabajar a altas frecuencias con mínima pérdida de amplitud). Estos resultados nos permiten caracterizar el espectro y su funcionamiento

utilizando componentes pasivos (R / C), y pueden aplicarse al tejido biológico cuando no es necesario tomar en cuenta el valor de la corriente. Por otro lado, debido al diseño del sistema los cambios en el valor de la corriente a diferentes frecuencias no afectan el cálculo de los componentes de la impedancia (parte real e imaginaria).

La amplitud de la corriente de salida está determinada por el voltaje V_{IN} , el cual es el voltaje de salida del operacional amplificador controlado por un potenciómetro, y la impedancia de entrada R_{IN} .

$$I_{\text{salida}} = V_{IN} / R_{IN}$$

En nuestro circuito, V_{IN} es alrededor de 4.7 V, R_{IN} es de 470 Ω , y la corriente de salida es 10 mA. El sistema desarrollado puede manejar cargas hasta 940 Ω , con una corriente de alrededor de 10 mA. Se pueden manejar cargas más grandes reduciendo la corriente máxima de salida de la fuente de corriente, debido a las propiedades de respuesta en frecuencia del sistema y la fuente de corriente, y el voltaje máximo que puede presentarse a la salida del amplificador operacional usado en este sistema.

El módulo de medición de corriente determina la corriente inyectada al tejido (ver figura 3.8). Esta corriente pasa a través de una resistencia $R = 47 \Omega$ y produce un voltaje que se amplifica mediante un amplificador de instrumentación. El voltaje obtenido se mide mediante el módulo de modulación y adquisición de datos (el cual se describe mas adelante).

Los cables blindados se utilizan para conectar al módulo de fuente de corriente con el sistema de electrodos, protegiendo la señal de corriente de salida del cualquier ruido que pudiera ser inducido en el cable. Debido a que el voltaje entre el blindaje y el cable es aproximadamente cero (el blindaje se alimenta con el mismo voltaje que el cable), la capacitancia parásita es aproximadamente cero.

3.3.2. Descripción del módulo de mezcladores

Los mezcladores se componen de un modulador y un filtro pasa banda. Cada mezclador modula uno de los voltajes generados al pasar la misma corriente que atraviesa en serie la impedancia del tejido (v_c) y la impedancia de referencia (v_r). La modulación se realiza mediante un tercer voltaje a una frecuencia (moduladora) tal que la diferencia de ésta con las frecuencias de los dos voltajes anteriores es constante sobre todo el espectro. Los voltajes de carga y de referencia tienen la misma frecuencia, la de la corriente que atraviesa las impedancias, y pueden tener diferentes fases dependiendo del tipo de impedancia: compleja (con fase) y resistiva (sin fase), en comparación con la señal del corriente. Al modular se producen dos bandas a dos frecuencias diferentes, correspondientes a la suma y la diferencia de la frecuencia moduladora y las señales. Estas pasan por un filtro pasabanda muy estrecho cuya frecuencia central corresponde a la frecuencia de diferencia. Las señales producidas poseen la misma frecuencia y sus amplitudes son proporcionales a la impedancia de carga y de referencia respectivamente, mientras que la diferencia de fase es proporcional a aquella de la carga (figura 3.13).

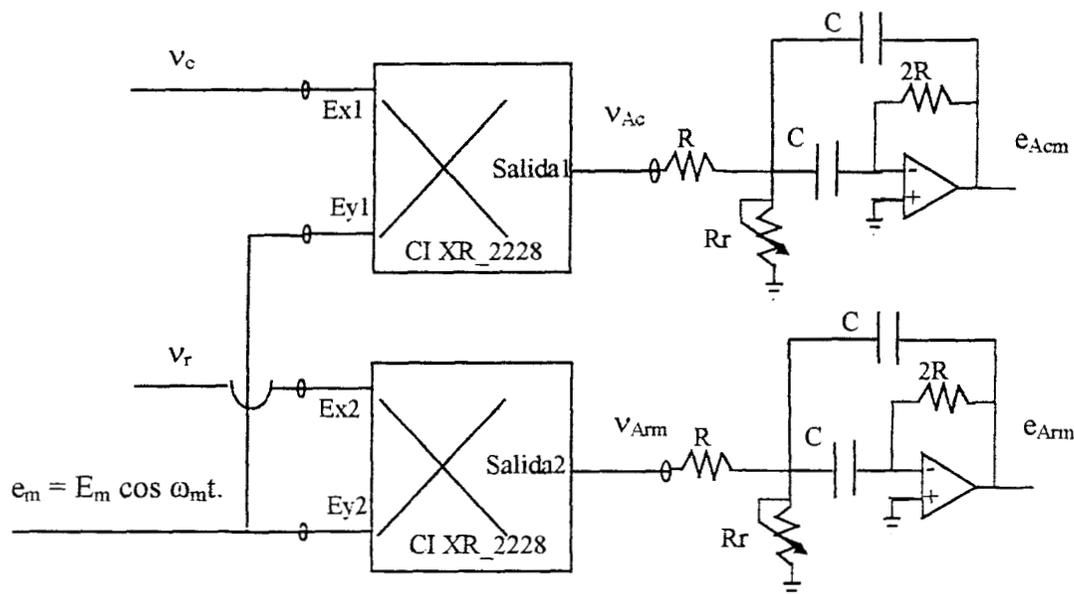


Figura 3.13. Los mezcladores y sus componentes (moduladores y filtros pasabanda). Ambos son idénticos.

Los multiplicadores

Se cuenta con dos multiplicadores y cada uno recibe dos señales. La primera señal es un voltaje a una frecuencia moduladora. La segunda señal es diferente para cada modulador. Uno recibe una señal de voltaje proporcional a la impedancia de carga, la cual puede ser real o compleja, y el otro recibe una señal proporcional a la impedancia de referencia, puramente resistiva y constante.

Por otro lado, el diseño físico de ambos moduladores es idéntico. Se basa en un multiplicador de cuatro cuadrantes. Detector de alta ganancia XR-2228 de Exar mostrado en la figura 3.14. Sus entradas y salidas son diferenciales y cada entrada tiene una respuesta dinámica de 3 MHz y un ancho de banda de transconductancia de

100 MHz. Internamente se compone de un multiplicador y un amplificador no interconectados. El amplificador operacional posee una alta ganancia y un amplio rango de modo común.

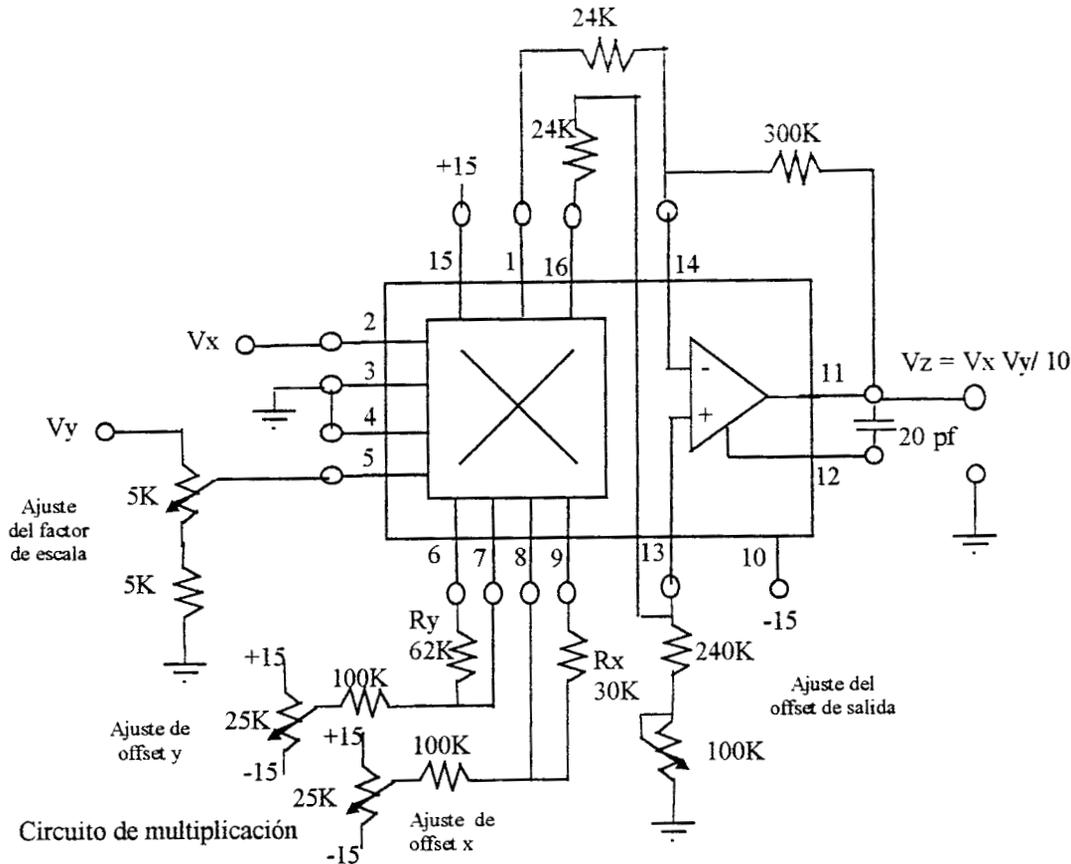


Figura 3.14. Diagrama detallado del circuito de modulación empleando el multiplicador XR_2228 de Exar, mostrando todas sus conexiones.

Las aplicaciones de este circuito incluyen: detección de fase, detección síncrona de amplitud modulada, modulación de AM, conversión de forma de onda triangular a senoidal, desplazamiento de frecuencia, y diseños con PLL.

Las entradas del circuito, terminales 2, 3, 4 y 5, proporcionan entradas diferenciales para las entradas X y Y del multiplicador, respectivamente. La salida corresponde al producto lineal de las dos señales, Vx y Vy, aplicadas a los pares de entrada 2-3 y 4-5, con un bias de corriente típico de 3 µA para cada una. Para aplicaciones que requieren entradas no diferenciales, los pines 3 y 4 pueden interconectarse con un punto de polarización común.

Las salidas, las terminales 1 y 16, son también diferenciales y presentan un voltaje Vo proporcional al producto de Vx y Vy aplicado a las entradas. Matemáticamente se puede escribir:

$$V_o = (25 / R_x * R_y) * (V_x V_y)$$

en donde todos los voltajes se dan en volts y las resistencias en $k\Omega$. R_X y R_Y son las resistencias para la ganancia para las secciones X y Y del multiplicador.

Para la mayoría de las aplicaciones de multiplicación, las secciones de multiplicación y amplificación se interconectan como se muestra en la figura 3.14 para proveer salidas analógicas con un amplio rango dinámico. El circuito de la figura 3.15 proporciona una oscilación de 10 V para señales de entrada de 10 V máximo, con un factor de escala $K=0.1$. El procedimiento de ajuste para el circuito se realiza como sigue:

1. Se aplican 0 V a ambas entradas y se ajusta el offset de salida a 0 V usando el control de offset de salida.
2. Se aplican 20 Vpp a 50 Hz a la entrada X y 0 V a la entrada Y. Se usa el potenciómetro de ajuste de offset Y para el mínimo valor pico a pico de salida.
3. Se aplican 20 Vpp a 50 Hz a la entrada Y y 0 V a la entrada X. Se usa el potenciómetro de ajuste de offset X para el mínimo valor pico a pico de salida.
4. Se repite el primer paso.
5. Se aplican 10 V a ambas entradas y se ajusta el factor de escala para obtener $V_o = 10$ V. Este paso puede repetirse a diferentes amplitudes de voltaje de entrada para una mayor precisión sobre el rango entero de voltajes de entrada o sobre cualquier porción específica del rango.

Los **filtros pasabanda** se encuentran colocados a la salida de los moduladores, tienen la misma frecuencia central (igual a la frecuencia de diferencia entre las dos frecuencias de entrada a los moduladores) y su factor de calidad es elevado (entre mas angosto es el filtro, mejor elimina el ruido y solamente permite el paso a las señales útiles).

La construcción de estos filtros de banda angosta es semejante y se muestra en la figura 3.15. Se emplea un solo amplificador operacional con una resistencia de retroalimentación $2R$ de modo que ésta sea el doble de la resistencia de entrada R , para que la ganancia máxima del filtro sea 1 en la frecuencia central f_r . Ajustando R_r es posible cambiar o realizar un ajuste fino de la frecuencia sin modificar el ancho de banda o la ganancia del filtro.[32]

El funcionamiento del filtro de banda angosta con ganancia unitaria de la figura anterior esta determinado por unas cuantas ecuaciones simples. El ancho de banda B en *hertz* está dado por la resistencia R y los dos capacitores (iguales) C de la siguiente forma:

$$B = 0.1591 / RC$$

donde

$$B = f_r / Q$$

y Q es el *factor de calidad* del filtro. La ganancia tiene un máximo unitario en la frecuencia f_r , siempre y cuando la resistencia de retroalimentación tenga un valor del doble de la impedancia de entrada.

La frecuencia central f_r queda determinada por la resistencia R_r de acuerdo con :

$$R_r = R / (2Q^2 - 1)$$

y cuando se conocen los valores de los componentes del circuito, la frecuencia de resonancia puede calcularse mediante

$$f_r = (0.1125 / RC) (1 + R / R_r)^{0.5}$$

Utilizando este modelo en la práctica para nuestro objetivo se determinaron los valores siguientes $f_r = 100$ Hz, $R = 330$ k Ω y $C = 0.1$ μ F.

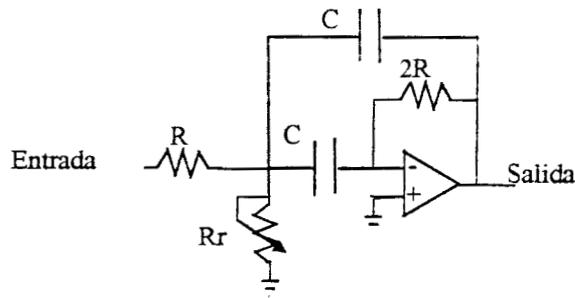


Figura 3.15. Diagrama de los filtros pasabanda usados.

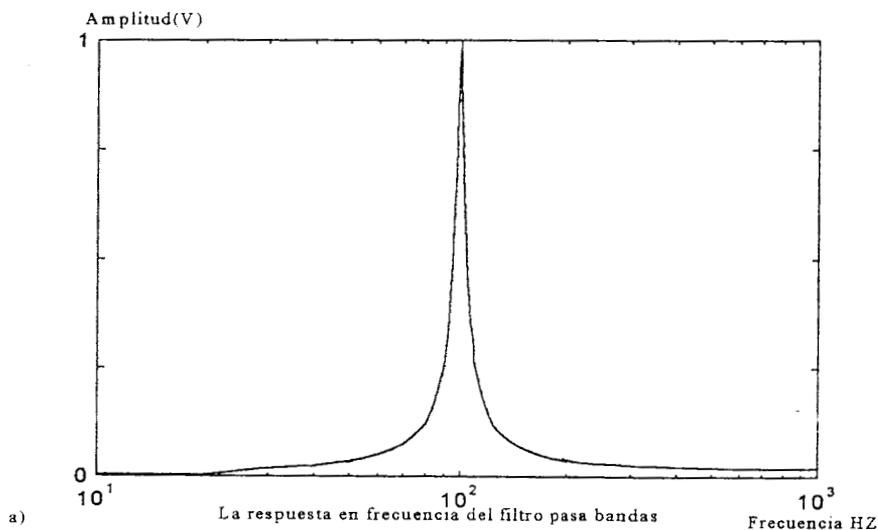


Figura 3.16. Respuesta en frecuencia de los filtros pasabanda usados, con una frecuencia central de 100 Hz y un ancho de banda muy angosto.

3.3.3. Descripción del módulo de adquisición de datos

Este módulo se encuentra a la salida de los filtros pasa banda para preparar los datos en un rango dinámico adecuado para su adquisición y posterior envío y almacenamiento en la computadora. Consiste en un amplificador operacional para cada canal y una tarjeta de adquisición. Para elevar los niveles de voltaje de salida correspondientes a la carga y la referencia hasta el nivel dinámico máximo se programa la tarjeta de adquisición a +/- 5V.

Los amplificadores empleados se muestran en la figura 3.17 y son también TL084 debido a sus propiedades, aunque en esta sección del sistema se puede usar cualquier amplificador de respuesta en baja frecuencia gracias a los mezcladores que han cambiado las señales de entradas a una sola frecuencia baja de 100 Hz en esta aplicación.

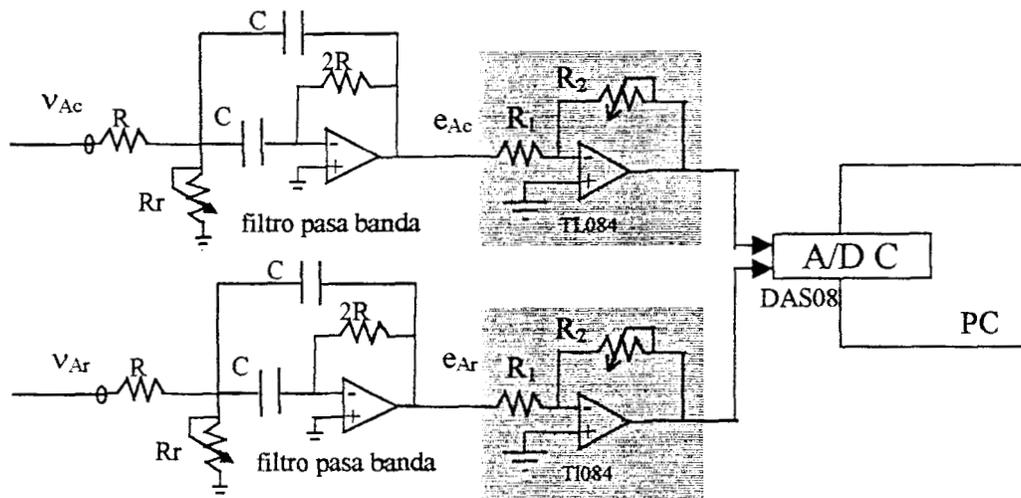


Figura 3.17. El módulo de amplificadores operacionales de salida como acoplamiento entre el instrumento y la tarjeta de adquisición de la PC. La salidas se controlan mediante un potenciómetro R_2 en cada amplificador.

El sistema de comunicación permite que la PC controle la operación del espectrómetro a través de la tarjeta de adquisición y realiza las siguientes funciones:

- Fija la frecuencia de la señal de corriente de salida programando al generador de funciones.
- Fija la frecuencia de la señal moduladora programando al generador de funciones.
- Lee la señal producida por la carga del tejido.
- Lee la señal de referencia con impedancia puramente resistiva y constante.

Las primeras dos funciones requieren conexiones de la computadora hacia el espectrómetro, y las otras dos, conexiones en sentido opuesto. Para ello el sistema se divide en dos partes: subsistema de escritura y subsistema de lectura, respectivamente.

Las principales funciones de comunicación entre la computadora y el espectrometro se realizan por medio de una tarjeta de adquisición DAS08 de *Computer Boards Inc.* Esta tarjeta también realiza la función de conversión analógica-digital (ADC) y mediante ella se generan las señales digitales necesarias para programar los generadores de funciones AD7008 bajo el control de la PC. Todas las tareas de software se realizan mediante funciones de la librería incluida con esta tarjeta.

El módulo de conversión y adquisición de datos

Para la conversión de los datos analógicos (en este caso la señal del tejido y la referencia capítulo 3.2.5) a señales digitales para su posterior almacenamiento y procesamiento en la computadora se utiliza una tarjeta de adquisición modelo DAS08 de *ComputerBoards Inc.*, instalada en una computadora PC Pentium a 133 MHz. Específicamente los objetivos que con esto se pretende cumplir con los siguientes:

- Convertir los datos analógicos a datos digitales a una frecuencia de muestreo determinada por un programa en *Borland C*, empleando las funciones de la librería incluida con la tarjeta, utilizando dos canales de entradas analógica (ch. 0 - 1)
- Utilizar la misma tarjeta para programar los generadores de funciones AD7008, usando sus cuatro salidas digitales

La DAS08 se instaló en un slot ISA standard de 16 bits y se declaró como la tarjeta número 0 en el software de instalación. Esta tarjeta posee dos puertos: digital y auxiliar. El puerto auxiliar tiene cuatro salidas digitales (pines 7 a 10) y ocho entradas analógicas (pines 30 a 37). La frecuencia de muestreo de estas entradas es de 10 kHz, repartida entre el número de señales a adquirir. En nuestro caso se usan dos canales, así que se obtienen 5 kHz para cada canal.

La frecuencia de nuestras señales es de $f_0 = 100$ Hz por lo que $T_0 = 0.1$ ms. Al muestrear a $f = 5000$ Hz, $T = .02$ ms, cada período de nuestras señales T_0 incluye entonces ($N = T_0 / T = 50$) muestras para cada período completo. Claro que entre mayor sea la frecuencia de muestreo mejor resolución existirá para el cálculo de la diferencia de fase, y óptimamente tendríamos 360 muestras para cada período con una resolución de 1 grado, pero en ese caso se requeriría una frecuencia de muestreo de 72 kHz.

Para el muestreo se utiliza la función de la librería denominada *cbAInScan* que para convierte un número dado de muestras (*Count = 1000* muestras) a una frecuencia de muestreo (*Rate = 10000* muestras por segundo). Los resultados se guardan en un arreglo y se almacenan en un archivo cuyo nombre corresponde a la carga y la frecuencia de la corriente inyectada.

El canal 0 es el primer canal A/D de la función *scan* anterior (*LowChan=0*), utilizado para la señal del tejido, y el canal 1 es el último (*HighChan=1*), utilizado la señal de referencia de corriente.

3.3.4. Resumen del modelo electrónico del espectrómetro y las ecuaciones matemáticas de la diferentes etapas

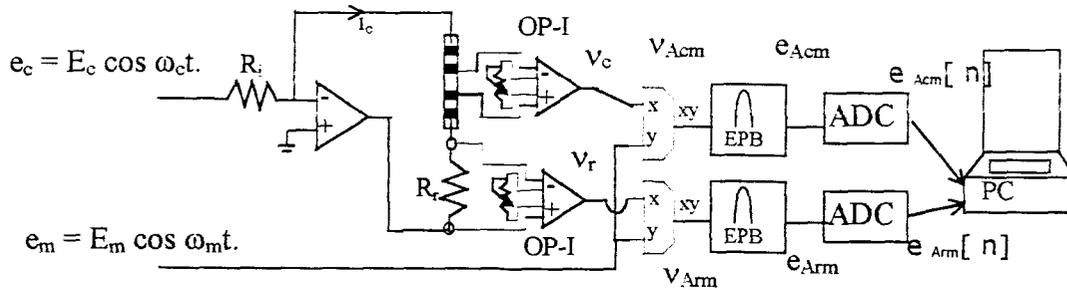


Figura 3.18. Diagrama de flujo del espectrómetro de impedancia y resumen de las ecuaciones que la describen matemáticamente.

OP_T: Amplificador de instrumentación. modulado.

FPB: Filtro pasa-banda.

ADC: Convertidor analógico-digital

R_r: Impedancia de referencia.

Sonda: Sonda de cuatro electrodos.

v_Acm: Voltaje amplificado de carga

v_Acm: Voltaje amplificado de referencia modulado

e_Acm: Voltaje amplificado de carga modulado y filtrado por el FPB.

e_Arm: Voltaje amplificado de referencia modulado y filtrado por el FPB.

Desarrollo matemático:

$$e_c = E_c \cos \omega_c t.$$

señal que controla la corriente

$$e_m = E_m \cos \omega_m t.$$

señal demoduladora

$$Z_c = Z_{cr} + i Z_{cim}.$$

impedancia del tejido y sus componentes real e imaginaria

$$Z_c = Z_c \angle \theta$$

impedancia del tejido y sus componentes de amplitud y fase

$$Z_c = (Z_{cr}^2 + Z_{cim}^2)^{1/2}$$

$$i_c = e_c / R_i = E_c / R_i \cos \omega_c t$$

corriente en el sistema

$$i_c = I_c \cos \omega_c t$$

$$v_c = A_c (I_c Z_c \angle \theta) = V_c \cos (\omega_c t + \theta)$$

voltaje generado en el tejido amplificado

$$v_r = A_r (I_c Z_r \angle \theta) = V_r \cos (\omega_c t)$$

voltaje generado en la referencia amplificado

$$V_{Acm} = v_c e_m = V_c E_m [\cos (\omega_c t + \theta) \cos \omega_m t]$$

salida del primer multiplicador

$$V_{Acm} = V_{ACm} \{ \frac{1}{2} [\cos (\omega_c + \omega_m)t + \theta) + \cos ((\omega_c - \omega_m)t + \theta)] \}$$

$$V_{Arm} = V_r e_m$$

$$V_{Arm} = V_r E_m \cos \omega_c t \cos \omega_m t$$

salida del segundo multiplicador

$$V_{Arm} = V_{ACm} \left\{ \frac{1}{2} [\cos(\omega_c + \omega_m)t + \cos(\omega_c - \omega_m)t] \right\}$$

$$\omega_{IF} = \omega_c - \omega_m$$

frecuencia del filtro pasa-banda

$$e_{Acm} = E_{ACm} \cos((\omega_c - \omega_m)t + \theta)$$

$$e_{Acm} = E_{ACm} \cos(\omega_{IF} t + \theta)$$

señal de información del tejido

$$e_{Arm} = E_{Arm} \cos(\omega_c - \omega_m)t = E_{Arm} \cos(\omega_{IF} t)$$

señal de información de la referencia

$$e_{Acm}[n] = E_{ACm} \cos(\omega_{IF} nT + \theta[n])$$

señal de información del tejido discreta

$$e_{Arm}[n] = E_{Arm} \cos(\omega_{IF} nT)$$

señal de información de referencia discreta

$$\text{con } \omega = \omega_{IF} T,$$

$$e_{Acm}[n + N] = E_{ACm} \cos(\omega n + \omega N + \theta[n])$$

$$e_{Arm}[n + N] = E_{Arm} \cos(\omega n + \omega N)$$

y como $\omega N = 2\pi$, entonces

$$e_{Acm}[n] = E_{ACm} \cos(\omega n + \theta[n])$$

$$e_{Arm}[n] = E_{Arm} \cos(\omega n)$$

$$T_o = NT$$

relación entre el período análogo y el período de muestreo

$$\omega N = 2\pi$$

$$\theta[n] = kT$$

fase como un atraso de k muestras

$$\theta = (k/N) * 2\pi \text{ radianes.}$$

fase en radianes

$$ZC = E_{ACm} / E_{Arm} Zr$$

amplitud de impedancia del tejido calculada a partir de los valores pico E_{ACm} y E_{Arm} .

3.3.5. Descripción del módulo de comunicaciones

El sistema de comunicación es permite comunicar al espectrómetro de impedancia con sus terminales, en este caso el paciente, la fuente de poder y la tarjeta de adquisición, esta última localizada en la computadora. Esta módulo consiste de lo siguiente:

- Cable de Alimentación para +15V, -15V, +5V y tierra.
- Sonda de cuatro electrodos y sus cuatro cables blindados.
- Interfaz entre el espectrómetro de impedancia y la tarjeta de adquisición analógica digital y digital analógica. El cable es blindado y de nueve hilos: SData 1, SData 2, Load, SClock, (conecta las salidas digitales de la tarjeta DAS08 a las entradas de los generadores de funciones AD7008 para programar las frecuencias), entrada de señal de información del tejido, entrada de información de la impedancia de referencia y tierra. Un hilo no se utiliza.

3.3.6. Calibración del sistema

En este capítulo se describe la calibración experimental del espectrómetro de impedancia desarrollado en esta tesis. Se describen a continuación la calibración del *hardware* y la calibración por medio de *software* del sistema. La calibración de *hardware* se realiza para que los componentes trabajen en sus rangos dinámicos óptimos y cumplan los criterios de uso en el sistema. La calibración por *software* se realiza para referir las salidas del sistema a sus valores teóricos y corregir los errores inherentes al *hardware*. A continuación se describen con más detalle.

3.3.6.1. Calibración del *hardware* del espectrómetro de impedancia.

En este capítulo se describe la calibración experimental del espectrómetro de impedancia desarrollado en esta tesis. A continuación se describen los diferentes puntos esenciales a calibrar:

- La fuente de corriente
- Las ganancias de los amplificadores de instrumentación
- Los multiplicadores
- La frecuencia de corte de los filtros pasabanda
- La ganancia de los amplificadores operacionales de salida para los dos canales, de señal del tejido y de referencia.

Equipo utilizado:

- Osciloscopio
- Generador de funciones
- Tablilla de experimentación (*protoboard*)
- Multímetro
- Espectrómetro de impedancia
- Computadora personal con tarjeta de adquisición (A/D).

Material empleado:

- resistencias de: 1, 5.6, 10, 22, 33, 47 y 56 Ω .
- capacitores de: 10 pF, 0.01 μ F, 0.1 μ F.....

3.3.6.2. Calibración la corriente de la fuente de corriente.

La calibración de la fuente se realiza para obtener un valor pico a pico de corriente de 10mA constante para diferentes frecuencias. Esta calibración se lleva a cabo utilizando el potenciómetro conectado al amplificador operacional que mantiene el voltaje de salida como una porción del voltaje de entrada v_{ec} proveniente del generador de funciones AD7008. En la figura 3.19. puede apreciarse claramente que el valor de este voltaje y el de la impedancia de entrada de la fuente de corriente R_i son los que determinan el valor de corriente de salida i_c . Se realizó el espectro de la corriente sobre el rango de frecuencias de interés.

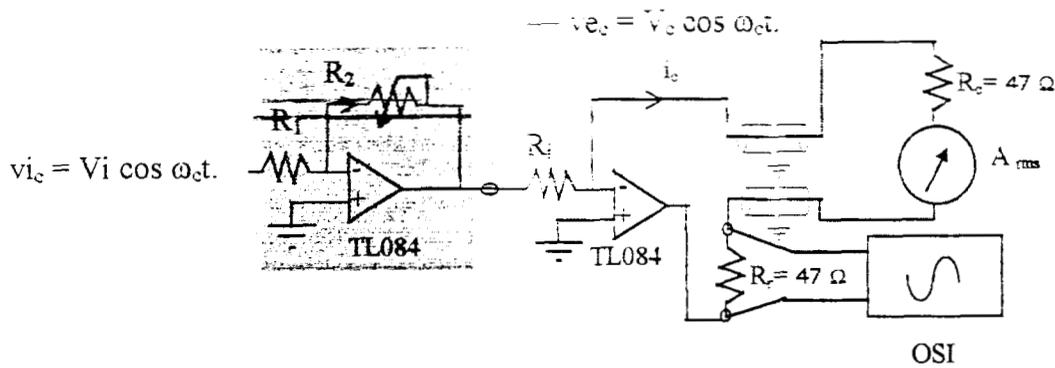


Figura 3.19. Diagrama de la fuente de corriente y su circuito de control. En ambos circuitos se utiliza el amplificador operacional TL084. En el primero se emplea como amplificador y control del voltaje de entrada dado por $v_i = v_i \cdot R_2/R_1$, el cual controla el voltaje de salida el v_{e_c} a través del potenciómetro R_2 , que a su vez controla la corriente de salida de la fuente de corriente i_c , en donde se usa el segundo amplificador. La relación está dada como $i_c = v_{e_c} / R_3$.

3.3.6.3. Calibración de ganancia para los amplificadores de instrumentación

Ambos amplificadores de instrumentaciones AMP02 se calibraron para la misma ganancia usando el circuito mostrado en la figura 3.20., en donde se simula la carga del tejido mediante una impedancia resistiva de 47Ω y la impedancia de referencia en el otro canal mediante otra impedancia del mismo valor. La calibración consistió en lograr que los voltajes de salida de los dos amplificadores tuvieran la misma magnitud de 5V pico a pico con corriente de entrada máxima mediante el ajuste de los potenciómetros de ganancia de cada amplificador.

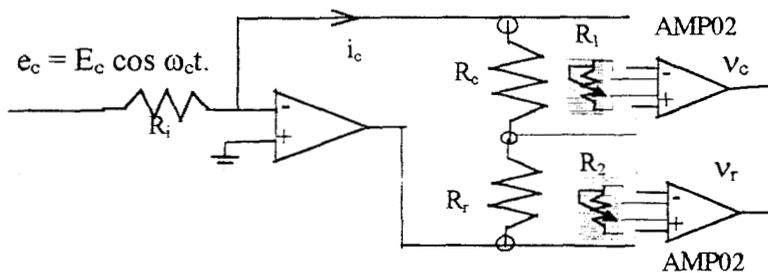


Figura 3.20. Control de ganancia de los amplificadores de instrumentación AMP02 que amplifican el voltaje de carga del tejido R_c y de la carga de referencia R_r . Para su control se emplean los potenciómetros R_1 y R_2 que determinan los voltajes de salida v_c y v_r , calculados como $v_c = i_c R_c (50 \text{ k}\Omega / R_1 + 1)$ y $v_r = i_c R_r (50 \text{ k}\Omega / R_2 + 1)$.

3.3.6.4. Calibración Los multiplicadores

El procedimiento de ajuste para el circuito se realiza como sigue:

4. Se aplican 0 V a ambas entradas y se ajusta el offset de salida a 0 V usando el control de offset de salida R_4 .
5. Se aplican 20 Vpp a 50 Hz a la entrada X y 0 V a la entrada Y. Se usa el potenciómetro R_2 de ajuste de offset Y para el mínimo valor pico a pico de salida.
6. Se aplican 20 Vpp a 50 Hz a la entrada Y y 0 V a la entrada X. Se usa el potenciómetro R_3 de ajuste de offset X para el mínimo valor pico a pico de salida.

7. Se repite el primer paso.
8. Se aplican 10 V a ambas entradas y se ajusta el factor de escala R_1 para obtener $V_o=10$ V. Este paso puede repetirse a diferentes amplitudes de voltaje de entrada para una mayor precisión sobre el rango entero de voltajes de entrada o sobre cualquier porción específica del rango. el circuito de configuración es mostrada en la figura 3.21.

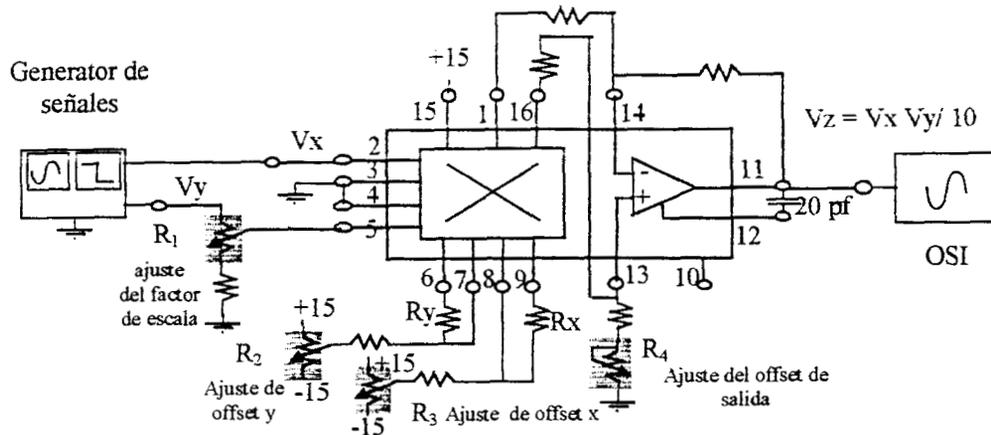


Figura 3.21. Diagrama detallado del circuito de calibración del multiplicador XR_2228 de Exar, mostrando todas sus conexiones.

3.3.6.5. Calibración de los filtros pasabanda

Esta calibración se realizó para establecer la frecuencia de corte de los filtros a 100 Hz. Para ello se fijó un generador de funciones sinusoidal a esta frecuencia y se ajustó el potenciómetro R_r hasta que el valor de voltaje de salida del filtro sea máximo pico a pico. Para ello es mejor emplear el valor rms del voltímetro digital pues permite una mayor precisión en la comparación. La misma técnica se empleó utilizando el módulo de generador de funciones del sistema en lugar de un generador de funciones comercial de forma en que produjera señales precisas de 100 Hz para esta calibración. Como en la figura 3.22.

Para comprobar la calibración y el funcionamiento de los generadores AD7008 se colocó una carga resistiva en el sistema simulando la carga del tejido y se generaron dos señales, una corriente de carga y otra demoduladora, con una diferencia de frecuencias de 100 Hz entre ellas, como sucedería en el caso de un funcionamiento correcto del sistema, y se revisaron los voltajes de salidas de los filtros que con esa diferencia de frecuencias tendrían que ser máximos, y menores a diferencias mayores o menores (99 o 101 Hz, por ejemplo). La salida fué la esperada. Esta comprobación se repitió para todas las frecuencias del espectro, siempre manteniendo entre estas dos señales la diferencias deseada.

para obtener la respuesta en frecuencia real de los filtros, Se utiliza un generador de funciones AD7008 para generar la señales de entrada a frecuencias con diferencias incrementales pequeñas y precisas de 1 Hz.

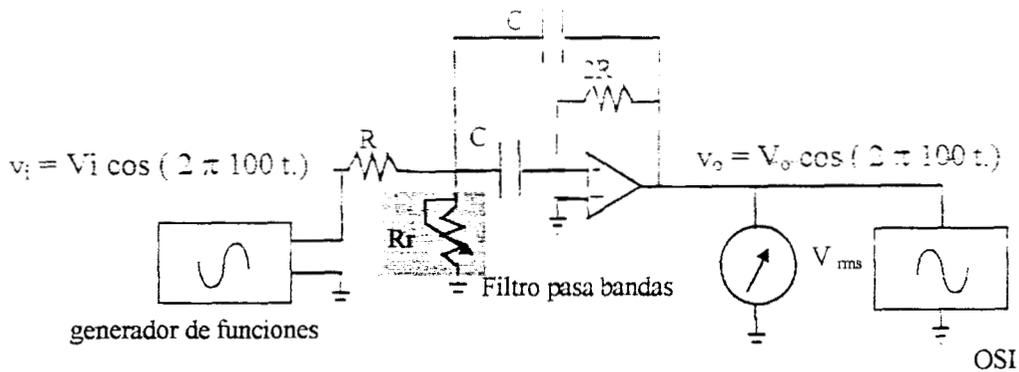


Figura 3.22. Filtros pasa banda. Se ajusta la frecuencia de corte usando el potenciómetro R_r . El criterio de calibración empleado es que cuando el voltaje V_o es máximo, la frecuencia central es la frecuencia de la señal de entrada. Los filtros en esta configuración de circuito tienen ganancia unitaria [37], por lo que $V_o=V_i$. En esta configuración los valores de R y C determinan el ancho de banda de los filtros y el potenciómetro R_r determina la frecuencia central.

3.3.6.6. Calibración de ganancia de los amplificadores operacionales de salida de ambos canales (señal del tejido y referencia)

Los amplificadores operacionales constituyen la última etapa del instrumento, como puede apreciarse en la figura 3.20, y se encargan de entregar los señales a la PC a través de la tarjeta de adquisición DAS08 en un rango dinámico de salida de -5V a 5V.

El criterio usado para su calibración radica en suponer que el valor de carga máxima proporcionada al sistema sea de 50Ω y que corresponda a la mitad del rango dinámico (-2.5 V a 2.5 V). Esto permite una mayor flexibilidad del sistema en el caso de que existan cargas mayores en aplicaciones con animales. Cuando el tejido animal haya sido caracterizado, y en experimentos mas allá de los objetivos de esta tesis, se podrá ajustar el rango dinámico del instrumento al máximo real de impedancia encontrado en el tejido.

En esta etapa la calibración se realiza por medio de un potenciómetro R_2 conectado a cada amplificador operacional como se muestra en la figura 3.23.

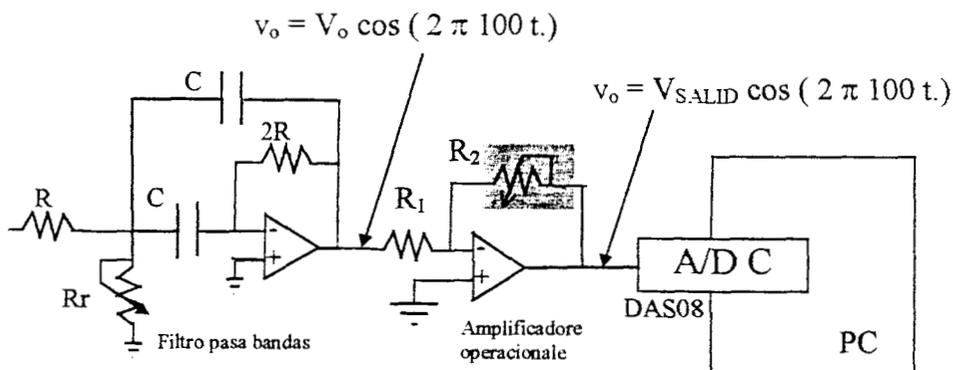


Figura 3.23. Funcionamiento del módulo de amplificadores de salida como acoplamiento entre el instrumento y la tarjeta de adquisición de la PC. La salida se controla mediante un potenciómetro R_2 , y está dada por $V_{SALIDA} = V_o R_2 / R_1$, donde V_{SALIDA} se encuentra en el rango de -5 V a 5 V, equivalente al rango dinámico de entrada del convertidor analógico/digital de la tarjeta de adquisición DAS08.

3.3.5.7. Calibración por medio de *software*

Para poder calibrar por medio de software es necesario obtener curvas de calibración de amplitud y fase para cada frecuencia del espectro, caracterizándolas con cargas resistivas una vez que el sistema ha sido calibrado en hardware, obteniendo espectros reales para cargas en el rango amplitud (de 0 a 56Ω) y de frecuencias de interés (100 Hz a 300KHz). Por otro lado, se determinan las funciones de transferencia teórica para cada una de las cargas y se comparan con los obtenidos experimentalmente.

Cálculo las curvas de calibración

Para el cálculo de las curvas de calibración de amplitud y fase, se tomaron los valores teóricos correspondientes a las referencia y se calcularon por medio de interpoladores polinómicos de orden apropiado curvas de calibración para cada frecuencia que permiten que el resultado obtenido para cada impedancia sea igual o lo más cercano posible al ideal para ambas variables (amplitud y fase).

Una vez obtenidos los valores de amplitud y fase del espectrómetro de impedancia a una frecuencia determinada, se calibraron por medio de una de estas curvas, los cuales se almacenaron en una tabla en forma de coeficientes polinomiales.

3.3.7. Diseño del *software* del espectrómetro de impedancia.

El *software* del espectrómetro de impedancia se encarga del control y administra las tareas y datos del instrumento. Para ello se han utilizado dos lenguajes de programación, *Turbo C* y *Matlab*. Específicamente, esta paquetería se encarga de las siguientes tareas:

- Programa los generadores de funciones basados en el AD7008 para generar señales a frecuencias determinadas, manejando las compuertas de salida digitales de la tarjeta DAS08 empleada para adquisición de datos en el sistema.
- Convierte las señales analógicas de salida correspondientes al tejido y la referencia a señales digitales.
- Genera archivos de datos que contienen las señales que corresponden a cada frecuencia del espectro.
- Almacena estos archivos en el disco duro de la computadora. Todas estas tareas se realizan en Turbo C.
- Calcula las amplitudes y fases para cada archivo correspondientes a cada frecuencia del espectro mediante Matlab. Estas se almacenan en un nuevo archivo con nombre semejante a sus archivos fuente.
- Maneja la interfaz con el usuario.
- Calcula la calibración del sistema en amplitud y fase y la almacena en archivos correspondientes a cada medición.

3.3.7.1. Medición de impedancias

La medición de impedancias se realiza en forma simple y continua para cada espectro. El usuario inicia la adquisición del espectro en el tiempo tecleando los primeros cuatro caracteres que corresponden al nombre, y automáticamente y en forma continua el sistema inicializa las frecuencias y programa al espectrómetro para cada una de estas frecuencias, adquiriendo las señales de salida correspondientes y guardándolas en archivos con nombres que contienen los primeros caracteres introducidos por el usuario y otros cuatro caracteres que se refieren a la frecuencia escogida.

Algunos parámetros del sistema que pueden ser escogidos por el usuario son:

- Las frecuencias de medición de corriente empleadas para el espectro y que son inyectadas al tejido.
- La frecuencia de muestreo de la tarjeta de adquisición Analógica-Digital.
- El número de muestras para cada señal a cada frecuencia de medición.
- Los primeros cuatro caracteres para designar los archivos que contienen las señales para un mismo espectro a todas las frecuencias.

Estos parámetros se seleccionan dependiendo de las características de la impedancia que se quiere medir y los objetivos del usuario.

Para el control del espectrómetro de impedancia se emplea el algoritmo presentado a continuación, el cual realiza un barrido de frecuencias:

1. TurboC - Seleccionar la frecuencia de medición por medio de una tabla de frecuencias determinadas por el usuario. La PC programa entonces la

frecuencia de corriente de medición y otra frecuencia de demodulación a una diferencia de 100 Hz.

2. TurboC - Muestrear las dos señales de voltaje (para impedancia del tejido y señal de referencia) en forma síncrona. Se obtienen 1000 muestras para las dos señales.
3. TurboC - Guardar los datos obtenidos en un solo archivo con nombre escogido por el usuario.
4. TurboC - Regresar a 1 hasta haber barrido todas las frecuencias especificadas.
5. Matlab - Leer todos los datos previamente almacenados correspondientes a un solo espectro en forma automática y calcular la impedancia compleja para cada frecuencia. Todas las impedancias así calculadas se almacenan en un nuevo archivo con el nombre correspondiente.

3.3.7.2. Cálculo de la impedancia compleja

En nuestro prototipo la impedancia compleja se desglosa en componentes de amplitud y fase, las cuales posteriormente se transforman en parte reales e imaginaria, según las necesidades del procesamiento.

3.3.7.2.1. Cálculo de amplitud

La amplitud se calcula mediante los valores máximos y mínimos de las señales de voltaje del tejido y de referencia. Para cada señal del espectro se separan las señales del tejido y la referencia y posteriormente se determinan los máximos y mínimos que se encuentran en un período de muestreo, seleccionando los que más se repiten. Se promedian entonces los máximos y mínimos por separado para calcular el valor pico a pico de cada señal. Las señales así calculadas se multiplican por el valor de la impedancia de referencia para obtener señales de impedancia.

3.3.7.2.2. Cálculo de fase por medio de la correlación

Se calcula la diferencia de fase entre la señal del tejido y la de referencia. Se aplica la *correlación cruzada* utilizando como entradas ambas señales y el índice de correlación máximo determina el desfaseamiento entre ellas, asumiendo que el período de ambas señales es el mismo. La diferencia entre el índice de correlación central y el máximo corresponde a un valor de fase K entre las dos señales. Si el período es N , entonces la diferencia de fase en radianes está dada por $(K / N) * 2\pi$ y en grados por $(K / N) * 360$. El desarrollo matemático se describió en detalle en el capítulo 3.2.5.

3.3.8. Descripción del módulo de electrodos

El módulo de electrodos se considera un módulo aparte del espectrómetro de impedancia puesto que debe poderse introducir en el área en la que se encuentra el tejido medido. Su función principal es entregar la corriente de salida a la muestra bajo estudio y detectar el voltaje que a su vez se genera. El módulo se compone de cuatro electrodos con forma de anillo (figura 3.24). Dos de ellos inyectan la corriente de salida al tejido. Se encuentran conectados directamente a la salida de corriente del espectro a través cables blindados (figura 3.3). El otro par de electrodos entrega el potencial obtenido a partir del tejido al espectrómetro a través de los cables blindados para su amplificación y procesamiento. Hay que recalcar que en este proyecto se emplea un sistema de cuatro electrodos de anillo, mientras que otros investigadores han utilizado otros electrodos, dependiendo de la aplicación.

Para el presente proyecto se realizaron sondas prototipo con cuatro electrodos de anillo de plata con las siguientes propiedades: los anillos fueron hechos de alambres de plata anillados manualmente alrededor de un tubo plástico de uso clínico tipo TYGON, soldados a las conexiones del sistema. Se hicieron sondas con diferentes tamaños y distancias.

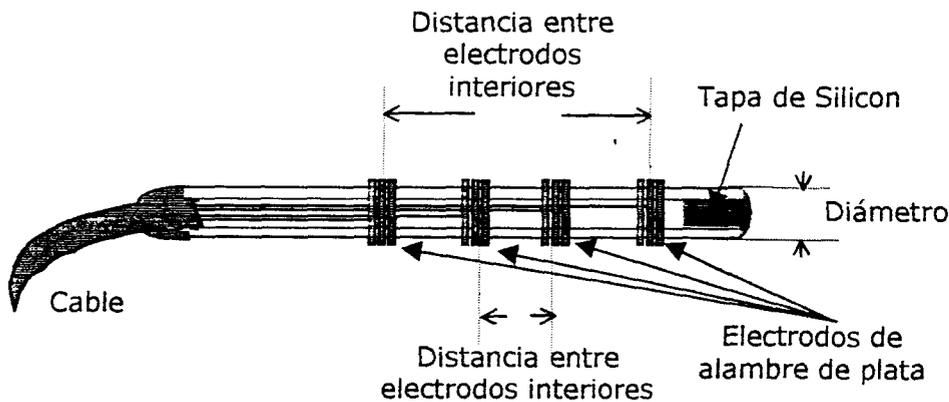


Figura 3.24. Diagrama que muestra la construcción de una primera generación de sonda de cuatro electrodos diseñada para el uso en animales (conejos) del espectrómetro de impedancia mostrando sus diferentes características.

La primera generación de sondas presentó la dificultad de que era difícil armar dos sondas con las mismas características por lo que se propuso un nuevo diseño usando electrodos de plata en lugar de alambres de plata (figura 3.25). Este tipo de sonda se denominó de segunda generación. Este tipo de sonda se encuentra en proceso de evaluación y no se presentan resultados en esta tesis.

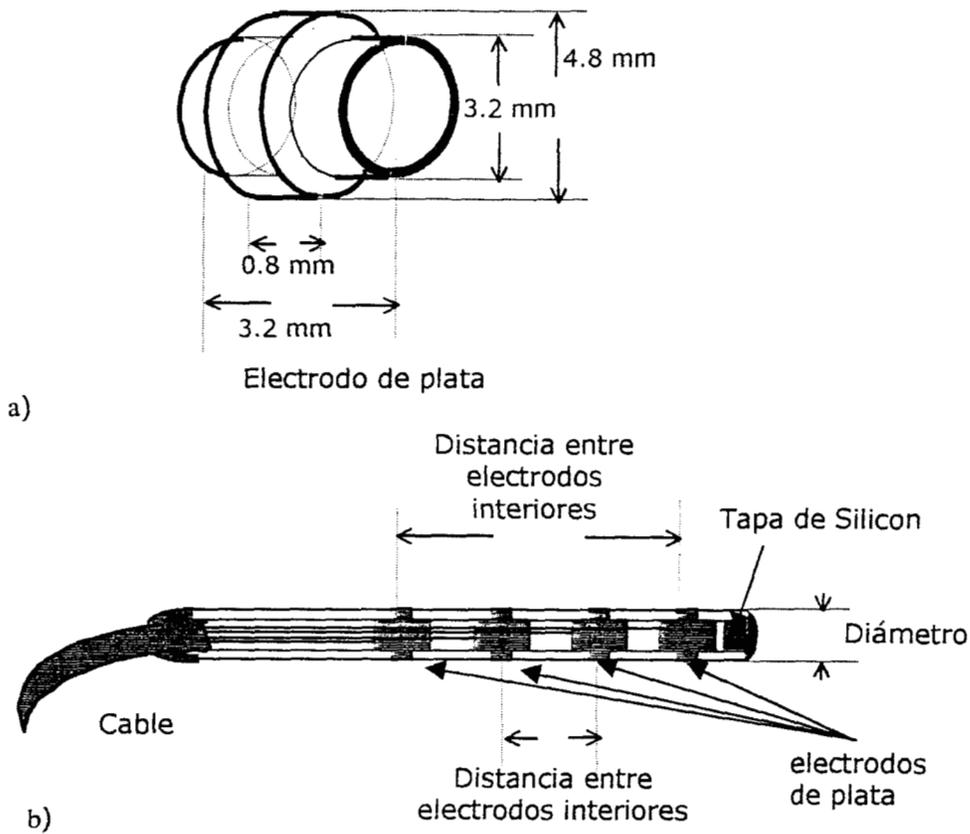


Figura 3.25. Diagrama que muestra la segunda generación de sondas. a) Diseño del electrodo y b) Sonda

Es necesario indicar que se depositó una capa de cloruro de plata (AgCl) sobre los electrodos de algunas de las sondas en cada caso. Se espera que los diferentes resultados debido a las diferentes propiedades de las sondas permitan determinar el mejor diseño para éstas. La deposición fue realizada sumergiendo los electrodos de la sonda en ácido clorhídrico (HCl) a una concentración de 1 a 10 y aplicando un voltaje de 3 V. El proceso terminaba cuando la corriente medida llegaba a 0.1 mA, después de aproximadamente 30 segundos [9]. Este proceso de catolizado se repitió para algunas sondas y se muestra en la figura 3.26.

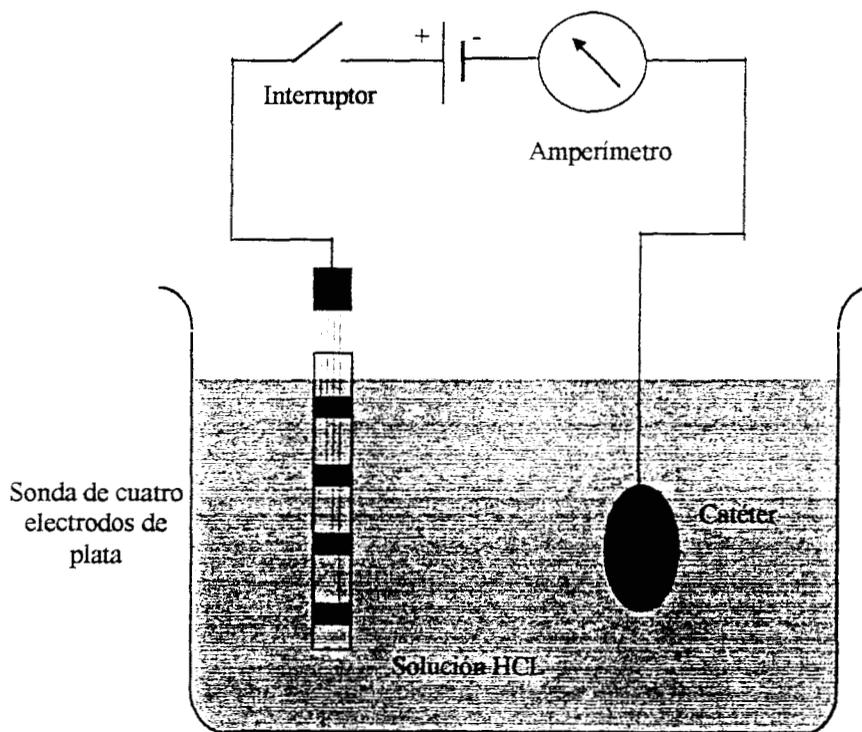


Figura 3.26. Diagrama del sistema usada para depositar una capa de AgCl sobre la superficie de los cuatro electrodos de plata de la sonda intestinal.

Capítulo 4

4. Caracterización del funcionamiento del sistema.

Para el espectrómetro de impedancia se emplean dos etapas de caracterización. Primero se caracteriza el sistema en el laboratorio con cargas pasivas RC, las cuales permiten comparar el comportamiento del sistema en la práctica, a diferencia de la teoría. Después se aplica el sistema en animales y se examinan las resultantes características del comportamiento in vivo, lo que permite encontrar las fallas del sistema ante impedancias de tejido real, examinar el comportamiento de los electrodos y evaluar el daño isquémico mediante espectroscopía de impedancia. Este último punto constituye otra tesis que se desarrolla en paralelo al presente trabajo.

4.1. Caracterización del funcionamiento del sistema en el Laboratorio de Instrumentación Biomédica

Objetivo: Determinar experimentalmente el comportamiento del espectrómetro de impedancia desarrollado a lo largo de esta tesis utilizando diferentes impedancias conocidas para caracterizar la salida. Para ello se determinan los espectros de amplitud y fase para cada impedancia (ya sea resistiva o compleja) y se evalúa la respuesta en frecuencia y se compara con la respuesta calculada de manera teórica, es decir, la función de transferencia correspondiente.

Equipo:

- Osciloscopio
- Generador de funciones
- Tablilla de experimentación (protoboard)
- Multímetro
- Espectrómetro de impedancia
- Computadora personal con tarjeta de adquisición A/D

Material:

- Resistencias de 1, 5.6, 10, 22, 33, 47 y 56 Ω .
- Capacitores de 10 μ F y 0.01, 0.1, 1, y 3.3 μ F.

Para la caracterización es necesario conectar el sistema de forma que la corriente fluya a la carga y la impedancia de referencia sin pérdidas por lo que se requiere conectar los cuatro electrodos de la sonda de forma adecuada como se indica en la figura 4.1.

Cálculo las curvas de calibración

Para obtener curvas de calibración de amplitud y fase para cada frecuencia del espectro (tabla 4.1.) se caracterizan mediante cargas resistivas de valores comerciales (1, 5.6, 10, 22, 33, 47 y 56 Ω), como se muestra en la figura 4.2. Se obtuvieron espectros reales para estas cargas en el rango de frecuencias de interés. Por otro lado, se determinaron las funciones de transferencia teórica para cada una de las cargas y se calculó por medio de interpoladores polinómicos de quinto orden una curva de calibración para cada frecuencia que permiten que el resultado obtenido para cada impedancia sea igual o cercano al ideal. En este caso en particular se realizaron curvas para 26 frecuencias para ambas variables (amplitud y fase).

50	1000	4000	8000	30000	70000	200000
75	1500	5000	10000	40000	80000	300000
100	2000	6000	15000	50000	100000	
500	3000	7000	20000	60000	150000	

Tabla 4.1. Los 26 valores de frecuencia empleados en el espectrómetro de impedancia (en Hz).

Desarrollo:

1. Se obtuvieron experimentalmente los espectros (amplitud y fase) para cada carga de calibración mostrada en la figura 4.2 mediante el espectrómetro de impedancia.
2. Se calcularon las curvas de calibración de amplitud y fase, tomando los valores teóricos correspondientes como referencia y calculando por medio de interpoladores polinómicos de quinto orden una curva de calibración para cada frecuencia. En este caso en particular se realizaron curvas en 26 frecuencias (tabla 4.1) para ambas variables (amplitud y fase).
3. Se obtuvieron experimentalmente los espectros (amplitud y fase) para cada carga mostrados en la figura 4.3 mediante el espectrómetro de impedancia.
4. Una vez obtenidos los valores de amplitud y fase del espectrómetro de impedancia, se calibran por medio de las curvas de calibraciones, las cuales están almacenados en una tabla en forma de coeficientes polinomiales.
5. Se graficaron magnitud y fase de cada espectro obtenido en el intervalo de 0.1 a 300 KHz.
6. Se determinaron las funciones de transferencia para cada circuito.
7. Se graficaron magnitud y fase de la respuesta en frecuencia teórica en el mismo rango de frecuencias de interés y con la misma resolución.
8. Se comparó el comportamiento real y teórico.

Este proceso se realizó en el mismo laboratorio en donde se desarrollo el prototipo del espectrómetro de impedancia, el laboratorio de Instrumentación Biomédica de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa.

Las impedancias utilizadas fueron calculadas de forma que la amplitud máxima de la impedancia estuviera alrededor de 56Ω , y las diferentes frecuencias de corte quedaran dentro del rango frecuencias de interés

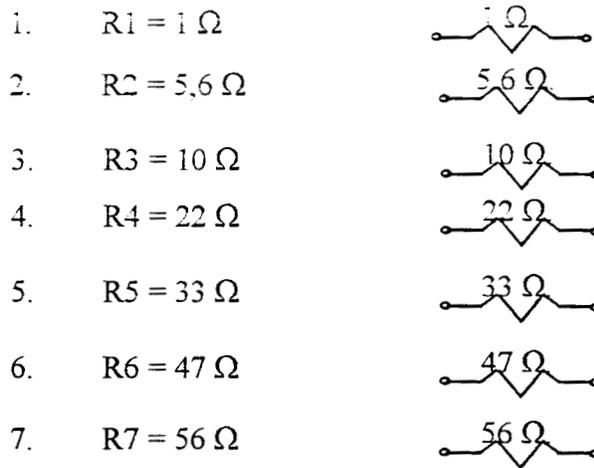


Figura 4.2. Impedancias resistivas empleadas para determinar las curvas de calibración en amplitud y fase.

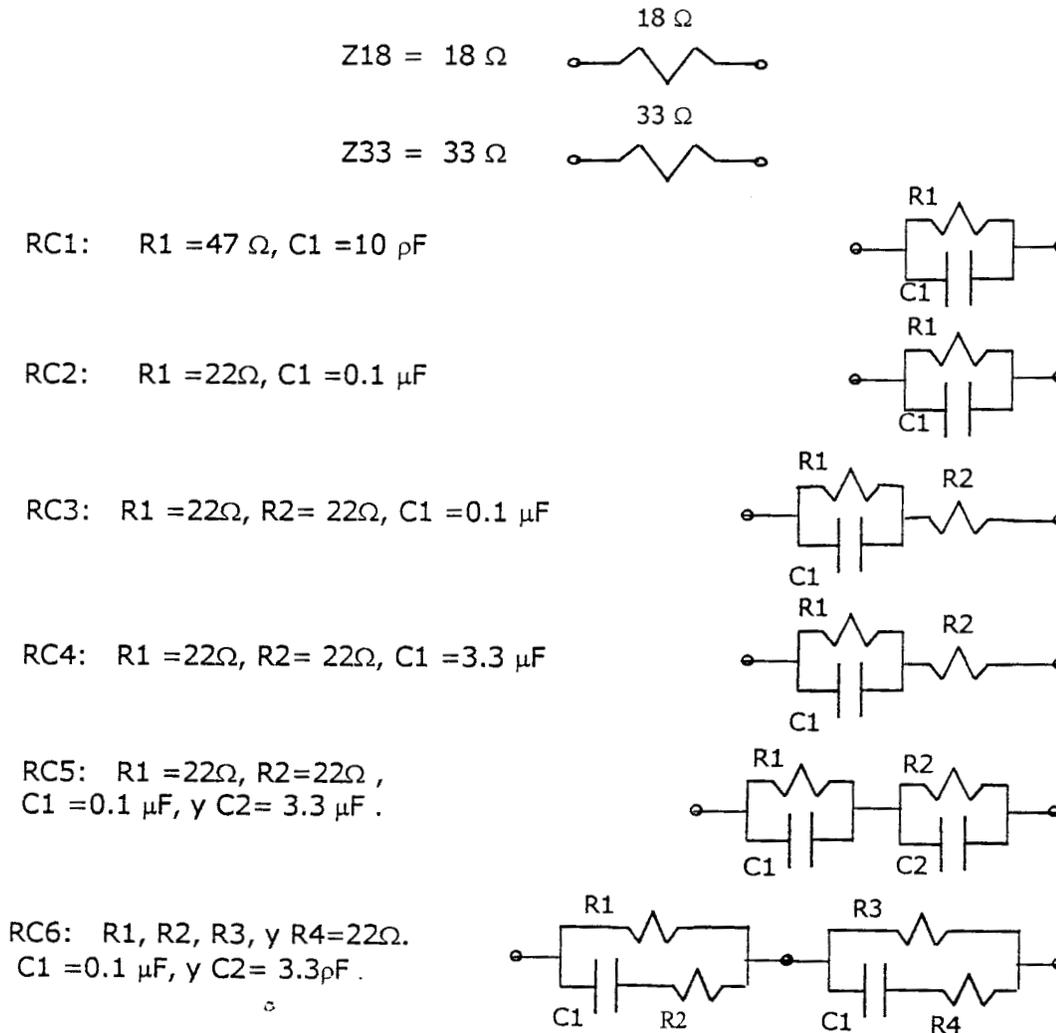


Figura 4.2. Impedancias empleadas para caracterizar el sistema.

4.2. Caracterización del funcionamiento del sistema *in vivo*, en el Laboratorio de Farmacología de la Escuela Médico-Militar

El objetivo en el experimento *in vivo* es causar distintos tipos y niveles de daño isquémico en la mucosa para evaluar cualitativamente el espectrómetro de impedancia, y al mismo tiempo realizar los primeros estudios sobre medición del daño isquémico durante el choque hemorrágico en conejos como parte de una tesis paralela. se realizaron experimentos con el espectrómetro de impedancia junto con otras técnicas de evaluación de daño isquémico como PCO_2 , PO_2 , pH_i , presión arterial y presión venosa.

El experimento se realizó de acuerdo al siguiente protocolo:

Protocolo general de experimentación

1. Registrar el espectro de impedancia de tejido gastrointestinal en el conejo anestesiado.
2. Causar isquemia por hemorragia en la arteria femoral.
3. Causar daño por isquemia y reperfusión a diferentes intervalos de tiempo.
4. Registrar periódicamente el espectro de impedancia del tejido gastrointestinal de manera sincrónica al tiempo de isquemia y el grado de pH.
5. Realizar análisis de gases sanguíneos para asociar el pH_i con el CO_2 y el daño isquémico correspondiente.
6. Correlacionar los espectros de impedancia con el daño isquémico.

Protocolo experimental para evaluación del daño isquémico en el tejido

La aplicación del sistema *in vivo* resulta la más importante para su evaluación clínica. Se obtuvieron y analizaron espectros de impedancia correspondientes a una variedad de modelos que generan diversas condiciones en el tiempo. Se obtuvieron variables para modelar la severidad del daño y la cronología de los eventos, pudiendo así relacionar cada espectro específico con un diagnóstico del estado del tejido.

Grupos de experimentación

Los experimentos se desarrollaron en conejos anestesiados con un peso de entre 2 y 3 Kgs. Se estimó una hora para la intervención e instrumentación así como la estabilización de variables hemodinámicas, por lo cual el registro de espectros se realizó a partir de $t = 0$ min que corresponde a alrededor de 60 min después de la intervención quirúrgica e instrumentación. El registro de espectros y toma de muestras sanguíneas se realizó cada 30 minutos en todos los casos.

Grupo I (Grupo de isquemia). Se causó hemorragia por la arterial femoral a partir del tiempo $t=60$ minutos hasta alcanzar una presión arterial media de 40 mmHg, manteniéndola hasta que el animal entró en descompensación y falleció.

Grupo II (Grupo de isquemia y reperfusión). Se causó hemorragia por arterial femoral a partir del tiempo $t=60$ minutos hasta alcanzar una presión arterial media de 40 mmHg, manteniéndola hasta que el animal entró en descompensación. 15 minutos después se reinfundió el 60% del volumen máximo exsanguinado.

Grupo III (Grupo de isquemia y reperfusión moderada). Se causó hemorragia por arterial femoral a partir del tiempo $t=60$ minutos hasta alcanzar una presión

arterial media de 40 mmHg, manteniéndola hasta que el animal entró en descompensación. 15 minutos después se reinfundió el 10% del volumen máximo exsanguinado.

Grupo IV (Grupo de control). Se realizaron la intervención quirúrgica y la instrumentación únicamente. Se registraron espectros hasta $t=240$ o hasta la muerte.

VARIABLES MONITOREADAS

1. Monitoreo continuo
 - a) Hemodinámicas
 - I. Presión arterial media
 - II. frecuencia cardíaca
 - b) Temperatura
 - I. Rectal
 - c) Tiempo
2. Monitoreo no continuo (cada 30 min)
 - a) Gasometría y análisis sanguíneo
 - I. Arterial: PO_2 , PCO_2 , pH, y $[HCO_3]$
 - II. Tonometría: PO_2 , PCO_2 , y pH_i
 - III. Espectrometría de impedancia

El protocolo se aplicó puntualmente para determinar la repetibilidad del comportamiento del sistema y de la impedancias de los tejidos para diferentes animales.

La caracterización en el laboratorio es simple ya que se cuenta con datos teóricos. Por otro lado, los resultados con animales no lo son puesto que no hay un patrón determinado de comportamiento de espectroscopia de impedancia en animales para el tejido gástrico e intestinal. Esta evaluación depende de la aplicación, tomando en cuenta los efectos que pueden afectar al comportamiento del instrumento según las condiciones del tratamiento, el lugar, y algunas características del instrumento, como por ejemplo, la sonda empleada.

Capitulo 5

5. Resultados

5.1. Resultados de la calibración del hardware

5.1.1. Resultados de calibración de la fuente de corriente.

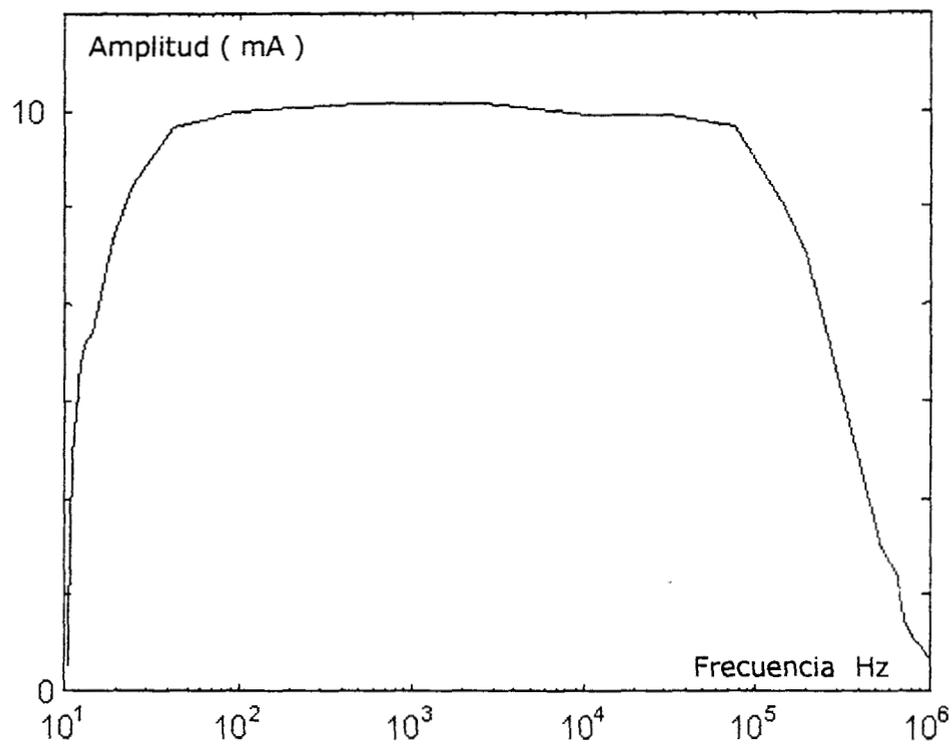


Figura 5.1.1. Espectro de amplitud de la salida de la fuente de corriente contra frecuencia, utilizando una impedancia de carga de $R_c = 47 \Omega$ y una carga de referencia de la misma magnitud $R_r = 47 \Omega$.

5.1.2. Resultados de calibración de los filtros pasa-banda usados en el espectrómetro de impedancia.

a. Para la señal del tejido

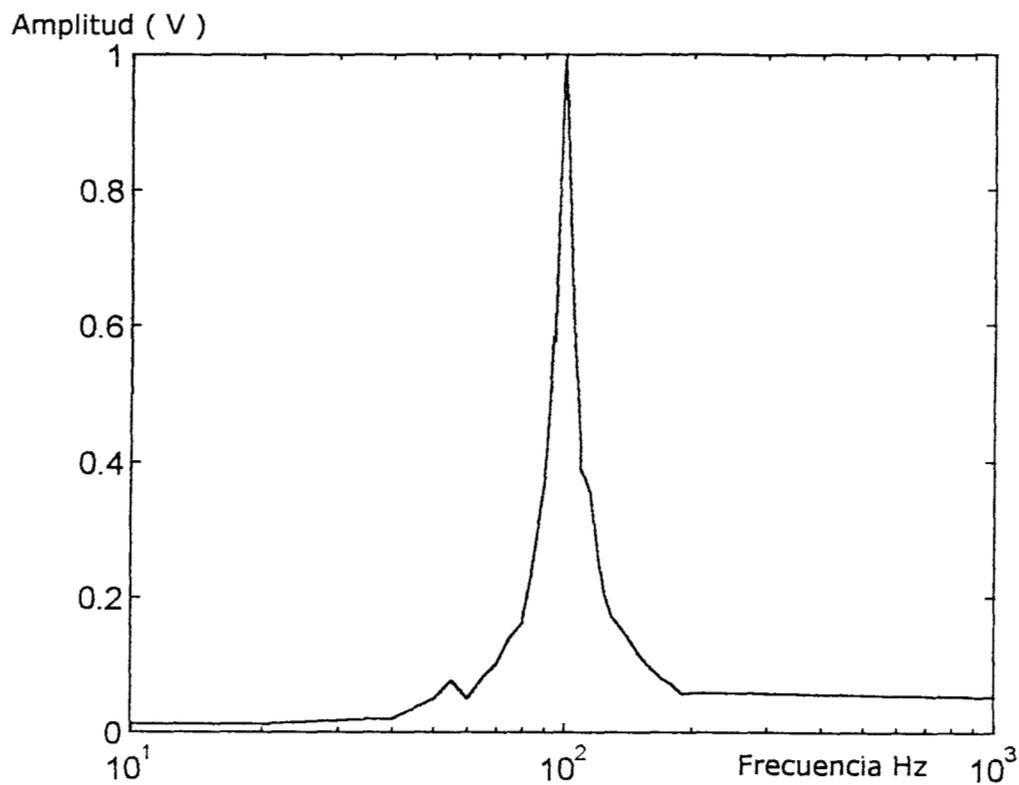


Figura 5.1.2. Respuesta en frecuencia de los filtros pasabanda en canal de señal del tejido, se puede observar que la frecuencia de resonancia es 100 Hz y el ancho de banda es muy angosto, de aproximadamente 15 Hz.

b. Para la señal de referencia

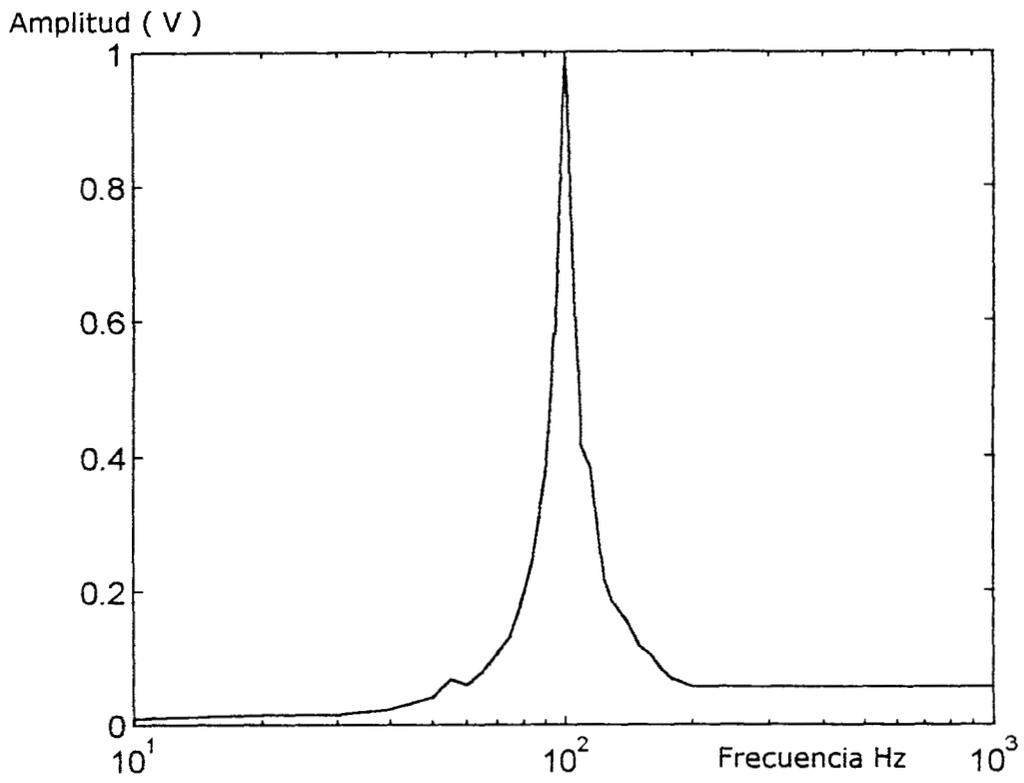


Figura 5.1.3 Respuesta en frecuencia de los filtros pasabanda de canal de señal de referencia, se observa que la frecuencia de resonancia es 100 Hz y un ancho de banda muy angosto de aproximadamente 13 Hz.

5.2. Resultados de calibración del software

1. Coeficientes de los polinomios de las curvas de calibración de amplitud

frecuencias	a	b	c	d	e	f
100	-7.9E-08	1.9327E-05	-0.0016121	0.0549732	0.2811547	2.0155
500	-1.09E-08	2.2333E-06	-0.0001407	0.0049795	0.8605441	0.6215
1000	-1.76E-08	3.7495E-06	-0.0002529	0.0079267	0.8454942	0.5401
1500	-1.79E-08	3.8681E-06	-0.0002702	0.0088887	0.8285588	0.5719
2000	-1.34E-08	2.7361E-06	-0.0001692	0.0051675	0.8780161	0.5048
3000	-1.79E-08	3.8903E-06	-0.0002745	0.0090741	0.8310035	0.548
4000	-1.57E-08	3.3798E-06	-0.0002335	0.0077274	0.8471629	0.6389
5000	-1.59E-08	3.365E-06	-0.0002263	0.0072502	0.8560187	0.5612
6000	-1.98E-08	4.3712E-06	-0.0003137	0.0102465	0.8223672	0.5555
7000	-2.03E-08	4.494E-06	-0.000327	0.0108672	0.8095312	0.7127
8000	-2.31E-08	5.1234E-06	-0.0003726	0.0120427	0.8025845	0.7524
10000	-2.03E-08	4.5011E-06	-0.0003273	0.0107648	0.8167494	0.652
15000	-1.94E-08	4.2504E-06	-0.0003038	0.0100327	0.8196006	0.746
20000	-1.79E-08	3.8548E-06	-0.0002689	0.0088422	0.8310715	0.8718
30000	-1.68E-08	3.6157E-06	-0.0002503	0.0082312	0.8390852	0.7214
40000	-2.01E-08	4.4192E-06	-0.0003183	0.0105202	0.8137708	0.9249
50000	-1.87E-08	4.1198E-06	-0.0002982	0.010128	0.8120663	0.899
60000	-1.79E-08	3.9546E-06	-0.0002867	0.0097247	0.8199146	1.0247
70000	-1.71E-08	3.7551E-06	-0.0002717	0.0094762	0.811505	1.14
80000	-1.97E-08	4.3667E-06	-0.0003184	0.0107595	0.8035992	1.1708
100000	-2.15E-08	4.7625E-06	-0.0003485	0.0116514	0.7899661	1.1136
150000	-1.87E-08	4.2125E-06	-0.0003147	0.0110532	0.7851277	1.2292
200000	-2.33E-08	0.00000533	-0.0004116	0.0146529	0.7200193	1.6259
300000	-2.58E-08	5.9129E-06	-0.000465	0.0169779	0.6629244	2.0633

Tabla 5.1. Coeficientes de los polinomios para cada una de las curvas de calibración de amplitud para cada frecuencia. El formato corresponde al polinomio $ax^5+bx^4+cx^3+dx^2+ex+f$.

2. Coeficientes de los polinomios de las curvas de calibración de fase

frecuencias	a	b	c	d	e	f
100	-1.933E-07	5.1701E-05	-0.0049973	0.2117778	-3.7909	21.2312
500	0	0	0	0	0	0
1000	2.53E-08	-6.6065E-06	0.0006151	-0.0246013	0.4055	-2.1462
1500	0	0	0	0	0	0
2000	0	0	0	0	0	0
3000	5.06E-08	-1.3213E-05	0.0012303	-0.0492026	0.8109	-4.2924
4000	2.53E-08	-6.6065E-06	0.0006151	-0.0246013	0.4055	-2.1462
5000	7.59E-08	-1.982E-05	0.0018454	-0.0738038	1.2164	-6.4386
6000	8.39E-08	-2.1261E-05	0.0019239	-0.0753437	1.2262	-6.4468
7000	1.012E-07	-2.6426E-05	0.0024606	-0.0984051	1.6219	-8.5847
8000	1.012E-07	-2.6426E-05	0.0024606	-0.0984051	1.6219	-8.5847
10000	1.012E-07	-2.6426E-05	0.0024606	-0.0984051	1.6219	-8.5847
15000	1.105E-07	-2.7578E-05	0.0023844	-0.0834375	1.0747	-4.523
20000	1.266E-07	-3.3033E-05	0.0030757	-0.1230064	2.0274	-10.7309
30000	5.57E-08	-1.5427E-05	0.0015512	-0.0697106	1.3955	-10.1508
40000	1.519E-07	-3.9639E-05	0.0036908	-0.1476077	2.4328	-12.8771
50000	8.37E-08	-2.2465E-05	0.0021886	-0.0947375	1.8036	-12.2993
60000	1.85E-07	-4.8891E-05	0.0046492	-0.1931426	3.4255	-20.884
70000	3.064E-07	-7.971E-05	0.0074039	-0.295641	4.8683	-25.7565
80000	2.609E-07	-6.8711E-05	0.0064946	-0.2669465	4.6419	-27.3225
100000	2.46E-07	-6.5181E-05	0.0062449	-0.2637045	4.8263	-31.0393
150000	3.634E-07	-9.4848E-05	0.0088005	-0.3488441	5.7069	-31.8373
200000	3.79E-07	-0.00010014	0.0094869	-0.3907115	6.8812	-43.5587
300000	2.814E-07	-7.7274E-05	0.0077548	-0.3484527	6.9765	-50.7534

Tabla 5.2. Coeficientes de los polinomios para cada una de las curvas de calibración de amplitud para cada frecuencia. El formato corresponde al polinomio $ax^5+bx^4+cx^3+dx^2+ex+f$.

3. Curvas de calibración para la amplitud

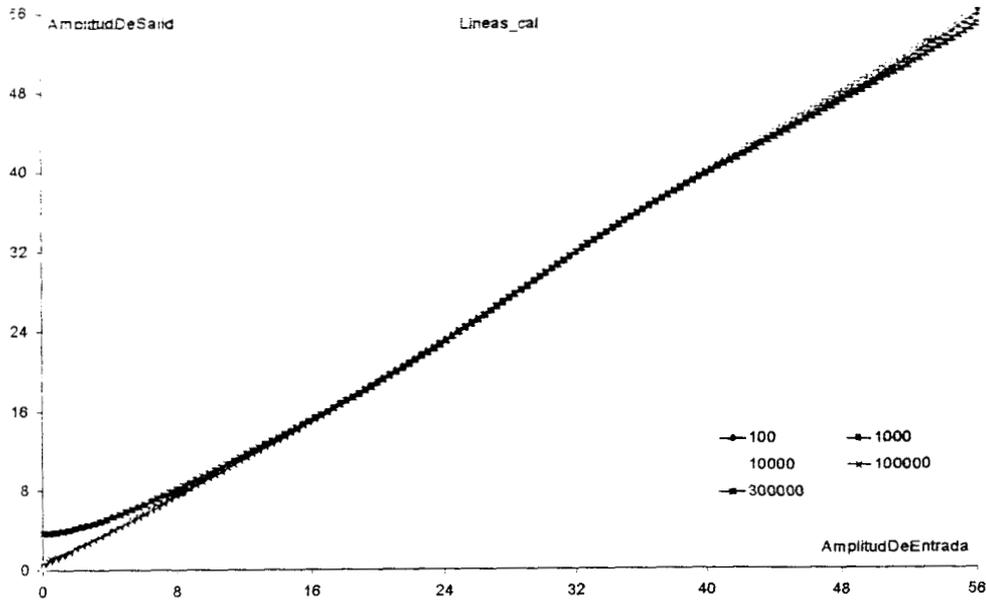


Figura 5.2.1. Cinco curvas de calibración representativas (0.1, 1, 10, 100, y 300 KHz) para la amplitud de las salidas del espectrómetro de impedancia. El eje horizontal muestra la amplitud de entrada y el eje vertical presenta la amplitud de salida correspondiente, calculada por medio de interpoladores polinómicos de quinto orden.

4. Curvas de calibración para la fase

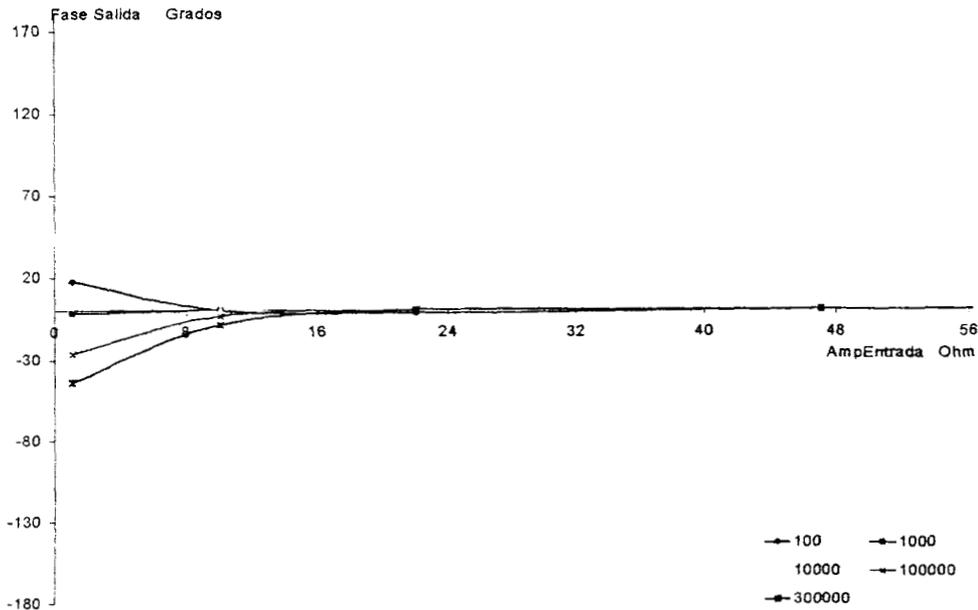


Figura 5.2.2. Cinco curvas de calibración representativas (0.1, 1, 10, 100, y 300 KHz) para la fase de las salidas del espectrómetro de impedancia. El eje horizontal muestra la amplitud de entrada y el eje vertical presenta la fase de salida correspondiente, calculada por medio de interpoladores polinómicos de quinto orden. se nota que con cargas de entradas bajas, el error de medición de fase grande.

5.3. Resultados de los experimentos

Los resultados de los experimentos de caracterización del espectrómetro de impedancia se dividen también en dos partes: 1) resultados obtenidos en el laboratorio sobre cargas pasivas de componentes RC y 2) resultados de experimentos en animales (conejos).

5.3.1. Resultados en el Laboratorio de instrumentación Biomédica (UAM)

Para obtener una caracterización del sistema se utilizaron dos cargas de impedancias puramente resistiva y cinco impedancias complejas (RC). Las cargas difieren en amplitud y frecuencia de corte. Los espectros obtenidos para estas cargas por el espectrómetro de impedancia se muestran en las figuras siguientes divididas en componentes de amplitud y fase, y se comparan con las funciones de transferencia teórica para estas cargas. Para todos los experimentos se muestran los circuitos de configuración utilizados para obtener los espectros correspondientes, indicando los valores de los componentes empleados.

Carga resistiva de 18 Ω.

$$Z_{18} = 18 \Omega$$

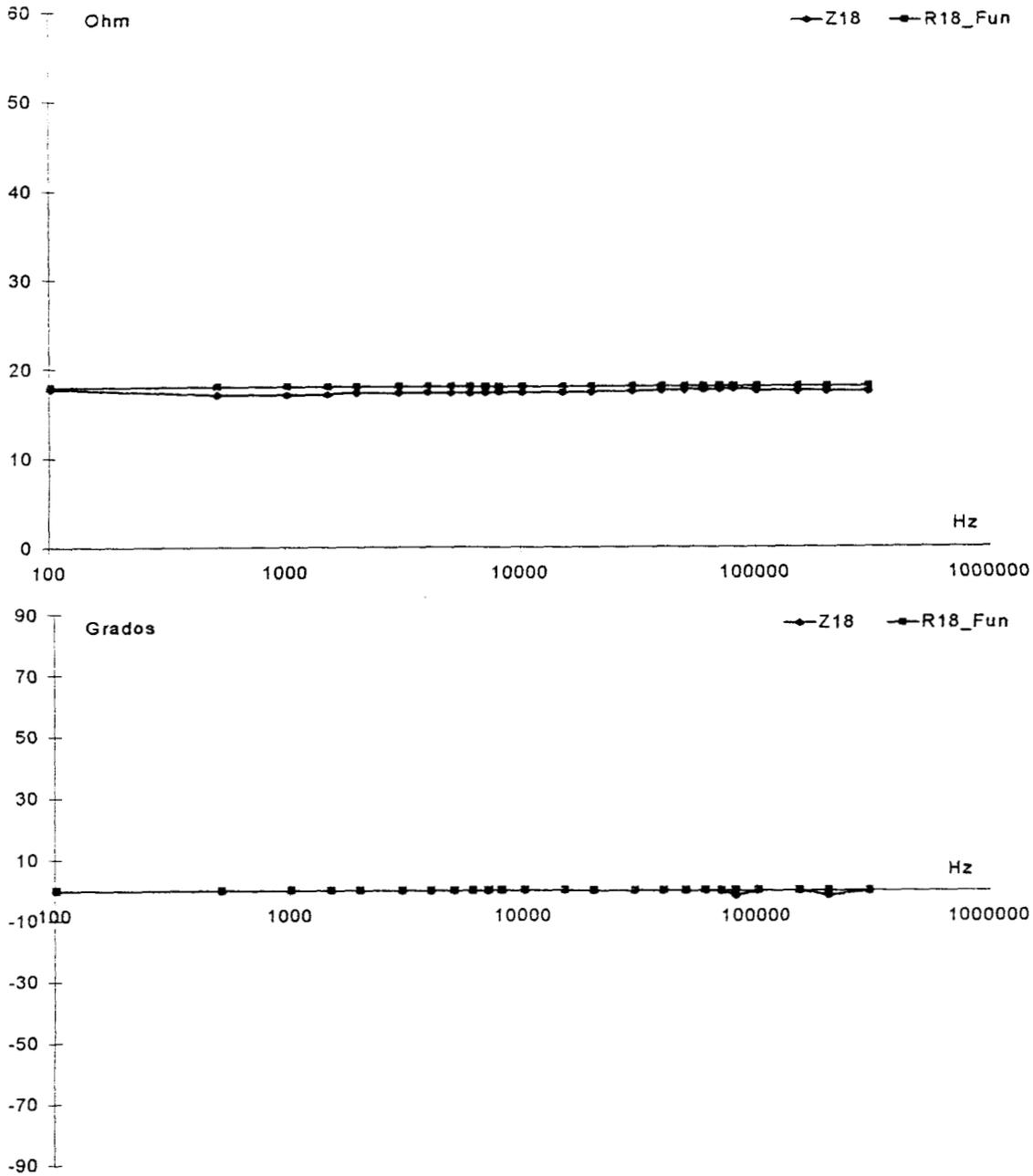
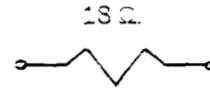


Figura 5.3.1.1. Impedancia de caracterización del sistema con una carga resistiva de 18Ω. La curva Z18 corresponde a la respuesta obtenida mediante el espectrómetro y la curva R18_fun corresponde a la teórica. **Arriba:** Componentes de amplitud del espectro de impedancia. La amplitud obtenida con el espectrómetro es prácticamente constante a un valor cercano a 18 Ω en todo el espectro. **Abajo:** Componentes de fase del espectro de impedancia. La fase obtenida mediante el espectrómetro se mantiene alrededor de cero y es casi idéntica a la teórica.

Con Carga resistiva de 33Ω .

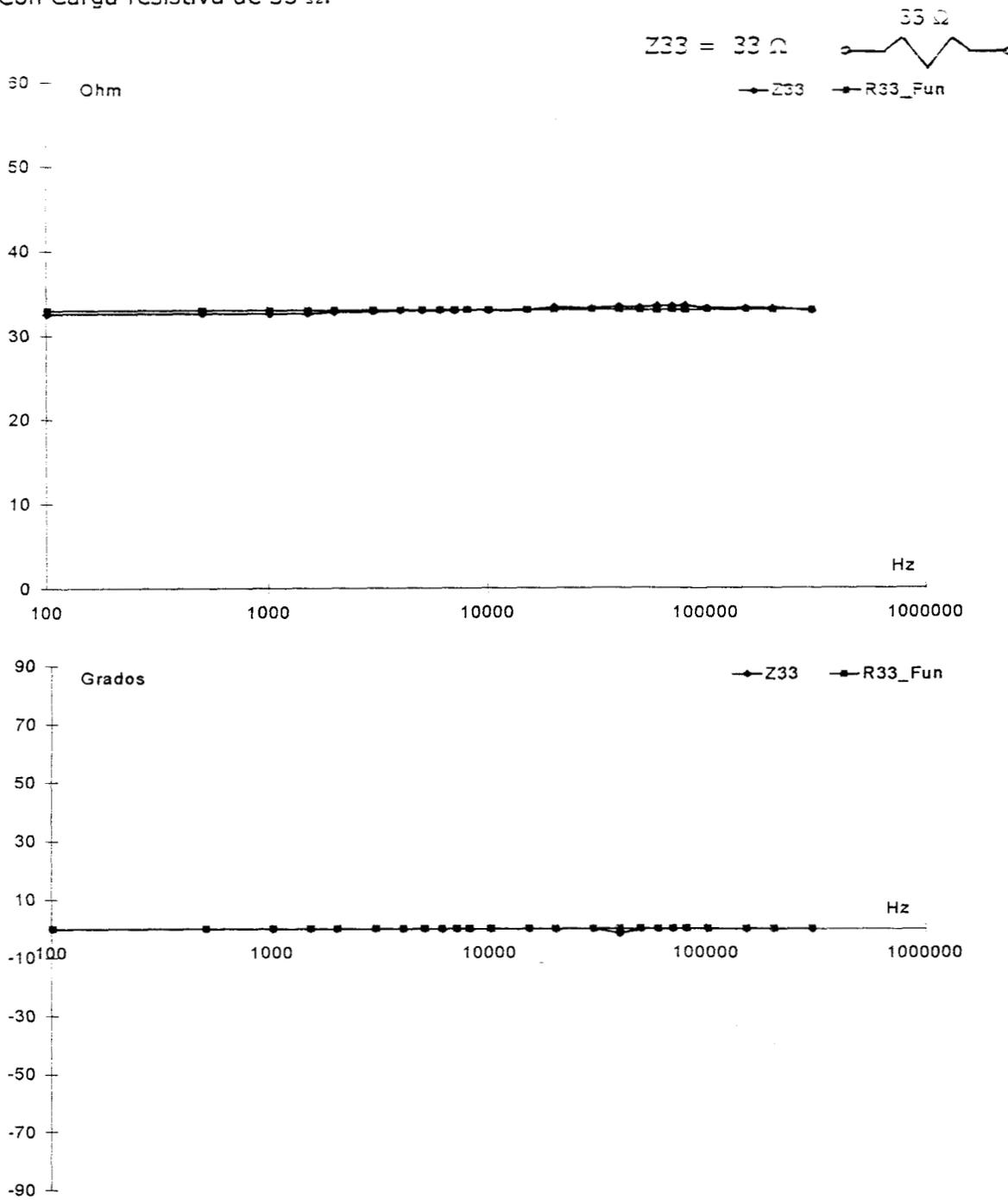


Figura 5.3.1.2. Impedancia de caracterización del sistema con una carga resistiva de 33Ω . La curva Z33 corresponde a la respuesta obtenida mediante el espectrómetro y la curva R33_fun corresponde a la teórica. **Arriba:** Componentes de amplitud del espectro de impedancia. La amplitud obtenida con el espectrómetro es prácticamente constante a un valor cercano a 33Ω en todo el espectro. **Abajo:** Componentes de fase del espectro de impedancia. La fase obtenida mediante el espectrómetro se mantiene alrededor de cero y es casi idéntica a la teórica.

RC1: $R1 = 47 \Omega$, $C1 = 10 \text{ nF}$

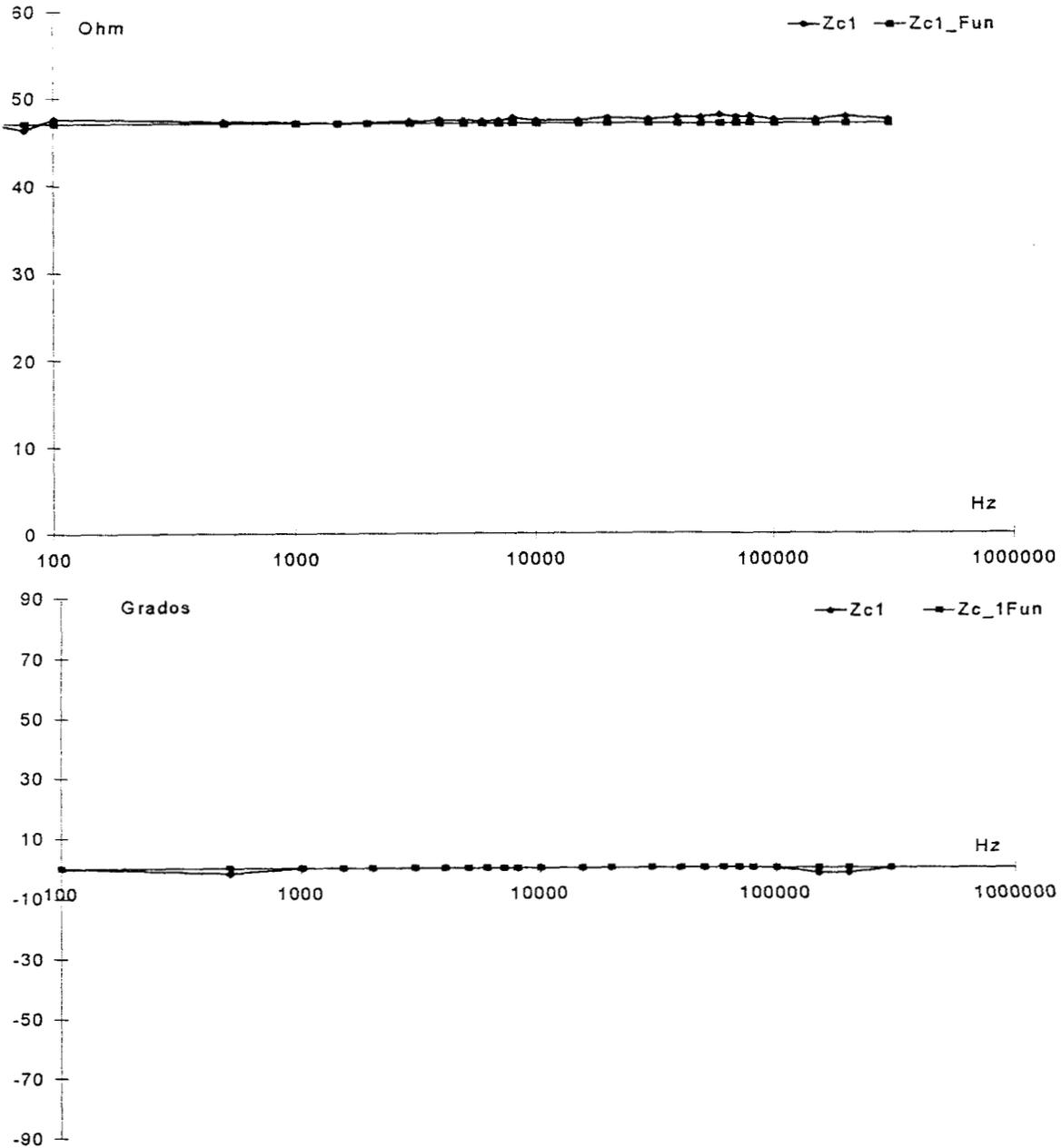
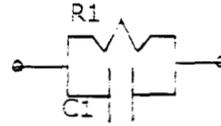


Figura 5.3.1.3. Impedancia de caracterización del sistema con una carga compleja ZC1. La curva ZC1 corresponde a la respuesta obtenida mediante el espectrómetro y la curva ZC1_fun corresponde a la teórica. **Arriba:** Componentes de amplitud del espectro de impedancia. La amplitud obtenida con el espectrómetro es prácticamente idéntica a la teórica. **Abajo:** Componentes de fase del espectro de impedancia. La fase obtenida mediante el espectrómetro se mantiene alrededor de cero y es casi idéntica a la teórica.

RC2: $R1 = 22 \Omega$, $C1 = 0.1 \mu\text{F}$

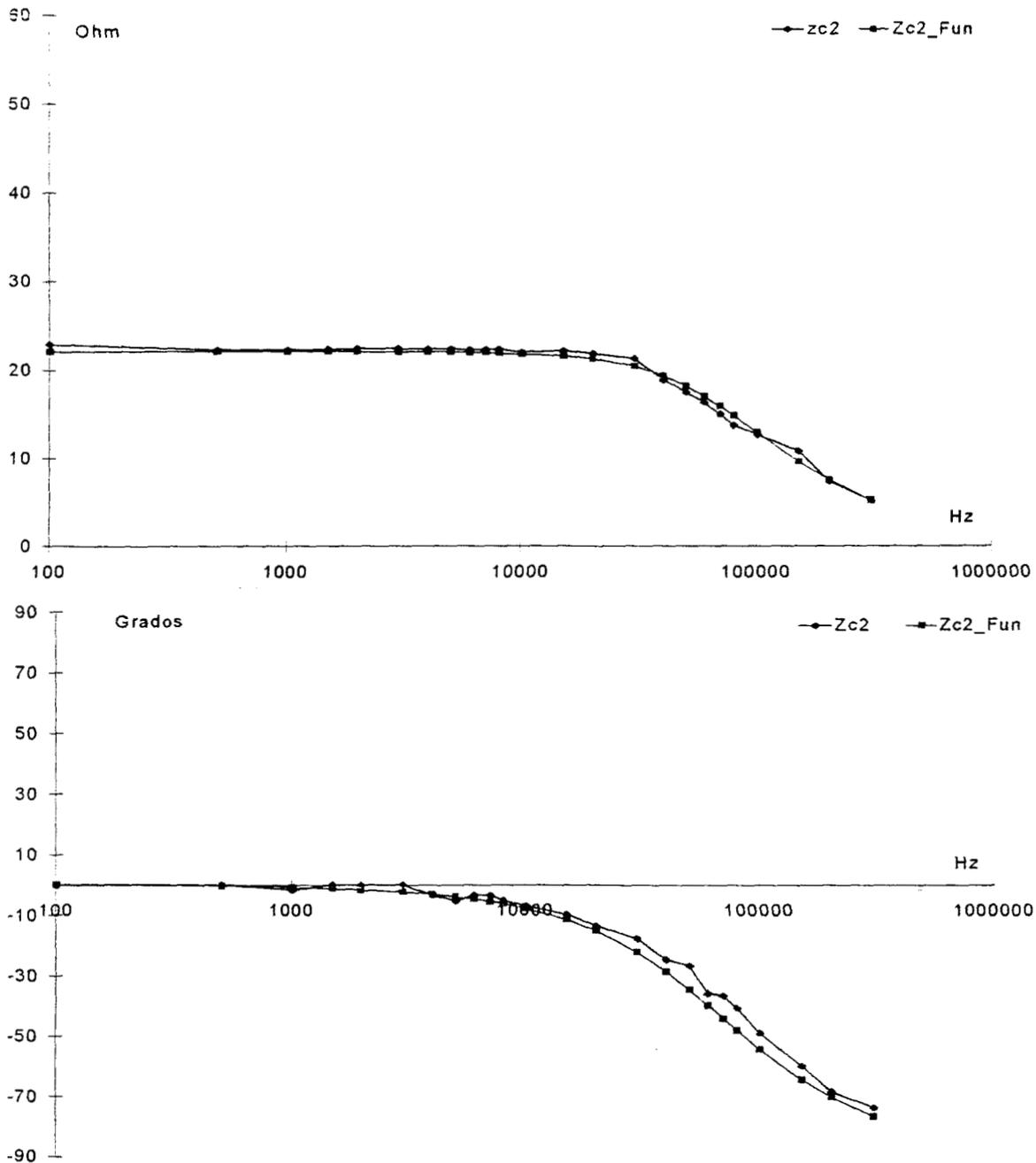
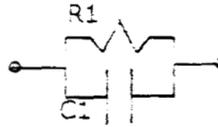


Figura 5.3.1.4. Impedancia de caracterización del sistema con una carga compleja ZC2. La curva ZC2 corresponde a la respuesta obtenida mediante el espectrómetro y la curva ZC2_fun corresponde a la teórica. **Arriba:** Componentes de amplitud del espectro de impedancia. La amplitud obtenida con el espectrómetro es prácticamente idéntica a la teórica, aunque difieren un poco a altas frecuencias. **Abajo:** Componentes de fase del espectro de impedancia. La fase obtenida mediante el espectrómetro es casi idéntica a la teórica, aunque difiere un poco a altas frecuencias.

RC3: $R_1 = 22\Omega$, $R_2 = 22\Omega$, $C_1 = 0.1 \mu\text{F}$

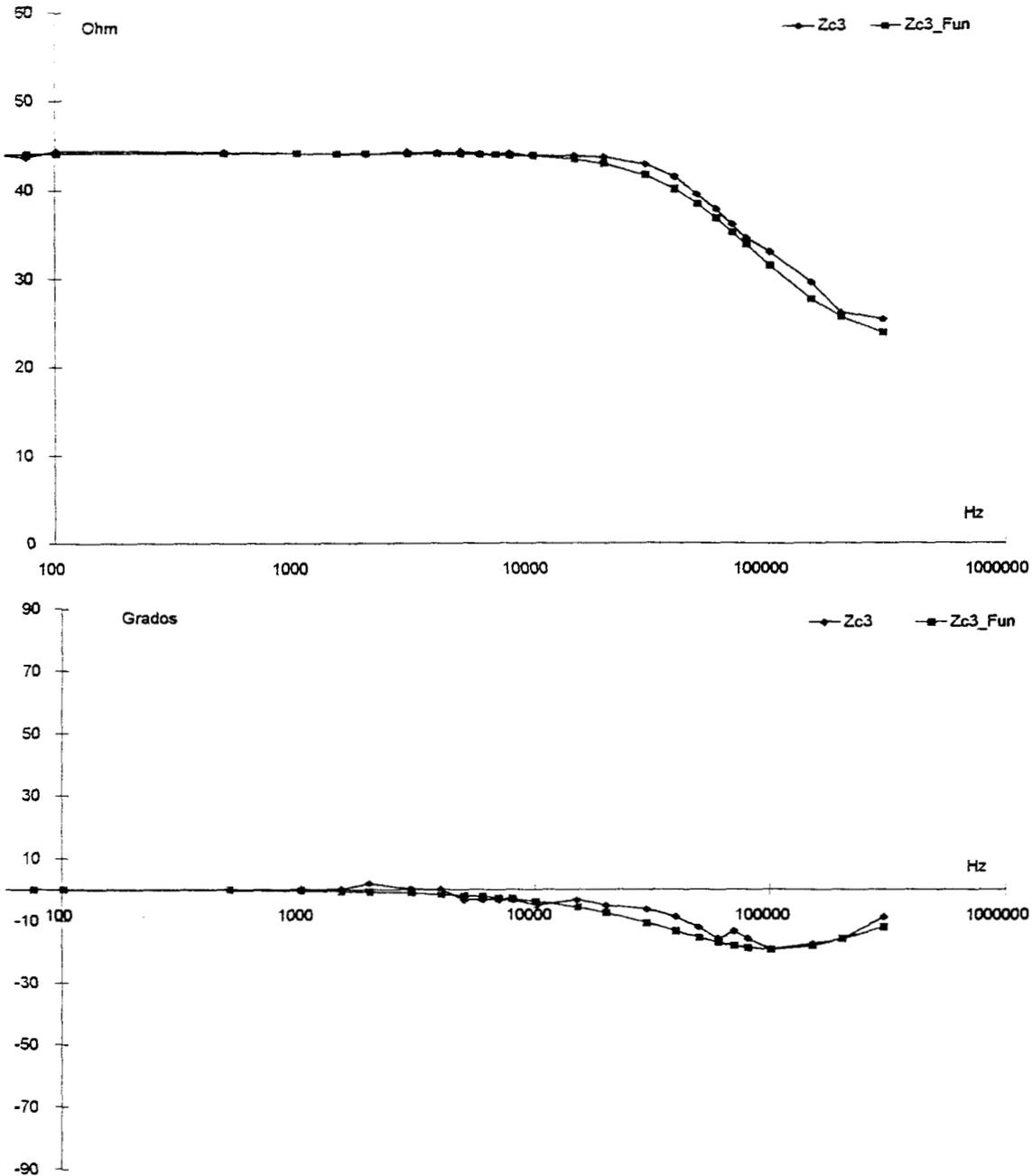
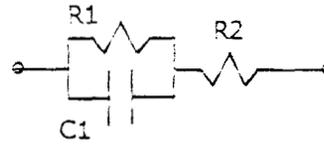


Figura 5.3.1.5. Impedancia de caracterización del sistema con una carga compleja ZC3. La curva ZC3 corresponde a la respuesta obtenida mediante el espectrómetro y la curva ZC3_fun corresponde a la teórica. **Arriba:** Componentes de amplitud del espectro de impedancia. La amplitud obtenida con el espectrómetro es prácticamente idéntica a la teórica, aunque difieren un poco a altas frecuencias. **Abajo:** Componentes de fase del espectro de impedancia. La fase obtenida mediante el espectrómetro es casi idéntica a la teórica, aunque difiere un poco a altas frecuencias.

RC4: $R1 = 22\Omega$, $R2 = 22\Omega$, $C1 = 3.3 \mu F$

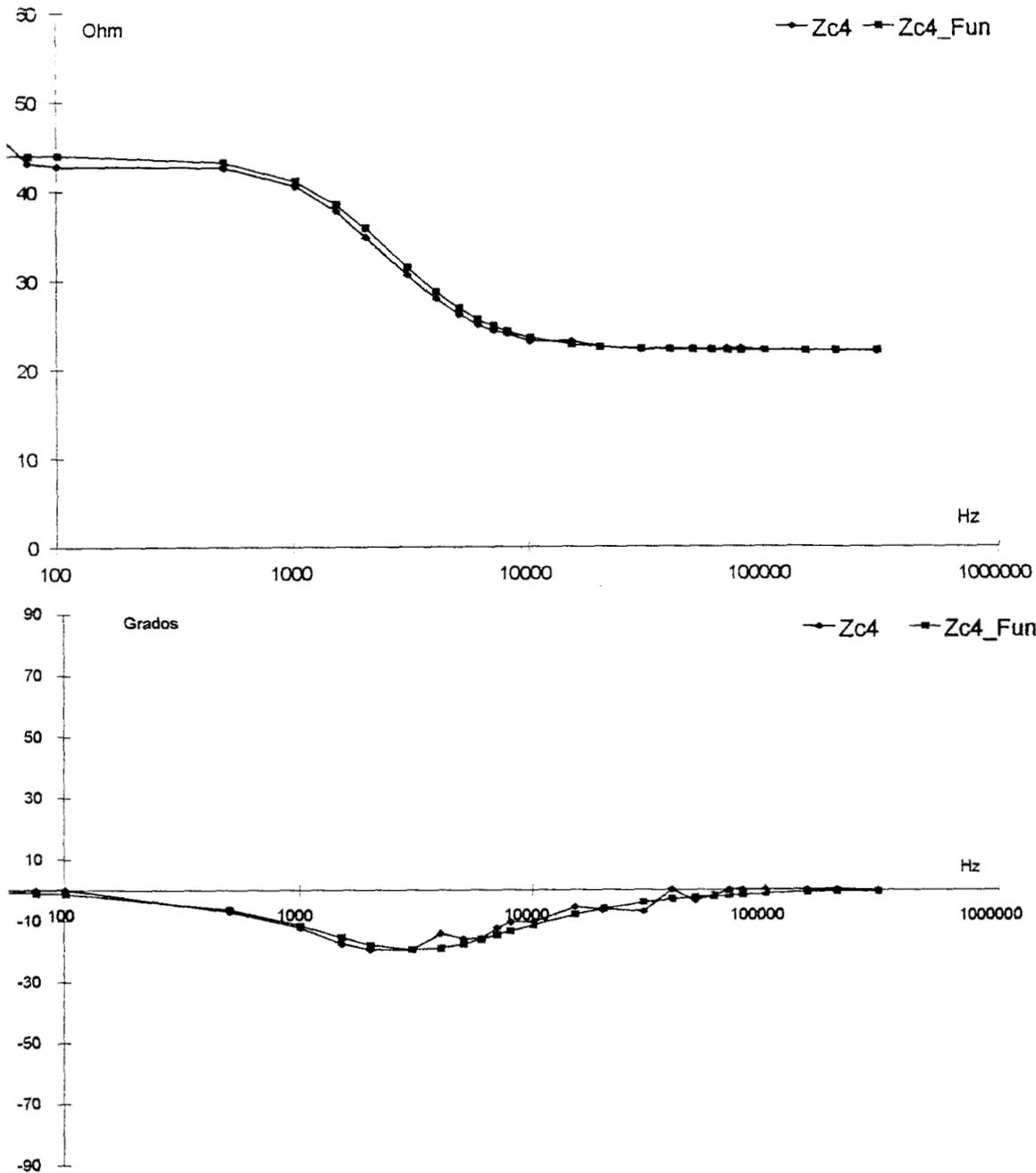
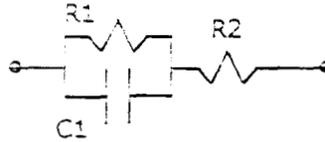


Figura 5.3.1.6. Impedancia de caracterización del sistema con una carga compleja ZC4. La curva ZC4 corresponde a la respuesta obtenida mediante el espectrómetro y la curva ZC4_fun corresponde a la teórica. **Arriba:** Componentes de amplitud del espectro de impedancia. La amplitud obtenida con el espectrómetro es prácticamente idéntica a la teórica. **Abajo:** Componentes de fase del espectro de impedancia. La fase obtenida mediante el espectrómetro es casi idéntica a la teórica.

RC5: $R1 = 22\Omega$, $R2 = 22\Omega$,
 $C1 = 0.1 \mu F$, y $C2 = 3.3 \mu F$.

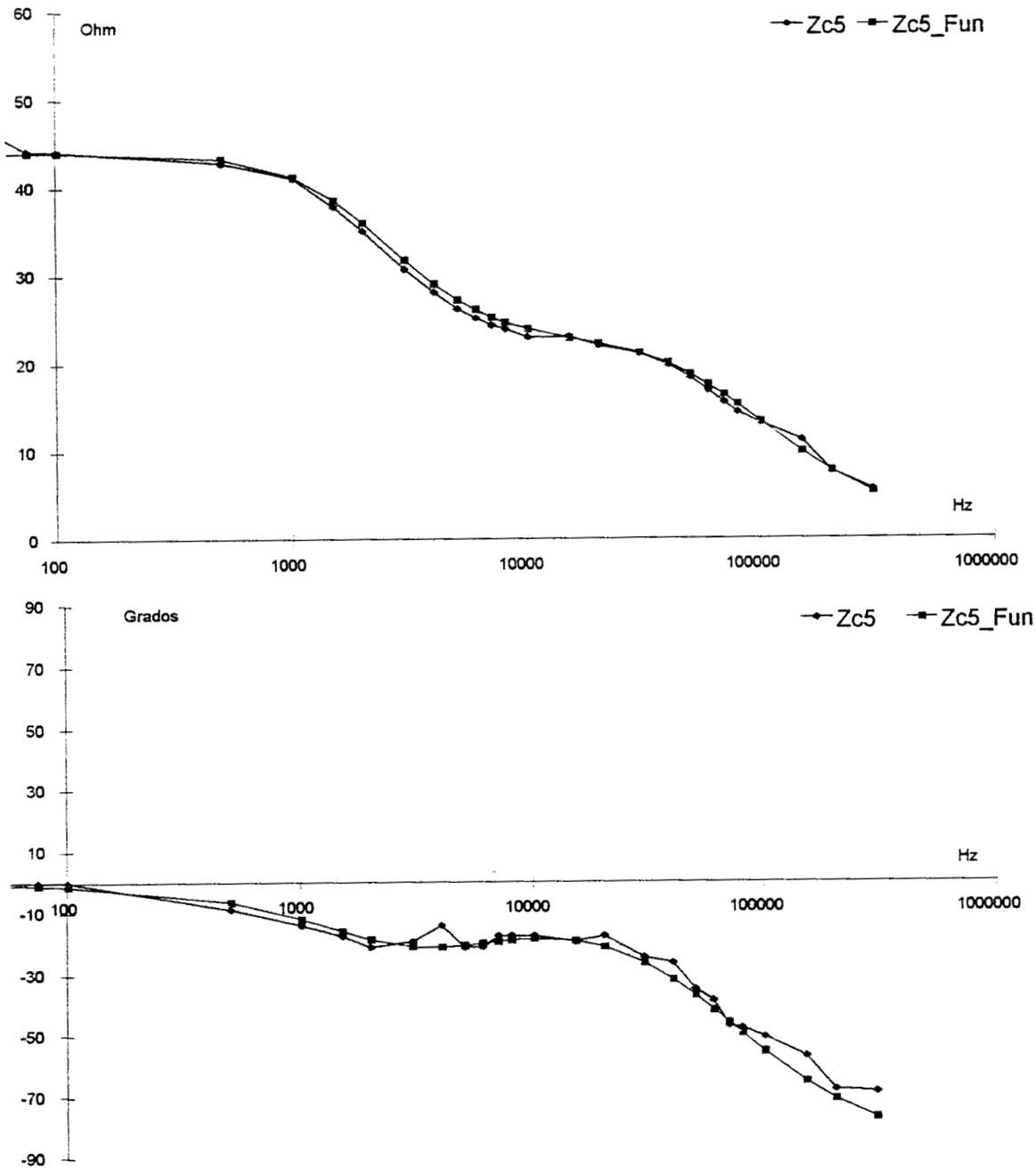
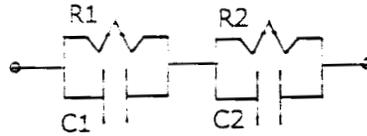


Figura 5.3.1.7. Impedancia de caracterización del sistema con una carga compleja ZC5. La curva ZC5 corresponde a la respuesta obtenida mediante el espectrómetro y la curva ZC5_fun corresponde a la teórica. **Arriba:** Componentes de amplitud del espectro de impedancia. La amplitud obtenida con el espectrómetro es prácticamente idéntica a la teórica. **Abajo:** Componentes de fase del espectro de impedancia. La fase obtenida mediante el espectrómetro es casi idéntica a la teórica, aunque difiere un poco a alta frecuencia.

RC5: R1, R2, R3, y R4=22Ω.
 C1 =0.1 μF, y C2= 3.3pF.

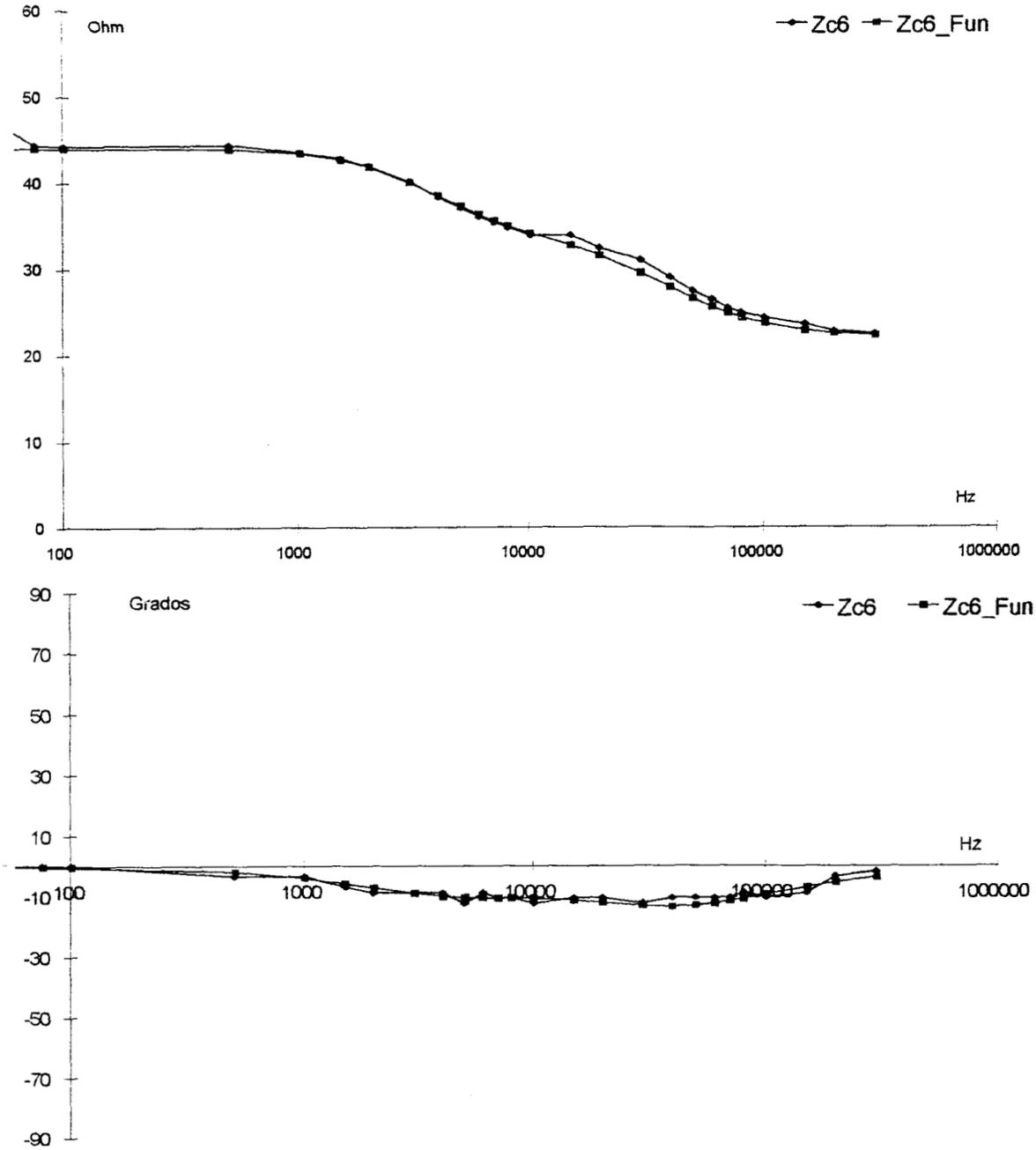
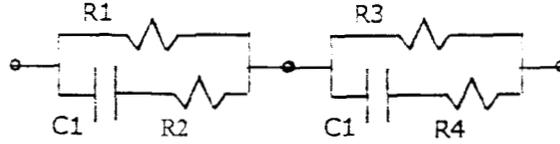


Figura 5.3.1.8. Impedancia de caracterización del sistema con una carga compleja ZC6. La curva ZC6 corresponde a la respuesta obtenida mediante el espectrómetro y la curva ZC6_fun corresponde a la teórica. **Arriba:** Componentes de amplitud del espectro de impedancia. La amplitud obtenida con el espectrómetro es prácticamente idéntica a la teórica. **Abajo:** Componentes de fase del espectro de impedancia. La fase obtenida mediante el espectrómetro es casi idéntica a la teórica

5.3.2 Resultados in vivo

Se realizaron experimentos in vivo con conejos aplicando el protocolo detallado en el capítulo 4.2. Los experimentos se denominaron de forma alfabética para propósitos de almacenamiento y clasificación. A continuación se presentan los componentes de amplitud y fase de los espectros y se explican brevemente las condiciones bajo las cuales se realizaron los experimentos correspondientes.

Para todos los animales se realizó primeramente una preparación para cirugía consistente en: tranquilizante (0.2 ml de rompún y 0.8 ml de pentobarbital sódico) y anestesia (pentobarbital sódico diluido al 50% con solución salina, dosis inicial intravenosa de 2 ml seguida de una dosis respuesta).

En cada gráfica se muestran varios espectros a diferentes tiempos. El tiempo correspondiente a cada una se muestra en la esquina superior derecha de cada una.

Experimento A:

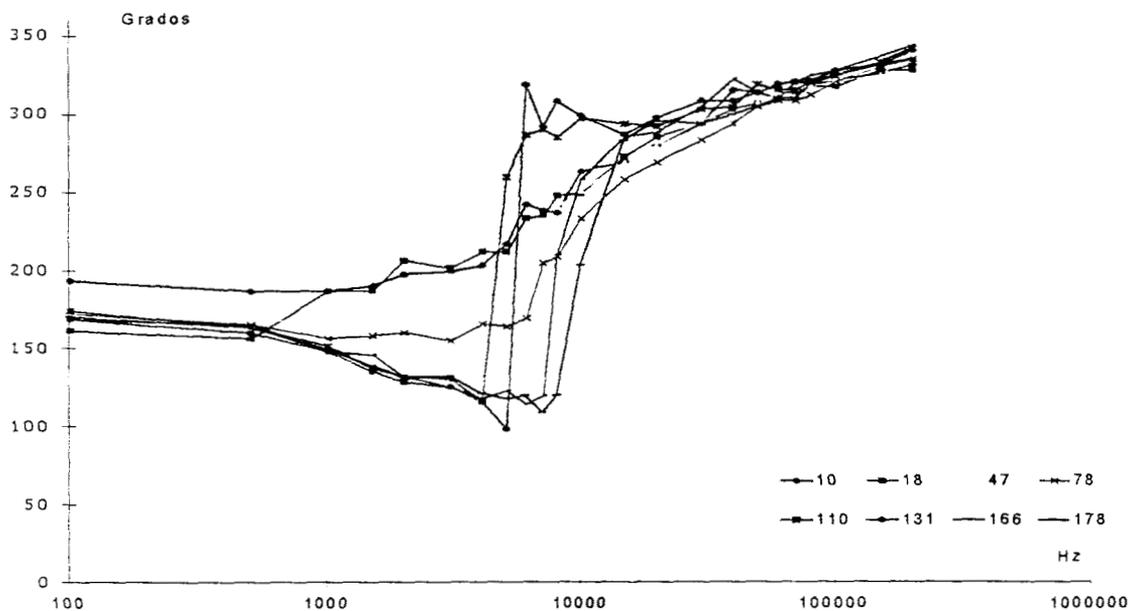
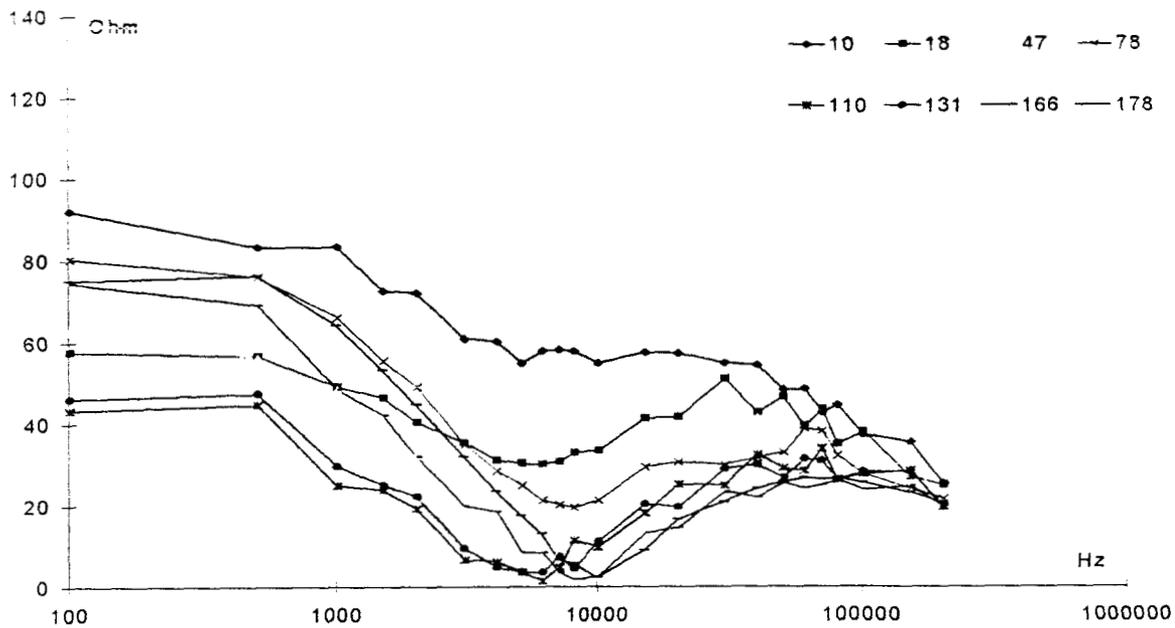


Figura 5.3.2.1. Experimento A. Grupo II de isquemia y reperfusión. Conejo anestesiado de 2.9 kg. La hemorragia comenzó a los 40 min y terminó a los 69 min, con un volumen máximo exsanguinado de 58 ml. A los 93 min se reinfundieron 18 ml, a los 114 min ocurrió la descompensación y a los 240 min el conejo murió. La sonda para mediciones se introdujo vía oral hasta el estómago y se observó después del experimento que la sonda se había alojado en el esófago. **Arriba:** Componentes de amplitud del espectro de impedancia. El componente de amplitud forma un valle cerca de los 9 KHz. Después de $t=131$ min el valle se corre hacia 10 khz. **Abajo:** Componentes de fase del espectro de impedancia. Se observa que en los puntos correspondientes a los valles se tiene aproximadamente 180 grados de fase, y conforme aumenta el tiempo de isquemia ese punto se corre hacia mayores frecuencias.

Experimento B

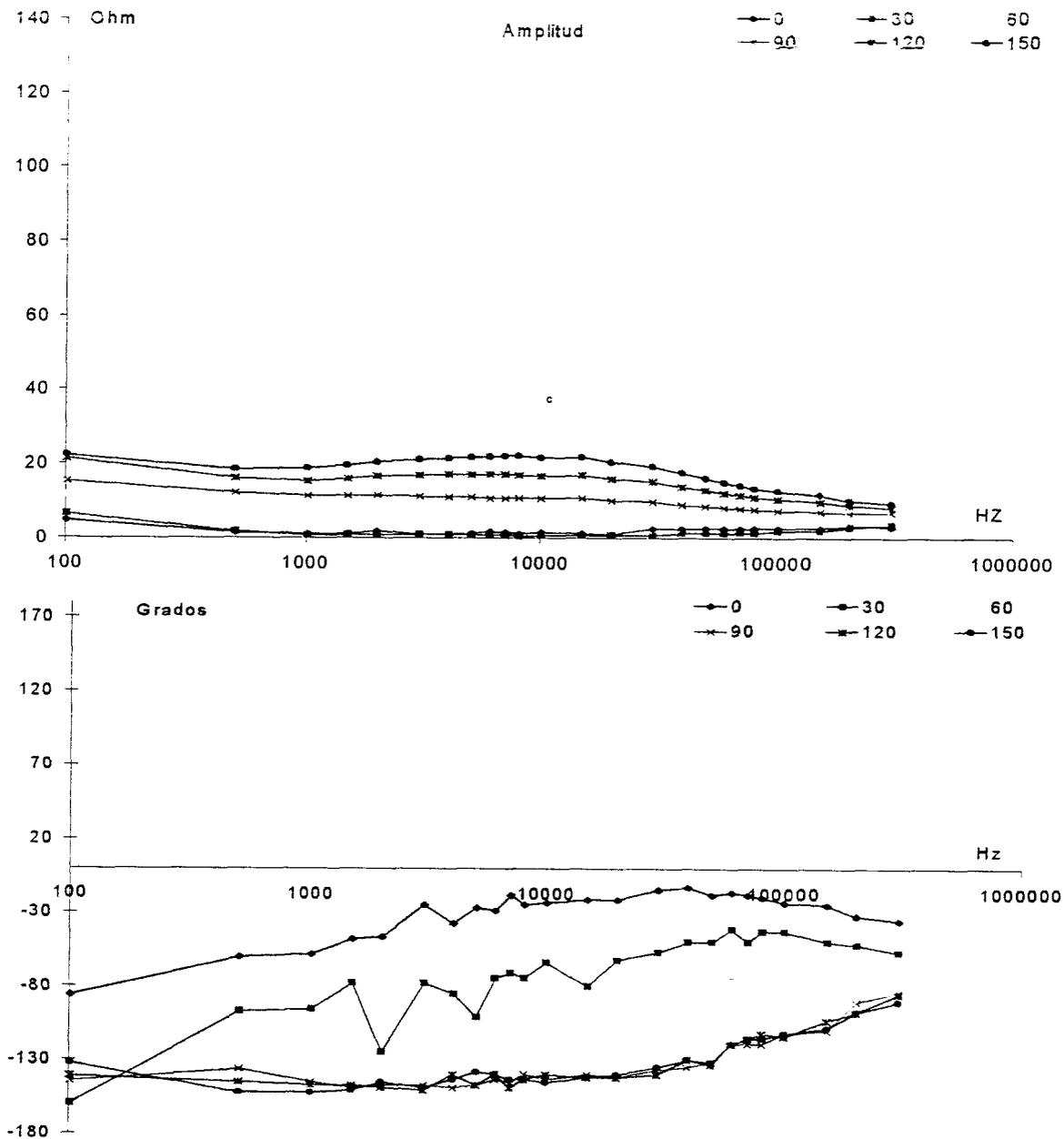


Figura 5.3.2.2. Experimento B. Grupo I de isquemia sin tratamiento. Conejo anestesiado de 2.65 kg. Los tiempos de tratamiento se describen en el protocolo. La sonda para mediciones se introdujo vía oral hasta el estómago y se observó después del experimento que la sonda se había alojado entre el esófago y el estómago. **Arriba:** Componentes de amplitud del espectro de impedancia. Los componentes de amplitud se separan más notablemente conforme aumenta el tiempo de isquemia. **Abajo:** Componentes de fase del espectro de impedancia. A diferencia de los componentes de amplitud, los componentes de fase tienden a aglomerarse después de iniciada la hemorragia.

Experimento C

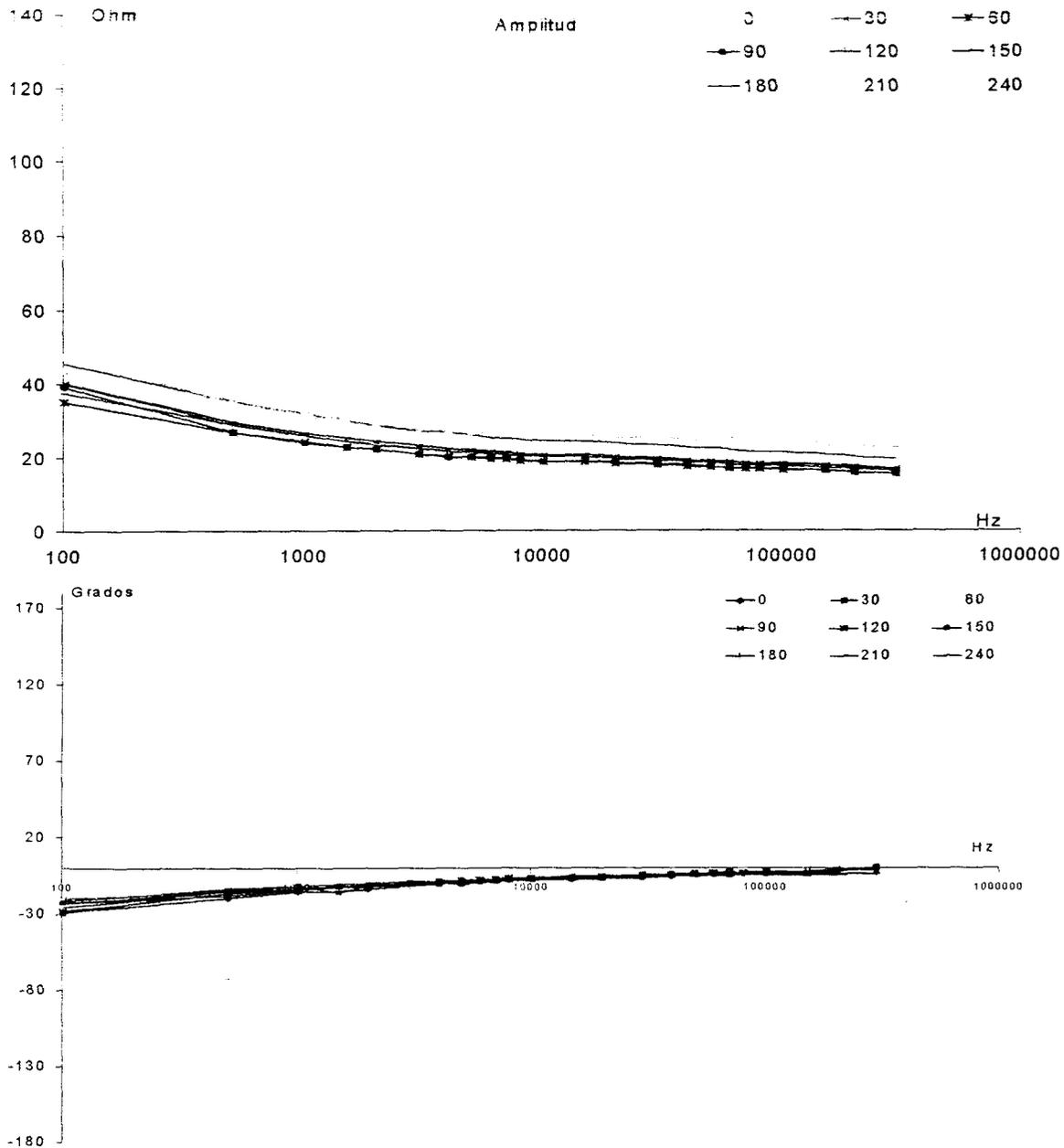


Figura 5.3.2.3. Experimento B. Grupo II de isquemia y reperfusión. Conejo anestesiado de 2.7 kg. Tiempo de inicio de exanguinado $t=70$ min. Los tiempos de tratamiento se describen en el protocolo. La sonda para mediciones se introdujo al estómago vía oral. Se observó después del experimento que había demasiado contenido gástrico en el estómago. **Arriba:** Componentes de amplitud del espectro de impedancia. Los componentes de amplitud se separan notablemente conforme aumenta el tiempo de isquemia. **Abajo:** Componentes de fase del espectro de impedancia. Los componentes son casi idénticos debido a un error en el desarrollo del protocolo experimental (se reinfundió el 60% del volumen exanguinado a los 15 minutos de iniciada la hemorragia, por lo que se asume que la isquemia fue moderada y no hubo daño).

Experimento D

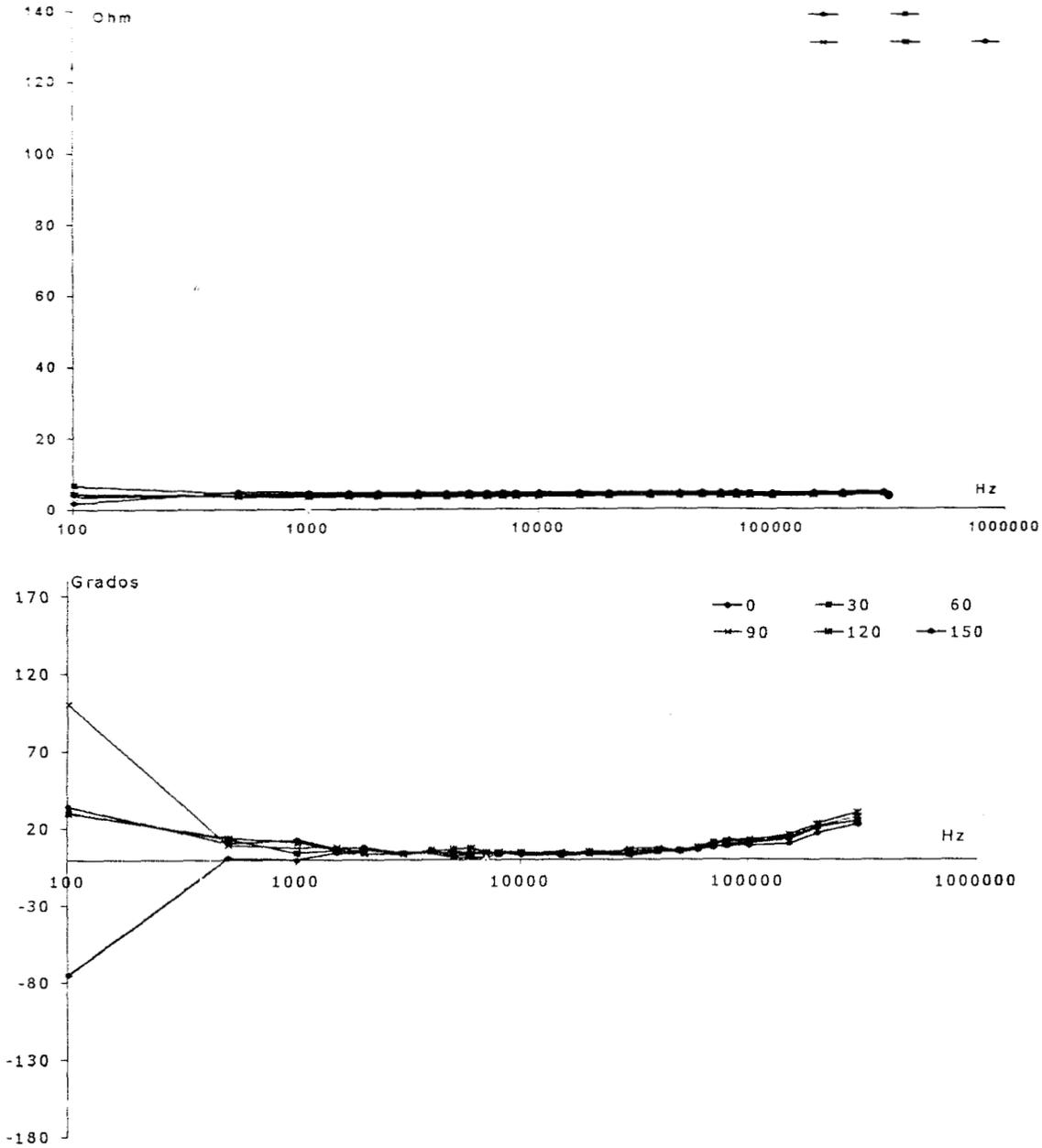


Figura 5.3.2.4. Experimento D. Grupo III de isquemia y reperfusión moderada. Conejo anestesiado de 2.8 kg. Los tiempos de tratamiento se describen en el protocolo. La sonda para mediciones se introdujo vía oral hasta el estómago y se observó después del experimento que la sonda se había alojado en el centro de éste, rodeada de gran contenido gástrico. **Arriba:** Componentes de amplitud del espectro de impedancia. Los componentes de amplitud no presentan ningún cambio significativo durante todo el experimento. **Abajo:** Componentes de fase del espectro de impedancia. Los componentes de fase tampoco presentan cambios en el tiempo, además de que los valores a una frecuencia de 100 Hz son obviamente erróneos.

Experimento E

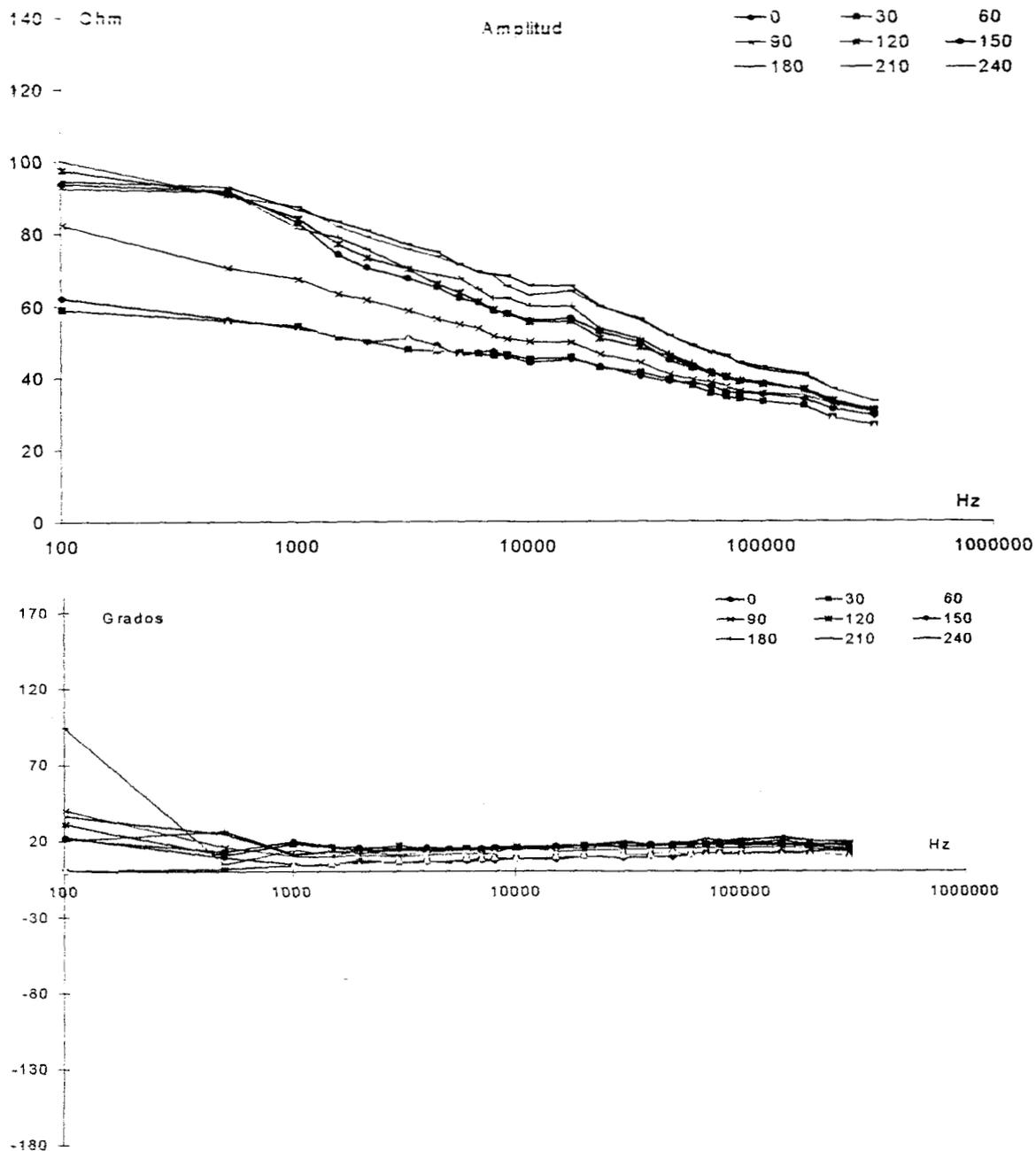


Figura 5.3.2.2. Experimento E. Grupo II de isquemia y reperfusión. Conejo anestesiado de 3.9 kg. Los tiempos de tratamiento se describen en el protocolo. La sonda para mediciones se introdujo quirúrgicamente en el íleon. **Arriba:** Componentes de amplitud del espectro de impedancia. Los componentes de amplitud se separan más notablemente conforme aumenta el tiempo de isquemia y a frecuencias bajas se identifican tres secciones: antes, durante y después de la isquemia. A frecuencia intermedias la separación avanza conforme avanza el tiempo de isquemia. **Abajo:** Componentes de fase del espectro de impedancia. A diferencia de los componentes de amplitud, los componentes de fase no tienen muchos cambios en todo el experimento, excepto a una frecuencia de 100 Hz, los cuales son valores erróneos.

Experimento F

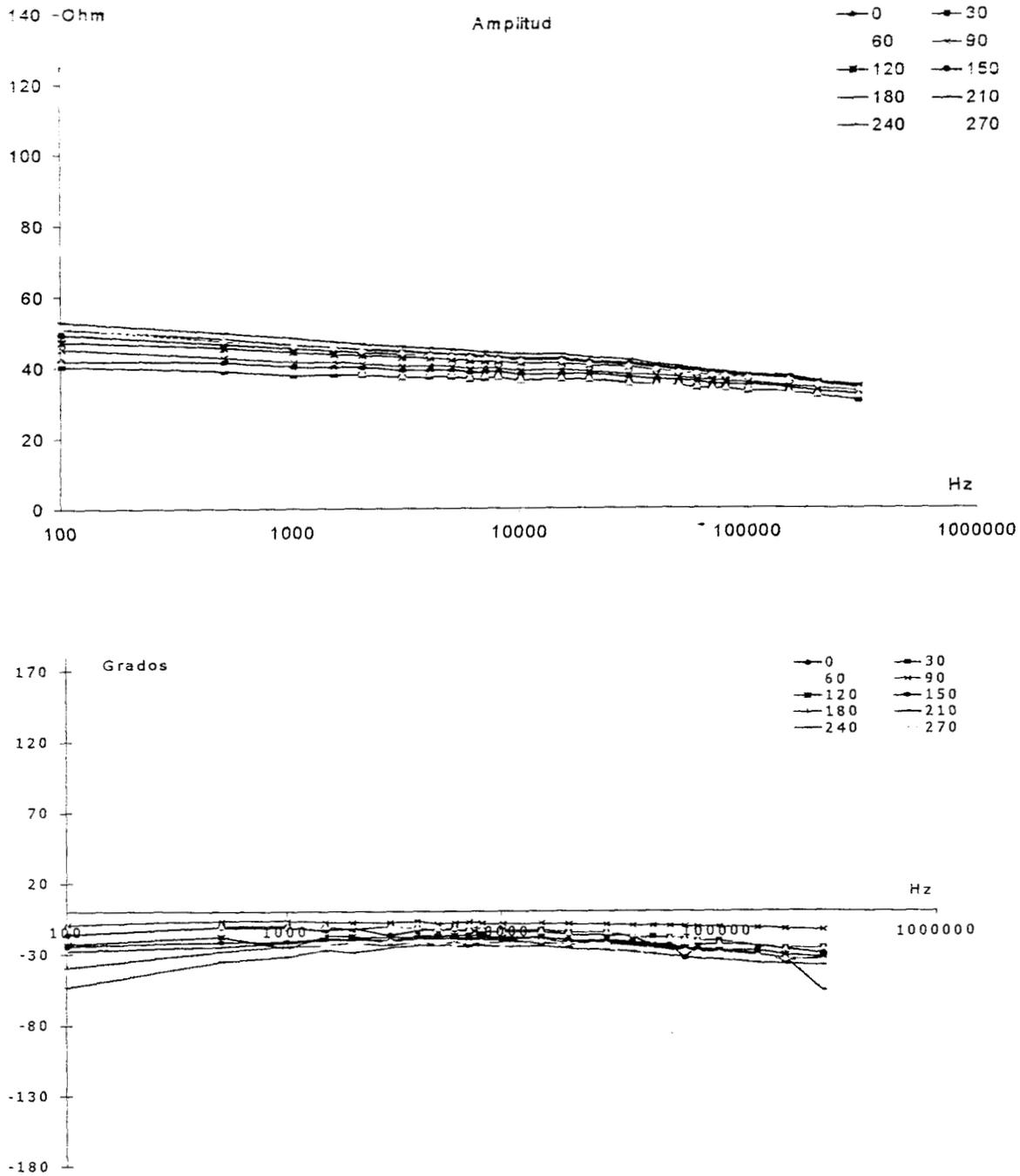


Figura 5.3.2.6. Experimento F. Grupo IV de control. Conejo anestesiado de 4.1 kg. Los tiempos de tratamiento se describen en el protocolo. La sonda para mediciones se introdujo quirúrgicamente en el íleon. Al final del experimento se observó que el íleon y la sonda estaban llenos de sangre. **Arriba:** Componentes de amplitud del espectro de impedancia. Los componentes de amplitud no presentan cambios a diferentes frecuencias pero cambian conforme avanza el tiempo. **Abajo:** Componentes de fase del espectro de impedancia. Como los componentes de amplitud, los componentes de fase no tienen muchos en frecuencia pero sí en tiempo. Se observan en $t=270$ dos valores erróneos de fase

Capítulo 6

6. Discusión de los Experimentos

6.1. Discusión del diseño del espectrómetro de impedancia

La teoría aplicada en este espectrómetro de impedancia es original y por primera vez el desarrollo matemático propuesto se aplica al cálculo de impedancia compleja[36], siendo un híbrido entre el método de puente y el método de muestreo sincronizado.

Este es también el primer prototipo del espectrómetro de impedancia propuesto para esta tesis. En esta generación, el instrumento tiene la capacidad de medir una impedancia compleja en un rango de frecuencias de 100 Hz a 300 KHz de manera óptima, empleando una corriente de excitación de 10 mA_{p.p.} Por otro lado, el diseño del *hardware* y el *software* también es original, aunque presenta cierto paralelismo con el diseño de Ristic [1], aunque solo en algunas etapas como en la etapa de generación de funciones.

El diseño del *hardware* se basa en la simplicidad y funcionalidad para validar la metodología propuesta. En versiones posteriores del instrumento podrá mejorarse la electrónica para un mejor desempeño. En la presente versión se utilizan componentes electrónicos comercialmente disponibles y económicos (TL084, XR2228, e inclusive la tarjeta de adquisición).

Los generadores de funciones AD7008, aunque pueden emplearse como fuentes de corriente muy estables sobre un gran rango de frecuencia, pero son muy caros y presentan otros problemas; para este tipo de aplicaciones solo permiten un valor de corriente de alrededor de 20 mA, por lo que no se utilizan como fuentes de corriente variable en nuestro instrumento. La corriente se genera utilizando un TL084 como se muestra en la figura 3.9. tomando el voltaje entregado por el AD7008 y convirtiéndolo a corriente, pudiendo cambiar el valor de salida mediante un potenciómetro. Este bloque tiene diferentes desventajas como el empleo de un capacitor como interface entre el AD7008 y el sistema convertidor de voltaje a corriente. Esta impedancia, junto con la impedancia de entrada de la fuente de corriente forma un filtro pasa-altas y limita el empleo del sistema a frecuencias mayores a 50 Hz. Además, el diseño del control de la fuente de corriente actual tiene un límite en su respuesta en frecuencia porque nuestros amplificadores (TL084) son de baja respuesta en frecuencia (a menos de 300 KHz), por lo que el rango efectivo es aproximadamente de 50 Hz a 300 KHz. Esto explica la respuesta en frecuencia obtenida como resultado de la fuente de corriente mostrada en la figura 5.1.1.

Por otro lado, la ventaja de utilizar el TL084 radica en su estabilidad como fuente de corriente y su habilidad de manejar corrientes de 10 mA con carga, es económico y disponible en el mercado. Cuando el amplificador TL084 se utiliza en los filtros pasa-banda tienen ganancia unitaria en la frecuencia de corte. En el caso del TL084 como amplificador de salida no se requiere, gracias al proceso de modulación-demodulación, de una respuesta en frecuencia alta, ya que siempre manejan la misma frecuencia — 100 Hz.

Los amplificadores de instrumentación AMP02 son apropiados para nuestra aplicación y su respuesta en frecuencia se encuentra dentro del rango requerido.

Los multiplicadores XR2228 también presentan buena respuesta en frecuencia, pero es difícil ajustar ambas ganancias para todas las frecuencias, creando un

desbalance (errores en amplitud) si no se logra ajustarlos en forma óptima. El sistema de control y calibración tienen que ser idénticos para cada multiplicador.

Con respecto a la tarjeta de adquisición DAS08, es práctica, económica y se encuentra disponible en nuestro laboratorio para esta aplicación. El único problema que presenta esta tarjeta es su dependencia de la velocidad de la PC y por otro lado, los tiempos de interrupción, los cuales afectan la adquisición de dos formas diferentes. La primera se presenta cuando se emplea un nivel de interrupción alto, con la consecuencia de que la frecuencia de muestreo de los convertidores analógico-digital cambia en forma aleatoria, no controlada. En el caso de no interrupción se presenta entonces discontinuidad en la adquisición de señales en tiempos aleatorios, aunque con la ventaja de que el error de muestreo ocurre en todas las señales al mismo tiempo.

Una observación importante es la aparición de un offset en la salida de la fuente de corriente que afecta en mayor medida la aplicación de sondas no cloradas, provocando que exista un intercambio entre los iones del tejido y la superficie de algunos electrodos el cual no debe existir, ya que se deposita una capa parásita. En este caso, el funcionamiento de los electrodos cambia con el tiempo, lo cual es indeseable. La aparición de este voltaje se debe a que el amplificador operacional de la fuente de corriente posee una entrada y salida flotantes, lo que provoca que el voltaje de salida tome el valor de la fuente de alimentación (se satura). La solución a este problema es conectar la entrada y salida a tierra a través de resistencias de valor apropiado de tal manera que no afecte el funcionamiento de la fuente de corriente ni del circuito de control. Sin embargo, cuando se realizan mediciones con componentes pasivos en el laboratorio, la presencia de dicho voltaje no afecta las mediciones.

Otra observación importante es que el sistema (por el momento) no tiene ningún aislamiento. Esto tiene poca importancia en las aplicaciones en laboratorio, pero es de gran importancia en aplicaciones con animales o humanos.

6.2. Discusión de la calibración

La calibración del hardware del sistema se realizó tomando la señal del tejido y la señal de referencia, tratando de mantener las dos salidas con las mismas características tomando en cuenta que el valor de la impedancia de referencia es igual a la impedancia máxima propuesta para el espectro. Los voltajes de salida se escogieron a una amplitud de la mitad del rango dinámico, anticipando un buen funcionamiento en el caso de presentarse impedancias mayores a las esperadas en el caso de aplicaciones en animales.

En la figura 5.1.1. puede apreciarse que la corriente máxima no es igual para todos las frecuencias en el rango de interés y esto no afecta el cálculo de la impedancia porque no depende del valor de la corriente en si el mismo ya que la misma corriente pasa por las dos cargas. Sin embargo, cuando la corriente disminuye demasiado, aumentan los errores en la salida del hardware. La aplicación en animales requiere una corriente lo más estable posible, porque el valor de corriente tiene mucha importancia como corriente de estimulación del tejido (capítulo 2.4), y por ello se utiliza el rango de frecuencia de 0.1 a 300 KHz en el cual el hardware se comporta dentro de nuestras expectativas.

Por otro lado, en los resultados de la calibración de la frecuencia de corte de los filtros pasa banda del sistema generador de señal de entrada (AD7008) observamos que la frecuencia de corte es exactamente 100 Hz como se requiere y el factor de calidad es suficientemente alto.

Las curvas de calibración para la amplitud como la fase se calcularon mediante interpolación polinómica de quinto orden dado que la relación no es lineal y presenta

mayores errores a bajas frecuencias. El empleo de interpolación permite almacenar únicamente los coeficientes polinomiales de las curvas de calibración, con el consecuente ahorro de memoria, manteniendo una precisión dentro del rango dinámico de la aplicación.

Las curvas de calibración se calcularon a partir de un solo espectro para cada carga, pero podrían eliminarse efectos de ruido o otro tipo de errores promediando diferentes espectros para cada carga. En el caso de la fase existe un doble error posible, ya que se calibra primero la amplitud, y el éxito de la calibración de fase depende de la medida en que la calibración de amplitud sea correcta.

A partir de los datos obtenidos en las curvas se observa que los errores del hardware en amplitud y fase son mayores para cargas menores de 10Ω . Esto se debe a que el hardware se calibra haciendo que las ganancias en ambos canales de medición (tejido y referencia) sean iguales para cargas iguales a la carga de referencia. A baja frecuencia se ven involucrados los componentes capacitivos de los componentes del sistema, especialmente las capacitancias que eliminan el offset de las salidas de los generadores de funciones. Los errores presentes a altas frecuencias se generan en la etapa de multiplicadores, los cuales no puede asegurarse se comporten con la misma ganancia comparativa, y menos entre mayor sea la frecuencia. Este problema puede deberse a la diferencia en los componentes que conforman cada multiplicador y las mínimas diferencias de ajuste en los valores de calibración.

Por último, sin importar si existen o no errores en la calibración, debe enfatizarse que lo importante es que el instrumento obtenga resultados repetibles. Es decir, que el espectro correspondiente a una impedancia particular sea el mismo siempre aunque no sea numéricamente correcto, permitiendo una identificación correcta del daño tisular.

6.3. Discusión de los experimentos de caracterización

En el diseño final, como puede observarse a partir de los resultados de experimentos con componentes resistivos y pasivos RC, y en comparación con las funciones de transferencia ideales, que la forma de las señales es casi idéntica en amplitud y fase, aunque se observa poca diferencia en algunos espectros. El error puede disminuirse mediante una mejor calibración usando para el cálculo de curvas de calibración datos de múltiple repetición para las mismas cargas.

6.4. Discusión de los experimentos de animales *in vivo*

En esta sección se presentan algunos detalles sobre el comportamiento del espectrómetro de impedancia aplicado al tejido real. Los experimentos en animales permiten saber que tan bien funciona el instrumento. Se puede deducir de los resultados que aún no existe una buena repetibilidad en los espectros obtenidos de animales diferentes, debido a las sondas escogidas y sus particularidades (si tienen una capa de cloruro de plata o no, si tienen un ancho en particular, un cierto número de vueltas, si está bien sellada con silicona o si puede entrar líquido al tubo que contiene la sonda, etc.), y las cambiantes condiciones bajo las cuales se hicieron los experimentos, la ubicación de las sondas (en el tubo gástrico o en el intestino) y por último, las condiciones de la cirugía y la introducción de los catéteres de presión y anestesia, el tubo de respiración en la traquea y la sonda de cuatro electrodos del espectrómetro de impedancia en el animal. A pesar de ello, los espectros de un mismo animal son congruentes y presentan buenos resultados. A continuación se presenta una discusión sobre algunos experimentos en particular.

Una observación muy importante es que cuando se aplicó durante la obtención del primer espectro una corriente de 10 mA, y el animal presentó estimulaciones fuertes a frecuencias bajas. Posteriormente se calibró la fuente de corriente nuevamente a un valor de 3 mA.

Experimento A

Conforme transcurrió el tiempo se tomaron muchos espectros en períodos muy cortos. Existe repetibilidad en los detalles, conforme pasa el tiempo los espectros cambian, indicando en todos ellos el avance del choque y la isquemia. Los espectros se muestran ricos en detalles acerca del comportamiento del instrumento y de como refleja los cambios en la impedancia del tejido en forma correspondiente. Esto es fácilmente notable en el desplazamiento de valles en los componentes de amplitud y el desplazamiento de la fase hacia alta frecuencia conforme avanza el tiempo. En este caso, la sonda se alojó en el esófago, a un lado del corazón del conejo. Algunas porciones de los espectros adquiridos pueden estar reflejando actividad cardíaca.

Experimento B

En este experimento se observa que los espectros antes de iniciarse el sangrado son iguales, y al iniciarse el sangrado comienzan a crecer juntos en amplitud conforme avanza el tiempo de choque. Este efecto es más notorio en el rango de frecuencias de 1 a 30KHz. Tal vez esto se debe al lugar en donde se encontraba la sonda, la mitad en el esófago y la otra mitad en el estómago, y puede también deberse a la mayor proporción del contenido gástrico, la cual presenta respuesta idéntica en un rango grande de frecuencias. Los cambios no reflejan completamente la impedancia del tejido gástrico, sino aquella del contenido gástrico y su correspondiente concentración iónica, la cual puede ser prominente. En este caso los resultados difieren de los posteriores experimentos C y D en los que la sonda se ubicó en el centro del estómago lleno de contenido gástrico, en donde los cambios en la impedancia y concentración iónica son de menor proporción y consecuencia.

Experimento C

En este experimento se observa similitud en los espectros hasta $t=150$ minutos, y su diferencia a partir de $t=180$ minutos. Este efecto también puede explicarse por la posición de la sonda, cerca de la pared del estómago lleno de contenido gástrico. Los electrodos no estuvieron en contacto con el tejido. Los cambios en la impedancia del contenido gástrico llegan retrasados a la sonda.

Experimento D

No se observan cambios continuos en los espectros. Esto también puede explicarse por la posición de la sonda en el centro del estómago lleno de contenido gástrico muy denso. Los electrodos quedaron lejos del tejido gástrico. Los cambios en la impedancia del contenido gástrico no alcanzaron a llegar a la sonda por lo que no se observa ningún cambio en los espectros.

En los experimentos anteriores se observa la complejidad de las mediciones debido a variables como posición de la sonda y contenido gástrico del estómago. Esto último no pudo solucionarse poniendo a los conejos en ayuno más de 24 a 48 horas, debido a la lenta digestión de los conejos. Un lavado gástrico no fue posible pues se tapaba la sonda de lavado. Para mejorar la calidad de los experimentos, se insertó la sonda quirúrgicamente al intestino delgado en los experimentos siguientes.

Experimento E

En este experimento se colocó la sonda en el íleon medio, y puede observarse que los espectros presentan muchos detalles interesantes. Antes de la isquemia los espectros son casi iguales y muy diferentes de los posteriores a la isquemia. Se encuentran bastante separados del espectro $t=90$ minutos que ocurrió a 30 minutos después de producir la hemorragia.

Observando los espectros desde el punto de vista de la cuantificación del daño isquémico puede notarse que a frecuencias bajas de 100 a 1000 Hz todos los espectros se separan en tres puntos críticos: antes de la isquemia (tejido sano), sufriendo el comienzo de la isquemia, y ya isquémico. En estas frecuencia no se pueden encontrar detalles sobre el grado del daño, pero estos aparecen a frecuencias intermedias entre 10 y 30 KHz, en donde pueden distinguirse muchos cambios en los espectros conforme avanza el tiempo de la isquemia y se acentúa el daño isquémico.

Otra observación importante para caracterizar el comportamiento eléctrico del tejido es la dirección de los cambios que se observan en todos los espectros a las mismas frecuencias: de 10 a 20 KHz crecen, de 20 a 30 KHz decaen, de 30 a 40 KHz crecen de nuevo, y lo mismo de 80 a 200 KHz. Todos estos cambios pueden verse como polos y ceros en la respuesta en frecuencia del sistema.

Experimento F

Este experimento se realizó bajo las mismas condiciones del experimento E y los espectros presentan semejanza con aquellos a frecuencias medias y altas, pero no a frecuencias bajas. En estos espectros se observa aumento en las amplitudes conforme avanza el tiempo y el grado del daño isquémico a todas las frecuencias de medición. Este cambio gradual puede ser explicado por la cantidad de sangre que se encontró alrededor de las sondas en el íleon y dentro de la sonda misma, en la que las señales a bajas frecuencias no se ven afectadas por cambios en los tejidos, los cuales se aíslan un poco por la capa de sangre (capacitiva) sobre los electrodos.

En resumen de los experimentos de animales *in vivo*

En los experimentos se puede garantizar que estamos midiendo impedancia y las salidas de mediciones son confiables que reflejan cambios en la impedancia que se presentaron en cada experimento, sin mucho de ver cuales son la impedancia que se midieron, que son todos de los tejidos o contenidos gástricos, o todos los cambios pertenecen a cambios en los niveles de daño isquémico o intercambio por cambios por la interfaces tejido y contenido gástrico con los electrodos donde estas serán mas

detailladas por otra tesis que esta en paralelo con el presente y mas encargado en eso.

En ocasiones se presentó a algunas frecuencias un ruido de modulación, que a veces causaba un valor de fase erróneo y fuera del rango razonable. Esto se presenta con mayor frecuencia a menos de 1 KHz para sondas con electrodos muy cercanos. Puede explicarse este efecto como ruido de 60 Hz en el sistema.

En algunos experimentos se observa que los componentes de fase son positivos y en otros son negativos, presumiblemente debido a la sonda escogida y sus condiciones.

6.5. Discusión del diseño de las sondas y su desempeño en el sistema

Las sondas en general presentaron problemas de repetibilidad para diferentes animales. La primera generación presenta diferentes propiedades para cada sonda debido al diseño. En la segunda generación se cambió el diseño para permitir la construcción de sondas similares, y éstas se encuentran bajo evaluación *in vivo*.

La deposición de cloruro de plata sobre los electrodos causa un desfasamiento de las señales de 180 grados. Esto puede deberse a los componentes capacitivos generados por la interfase AgCl-tejido. Otro efecto de esta deposición es el desprendimiento de la soldadura de la sonda. Debido a estos efectos, en la segunda generación no se deposita AgCl sobre los electrodos, evitando los problemas, pero con el tiempo presentan el crecimiento de una capa parásita que impide en algunos electrodos un comportamiento constante a lo largo del experimento. Para reducir este efecto se limpian con una lima los electrodos antes de comenzar cada experimento y se toma un espectro en solución salina antes del experimento y otro después para tener una referencia del cambio en comportamiento de los electrodos.

Capítulo 7

7. Conclusiones y trabajos futuros

Por medio de la espectroscopía de impedancia podemos demostrar que los espectros obtenidos son característicos del tejido, y los resultados sugieren que es posible cuantificar el nivel de daño del tejido dado que la aplicación de los principios de espectroscopía de impedancia permiten una mejor caracterización de los tejidos biológicos. Las mediciones de espectroscopía de impedancia son más precisas que otras mediciones de impedancia porque se miden sobre un rango de frecuencias y a partir de los datos obtenidos se extrae el nivel del daño isquémico del tejido medido.

Los experimentos in vivo muestran la importancia de interfaces tejido-sonda y la importancia de que los electrodos estén en contacto con el tejido, y de que para aplicación clínica se requiere que el paciente esté en ayuno o que se le aplique un lavado gástrico.

7.1. Evaluación del espectrómetro de impedancia y su teoría.

El espectrómetro de impedancia desarrollado en esta tesis permite calcular los componentes de la impedancia compleja y es el primer instrumento de espectroscopía de impedancia que calcula las componentes de amplitud y fase empleando un método basado en la modulación y demodulación síncrona y el puente para calcular una impedancia.

El método matemático desarrollado para esta tesis es original y no había sido utilizado para calcular los componentes de una impedancia compleja. Además, a partir de los resultados en el laboratorio se concluye que el método funciona en forma correcta, y garantiza el objetivo - calcular los cambios en la impedancia de un tejido y los niveles del daño isquémico, directamente relacionado con cambios en la impedancia.

El método desarrollado podrá simplificar mucho la técnica de espectroscopía de impedancia y permitirá usar frecuencias muy altas con la ventaja de procesar los datos de interés simplemente a frecuencias bajas y con instrumentación de bajo costo y mejor precisión.

7.2. Evaluación de los resultados del espectrómetro de impedancia.

Aunque los resultados en el laboratorio con impedancias físicas son muy confiables y precisos, los resultados en animales varían de animal en animal y dependen de muchos factores como la estructura del material biológico, la concentración de iones, la cantidad de agua, el volumen y geometría del material biológico, los procesos fisiológicos, la temperatura de la muestra, el tipo de mediciones, y el tipo de electrodos empleados, las condiciones de las sondas, y la cirugía, etc., La impedancia medida en el mismo material biológico puede tener diferentes valores si cualquiera de estos factores varía, pero mantienen una congruencia para un mismo experimento. Esto significa que el espectrómetro funciona de forma correcta, lo que varía son las condiciones externas y se observa que las sondas cambian sus propiedades al entrar en contacto con las sustancias en medio de las cual funciona. Se requiere seguir trabajando con el diseño de éstas.

Esta primer versión del instrumento cumple con los objetivos propuestos y para una futura versión del instrumento se proponen los siguientes puntos:

Hardware

- Reemplazar la fuente de corriente y su circuito de control con un circuito de buena respuesta en frecuencia y con amplitud de corriente controlada por software.
- Usar multiplicadores que no necesiten calibración y sin offset.
- Utilizar una nueva tarjeta de adquisición más práctica o desarrollar una propia con convertidores A/D.
- Desarrollar el sistema de aislamiento del instrumento en forma que satisfaga las normas de aislamiento internacionales.

Software

- Adaptar la aplicación a una PC portátil.
- Usar un solo lenguaje de programación para el control del sistema y el procesamiento de señales.
- Monitorear la impedancia en forma continua y procesar las señales en tiempo real.
- Desarrollar los algoritmos para manejar una interfase con cualquier otro instrumento que pueda ser usado en paralelo y correlacionar los datos de ambos.
- Manejar las alarmas necesarias y la interfase con el usuario.

Experimentos con animales

- Hacer un estudio completo sobre las sondas y el efecto de todas las variables posibles y su comportamiento y armar la mejor sonda posible para nuestra aplicación.
- Desarrollar un protocolo de experimentos con cerdos tomando en cuenta las observaciones basadas en experimentos anteriores, con la garantía de repetibilidad en el comportamiento del instrumento y las condiciones de la cirugía.
- Fundamentar un estudio que busque validar el uso en humanos del espectrómetro de impedancia.

7.3. Algoritmos para medición y monitoreo de isquemia tisular.

Esta línea de investigación requiere en el futuro del desarrollo de un algoritmo de monitoreo y medición de isquemia del tejido. Esta tarea incluye solucionar diferentes problemas:

- Modelación la impedancia del tejido medida en diferentes regiones de frecuencias.
- Definición un conjunto de parámetros de impedancia del tejido gastrointestinal;
- Reconocimiento de patrones en variación de parámetros que son correlacionados con la isquemia.

- Seleccionar los parámetros de impedancia más sensibles para la isquemia.
- Desarrollar una red neuronal para estimar medidas de PHi , Pco_2 , Po_2 , y otras medidas usando parámetros característicos de impedancia del tejido.

Después de resolver estos problemas, los siguientes algoritmos tienen que ser desarrollados:

- Algoritmo para extraer parámetros de los "espectros" medidos, para fijar el modelo de impedancia del tejido seleccionado.
- Algoritmo para extraer un conjunto de parámetros espectrales de impedancia de tejido los cuales caracterizan el tejido y son sensibles para la isquemia.
- Algoritmo para estimación de otros patrones como el pH del espectro.
- Algoritmo para monitoreo de isquemia.

Estos algoritmos pueden ser desarrollados independientemente y podrán integrarse en un solo algoritmo para medición y monitoreo de isquemia del tejido, empleando como entrada los datos de medición de impedancia.

Este instrumento se puede usar para calcular el espectro de impedancia de cualquier tipo de tejido biológico y en general cualquier impedancia. El método desarrollado para esta tesis puede ser de gran utilidad en comunicaciones, por sus grandes ventajas: facilidad de aplicación, economía en su construcción y flexibilidad para funcionar sobre un amplio rango de frecuencias.

Por último hay que mencionar que esta tesis tendrá continuación en el doctorado y constituye una línea de investigación en el laboratorio.

Referencias:

- [1] Ristic B., "Development of a System for Tissue Ischemia Monitoring and Measurement using Impedance Spectroscopy", Thesis of Degree of Doctor of Philosophy in Biomedical Engineering by Borislav Ristic, September, 1997.
- [2] Fiddian-Green R G.; "Role of the gut in shock and resuscitation", *Bailliere's Clinical Anesthesiology*, Vol.5, No.1, June 1991.
- [3] Marston A "Footnote: Splanchnic Ischemia and Multiple Organ Failure", Marston, Bulkey, Fiddian-Green, Haglund editors, the C.V Mosby Co., St. Louis, 1989.
- [4] Marston, Bulkey, Fiddian-Green, Haglund editors, "Splanchnic Ischemia and Multiple Organ Failure", the C.V. Mosby Co., st. Louis, 1989.
- [5] Fiddian-Green RG, "Tonometry: Theory and Applications", *Intensive Care World*, 1992.
- [6] Gutierrez G, and Steven D. Brown, "Gastric Tonometry: A New Monitoring Modality in The Intensive Care Unit", *J Intensive care Med* 1995, 10:34-44.
- [7] S Kun and Peura, "Tissue ischemia detection using impedance spectroscopy", *Proceedings, IEEE/EMBS 16th Annual International Conference*, PP. 868-9, Baltimore, 1994.
- [8] Ackman and MA. Seitz, "Methods of complex impedance measurements in biologic tissue", *Crit. Rev. Biomed Eng*, vol. 11.pp 281-311, 1984.
- [9] R. Pallas-Areny and J.G. Webster. "Bioelectric impedance measurements using synchronous sampling." *IEEE Trans. on Biomed. Eng.* vol. 40, No 8, pp. 824-829, August 1993.
- [10] Sacristán E, "Development of a flexible PCO₂ sensor for the determination of intermucosal pH (pHi) in the Gastro-Intestinal Tract", Thesis of Master of science, Worcester Polytechnic Institute, 1990.
- [11] Grum CM, Fiddian-Green R.G., Pittenger GI et al (1984), "Adequacy of Tissue Oxigenation in intact dog intestine". *Jurnal of Applied Physiology*, 56: 1065- 1069.
- [12] Fink MP, Fiddian-Green RG, "Caer of the gut in the critically ill", *Splanchnic Ischemia and Multiple Organ Failure*, Marston, Bulkey, Fiddian-Green, Haglund editores, The C.v., Mosby Co., st. louis, 1989.
- [13] Antonson J.B., Boyle CC, Kruihoff K.L, Wang H, Sacristan E., Rothschild HR, Fink MP, "Validation of tonometric Measurement of gut of Intramucosal pH during Endotoxemia and Mesenteric Occlusion in pigs". *Am J. Physiol* 259 (Gastrointest, Liver Physiol. 22): G 519- G523, 1990.
- [14] Haglund U, Bulkley GB, Granger DN, " On the Pathophysiology of Intestinal Ischemic Injury", *actap chir. Scand.* 153: 321- 324, 1987.

- [15] Fink MP, Antonsson JB, Wangtl, Rothschild HR (1991) "Etiology of Increased Intestinal Permeability in endotoxin pigs: limited role for mesenteric hypoperfusion Archives of surgery" 126: 211- 218.
- [16] Parks DA, Bulkley GB, Granger DN, Hamilton SR & McCord JM(1982) "Ischemic Injury in the cat small intestine: role of superoxide radicals." Gastroenterology 82: 31- 36.
- [17] Hugland U, Montgomery A & Borgstrom A(1990) "Intraluminal Pancreatic proteases and Intestinal Mucosal Injury During Ischemia and Reperfusion" . Circulatory Shock 31- 36.
- [18] Dunn R.M., " Plastic surgery Education Fundation: Essay", Plastic Surgery Education Fundation, chicago, IL, 1990.
- [19] Jones B.M., "Monitors for the cutaneous Microcirculation"Plastic & Reconstructive Surgery, Vol. 73, No .5, pp. 843-850, 1984.
- [20] Concamon M.J., Stewart D.H., Welsh C.F. and Puckett C.L., "Impedance Plethysmography: A New Method for Continuos Muscle Perfusion Monitoring", Plastic & Reconstructive Surgery, Vol. 88, No .2, PP. 292-298, 1991.
- [21] Harrison D.h. and Mott G., "Impedance Monitoring for Subcutaneous Free Flap Transfer", British Jornal of Plastic Surgery, Vol. 42, PP. 318-324, 1989.
- [22] Macdonald J.D, "Impedance spectroscopy" – Annals of Biomedical Engineering, Vol. 20, pp. 289-305, 1992.
- [23] Gielen F.L.H., Wallinga-de Jonge W. and Boon K.L., "Electrical Conductivity of Skeletal MUScle Tissue: Experimental Results from Different Muscles in vivo", Medical and Biological Engineering and Computing, Vol. 18, PP. 569-577, 1984.
- [24] Gerth W.A. and Watke C.M., "Electrical impedance spectroscopic Monitoring of Body o Compartmental Volumen Changes" Journal of Clinical Engineering, Vol. 18, PP. 253-260, 1993.
- [25] Gerth W.A. and Watke C.M., "Electrical properties of Tissue and Cell Suspension", Advances in Biological Physica, Vol. 5, PP. 1470 209, 1993.
- [26] Cole K.S. and Cole R.H., " Dispersion and Absorption in Dielectrics', Journal of chemical Physics, Vol. 9, PP. 341- 351. 1941.
- [27] Kun S. R. Peura R.A., " Selection of measurmremnt frequencies for optimal extraction of tissue impedance model parameters", { Worcester Polytechnic Institute, , Biomedical Engineering Department, 100 Institute Road, Worcester, MaA 01606, USA.
- [28] Kun. S., " Tissue Perfusion\ Ischemia Monitoring using Impedance Spectroscopy", the Whitaker Fundation grant, 1994.
- [29] Kleber A.G., Ricgger C.B. and Janse M.J., "Electrical Uncoupling and Increase of Extracellular Resistance after Induction of Ischemia in Isolated, Arterially Muscle", Circulation Research, Vol. 63, PP. 923- 929, 1980.

[30] Stremler FG., "Introducción a los Sistemas de Comunicación", University of Wisconsin Madison, Addison-Wesley Publishing, E.U.A, PP. 219-371, 1993.

[31] Taubo H, Donald L.Schilling. "principles of communication systems". Amplitud – Modulation systems, McGraw-Hill, 1986.

[32] Roberto F. Coughlin, Frederick F. Driscoll, "Amplificadores Operacionales y Circuitos Integrados Lineales". Prentice-Hall, 1993.

[33] Aljama C.T., Cadena M.M., Charleston V.S., Yañez S.O., "Procesamiento Digital de Señales", Universidad Autónoma Metropolitana, 1992.

[34] Oppenheim A V., " Digital signal processing", Prentice Hall, 1975.

[35] Bao J., Davis C.C. and Schmuker R.E., "Impedance Spectroscopy of human Erythrocytes: System Calibration and Nnlinear Modeling". IEEE Transaction on Biomedical Engineering, Vol. 40, pp. 364-378, 1993.

[36] John R., "Critical reivewsTM in Biomedical Engineering". Begell House, Inc. Vol 24, Issues 4-6, 1996.

Apéndice

Algoritmo para calcular los coeficientes de calibración para los polinomios

```
N =25;
M=7; % Numero de espectros. t=1:1:M;
datos=zeros(N+1,2*M+1); for j=1:M;
Ar=(['r' int2str(j) '_' ]); % los primeros letras de los nombres del archivos.
fileN=['afco' Ar]; filename = [fileN ' `']; eval(['load ` filename']);
X = eval(fileN); datos(:,1)=X(:,1); datos(:,2*j:2*j+1)=[X(:,2) X(:,5)];
end
N=7; % Numero de pontos de Calibración, Las entradas.
F=26; % Numero de frecuencias;
NP=5; % el orden del polynomial
amca1_po=zeros(F,NP+2); % Lineas de calibraciones de amplitud.
faca1_po=zeros(F,NP+2); % Lineas de calibraciones de fase.
amp_Salidas=zeros(N,F); % las impedancias de salida con cada frec.
fase_Salidas=zeros(N,F); % las impedancias de salida con cada frec.
Entradas=[1,5.6,10,22,33,47,56]; % las impedancias de entrada
amp_salidas = datos(:,2:2:2*M+1); % datos de Amplitudes de salidas,
fase_salidas= datos(:,2+1:2:2*M+1);
amca1_po(:,1)= datos(:,1);
faca1_po(:,1)= datos(:,1);
for f=1:F
[amca1_po(f,2:NP+2),s]=polyfit(amp_salidas(f,:),Entradas,NP);
[faca1_po(f,2:NP+2),s]=polyfit(fase_salidas(f,:),Entradas,NP);
end;
eval(['save -ascii `amca2_po` amca1_po']); eval(['save -ascii `faca2_po` `
faca1_po`]);
```

**Algoritmo para leer las señales de cada espectro y calcular amplitudes y fases
Usando el algoritmo AmFa_co1(X) para cada archivo (para cada frecuencia)**

```
for i=0:25
```

```
    Ar=['s4_']; % el nombre del espectro.
```

```
    datak = [Ar int2str(i)];
```

```
    filename = [datak ` `];
```

```
    eval(['load ` filename']);
```

```
    X = eval(datak);
```

```
    [am,am1,am2,fas]=AmFa_co1(X);
```

```
    amp(i+1)=am;
```

```
    amp1(i+1)=am1;
```

```
    amp2(i+1)=am2;
```

```
    fase(i+1)=fas;
```

```
    frec(i+1)=frecuen(i+1);
```

```
end
```

```
af=[frec',amp',amp1',amp2',fase'];
```

```
fileN=['afco' Ar];
```

```
eval(['save -ascii ` fileN ` af']);
```

Algoritmo para calcular la amplitud y fase de las señales del tejido (x1) y referencia (x2)

```
function [amp,amp1,amp2,fase]=AmFa_co1(x);
x1=x(1:2:length(x));
x2=x(2:2:length(x));

p_prom=204;          % cuantas muestras se presenta un periodo.
In_cent=length(x)/2; % Indice del centro de correlacion
In_min=In_cent-p_prom/2;

z_refe=47;          % z_refe:Impedancia de referencia dmai=0.08;
ma1=[max(x1(1:200)),max(x1(201:400)),max(x1(401:600)),max(x1(601:800)),max(x1(801:1000))];
mi1=[min(x1(1:200)),min(x1(201:400)),min(x1(401:600)),min(x1(601:800)),min(x1(801:1000))];
ma2=[max(x2(1:200)),max(x2(201:400)),max(x2(401:600)),max(x2(601:800)),max(x2(801:1000))];
mi2=[min(x2(1:200)),min(x2(201:400)),min(x2(401:600)),min(x2(601:800)),min(x2(801:1000))];

[ma1_r,ma1_reps]=MasRept1(ma1,dmai);
[ma2_r,ma2_reps]=MasRept1(ma2,dmai);
[mi1_r,mi1_reps]=MasRept1(mi1,dmai);
[mi2_r,mi2_reps]=MasRept1(mi2,dmai);

amp1=mean(mean(ma1_reps)-mean(mi1_reps));
amp2=mean(mean(ma2_reps)-mean(mi2_reps));
amp=(amp1/amp2)*z_refe; % hay que tomar en cuenta las ganancias.

C = xcorr(x1,x2);
[ma,I_ma]=max(c);
fase=-((360/p_prom)*(I_ma-In_min)-180); % -1 por que la fase volteada.
```

Programa de control y adquisición de señales del espectrómetro de impedancia

```
/* Include files */
#include <stdio.h>
#include <conio.h>
#include <math.h>
#include <dos.h>
#include "graphics.h"
#include "cb.h"
#include "stdlib.h"
#include "string.h"

/* Prototypes */
void ClearScreen (void);
void GetCursor (int *x, int *y);
void MoveCursor (int x, int y);
void cambio_f_D_B (double f_signal,double f_clock,int fr_bin[]); void capt_Dat (char
*argv[]);
main (char *argv[])

{

    /* Declarations de variables */
    int Row, Col,i,j;
    int BoardNum = 0;
    int ULStat = 0;
    int PortNum, PortType, Direction;
    int BitValue, BitNum;
    int Gain = BIP5VOLTS;
    unsigned DataValue = 0;
    float RevLevel = (float)CURRENTREVNUM;
    float EngUnits;
    int Row2,Col2;
    int UDStat = 0;
    int hilo;

    FILE *fp;
    double f_signal,f_signal1,f_signal2, f_code;
    double f_clock=20000000,f_B_Corte=100;
    int fr_bin[33],fr_bin1[33];
    char a,stringA[20], stringB[20];
    register int l, k;

    int f=0,mf,Num_fs=35,canal_fre,datos;
    double frecuencias[40];

    unsigned int num_can;
    int LowChan = 0;
    int HighChan = 1;
    long Rate = 10000;
```

```

unsigned Options;

float nm,num_muest=1000;
unsigned Data,ADData[1000];
float Voltage,Volt_Data[1000];

/*.....*/

    frecuencias[0]=100;          frecuencias[11]=225000;
    frecuencias[1]=1000;        frecuencias[12]=250000;
    frecuencias[2]=10000;       frecuencias[13]=275000;
    frecuencias[3]=25000;        frecuencias[14]=300000;
    frecuencias[4]=50000;        frecuencias[15]=325000;
    frecuencias[5]=75000;        frecuencias[16]=350000;
    frecuencias[6]=100000;       frecuencias[17]=375000;
    frecuencias[7]=125000;       frecuencias[18]=400000;
    frecuencias[8]=150000;       frecuencias[19]=425000;
    frecuencias[9]=175000;       frecuencias[20]=450000;
frecuencias[10]=200000;

frecuencias[21]=475000;

    frecuencias[22]=500000;      frecuencias[31]=850000;
    frecuencias[23]=525000;      frecuencias[32]=900000;
    frecuencias[24]=550000;      frecuencias[33]=950000;
    frecuencias[25]=575000;      frecuencias[34]=1000000;
    frecuencias[26]=600000;      frecuencias[35]=1250000;
    frecuencias[27]=650000;      frecuencias[36]=1500000;
    frecuencias[28]=700000;      frecuencias[37]=1750000;
    frecuencias[29]=750000;      frecuencias[38]=2000000;
    frecuencias[30]=800000;      frecuencias[39]=2100000;

/* Declare UL Revision Level */
    ULStat = cbDeclareRevision(&RevLevel);
ClearScreen(); printf (" PROGRAMACION LOS DOS CI A DOS FRECUENCIAS()\n\n");
    GetCursor (&Col, &Row);

/*****/
printf("\n\nPor favor intruduzca el nombre del archivo p/numeros: ");
    scanf("%20s", argv[1]);
    fflush(stdin); /* flush the input stream in case of bad input */
    strncpy(stringB, argv[1], 7);
printf("\n - Esperan... Poquitito ! ");

***** Programar las salidas a la puerta AUXPORT *****

/* write BitValue to BitNum of FIRSTPORTB
Parameters:
    BoardNum :the number used by CB.CFG to describe this board

```

```

        PortType    :must be FIRSTPORTB or AUXPORT
        BitNum     :the number of the bit to be set to BitValue
        BitValue   :the value written to the port */
PortType=AUXPORT;

for (f=0;f<Num_fs;f++)
{
f_signal1=frecuencias[f];
f_signal2=f_signal1+f_B_Corte;

cambio_f_D_B(f_signal1,f_clock,fr_bin);
cambio_f_D_B(f_signal2,f_clock,fr_bin1);

for(j=0;j<=31;j++)
{
ULStat = cbDBitOut (BoardNum, PortType, 0,fr_bin[j]);
ULStat = cbDBitOut (BoardNum, PortType, 1, fr_bin1[j]);
delay(20);
ULStat = cbDBitOut (BoardNum, PortType, 2,1 ); delay(20);
ULStat = cbDBitOut (BoardNum, PortType, 2,0);
/* printf("%i ",fr_bin[j]);
printf("%i, ",fr_bin1[j]);*/

} /* end del FOR. */

ULStat = cbDBitOut (BoardNum, PortType, 3 ,1 ); delay(20);
ULStat = cbDBitOut (BoardNum, PortType, 3 ,0 ); printf ("\n\n Los circuitos Ya estan
programados\n\n"); delay(500);
/* tomar las muestras */

/*****/
/* frec=f;*/
itoa (f, stringA, 10);
strncat(argv[1], stringA, 7);
/*****/
if ((fp=fopen(argv[1], "w+b",stdout))==NULL)
{
printf("No se puede abrir el archivo\n");
delay (5000);
return 1;
}
Options = BURSTMODE + CONVERTDATA + NOTODINTS;

```

```

/* Options = CONVERTDATA + BACKGROUND + SINGLEIO; */
ULStat = cbAInScan (BoardNum, LowChan, HighChan, num_muest,
                   &Rate,      Gain, ADDData, Options);

for(nm=0;nm<num_muest;nm++)
    {

    UDStat = cbToEngUnits (BoardNum, Gain,ADDData[nm], &Volt_Data[nm]);
fwrite(&Volt_Data[nm], sizeof(&Volt_Data[nm]), 0, fp);/*escribe un número*/
    printf("%5.2f %s",Volt_Data[nm]," ");

    }
fclose(fp);
strncpy (argv[1], stringB, 10);

/* for(nm=0;nm<=num_muest;nm++)
    {
    ADDData[nm]=0;
    } */
} /* de las frecuencias */
printf("\n - Gracias por Esperar... Poquitito ! Listo "); return 0;
} /* LA DEL MAIN */

/*****
*
* Name: ClearScreen
* Arguments: ---
* Returns: ---
*
* Clears the screen.
*
*****/

#define BIOS_VIDEO 0x10
void ClearScreen (void)
{
    union REGS InRegs,OutRegs;
    InRegs.h.ah = 0;
    InRegs.h.al = 2;
    int86 (BIOS_VIDEO, &InRegs, &OutRegs);
    return;
}

```

```

/*****
• Name: MoveCursor
• Arguments: x,y - screen coordinates of new cursor position
• Returns: ---
*
• Positions the cursor on screen.
*
*****/
void MoveCursor (int x, int y)
{
    union REGS InRegs,OutRegs;
    InRegs.h.ah = 2;
    InRegs.h.dl = (char) x;
    InRegs.h.dh = (char) y;
    InRegs.h.bh = 0;
    int86 (BIOS_VIDEO, &InRegs, &OutRegs);
    return;
}
/*****
• Name: GetCursor
• Arguments: x,y - screen coordinates of new cursor position
• Returns: *x and *y
*
• Returns the current (text) cursor position.
*****/
void GetCursor (int *x, int *y)
{
    union REGS InRegs,OutRegs;
    InRegs.h.ah = 3;
    InRegs.h.bh = 0;
    int86 (BIOS_VIDEO, &InRegs, &OutRegs);
    *x = OutRegs.h.dl;
    *y = OutRegs.h.dh;
    return;
}
void cambio_f_D_B (double f_signal,double f_clock,int fr_bin[])
{
    double i,j,f_code;
    f_code=((pow(2,32)*f_signal)/f_clock)+0.5;
    for(i=0;i<32;i++)
    {
        if(f_code>(pow(2,(31-i))-1))
        {
            fr_bin[i]=1;
            f_code=f_code-pow(2,(31-i));
        }
    }
    else fr_bin[i]=0;
}

```

Diagrama electrónico del espectrómetro de impedancia

