



# La Bioingeniería en la Argentina

## EDITORES

Ricardo S. Sánchez Peña y Marta Rosen

## PUBLICADO POR



**ANCEFN**

Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

# **La Bioingeniería en la Argentina**

---

**EDITORES**

Ricardo S. Sánchez Peña y Marta Rosen

---

**PUBLICADO POR**

Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales [ANCEFN]

SERIE: PUBLICACIONES CIENTIFICAS N° 13 (2017)

Sánchez Peña, Ricardo

La bioingeniería en la Argentina / Ricardo Sánchez Peña ; Marta Rosen. - 1a edición especial - Ciudad Autónoma de Buenos Aires : ANCEFN - Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 2017.

Libro digital, PDF - (Publicaciones científicas ; 13)

Archivo Digital: descarga y online

Edición para Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

ISBN 978-987-4111-13-5

1. Bioingeniería. I. Rosen, Marta II. Título

CDD 660.6

Fecha de catalogación: diciembre 2017

Esta publicación es propiedad de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

ISBN 978-987-4111-13-5

Primera edición, Buenos Aires,

Copyright © by Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Toda la correspondencia referida a esta publicación debe dirigirse a:

*All enquires regarding this publication should be addressed to:*

Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Av. Alvear 1711, 4º piso, (1014) Buenos Aires.

E-mail: [biblio@ancefn.org.ar](mailto:biblio@ancefn.org.ar)

Sitio web: [www.ancefn.org.ar](http://www.ancefn.org.ar)

Queda hecho el depósito previsto por la Ley 11.723

Todos los derechos reservados. Ninguna parte de esta obra puede ser reproducida o transmitida en cualquier forma o por cualquier medio electrónico o mecánico, incluyendo fotocopiado, grabación o cualquier otro sistema de archivo y recuperación de información, sin el previo permiso por escrito de la Academia.

# **La Bioingeniería en la Argentina**

**Ricardo S. Sánchez Peña y Marta Rosen**

**Editores**

Contribuciones de los siguientes autores (por orden alfabético):

*Gustavo A. Abraham*  
*Ricardo Armentano*  
*Pablo C. Caracciolo*  
*Santiago Collavini*  
*Patricio Colmegna*  
*Hernán De Battista*  
*Mariano Fernández Corazza*  
*Fabrizio Garelli*  
*Fernán González Bernaldo de Quirós*  
*Sergio E. Lew*  
*Camilo J. Mininni*  
*Florencia Montini-Ballarin*  
*Carlos Muravchik*  
*Marcelo Risk*  
*Ricardo S. Sánchez Peña*  
*Eduardo San Román*  
*B. Silvano Zanutto*

**15 de Diciembre, 2017**

# ÍNDICE

|                                                                                                              |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>ÍNDICE</b>                                                                                                | <b>IV</b> |
| <b>Prólogo</b>                                                                                               | <b>1</b>  |
| <b>Prefacio</b>                                                                                              | <b>2</b>  |
| <b>1. Enseñanza de la Bioingeniería</b>                                                                      | <b>5</b>  |
| 1.    Introducción . . . . .                                                                                 | 7         |
| 2.    Antecedentes . . . . .                                                                                 | 9         |
| 3.    Propuesta . . . . .                                                                                    | 13        |
| 4.    Discusión . . . . .                                                                                    | 18        |
| 5.    Conclusión . . . . .                                                                                   | 19        |
| <b>REFERENCIAS</b>                                                                                           | <b>20</b> |
| <b>2. Nuevas Estrategias para el Desarrollo de Injertos Vasculares</b>                                       | <b>22</b> |
| 1.    Antecedentes Clínicos . . . . .                                                                        | 23        |
| 2.    La Ingeniería de Tejidos como una solución alternativa para el diseño de Injertos Vasculares . . . . . | 24        |
| 3.    Técnicas de Fabricación . . . . .                                                                      | 26        |
| 4.    Utilización de Polímeros sintéticos y/o Naturales . . . . .                                            | 28        |
| 5.    Estructuras c/comportamiento mecánico biomimético . . . . .                                            | 29        |

## ÍNDICE

|                                    |                                                                                                   |           |
|------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 6.                                 | Incorporación de agentes terapéuticos y modificación superficial de injertos vasculares . . . . . | 32        |
| 7.                                 | Perspectivas Futuras y Desafíos . . . . .                                                         | 36        |
| <b>REFERENCIAS</b>                 |                                                                                                   | <b>37</b> |
| <b>3. El código neuronal</b>       |                                                                                                   | <b>44</b> |
| 1.                                 | Introducción . . . . .                                                                            | 45        |
| 1.1.                               | La neurona . . . . .                                                                              | 45        |
| 2.                                 | Neuronas visuales: Hubel y Wiesel . . . . .                                                       | 48        |
| 3.                                 | Neuronas dopaminérgicas y el error en la predicción . . . . .                                     | 49        |
| 4.                                 | Neuronas de la corteza frontal . . . . .                                                          | 51        |
| 5.                                 | La neurona de Jennifer Aniston . . . . .                                                          | 52        |
| 6.                                 | Poblaciones neuronales . . . . .                                                                  | 54        |
| 7.                                 | El estudio del código neuronal en el Instituto de Ingeniería Biomédica . . .                      | 56        |
| <b>REFERENCIAS</b>                 |                                                                                                   | <b>60</b> |
| <b>4. Procesamiento de señales</b> |                                                                                                   | <b>62</b> |
| 1.                                 | Introducción . . . . .                                                                            | 63        |
| 1.1.                               | Modelización y Sensores . . . . .                                                                 | 65        |
| 2.                                 | Problema directo . . . . .                                                                        | 66        |
| 2.1.                               | Solución al problema directo . . . . .                                                            | 67        |
| 2.2.                               | Segmentación y mallado . . . . .                                                                  | 68        |
| 2.3.                               | Estimación de la conductividad eléctrica . . . . .                                                | 70        |
| 2.4.                               | Fuentes . . . . .                                                                                 | 71        |
| 3.                                 | Problema inverso . . . . .                                                                        | 72        |
| 3.1.                               | Modelo de señal y ruidos . . . . .                                                                | 72        |

|                    |                                                         |           |
|--------------------|---------------------------------------------------------|-----------|
| 3.2.               | Algoritmos de resolución del problema inverso . . . . . | 74        |
| 3.3.               | Calidad de desempeño . . . . .                          | 77        |
| 4.                 | Conectividad en EEG, MEG y sEEG . . . . .               | 79        |
| 5.                 | Conclusiones . . . . .                                  | 82        |
| <b>REFERENCIAS</b> |                                                         | <b>82</b> |

## **5. Proyecto Páncreas Artificial en Argentina** **89**

|      |                                                            |     |
|------|------------------------------------------------------------|-----|
| 1.   | Introducción . . . . .                                     | 90  |
| 2.   | Orígenes y Desarrollo del Proyecto . . . . .               | 91  |
| 3.   | De la Terapia Convencional al Control Automático . . . . . | 93  |
| 4.   | Algoritmo ARG . . . . .                                    | 95  |
| 4.1. | Regulador LQG Conmutado . . . . .                          | 96  |
| 4.2. | Capa de Seguridad SAFE . . . . .                           | 100 |
| 5.   | Simulaciones . . . . .                                     | 102 |
| 6.   | Pruebas Clínicas . . . . .                                 | 106 |
| 6.1. | Selección de los pacientes . . . . .                       | 106 |
| 6.2. | Hardware y software . . . . .                              | 108 |
| 6.3. | Procedimientos clínicos/Comidas . . . . .                  | 108 |
| 6.4. | Resultados preliminares . . . . .                          | 109 |

## **REFERENCIAS** **111**

## **6. Modelización y Simulación del Sistema Cardiovascular** **115**

|      |                                                           |     |
|------|-----------------------------------------------------------|-----|
| 1.   | Introducción . . . . .                                    | 116 |
| 2.   | Simulación y medición de la frecuencia cardiaca . . . . . | 118 |
| 2.1. | Simulación de la frecuencia cardiaca . . . . .            | 118 |
| 2.2. | Medición de la frecuencia cardiaca . . . . .              | 119 |

## ÍNDICE

|      |                                           |     |
|------|-------------------------------------------|-----|
| 3.   | Métodos de interpolación . . . . .        | 120 |
| 3.1. | Método de splines cúbicas . . . . .       | 120 |
| 3.2. | Método con filtros FIR . . . . .          | 123 |
| 4.   | Resultados . . . . .                      | 125 |
| 4.1. | Resultados con la simulación . . . . .    | 125 |
| 4.2. | Resultados con la base de datos . . . . . | 128 |
| 5.   | Discusión . . . . .                       | 130 |

## REFERENCIAS 132

### 7. Ingeniería Cardiovascular 135

|      |                                                                                  |     |
|------|----------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1.   | Introducción . . . . .                                                           | 136 |
| 1.1. | Un largo y fascinante periplo . . . . .                                          | 138 |
| 1.2. | A la Ingeniería Cardiovascular la trajo un cisne negro (no la cigüeña) . . . . . | 140 |
| 2.   | Dinámica de la pared arterial . . . . .                                          | 143 |
| 2.1. | Animales crónicamente instrumentados . . . . .                                   | 143 |
| 2.2. | Estudios in vitro . . . . .                                                      | 145 |
| 2.3. | Biorreactor . . . . .                                                            | 145 |
| 2.4. | Instrumentación quirúrgica . . . . .                                             | 146 |
| 2.5. | Ecuación Constitutiva de la Pared Arterial . . . . .                             | 146 |
| 2.6. | Arreglo musculares de resortes-amortiguadores inteligentes . . . . .             | 147 |
| 2.7. | Mapeo viscoelástico de la pared arterial y modelos in silico . . . . .           | 148 |
| 2.8. | Estudios de Criopreservación . . . . .                                           | 149 |
| 3.   | Dinámica Endotelial . . . . .                                                    | 150 |
| 4.   | Dinámica Nolineal Aplicada . . . . .                                             | 150 |
| 4.1. | Aplicación de Modelos Fraccionales . . . . .                                     | 150 |



|                    |                                                                                                |            |
|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 4.2.               | Complejidad del árbol arterial: Analisis de las formas de onda de presión . . . . .            | 151        |
| 4.3.               | Modelando la presión arterial por medio de solitones . . . . .                                 | 152        |
| 5.                 | Desde la mesa del Laboratorio a la cabecera de la cama del paciente. Estado del Arte . . . . . | 153        |
| 5.1.               | Laboratorio vascular no invasivo . . . . .                                                     | 155        |
| 5.2.               | Edad Vascular . . . . .                                                                        | 155        |
| 6.                 | Comentarios Finales . . . . .                                                                  | 156        |
| <b>REFERENCIAS</b> |                                                                                                | <b>158</b> |

## PRÓLOGO

Pocas áreas interdisciplinarias han resultado tan fértiles como la Bioingeniería. Esto se evidencia en el impacto mutuo que han tenido tanto en el avance del conocimiento como en las aplicaciones prácticas derivadas del mismo. Las estructuras biológicas han servido para plantear innovaciones tanto en el campo de la ingeniería y la arquitectura como en el desarrollo de nuevos materiales. Recíprocamente el modelado de procesos biológicos ha permitido la comprensión de los mecanismos fundamentales que los regulan. Esta interacción virtuosa ha llevado simultáneamente a aplicaciones médicas responsables de mejoras sustantivas en la extensión y calidad de vida de millones de individuos. Finalmente, y como se demuestra en el presente volumen, nuestro país cuenta con recursos humanos de excelencia que permiten apostar a la bioingeniería como una de las áreas de desarrollos competitivos a nivel internacional.

Buenos Aires, Argentina  
Diciembre, 2017

Dr. Lino S. Baraňao,  
Ministro de Ciencia, Tecnología  
e Innovación Productiva

## PREFACIO

El objetivo de esta edición es mostrar algunos avances importantes en campos de la Bioingeniería en la Argentina. Si bien no se abarcan todas las temáticas desarrolladas en el país, es nuestro objetivo dar un panorama representativo de la actividad llevada a cabo por ingenieros que se han volcado a estudiar esta problemática.

No se puede dejar de mencionar a los Drs. Luis F. Rocha (miembro de esta Academia, fallecido en 2009) y Máximo E. Valentinuzzi, pioneros de esta área del conocimiento en Argentina. El primero de ellos, desarrolló sus trabajos en procesamiento de la voz y el estudio de inestabilidades y caos en redes de autómatas, siempre vinculado al procesamiento digital de señales. Mientras que el Dr. Valentinuzzi, realizó importantes contribuciones en bioimpedancia, biomecánica ventricular y fibrilación - defibrilación cardíaca. Asimismo fue y sigue siendo un educador y promotor de la Ingeniería Biomédica.

En el ámbito de la educación, la Universidad de Entre Ríos en Octubre de 1984 crea la Facultad de Ingeniería y abre los cursos correspondientes al primer año de la carrera de Bioingeniería. La misma, fue reconocida oficialmente en marzo de 1985, resultando pionera en brindar formación de grado en el conocimiento de la Bioingeniería, no solo en la Argentina sino en Sudamérica. El 3 de julio de 1992, se gradúan en dicha Facultad los ocho primeros Bioingenieros del país y el entonces Decano Ing. A. Carpio instituye oficialmente ese día como el “Día del Bioingeniero”.

Cuando se encaran aplicaciones de distintas ramas de la Ingeniería tradicional para resolver problemas que presentan los campos de la Medicina y/o de la Biología, se ingresa en la complejidad de la Bioingeniería. En este campo, relativamente poco extendido en nuestro país, se abarca desde la bioinstrumentación, el diseño de instrumental médico y equipos, hasta el desarrollo de *software* y de nuevos métodos y procedimientos que finalmente desembocarán en aplicaciones a la Clínica médica. Entre las especialidades de la Bioingeniería, notamos a título de ejemplo, la Ingeniería genética, que emplea la Bioquímica y la Mecánica para comprender los procesos que llevan a ciertas enfermedades. Aplicaciones conocidas incluyen el desarrollo de prótesis biocompatibles, el diagnóstico y terapia con equipos de la clínica médica como los micro-implantes, los equipos de obtención de imágenes como la RMN, la obtención de señales eléctricas en el cerebro, la bioinformática, óptica biomédica, la neuroingeniería, ingeniería de tejidos, farmacéutica, clínica, desarrollo de implantes, etc.

Esta variedad de resultados buscan cerrar la brecha entre la Ingeniería, la Medicina y la

Biología, combinando el diseño de soluciones y la resolución de problemas que son herramientas y habilidades que aporta la formación del ingeniero. Comparando con otras especialidades de las Ingenierías, este es un campo emergente que abre un abanico interdisciplinario cuya evolución es promisorio. La investigación y el desarrollo en la Bioingeniería es la que abre una amplia gama de subcampos, algunos de los cuales son presentados en esta edición.

La contribución inicial a esta edición, está dirigida a la revalorización de la enseñanza de la Bioingeniería. Se rinde homenaje al Dr. Favalaro quien abrió el camino de esta especialidad no solo aportando una técnica novedosa sino también haciendo un llamado al compromiso social. Basado en estas ideas, el Dr. Armentano propone orientar la formación de los futuros bioingenieros tanto desde el punto de vista técnico como humanitario.

En el capítulo dedicado a la temática de injertos vasculares, el aspecto interdisciplinario, se enfoca desde la ciencia e ingeniería de los biomateriales. La problemática que significa obtener injertos vasculares de diámetros menores a los 6 mm para la regeneración de arterias, demanda el empleo de polímeros naturales o sintéticos con características particulares. Es así como la ingeniería de tejidos se presenta como una solución alternativa para el diseño de injertos vasculares. En el capítulo aquí presentado, se discute dicho diseño proponiendo métodos de obtención no tradicionales.

El siguiente capítulo está dedicado a presentar el estado del arte en lo que se conoce hasta hoy sobre el código neuronal y se expone detalladamente el grado de complejidad del comportamiento neuronal. Se analiza el papel que juegan los estímulos externos, poniendo en evidencia la cooperación entre neuronas que combinan las distintas características del estímulo hasta alcanzar la información total. Los caminos y etapas para llegar a esta información son los que se quieren modelar para aproximarse a desentrañar el código neuronal. Asimismo, se da un panorama de los proyectos en los que interviene el grupo de autores del mismo.

Se plantea además un capítulo que desarrolla el proceso de modelización y formulación numérica para el problema directo de electro- y magneto-encefalografía (EEG, MEG), en donde se procesan imágenes de resonancia magnética estructural (MR) y de tomografía computada (CT). También se muestra la modelización estadística, y se describen técnicas de procesamiento para resolver el problema inverso y para verificar su desempeño o calidad de estimación. Este conjunto de herramientas permite, en un contexto asociado a pacientes con epilepsia, estudiar las zonas y redes epileptógenas, ubicación, características y conectividad, buscando mejoras tanto en aspectos de investigación, como en el diagnóstico y tratamiento.

Otro tema desarrollado en la presente edición plantea una temática crítica para la salud, como lo es el proyecto de un Páncreas artificial. Como se indica en el mismo, solo en la Argentina hay 3 millones de pacientes, de los cuales el 10 % tiene diabetes insulino-dependiente cuyo control se aborda, mediante un mecanismo automático que permite mantener niveles normales de glucosa en sangre. Se presenta un panorama de este proyecto que fue el primero en Latinoamérica en realizar pruebas clínicas en pacientes diabéticos. Otra vez, al intentar ir de la terapia convencional al control automático, el aporte interdisciplinario (*software*,

electrónica) mide la importancia (salud y economía) de la bioingeniería.

El estudio de los mecanismos responsables del control neural de la regulación de la presión arterial y la frecuencia cardíaca, se abordan en el siguiente capítulo. Esto permite el mejoramiento del diagnóstico y tratamiento de enfermedades tales como la hipertensión arterial, complicaciones de la diabetes y el estado de shock en una terapia intensiva, así como la verificación de la efectividad terapéutica en estas patologías. Con este fin se presentaron modelos que simulan la frecuencia cardíaca comparando particularmente dos técnicas: *splines* cúbicos y filtros FIR. Este último es propuesto por los autores como el que mejor se ajusta a los datos experimentales.

En el último capítulo, se enumeran trabajos del autor y su equipo en el estudio de las propiedades viscoelásticas de las arterias, y la determinación del comportamiento dinámico de la pared. Se desarrolló un modelo simplificado para la obtención simultánea de los módulos elásticos, inerciales y viscosos. También se evaluó el módulo complejo de Young en función de la frecuencia, en animales conscientes. Asimismo, se modelaron las propiedades mecánicas de la pared arterial como una red fractal de resortes y amortiguadores viscosos. En conjunto, se emplearon técnicas sofisticadas de ingeniería de materiales y electrónica para trabajar sobre animales vivos.

Quisiéramos agradecer la colaboración de los los estudiantes doctorales Martín David y Marcela Moscoso que ayudaron en la revisión del libro, el importante aporte del Dr. Eduardo Charreau y la generosa contribución del Ministro Dr. Lino Barañao que redactó el Prologo de este ejemplar. Finalmente agradecemos la iniciativa de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales que a través de su Presidente, el Dr. Roberto Williams, propuso la redacción de este libro.

Buenos Aires, Argentina  
Diciembre, 2017

Ricardo S. Sánchez Peña y Marta Rosen,  
Editores

# CAPÍTULO 1

## ENSEÑANZA DE LA BIOINGENIERÍA

### Refundación a través de un eje histórico que une a Pasteur, Medici, Houssay y Favaloro

*Ricardo L. Armentano*<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ingeniería Traslacional, Universidad Favaloro

<sup>2</sup> Grupo de Investigación y Desarrollo en Bioingeniería, Universidad Tecnológica Nacional

<sup>3</sup> PEDECIBA. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo

#### Resumen

La sinergia entre Ingeniería y Biología, la cual evoluciona tan rápido como lo hacen cada una de estas disciplinas, nos permite ofrecer bases confiables para generar fuertes interacciones entre entidades asistenciales e industriales asociadas a campos relacionados con los sistemas vivos y la salud. Proponemos articular estos campos basados en la premisa de que los nuevos profesionales deben enfrentar diferentes situaciones o crisis debido a las denominadas islas de excelencia. A menudo, el esfuerzo para recordar las clases de los profesores conspira contra la propia capacidad de análisis, lógica y razonamiento: una educación universitaria que no estimula la mente crítica y no enseña a pensar no es educación superior sino capacitación para la sumisión. Estamos revisando los programas de educación de ingeniería biomédica y la aplicación de nuevos paradigmas pedagógicos en los que el pensamiento crítico es la clave: un desafío holístico que consiste en una nueva forma de enseñanza, aprendizaje, innovación, comunicación e intercambio con una actitud creativa que representa una calidad de percepción. Debemos rediseñar a los Ingenieros para trabajar en un mundo híbrido donde la tecnología, la ciencia, el humanismo y otras tendencias se fusionan e interconectan. En consecuencia, la ingeniería se convierte en una profesión cuyos límites no están especificados, y donde la tecnología es la causa de un amalgamamiento espléndido de ciencia, arte y gestión, extendiendo el ámbito de su misión institucional. René Favaloro afirmó que el individualismo tenía que ser reemplazado por intereses colectivos y notó que los docentes podían cooperar con sus planes mediante la educación preventiva diaria. Durante sus conferencias, no hablaba solo de Medicina sino también de aspectos sociales importantes como la pobreza, las drogas, la educación y la industria armamentística. Promovía cambios en la sociedad, donde la educación y la justicia social fueran una prioridad, y donde los graduados

de la Universidad se involucraran fuertemente con la sociedad porque la historia nos enseñó que las buenas ideas y las tecnologías pueden traer aparejadas consecuencias no deseadas y negativas. Sobre la base de que una generación cada vez más conectada a la Internet y educada se está sublevando contra el abuso de poder y las amenazas que existen en el planeta entero, proponemos un nuevo paradigma que tome en consideración los pensamientos de Favaloro así como los del Premio Nobel Bernardo Houssay y el legado de Luis Pasteur y de la Familia Médici, para mejorar la Educación de la Ingeniería en Biología y Medicina. Y así se estimula a los docentes con este enfoque y se motiva a los estudiantes al mismo tiempo, y se fomenta la creatividad y capacidad innovadora en la currícula basada en la tecnología consciente, con una motivación humanista y una visión global.

**Palabras clave:** *educación ingenieril traslacional, tecnología consciente, creatividad, interoperabilidad, humanismo, desafíos globales que enfrenta la humanidad*

### **Abstract**

**Engineering Education in Biology and Medicine. A new paradigm that takes into account the thoughts of Favaloro, Houssay, Pasteur and the Medici family.** The synergy between Engineering and Biology, which evolves as fast as both of these disciplines do, allows us to offer top-of-the-line foundations to generate strong interactions industrial and welfare entities associated to health and living systems fields. We propose to articulate these specialties based on the premise that new professionals must face different situations or crises due to the so-called islands of excellence. Often, the effort of retaining the lectures of teachers conspires against analysis, logic and reasoning; a university education that does not stimulate the critical mind and does not teach how to think is not higher education, but training to submission. We are revising the programs of biomedical engineering education and the application of new pedagogic paradigms where critical thinking is the key: a holistic challenge which consists in a new way of teaching, learning, innovating, communicating and shearing with a creative attitude that represents quality of perception. We must redesign Engineers to work in a hybrid world where technology, science, humanism and other tendencies fuse and interconnect. In consequence, engineering becomes a profession whose limits are not specified, and where technology becomes science, art and management, widening the scope of its institutional mission. René Favaloro has stated that individualism had to be replaced by collective interests and realized that teachers could cooperate in his plans through daily preventive education. During his lectures, he did not speak only about Medicine, but also about important social aspects such as poverty, the environment, drugs, education and the arms industry. He promoted changes in society, where education and social justice would be a top priority, and where university graduates got strongly involved with society, because history has taught us that good ideas and technologies can have unintended and negative consequences. On the basis that an increasingly educated and Internet-connected generation is rising up against the abuse of power and threats that hang over our entire planet, we propose a new paradigm which takes into account the thoughts of Favaloro as well as those of the nobel laureate Bernardo Houssay, and the legacies of Louis Pasteur and the Medici

Family, to enhance Engineering Education in Biology and Medicine, and thus encouraging faculty with this approach and motivating students and stimulating their creativity and their innovative ability throughout a conscious-technology curricula with humanistic motivation and global vision.

**Keywords:** *traslational engineering education, conscious-technology, creativity, interoperability, humanism, global challenges facing humanity*

## **1. Introducción**

El mundo es cada vez más rico, más saludable, está mejor educado, y mejor conectado, y las personas están viviendo más tiempo, y a pesar de ello, la mitad del mundo es potencialmente inestable, enfrentando muchos desafíos, desde el calentamiento global al terrorismo global. La era de lo que aquí se denomina “Tecnología Consciente”<sup>1</sup> está llegando. Al igual que cualquier otra revolución en la historia de la humanidad, desde la agricultura a la industria a la Internet, la llegada de la tecnología de la conciencia tendrá tanto buenos como malos efectos ya que la historia nos enseñó que las buenas ideas y las tecnologías pueden traer aparejadas consecuencias no deseadas y negativas.

René Gerónimo Favaloro (12 de julio, 1923 – 29 de julio, 2000) fue un cirujano cardiovascular argentino que revolucionó el campo con sus aportes pioneros, entre los cuales el más sobresaliente es la estandarización de la cirugía de bypass de la arteria coronaria, realizada por primera vez en el año 1967. Él pensaba que el individualismo tenía que ser reemplazado por intereses colectivos y notó que los docentes podían cooperar con sus planes mediante la educación preventiva diaria. Durante sus conferencias, no hablaba solo de Medicina sino también de aspectos sociales importantes como la pobreza, las drogas, la educación y la industria armamentística. Promovía cambios en la sociedad, donde la educación y la justicia social fueran una prioridad, y donde los graduados de la Universidad se involucraran fuertemente con la sociedad [1]. Asumía que el universo tecnológico debía ser diseñado para adecuarse y servir a la dimensión humana [2], como dijo Michael Dertouzos, ex director del Laboratorio para la Ciencia de la Computación, en el Instituto Tecnológico de Massachusetts: “Cometimos un gran error hace 300 años cuando separamos la tecnología del humanismo. Es hora de unirlos nuevamente” [3].

Los ingenieros biomédicos son profesionales líderes en el desarrollo de tecnología para preservar la vida. En efecto, el paradigma reinante es que los proyectos son más importantes que las disciplinas, desdibujando la línea entre Ciencia e Ingeniería. Paradigmáticamente, los biólogos se basan en principios básicos que incluyen complejas formas de vida evolu-

---

<sup>1</sup>Def. Tecnología Consciente: La Tecnología está relacionada con consecuencias inmediatas y de largo plazo de las relaciones entre máquina y procesos por un lado, y los humanos en la sociedad por el otro. Debemos actuar de manera consciente para mantenerlos incluidos. La era de la tecnología consciente está llegando a medida que dos tendencias mega tecnológicas convergen: nuestros entornos construidos se vuelven tan inteligentes que parecen conscientes, y los humanos se integran con la tecnología.



cionadas; sin embargo, la mayoría de sus proyectos los obligan a pensar como ingenieros: probando sistemas y mecanismos, preocupándose por la calidad y el control ambiental y construyendo grandes sistemas técnicos. La sinergia entre Ingeniería y Biología, la cual evoluciona tan rápido como lo hacen cada una de estas disciplinas, nos permite ofrecer bases versátiles confiables para generar fuertes interacciones con entidades asistenciales e industriales asociadas al campo de la salud y a cualquier otro campo vinculado con sistemas vivos. Proponemos articular estas especialidades basándonos en la premisa de que los nuevos profesionales deben enfrentar diferentes situaciones o crisis debido a las denominadas islas de excelencia [4, 5], las cuales no permiten alcanzar soluciones reales a problemas complejos. Esta es la razón por la cual es necesario instruir a los jóvenes sobre la interoperabilidad funcional [6], para permitir la multidisciplinariedad y la interdisciplinariedad [7]. La idea de un circuito de retroalimentación entre conciencia y tecnología avanzando hacia una civilización más inteligente ofrece un amalgamamiento perceptual para ayudar a armonizar la cantidad de especializaciones del mundo en una nueva civilización global.

El Dr. Bernardo Alberto Houssay fue un fisiólogo argentino cuya investigación sobre el rol de las hormonas pituitarias que regulan el azúcar en la sangre le valió un Premio Nobel en 1947. El Dr. Houssay, uno de los tres Premios Nobel de Argentina, advirtió sobre los tres factores principales que obstaculizan el progreso de la sociedad [8]. Dijo que en primer lugar estaba el misoneísmo: la resistencia a todo lo nuevo, con ansias de evitar la innovación que inevitablemente se origina a partir de cada avance científico. El segundo era una excesiva preocupación por una inmediata aplicación, una idea común en sociedades retrógradas, o un signo de decadencia en las sociedades desarrolladas. El último era el orgullo nacionalista, profesional o local; una mezcla de ignorancia, inmadurez y auto-defensa propia del mediocre.

Louis Pasteur (1822-1895) fue un científico líder del siglo XIX, quien logró avances en química, biología y medicina. En la actualidad, Pasteur es un héroe nacional en Francia, y los Institutos Pasteur que fundó continúan avanzando en la prevención y tratamiento de enfermedades contagiosas.

La famosa Casa Florentina de los Médici, junto con otras familias similares, financiaron a pensadores y creadores de diferentes ámbitos (artistas, científicos, poetas y filósofos, entre otros), logrando un intercambio interdisciplinario de ideas. El escritor Frans Johansson llamó a este fenómeno el Efecto Medici, el cual evolucionó gracias a una gran explosión de creatividad en la Italia del siglo XV, y cuya idea básica es que cuando “se accede a una intersección de campos, disciplinas o culturas, se pueden combinar conceptos existentes en un gran número de nuevas ideas” [9].

El foco de la “Ingeniería Traslacional”<sup>2</sup> es la colaboración interdisciplinaria entre investigadores, profesionales de la salud y la industria. Estos esfuerzos traslacionales sirven como

---

<sup>2</sup>Los autores utilizan el término Ingeniería Traslacional basados en el Cuadrante de Pasteur (Fig. 1), para expresar la conexión entre “entendimiento” de todos los descubrimientos sobre tecnología y ciencia en las inter-disciplinas de la Ingeniería con “aplicaciones” más allá de este campo; es decir, biología, medicina, ecología, medio ambiente, etc.

centro en la comunidad para abordar desafíos en el desarrollo, la comercialización y la implementación tecnológica para una mejor salud global. Se espera que esta propuesta sirva como imán que promueva la industria, redes de profesionales y sociedades, constructores comunitarios, investigadores de la ingeniería, traslacionales y básicos para facilitar el desarrollo de nuevas interacciones profesionales, programas y proyectos de investigación. Este nuevo programa / propuesta enseñaría a los estudiantes a identificar sus temas de investigación en sus propias disciplinas. Se espera que los resultados de la investigación / análisis sea información altamente valiosa que pueda ser utilizada por tomadores de decisiones, políticos, y organismos de financiamiento para tomar las mejores decisiones prácticas. El contenido de su curso es multidisciplinario, que combina conceptos científicos, procesos de ingeniería, y temas industriales; lo cual resulta en investigadores y profesionales socialmente responsables quienes se encuentran en una posición única para ingresar mercado laboral, y tomar todo tipo de investigación / problema, y traducirlos en una realidad práctica.

La frase “Piense global, actúe local” fue utilizada por primera vez en el contexto de desafíos medioambientales, y desde ese momento ha tomado un valor y uso más extendidos en los últimos años. La Educación Pensar Globalmente, Actuar Localmente es una de las cosas más poderosas e importantes en nuestras vidas y debería enseñarse a los estudiantes jóvenes. Creemos que en la actualidad, obtener conocimiento a través de la educación es un proceso distintivo que debemos experimentar para poder sobrevivir en este mundo y maximizar el potencial que tenemos. Este paradigma sirve para considerar la salud del planeta entero y tomar acción en las propias comunidades y ciudades. Mucho antes de que los gobiernos comenzaran a promulgar leyes medioambientales, los individuos ya se unían para proteger hábitats y a los organismos que viven dentro de ellos.

Este artículo tiene como objetivo tomar los pensamientos de Favaloro así como los del Premio Nobel Bernardo Houssay, influenciados por el legado de Luis Pasteur y la Familia Médica a fin de proponer una mejora en la Educación de la Ingeniería en Biología y Medicina, y así motivar a los estudiantes, y estimular su creatividad a través de una currícula basada en la tecnología consciente con motivación humanística y visión global.

## **2. Antecedentes**

Se cree que todo está conectado aunque desconectado [10]. Esta desconexión tiene un alto costo, y una mirada hacia el futuro predice que la mayoría de los temas serios se relacionarán con el crecimiento de la población y la demografía y será debido a las necesidades de agua, comida, medicina y energía, por ejemplo disponibilidad, producción, demanda, distribución, precio, etc. [11]. La solución a estas situaciones o circunstancias requiere de un enfoque holístico [12], consecuencia de la globalización, por ejemplo, la economía global, y por sobre todo, el estímulo a la colaboración entre la industria, la academia (por ejemplo, laboratorios), y gobierno para reunir expertos de diferentes disciplinas para investigar y satisfacer las necesidades específicas de un producto o un servicio con alto valor agregado. Al mismo

tiempo, los estudiantes podrían involucrarse en el pensamiento científico y comprender las fuerzas del mercado mediante pasantías y capacitación para la investigación, proyectos de innovación y desarrollo.

La interacción academia-industria, además del apoyo de organismos gubernamentales, puede generar recursos suficientes para obtener modernas instalaciones a fin de hacer más atractiva la especialidad para las nuevas generaciones, y para encender el interés para completar los estudios universitarios. La instalación de laboratorios con tecnología de avanzada puede, en gran medida, mejorar la calidad de la educación en ingeniería y ciencia, y crear oportunidades para que miles de jóvenes creativos contribuyan en el proceso de innovación. Ciertamente, el compromiso y ayuda gubernamentales son fundamentales para ayudar a crear y mantener el eco-sistema necesario. En este contexto global, y basados en el pensamiento estratégico innovador, intentamos enseñar a pensar para conectar ideas y descubrimientos diferentes. Muchas veces, el esfuerzo de recordar las clases de los docentes conspira contra el análisis, la lógica, y el razonamiento personales; una universidad que no estimula la mente crítica y no enseña cómo pensar, no es educación superior, sino capacitación para la sumisión. Por otro lado, una persona forjada en este diseño tradicional debe ser refractaria a la propaganda sectaria, o a cualquier tipo de intolerancia: religiosa, política, social, cultural, económica o administrativa.

El pensamiento crítico es la clave [13]. La interacción fructífera y permanente entre los jóvenes candidatos nos hizo notar que la mayoría de los estudiantes no aprenden sino que memorizan ecuaciones, datos y procedimientos: aprenden a manipular símbolos pero no conocen su significado general. En consecuencia, no se les enseña a pensar; más bien se les enseña a aprobar exámenes. Esta es, creemos, una de las razones más trascendentales en la actual crisis de las Escuelas de ciencia, en general, y de la Ingeniería, en particular: comenzamos con una pequeña cantidad de estudiantes interesados, y encontramos problemas en atraerlos y luego retenerlos. Es hora de mirar dentro nuestro. Podemos y debemos contribuir a mejorar el sistema de educación. A fin de enfrentar este desafío, comenzamos a aplicar varias ideas sustanciales que se consolidarán durante la próxima década, y las cuales deberían incorporarse a la nueva currícula. Tenemos como visión muchos más cursos introductorios interactivos que cursos regulares teóricos, para que los estudiantes participen en la instrucción a través de un enfoque neo-Socrático. Estos cursos enseñan preguntando en vez de dando respuestas; la respuesta en sí no es importante, sino el razonamiento para encontrarla, fomentando una actitud creativa que represente calidad de percepción, una acción inteligente que nos permite sobrellevar conflictos con una gran cantidad de alternativas que ofrece cada situación.

Nuestra imaginación despierta el poder de la creatividad; osadía, aventura de descubrir y aprender del cambio [13]. Creemos que el gran desafío de nuestros tiempos es estimular la creatividad, descartando el mito que afirma que es algo mágico, un poder natural negado a la mayoría de los mortales y cedido a solo algunos y que queda en ellos imaginar lo que nunca antes existió. La creatividad no es magia, ni un atributo inherente a nuestros genes, y mucho menos una bendición sobrenatural. Es una capacidad y cualquiera puede aprender a ser creativo y sacar el mayor provecho. A fin de generar creatividad, pocas cosas son tan

importantes como la polinización cruzada con áreas diferentes a nuestra especialidad: los grandes avances a menudo dependen de la audacia naïve de lo profano. Johansson, en su Efecto Medici, usa a Darwin, un geofísico, como ejemplo de cómo su teoría de la evolución dio sus frutos al trabajar con un Biólogo [9]. Sin embargo, el Biólogo por sí mismo no pudo hacerlo debido a barreras intelectuales creadas por sí mismo. Combinando la creatividad con la interoperabilidad, estamos diseñando un nuevo currículum, apoyando el arquetipo de que las universidades líderes no solo construyen con ladrillos esenciales y necesarios, sino también con tecnología de avanzada y aulas virtuales.

Bernardo Alberto Houssay fue uno de los científicos más prominentes e influyentes de Latinoamérica del siglo XX. Su total dedicación a la búsqueda del conocimiento y sus incansables esfuerzos para fomentar la capacitación técnica y científica entre sus compatriotas recibió reconocimiento mundial. Por más de veinticinco años, su Instituto de Fisiología en la Universidad de Buenos Aires fue un modelo para toda Latinoamérica, y desde sus laboratorios emergieron discípulos que ocuparían posiciones prominentes en la capacitación e investigación científicas en todo el continente. Él afirma que el analfabetismo científico en países no desarrollados consiste no sólo en no poseer ciencia propia, sino en una falta de cultura que les permitiría incluso darse cuenta de esto, y valorar el gran problema de esta deficiencia. Muchos ciudadanos de naciones en desarrollo creen que siempre ha sido una estrategia del primer mundo mantener al tercer mundo subdesarrollado. Esta asimetría es lo que hoy es un equilibrio global realmente amenazante; por lo que se deben tomar medidas drásticas para combatirlo, y debemos hacerlo nosotros mismos. Esta es la base para nuestra propuesta estimuladora. Ahora la tarea será divulgar estos conceptos, discutirlos y ponerlos en práctica.

Nuestra inspiración proviene del Proyecto Millennium [14], donde los desafíos globales que afectan a la humanidad, con un importante componente de ciencia y tecnología, incluyen:

- lograr el desarrollo sustentable para todos, al mismo tiempo que se hace frente al cambio climático;
- garantizar que existe suficiente provisión de agua potable para todos, sin conflictos;
- reducir la amenaza de enfermedades y micro-organismos nuevos y emergentes;
- lograr una convergencia global de las tecnologías de la información y de las comunicaciones que funcione para todos; y
- utilizar la ciencia y la tecnología para mejorar la condición humana

De ese modo, el Dr. Favaloro comparó diferentes “prioridades mundiales” [15] con el costo anual adicional de lograr acceso universal a los diferentes servicios sociales en los países en desarrollo. El Dr. Favaloro concluyó: “Debo confesar que estoy muy preocupado por la reducción del presupuesto de protección social, que incluye el sistema de salud, en todo el mundo. ¿Es esta la dirección adecuada?”

Tabla 1. ¿Las prioridades mundiales? (gastos anuales en dólares estadounidenses). \*Costo anual adicional estimado para alcanzar el acceso universal a los servicios sociales básicos en todos los países en desarrollo. Fuente: Human Development Report 1998 154.

|                                           |                  |
|-------------------------------------------|------------------|
| Educación básica para todos               | 6.000 millones*  |
| Cosmética en EEUU                         | 8.000 millones   |
| Agua más segura y sanidad para todos      | 9.000 millones*  |
| Helados en UE                             | 11.000 millones  |
| Salud reproductiva para todas las mujeres | 12.000 millones* |
| Perfumes en UE y EEUU                     | 12.000 millones  |
| Salud básica y nutrición                  | 13.000 millones* |
| Alimento para mascotas en UE y EEUU       | 17.000 millones  |
| Entretenimiento para empresas en Japón    | 35.000 millones  |
| Cigarrillos en UE                         | 50.000 millones  |
| Bebidas alcohólicas en UE                 | 105.000 millones |
| Narcóticos a nivel mundial                | 400.000 millones |
| Gasto militar a nivel mundial             | 780.000 millones |

El Dr. Favalaro creía que era hora de un nuevo contrato social, como el propuesto por Jean Jacques Rousseau en 1762, que incluyera lo siguiente:

- un contrato de necesidades básicas (para superar las desigualdades),
- un contrato cultural (para fomentar la tolerancia y el diálogo entre culturas),
- un contrato democrático (para mejorar el gobierno del mundo), y
- un contrato de la tierra (para lograr el desarrollo sustentable),

basado en cuatro principios:

- el derecho a trabajar,
- la lucha contra la pobreza,
- la protección contra riesgos sociales, y
- la promoción de la igualdad de oportunidades.

En este punto, el lector deberá centrarse en nuestro concepto de Ingeniería Traslacional para comprender mejor por qué utilizamos el Cuadrante de Pasteur en nuestra visión para este nuevo programa. Pasteur es uno de cuatro cuadrantes a los que implícitamente haremos referencia debido a sus respectivos valores individuales. Sin embargo, en muchos modos lo que proponemos como pilares de nuestro nuevo programa es el valor colectivo. Stokes propuso

visualizar la coexistencia de la investigación básica y la aplicada en un espacio bidimensional, donde la ordenada es la “comprensión” fundamental y la abscisa corresponde a las “consideraciones de uso” (ver Figura 1). El segundo cuadrante incluye investigadores como Niels Bohr, el académico ganador de un Premio Nobel que pasó gran parte de su carrera estudiando la estructura de los átomos. En este cuadrante, se realiza investigación básica pura con escaso foco en las influencias externas o aplicaciones. Un cuarto cuadrante explora lo que Stokes define como investigación aplicada pura – el inventor Thomas Edison es un ejemplo, ya que estaba motivado más por el descubrimiento aplicado práctico que por la heurística teórica. Modificamos el tercer cuadrante (al cual Stokes no le asigna un nombre), definido por trabajos donde la motivación no es ni progresar con el conocimiento ni crear aplicaciones prácticas) designándolo como “investigación aleatoria que no es ni básica ni aplicada”. El cuarto cuadrante (sección superior derecha de la Figura 1) representa la investigación básica inspirada por el uso y recibe el nombre de cuadrante de Pasteur [16]. Utilizando el Cuadrante de Louis Pasteur, existe una tensión entre los conceptos de comprensión y las aplicaciones, evidente en el cuadrante básico inspirado en el uso (estudios de microbiología de Pasteur). La relación entre la ciencia básica y el cambio tecnológico adoptó su forma actual durante la segunda revolución industrial, durante la que Pasteur trabajó. Pasteur estaba motivado tanto por un *compromiso por comprender los procesos microbiológicos que descubrió* y un *compromiso por controlar los efectos de estos procesos en los seres humanos*. La dicotomía básica/aplicada es eliminada y reemplazada por lo que Stokes define como *ciencia básica inspirada en el uso*. Este cuadrante disuelve la dicotomía básica/aplicada incorporando conocimiento que promueve la comprensión científica y la existencia social. Según Stokes, la relación entre la comprensión y las aplicaciones es bidireccional y dinámica, y esa investigación básica inspirada en el uso promueve la condición humana.

### **3. Propuesta**

Siguiendo los conceptos descriptos anteriormente para este nuevo programa, la Tabla 2 presenta una descripción de la currícula con los nuevos temas propuestos. Estos temas deberían ajustarse según los conocimientos de los estudiantes y a lo largo de sus respectivas carreras. Los estudiantes deberán utilizar sus conocimientos de ingeniería para complementar el trabajo de otros estudiantes que están abordando problemas similares desde la perspectiva de otras disciplinas e interdisciplinas.

En cada módulo, un orador reconocido introduce los conceptos básicos de la asignatura a los estudiantes, presenta las últimas innovaciones y les hace preguntas para desafiar su imaginación. Este curriculum busca incrementar y fortalecer el proceso creativo, enseñando a los estudiantes a pensar, y estimulando el pensamiento crítico a través de un enfoque de revisión de pares. Implica experiencia y un gran sentido de la complementariedad hacia un objetivo en común, bajo el principio de que cada individuo completa sólo un sub conjunto del potencial que puede alcanzar en un cierto punto de su vida.

Tabla 2. Detalle de los temas propuestos

| Subtítulos del Módulo y Objetivos Específicos                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|----------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Desafíos globales que enfrenta la humanidad                          | <b>Proyectos</b><br>1. Desarrollo sustentable y cambio climático<br>2. Agua potable<br>3. Energía<br>4. Aire<br>5. Contaminación<br>6. Riesgo de desastres<br>7. Pobreza urbana<br>8. Urbanización y cambios demográficos                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|                                                                      | <b>Proyecto</b><br>Tecnología avanzada al servicio del humanismo médico.<br><i>Principios para crear conciencia sobre las poblaciones indigentes y con escasa asistencia desde el punto de vista médico, a nivel nacional e internacional</i><br>1. Enfatizar e integrar el humanismo con la tecnología<br>2. Luchar por reducir disparidades paralelas en el acceso tanto a servicios de salud como a las tecnologías de la información<br>3. Integrar la educación médica: El Dr. Favaloro dijo "La tecnología constituye una valiosa ayuda para los médicos pero también los cega. No debemos confundirnos entre avances tecnológicos y automatismo. El camino correcto consiste en brindar a los médicos una educación integral". |
| Humanitarismo                                                        | <b>Ingeniería: el Motor de la Innovación</b><br>Conceptos de investigación innovadores en la ingeniería moderna. Abandono del antiguo paradigma de las ciencias básicas versus las ciencias aplicadas. Cuadrante de Pasteur                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|                                                                      | <b>Reconocer a los Cisnes Negros</b><br>Capacitación holística de la gerencia para reconocer, evaluar y responder de mejor manera frente a eventos extremos emergentes <ul style="list-style-type: none"> <li>Definición de Cisne negro</li> <li>Evaluación de la Visión global del Cisne negro</li> <li>Buscar soluciones que prevean de mejor modo eventos raros, de gran impacto y a gran escala</li> <li>Soluciones potenciales para realizar un mejor reconocimiento (previsión) de la emergencia de eventos raros, de gran impacto y a gran escala</li> </ul>                                                                                                                                                                   |
|                                                                      | <b>Innovando en Ingeniería Traslacional</b><br>Simulación de investigación mediante ejemplos en los que la creatividad y la innovación son temas transversales.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Promoción de la creatividad y la innovación a través de la educación |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Habilidades básicas                                                  | <b>Resiliencia</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|                                                                      | <b>Descubrimientos inesperados</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|                                                                      | <b>Interoperabilidad</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|                                                                      | <b>Colaboración creativa</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |

| Subtítulos del Módulo y Objetivos Específicos                      |                                                                                                                                                                           |
|--------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Tecnología aplicada a la detección temprana de enfermedades</b> |                                                                                                                                                                           |
| Medicamentos                                                       | Rastreo de medicamentos y vacunas                                                                                                                                         |
| Complejidad                                                        | <b>Proyectos</b><br>Complejidad y Ciencias Humanas<br>Cómo salvar el mundo, Pensamientos de Edgar Morin                                                                   |
| Alimentos                                                          | El proceso del rastreo de los alimentos: carne (e.g. vacuna, porcina, de ave, pescado), verduras, frutas, alimentos genéticamente modificados, uso de antibióticos, etc.) |
|                                                                    | Efectos del cambio climático en la producción mundial de alimentos (i.e. lluvias, huracanes, tornados, inundaciones, incendios, etc).                                     |
| Flagelos de la humanidad                                           | Carne in-vitro                                                                                                                                                            |
|                                                                    | Envejecimiento                                                                                                                                                            |
|                                                                    | Enfermedades cardiometabólicas                                                                                                                                            |
|                                                                    | Enfermedades neurodegenerativas                                                                                                                                           |
|                                                                    | Hambruna                                                                                                                                                                  |
| El ecosistema Medici                                               | Construcción de un centro de innovación                                                                                                                                   |
|                                                                    | Rol de los intermediarios en el proceso de innovación                                                                                                                     |
|                                                                    | Transformación de los roles universitarios en el desarrollo regional económico y tecnológico                                                                              |
|                                                                    | Programas de innovación centrados en la Universidad                                                                                                                       |

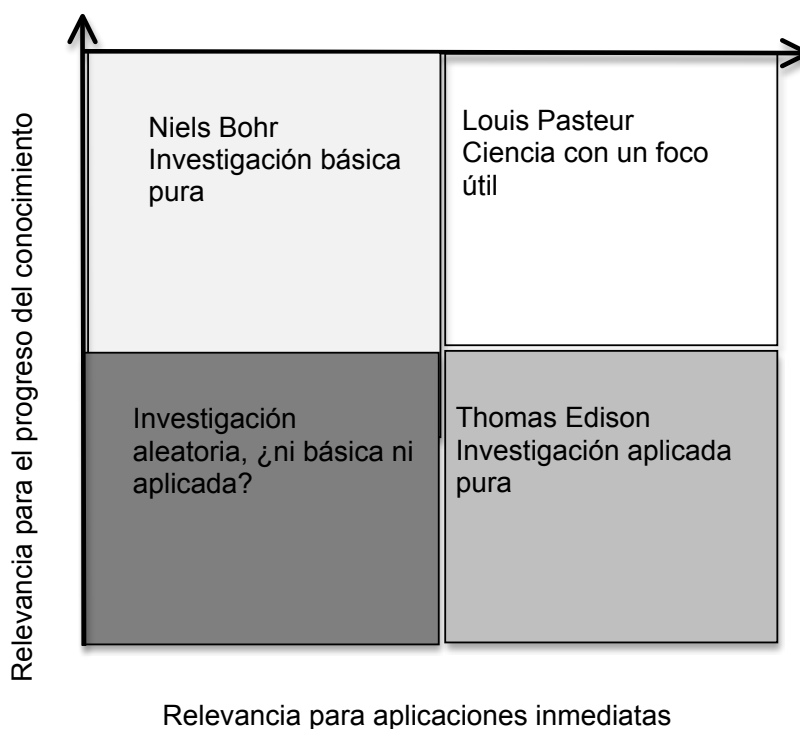


Fig. 1. Cuadrantes de Stokes modificados.

La Universidad argentina tiene una oportunidad única de adoptar un enfoque que definirá la Bioingeniería del nuevo siglo. Este marco propone que la Universidad se convierta en un HUB, un centro de coordinación para la educación y para la investigación traslacional y colaborativa, para que los ingenieros y científicos de las Ciencias de la Vida trabajen de forma conjunta. Un centro que permita concentrar los recursos de bioingeniería del país y de la región mediante la implementación de unidades de investigación traslacional, con el fin de internacionalizar el conocimiento e impulsar la innovación local.

Esta estimulante propuesta podría alinear a la Universidad con las nuevas generaciones de estudiantes, que están globalizados, conectados y levantándose contra el abuso de poder y las amenazas que se ciernen sobre nuestro planeta, a través de las siguientes líneas de investigación

- Desarrollo sustentable y cambio climático
- Urbanización y cambios demográficos
- Agua potable
- Perspectivas a largo plazo



- Los terremotos, tsunamis y desastres nucleares dejan al descubierto la necesidad de sistemas de estabilidad para anticipar las catástrofes, responder y recuperarse frente a ellas, e identificar innovaciones futuras y oportunidades sociales y tecnológicas.
- Convergencia de las Tecnologías de la Información (eHealth)
- Salud
  - La salud mundial mejora, la incidencia de las enfermedades disminuye y las personas viven más tiempo; por otro lado, los costos de atención médica aumentan y empeora la escasez de trabajadores de la salud.
- Capacidad de toma de decisiones
  - Poseemos más datos, evidencia y modelos computacionales que nunca para simplificar la toma de decisiones, pero, sin embargo, existe una sobrecarga y una proliferación excesiva de la información. La cantidad y complejidad de opciones aumentan más allá de nuestra capacidad de analizar, sintetizar y tomar decisiones.
- Estatus de la mujer
- Energía
- Alimentos
- Ética global
  - A pesar de los extraordinarios logros en ciencia y tecnología, persisten los futuros riesgos de su continua aceleración y globalización y generan problemas éticos.

Este nuevo HUB universitario podría convertirse en:

- un punto de encuentro de integración intelectual para la ingeniería, medicina, biología molecular, química, biología sintética, investigación en células madre, biología computacional y eHealth;
- un ambiente donde los investigadores puedan trabajar en proyectos a gran escala, que de otro modo serían imposibles de lograr en laboratorios individuales;
- un lugar donde los estudiantes puedan enfrentar los desafíos de nuevas oportunidades y beneficiarse de una capacitación interdisciplinaria;
- un lugar para fortalecer el e-learning
- un punto de partida para emprendedores comerciales y vínculos industriales;

## *Enseñanza de la Bioingeniería*

- un lugar que otorga un gran valor al conocimiento en medicina, biología, ingeniería, ciencia física, políticas públicas, derecho, economía y negocios, y que busca integrarlos en un enfoque interdisciplinario para apoyar el logro de los objetivos principales.

Para lograr este HUB, debemos abandonar el paradigma utilizado de modo de quitar el foco de las ciencias de ingeniería básicas y las asignaturas biológicas, y establecer una plataforma sólida altamente especializada a fin de reunir a jóvenes y brillantes estudiantes locales y regionales a través de un selectivo proceso de admisión para ingresar a un ciclo de mayor especialización. Las pautas para lograr los objetivos anteriormente mencionados podrían incluir:

- garantizar que la Universidad sea líder en bioingeniería mediante la creación de un programa interdisciplinario coherente que reúna a las facultades y a los hospitales afiliados;
- desarrollar nuevas disciplinas académicas, en carreras de grado y de posgrado, que puedan servir de modelo para otras universidades, estimulando los convenios;
- resolver problemas científicos importantes y cruciales asociados con el diseño y la función biológica mediante la integración de la innovación tecnológica en la sociedad;
- aplicar todo este conocimiento para:
  - crear medicina innovadora inspirada en la ingeniería,
  - crear ingeniería innovadora inspirada en la medicina,
  - abordar temas globales relacionados con energía, agua, medio ambiente y sustentabilidad,
  - elaborar herramientas de investigación para acelerar el desarrollo de una nueva comprensión de los fenómenos biológicos,
  - fomentar un nuevo tipo de estudiante, que sea capaz de integrar las ciencias biológicas y físicas, e
  - impulsar la creación de nuevos empleos y empresas de tecnología.

Como ampliación de nuestra propuesta, ayudaremos a los investigadores y profesores a incorporar estos nuevos conceptos de forma progresiva. La capacitación del cuerpo docente se centrará en ayudarlos a modificar su enfoque académico de modo que estén motivados, sean productivos y avancen de forma consistente hacia los nuevos objetivos desarrollados en el presente trabajo. Utilizaremos esta nueva metodología para mejorar el modo en el que los docentes enseñan y los estudiantes aprenden. Al aumentar la ubicuidad de los desafíos globales que enfrenta la humanidad, esta iniciativa aumentará la participación en todas las áreas de la comunidad de la Universidad en particular y en toda Iberoamérica, ya sea en carreras online, cursos presenciales tradicionales o en otras actividades educativas relacionadas, como por ejemplo, consultoría, asesoría vocacional, exploración de portfolios profesionales o

Tabla 3. Direcciones estratégicas Médicas y No Médicas

|                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Campo médico    | <ul style="list-style-type: none"><li>• Reducción del costo de la atención médica / Globalización</li><li>• Medicina preventiva / anticipatoria</li><li>• Medicina personalizada / específica para el paciente</li><li>• Medicina mínimamente invasiva / no invasiva</li><li>• Detección y cuantificación de enfermedades urbanas (drogas/alcohol/ETS)</li><li>• Envejecimiento saludable</li><li>• Enfermedades cognitivas</li></ul> |
| Campo no médico | <ul style="list-style-type: none"><li>• Bioenergía</li><li>• Materiales bio-inspirados</li><li>• Modelización de la biósfera</li><li>• Cambio climático</li><li>• Agua y biología</li><li>• Biorremediación</li><li>• Agricultura</li><li>• Defensa (bioterrorismo)</li></ul>                                                                                                                                                         |

utilizando recursos de información electrónica. Este cambio de paradigma podría posicionar a la Universidad argentina como una institución líder a nivel mundial a través de la implementación de estos nuevos conceptos para mejorar la calidad educativa a través del acceso creativo e innovador a la tecnología consciente.

Por último, para fortalecer esta propuesta de una Universidad tipo HUB, deben incluirse centros de transferencia de tecnología en el plan, para estimular los negocios académicos. Este tipo de Universidad debe tener un papel central como creadora de un ecosistema y planificadora de la red regional e internacional que lo sostendrá. Este nuevo HUB Universitario debe liderar la transición hacia el sistema de innovación regional, para contribuir al desarrollo de un ecosistema que promueva los asuntos académicos con una fuerte apreciación por la investigación y el desarrollo. El objetivo más importante de esta propuesta es seleccionar estudiantes brillantes en todo el país que estén interesados en la bioingeniería bajo las direcciones estratégicas planteadas en la Tabla 3.

## 4. Discusión

Para definir estrictamente las ideas estratégicas que han llevado a la innovación, pasamos al análisis del cuadrante superior derecho del diagrama de Stokes, llamado cuadrante de Pasteur [16], buscando concentrar la tarea científica de acuerdo al conocimiento existente, centrada en proyectos innovadores que modifican los paradigmas y la manera de abordar las diferentes disciplinas, es decir, para tratar los temas de un modo que genere una nueva comprensión además de una nueva utilidad. Esa es la forma en que la investigación actual en

ingeniería debería ser entendida, en contraposición con el viejo paradigma de ciencias básicas vs. ciencias aplicadas. En esta idea maestra, la innovación ocupa una dimensión central [13]. Este es un cambio holístico, que consiste en una nueva forma de aprender, innovar, comunicar y compartir con una actitud creativa que representa calidad de percepción; una acción inteligente que nos permite superar conflictos con una riqueza de alternativas que nos ofrece cada situación.

La interoperabilidad se define en sentido amplio como la capacidad de dos o más sistemas de intercambiar y utilizar información. Sin embargo, la interoperabilidad es mucho más que eso. Incluye, por ejemplo, aspectos técnicos, humanos y educativos. El manejo del cambio requerirá abordar: sistemas, procesos, estructuras y cultura. Cada uno de estos puntos se están haciendo cada vez más difíciles y requieren más tiempo de manejo. Los cambios culturales son los más difíciles de implementar. Para la salud, la interoperabilidad permite que los sistemas de datos y de tecnología trabajen juntos dentro de los límites organizacionales para una mejor salud individual y de la comunidad. Lograr la interoperabilidad verdadera requiere una coordinación y cooperación significativa entre las partes interesadas.

Además, dado que la pobreza, la desnutrición y la degradación ambiental pueden aumentar la propensión a enfermedades graves, enfocamos nuestro programa en preparar y capacitar a un equipo interdisciplinario de jóvenes estudiantes, ingenieros, médicos, físicos, matemáticos y otros especialistas, enfatizando la importancia de los conceptos humanitarios ya que juegan un papel importante en la investigación, desarrollo y manejo de tecnologías médicas. Por otro lado, resulta imperativa la inclusión de expertos académicos en varias disciplinas, investigadores, proveedores de atención médica, legisladores, organizaciones sociales y patrocinadores. Cada uno de estos grupos ofrece un lado positivo diferente para el grupo. Mientras que el ámbito académico fomenta mucha creatividad para generar nuevas ideas, la gente de la industria provee un enfoque más práctico hacia lo que es comercializable. El gobierno, por su parte, provee el ecosistema y los incentivos para que la visión pueda volverse una realidad. En otras palabras, los tres segmentos de la sociedad son necesarios para tener éxito y deben trabajar juntos. Es importante destacar que consideramos que la “política de tecnología” también puede ser una trayectoria de carrera para muchos ingenieros biomédicos. Estos individuos pueden no sólo ayudar a los legisladores a tomar mejores decisiones sino que pueden convertirse en aquellos que escriban leyes relacionadas con ciencia y tecnología en el futuro para sus respectivos países.

## **5. Conclusión**

En resumen, nosotros, los autores, intentamos revisar las carreras de la educación en ingeniería biomédica y la aplicación de nuevos paradigmas pedagógicos que tiendan a lograr lo dicho en la célebre declaración del Dr.: “Quiero pedirle especialmente a la gente joven que comprenda que las cosas materiales son temporarias: sólo los ideales duran por siempre y, dentro de este contexto, el grito de guerra debería ser: educación y desarrollo científico para

una sociedad en la que la justicia social sea una prioridad” [17].

## Agradecimientos

El autor quisiera agradecer al Dr. Rene Favaloro, al Dr. Luis Kun y al Dr. Ing Leandro Cymberknop, así como a todos los colegas de la Universidad Favaloro (Argentina), de la Universidad de la Republica (Uruguay), de la Universidad Tecnológica Nacional (Argentina), de la Sociedad Argentina de Bioingeniería, de CORAL, de EMBS IEEE y de IFMBE por sus valiosos aportes a esta trayectoria.

## REFERENCIAS

- [1] R. Armentano, E. De Forteza, *IEEE Pulse* **1**, 50 (2010).
- [2] P. Boyle, D. Callahan, *Hastings Cent Rep* **22**, 38 (1992).
- [3] S. Miyagawa, *Technos Quarterly* **11** (2002).
- [4] L. Kun, Challenging our islands of excellence: The public health and healthcare sector and the critical infrastructure protection, *Jones seminars on science technology and society*, Dartmouth College, Hanover, New Hampshire (2005).
- [5] L. Kun, Challenging our islands of excellence (part 2): Cybersecurity protection of the public health and healthcare sector critical infrastructure, *Medical Informatics Seminar Maryland*, John Hopkins School of Medicine (2005).
- [6] L. G. Kun, in *IEEE-EMBS Magazine* **26**, 87 (2007).
- [7] L. G. Kun, R. Mathews, *Interoperability & Critical Infrastructure Protection: Ensuring the Reliability of the US Electric Power Grid* (e-book series IEEE, 2007).
- [8] B. A. Houssay, *Ciencia e Investigación* **8**, 327 (1952).
- [9] F. Johansson, *Creating the Medici effect* (Harvard Business School Press, 2006), pp. 35–40.
- [10] L. G. Kun, *Protecting Our Critical Infrastructure: A "Silo." Approach Won't Work* (IEEE-USA Policy Perspectives, 2002).
- [11] L. Kun, *Proceedings of the 2009 IEEE International Symposium on Technology and Society (ISTAS '09)* (Tempe, Arizona, 2009).
- [12] L. G. Kun, *32nd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society* (Buenos Aires, Argentina, 2010).

## REFERENCIAS

- [13] R. Armentano, *Creative Education* **3**, 733 (2012).
- [14] <http://www.unmillenniumproject.org/reports/fullreport.htm>, Un Millenium Project.
- [15] R. Favaloro, *Circulation* **99**, 1525 (1999).
- [16] D. E. Stokes, *Pasteur's Quadrant: Basic Science and Technological Innovation* (Brookings Inst. Press, 1997).
- [17] R. G. Favaloro, Science, education and development (1995). Tel Aviv University.

## Autor

**Ricardo L. Armentano.** Tiene una destacada trayectoria en el campo de la hemodinámica vascular –tanto en sus fundamentos teóricos como en su aplicación clínica–, justipreciada a través de sus dos doctorados, uno en Ciencias Fisiológicas, en la Universidad de Buenos Aires (1994), y otro en Ciencias Físicas (Biomecánica), en la Universidad de París, Diderot (1999), así como en dos posdoctorados, uno en el Departamento de Fisiología de la Universidad de la República en Uruguay (Fisiología Cuantitativa, 2002) y otro en el Hôpital Européen Georges Pompidou, Universidad Paris V, Descartes (Modelos predictivos de riesgo cardiovascular, 2008). El Dr. Armentano ha adquirido reconocimiento internacional en el campo de la investigación vascular traslacional con más de 300 publicaciones, incluyendo libros, capítulos de libros y artículos in extenso.

## CAPÍTULO 2

# NUEVAS ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO DE INJERTOS VASCULARES

### Hacia una respuesta Biomimética

*Florencia Montini-Ballarín, Pablo C. Caracciolo y Gustavo A. Abraham\**

Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales, INTEMA  
(UNMdP-CONICET), Av. Juan B. Justo 4302, B7608FDQ Mar del Plata, Argentina

#### Resumen

El reemplazo de arterias de diámetro pequeño es actualmente un área de estudio de gran relevancia a nivel mundial. El principal desafío constituye la obtención de injertos vasculares de pequeño diámetro (menor a 6 mm) que no presenten trombogenicidad aguda, hiperplasia intimal en la zona de anastomosis, formación de aneurismas y riesgo de infección. En este artículo se presentan las estrategias actualmente abordadas desde el campo de la ciencia e ingeniería de biomateriales para la regeneración de arterias de pequeño diámetro. Estas estrategias incluyen la utilización de polímeros sintéticos y/o naturales biocompatibles, biorreabsorbibles y no trombogénicos, la incorporación de agentes terapéuticos que promuevan y estimulen los procesos de regeneración y eviten infecciones, la búsqueda de estructuras con comportamiento mecánico biomimético, y el empleo de técnicas de fabricación que permitan la obtención de injertos a medida y de disponibilidad inmediata. Se describen los aportes multidisciplinarios que se están llevando a cabo en esta temática y finalmente se presentan los desafíos que enfrenta la bioingeniería de tejidos vasculares para mejorar el comportamiento biomimético de injertos vasculares biorreabsorbibles.

**Palabras clave:** *Bioingeniería de tejidos, Arterias coronarias, Injertos vasculares, Matrices poliméricas, Polímeros biorreabsorbibles.*

#### Abstract

**New strategies for the development of vascular grafts: towards a biomimetic response.** The replacement of small-diameter arteries is currently a world relevant study area. Obtaining small-diameter vascular grafts (less than 6 mm) with no acute thrombogenicity, intimal

hyperplasia at the anastomosis site, aneurysms formation, and infection risk is the main challenge. This article presents the current strategies addressed by the biomaterials science and engineering for small-diameter arteries regeneration. These strategies include the utilization of biocompatible, bioresorbable and no thrombogenic synthetic and/or natural polymers, the incorporation of therapeutic agents which promote and stimulate the regenerative processes and prevent infections, the search of structures with biomimetic mechanical behavior, and the usage of processing techniques that allow the production of a graft tailor-made and off the shelf. The multidisciplinary contributions that are being carried out in this field are described; finally, the current challenges faced by bioengineering of vascular tissues to improve the biomimetic behavior of bioresorbable vascular grafts are presented.

**Keywords:** *Tissue bioengineering, Coronary arteries, Vascular grafts, Polymeric scaffolds, Bioresorbable polymers.*

## **1. Antecedentes Clínicos**

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte a nivel mundial. Cada año se pierden 17 millones de vidas por causa de estas enfermedades, lo que representa un 29 % de la totalidad de las muertes globales. En particular, las enfermedades coronarias representan un 50 % de las causas de muerte por enfermedades cardiovasculares [1]. Las principales causas de las enfermedades coronarias son la trombosis y la aterosclerosis. La trombosis consiste en el bloqueo de un vaso sanguíneo debido a la formación de un coágulo o trombo sanguíneo. Este bloqueo impide la irrigación sanguínea de la zona afectada. Por su parte, la acumulación de sustancias lipídicas en las paredes arteriales en forma de placas de ateroma produce el engrosamiento de las mismas conduciendo a aterosclerosis. En estado avanzado, la aterosclerosis produce estenosis o estrechamiento del lumen arterial. Las expresiones clínicas de la aterosclerosis son de naturaleza crónica, como en la angina de pecho estable causada por el esfuerzo o en la claudicación intermitente, secuela previsible y reproducible; otras veces, aparecen episodios clínicos agudos mucho más graves como un infarto de miocardio. El infarto de miocardio ocurre cuando disminuye bruscamente el flujo coronario después de una oclusión trombótica de una arteria coronaria afectada por aterosclerosis [2, 3]. En general, el tratamiento de estas enfermedades se basa en la prevención, pero en los casos en que la oclusión o estenosis son muy severos se requiere de un tratamiento de trombólisis, y en los casos contraindicados, se recurre a intervenciones invasivas de revascularización como la angioplastia o cirugía de derivación arterial coronaria, también conocida como técnica de bypass coronario. La cirugía de bypass consiste en desviar el flujo sanguíneo de la zona obstruida para irrigar el resto del tejido cardíaco. Este procedimiento quirúrgico involucra el empleo de injertos a partir de venas o arterias autólogas, homólogas y heterólogas, e injertos sintéticos de similares dimensiones. Los injertos autólogos siguen siendo hoy en día el *gold standard* al momento de efectuar un bypass. En particular la vena safena mayor y la arteria torácica interna (también denominada arteria mamaria interna) son los injertos que han presentado mejores resultados en el tiempo. La vena safena mayor



presenta una tasa de permeabilidad (grado de apertura) del 80-90 % luego de un año de implantada, no obstante, a largos tiempos sufre el desarrollo de aterosclerosis y el 50 % de los injertos se cierran luego de 10 años de la operación. La arteria torácica interna presenta una tasa de permeabilidad de 90 % a los 10 años después de la operación. Sin embargo, la vena safena sigue siendo el injerto más elegido por los cirujanos. En los casos que la vena safena y la arteria torácica interna no se encuentran disponibles para su utilización como injertos otros vasos sanguíneos, tales como la arteria radial, la arteria gastro-omental derecha, la arteria epigástrica inferior, la vena safena corta y venas de las extremidades superiores, son utilizados [4]. A pesar del buen desempeño de los injertos autólogos, el 15 % de los pacientes con enfermedades coronarias necesitan injertos alternativos debido a la imposibilidad de utilizar los vasos mencionados o bien a que no están disponibles. Los injertos sintéticos aprobados para su uso en bypass de arteria coronaria son bioestables (no degradables) y presentan una alta rigidez. Las tubuladuras de poli(etilentereftalato) (PET) patentadas como Dacron® fueron introducidas en 1957 y se forman mediante el tejido de múltiples filamentos del poliéster. El Dacron® posee alta cristalinidad, alto módulo elástico y alta resistencia en tensión. Estos injertos se usan exitosamente en bypass de arteria aorta y en la revascularización de injertos de gran diámetro periféricos. Los injertos de poli(tetrafluoroetileno) o teflón expandido (ePTFE), conocidos por su nombre comercial Goretex®, también presentan una alta cristalinidad y poseen una alta rigidez, aunque menor que los injertos de Dacron®. El Goretex® se usa con excelentes resultados en injertos para las extremidades inferiores, de diámetros internos entre 7-9 mm. Ambos tipos de injertos, Dacron® y Goretex®, fallan en la revascularización de arterias de menor diámetro (<6 mm) principalmente debido a su alta rigidez y al desajuste de su distensibilidad (*compliance*) en la zona de anastomosis. Estos resultados llevaron al desarrollo de injertos vasculares sintéticos a partir de elastómeros poliuretánicos. Los poliuretanos tienen una naturaleza más distensible y elastomérica que el PET y el ePTFE, característica que los posiciona como excelentes candidatos para reducir los problemas asociados a la rigidez de los injertos y desacuerdo mecánico con los tejidos nativos [5, 6]. En cuanto al desempeño de estos injertos para bypass de arteria coronaria, el injerto de ePTFE posee una tasa de permeabilidad del 14 % luego de 45 meses de la operación y el PET resulta en vasos abiertos luego de 17 meses de implantado. No se disponen de resultados del seguimiento a tiempos mayores. Las tubuladuras de poliuretanos presentan resultados preliminares de corto plazo.

## **2. La Ingeniería de Tejidos como una solución alternativa para el diseño de Injertos Vasculares**

En los últimos 60 años poco ha cambiado en relación a los injertos sintéticos, y la obtención de injertos vasculares de pequeño diámetro (<6 mm) con comportamiento apropiado y permanente aún representa un gran desafío. El desarrollo de un conducto para operaciones de bypass coronario que pueda estar inmediatamente disponible (*off-the-shelf*), sin tiempo prolongado de cultivo *in vitro*, y con las propiedades mecánicas y biológicas necesarias es

## *Nuevas Estrategias para el Desarrollo de Injertos Vasculares*

el centro de las investigaciones actuales en el campo de la ingeniería de tejidos vasculares.

La falta de potencial de regeneración y los diferentes niveles de trombogenicidad, estenosis y susceptibilidad a infecciones, ha enfocado las investigaciones en tres áreas: recubrimientos y modificación superficial de los materiales sintéticos existentes; empleo de matrices porosas biodegradables; y matrices constituidas por polímeros naturales [1, 7]. La cirugía vascular emergente ha evolucionado del “reemplazo” a la “regeneración” del tejido vascular, y por lo tanto las últimas dos estrategias son las que predominan en la actualidad.

El injerto vascular ideal debe cumplir las siguientes características:

- Resistencia mecánica: *compliance* mecánica, habilidad para soportar tensiones hemodinámicas a largo plazo sin fallar, flexibilidad y elasticidad sin colapso por retorcimiento, y resistencia a la deformación por fluencia permanente (*creep*) para evitar la formación de aneurismas.
- Biocompatibilidad: asociada a un endotelio confluyente e inactivo.
- Respuesta curativa aceptable: no trombogenicidad, resistencia a la infección, a la hiperplasia neointimal o a la formación de cápsula fibrosa, capacidad para liberar localmente agentes terapéuticos, no inducción de malignidades, funciones biológicas y potencial de regeneración de tejidos.
- Facilidad de fabricación, características de manejo adecuadas para la implantación quirúrgica, facilidad para sutura, disponibilidad en diversos tamaños y longitudes.

Con este panorama, la ingeniería de tejidos se constituye como una plataforma ideal para diseñar un injerto perfecto.

En su concepción más clásica la ingeniería de tejidos emplea un biomaterial como matriz o andamiaje poroso temporario (*scaffold*) sembrado de células, para estructurar tridimensionalmente al tejido en construcción con la intervención de señales moleculares y mecánicas. Desde sus orígenes, los mayores esfuerzos se dirigieron al diseño y desarrollo de diferentes materiales y tecnologías de fabricación para satisfacer la alta demanda existente de tejidos [8]. En esta aproximación, el punto de partida es el diseño de biomateriales con una composición química y arquitectura tal que tenga la capacidad de conformar una matriz extracelular artificial, un entorno en el que tienen lugar los procesos celulares que conducen al crecimiento de los tejidos. La relación estructura-función de los tejidos cardiovasculares nativos plantea un fuerte criterio de diseño para los sustratos requeridos. Por lo tanto, el diseño de un injerto vascular debe tener en cuenta su estructura y funciones a nivel macroscópico y microscópico.

En este sentido, la ingeniería de tejidos vasculares plantea diferentes enfoques: los injertos obtenidos por láminas celulares auto-ensambladas (*cell-sheet tissue engineering*) [9, 10] y los injertos asistidos por matrices biomiméticas. En este último caso, la solución es más

rápida y no invasiva y la elección del biomaterial soporte es un paso crítico en el diseño exitoso de las tubuladuras. Como se mencionó anteriormente, es fundamental que el injerto responda tanto mecánica como biológicamente al ambiente hemodinámico al que va a estar sometido, y en este aspecto el material y la estructura de la matriz porosa cumplen un rol clave.

La primera alternativa para la fabricación de las matrices soporte involucró el uso de biopolímeros o polímeros naturales [11]. Sin embargo, los injertos de geles de colágeno presentaron propiedades mecánicas pobres y no resistieron su uso clínico sin un recubrimiento polimérico sintético de soporte. También se utilizó elastina, fibrina de seda, geles de fibrina, y polímeros a base de proteínas con unidades repetitivas de pentapéptidos similares a la elastina. No obstante, las propiedades mecánicas observadas en todos los injertos generados fueron inferiores a los injertos sintéticos [1, 6].

Otra alternativa explorada para la obtención de matrices soportes para ingeniería de tejidos de injertos vasculares se enfocó en el empleo de polímeros sintéticos biorreabsorbibles. Se estudiaron poliésteres alifáticos como el poli(L-ácido láctico) (PLLA), poli(ácido glicólico) (PGA), poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL) y sus copolímeros, y poliuretanos segmentados (SPU). Los polímeros sintéticos permiten obtener estructuras con propiedades mecánicas a medida, así como velocidad de degradación, porosidad y microestructura específicas. El primer vaso sanguíneo diseñado por ingeniería de tejidos se desarrolló a partir de tubuladuras de PGA cultivadas en un biorreactor con células bovinas [12]. En el 2001, Shinoka y colaboradores fueron los primeros en utilizar un injerto de ingeniería de tejidos para tratar una enfermedad congénita en pacientes pediátricos [7].

### 3. Técnicas de Fabricación

La microestructura, porosidad, y topografía del injerto poroso son factores fundamentales para su desempeño exitoso. La producción de injertos vasculares se puede abordar mediante diferentes técnicas, entre las cuales se encuentran el auto-ensamblado molecular, separación de fases y electrohilado (*electrospinning*).

El auto-ensamblado consiste en la organización espontánea de átomos, moléculas y agregados moleculares en patrones o estructuras sin intervención externa. Este proceso está mediado por fuerzas secundarias no covalentes tales como interacciones iónicas (electrostáticas), enlaces puente de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas e interacciones de van der Waals para formar entidades estructuralmente bien definidas y estables (filmes, bicapas, membranas, nanopartículas, fibras, micelas, cápsulas, tubos, mesofases o vesículas). El auto-ensamblado de macromoléculas naturales o sintéticas produce estructuras con arquitectura supramolecular nanométrica y en determinadas condiciones nanofibras que forman matrices fibrosas. Los hidrogeles basados en proteínas proporcionan, además de su capacidad de gelación *in situ*, las condiciones necesarias para la proliferación celular y formación de tejidos. Para emular la estructura triple helicoidal del colágeno se han sintetizado diversos péptidos anfi-

fílicos, que forman nanofibras supramoleculares de 5-8 nm de diámetro y más de 1  $\mu\text{m}$  de longitud. Los copolímeros en bloque y dendrímeros pueden también formar nanofibras. El auto-ensamblado genera nanofibras de diámetro menor a 10 nm y requiere de procedimientos complejos y técnicas extremadamente elaboradas y de baja productividad [13].

La separación de fases de soluciones poliméricas puede inducirse por un cambio en la temperatura, por la introducción de un líquido que no es solvente de la fase polimérica, o bien por polimerización. La separación de fases inducida térmicamente (*thermally-induced phase separation, TIPS*) permite obtener morfologías nanofibrosas. En esta técnica se parte de un sistema multicomponente homogéneo que en determinadas condiciones se torna termodinámicamente inestable y tiende a separarse en fases para disminuir la energía libre del sistema. La separación de fases líquido-líquido de una solución polimérica con temperatura crítica de solución superior se induce disminuyendo la temperatura. El sistema se separa en dos fases, una fase rica en polímero y otra pobre, formando una estructura bicontinua. La fase rica en polímero solidifica después de la eliminación del solvente mediante liofilización y se obtiene la matriz con arquitectura macroporosa. Aunque originalmente esta técnica se ha empleado con PLLA, PGA, poli (ácido láctico-co-glicólico (PGLA)), su empleo se ha extendido a otros polímeros tales como polihidroxialcanoato, quitosano, gelatina y materiales compuestos con biocerámicos. Entre las ventajas de esta técnica se encuentran la posibilidad de incorporar moléculas bioactivas a las matrices sin disminuir la actividad de las moléculas por medio térmico o químico, la alta reproducibilidad, la producción de muestras en moldes que pueden adoptar una geometría particular y el empleo de equipamiento no especializado. Las desventajas están asociadas al escaso número de polímeros que pueden procesarse y la dificultad para el escalado comercial. Por otra parte, un pequeño cambio en los parámetros del proceso: tipo de polímero, concentración de la solución polimérica, relación disolvente/no disolvente y principalmente el programa térmico, puede afectar significativamente la morfología del soporte poroso resultante [14].

Si bien se han logrado injertos vasculares con propiedades interesantes mediante auto-ensamblado y separación de fases, la tecnología de electrohilado resulta la técnica más prometedora. El electrohilado permite la obtención de fibras micro/nanométricas a partir de una solución de polímero o polímero fundido mediante la aplicación de una tensión elevada (del orden de la decena de kilovoltios). Es una técnica versátil y las matrices nanofibrosas producidas presentan un gran potencial para imitar el microambiente fibroso de la matriz extracelular natural presente en las arterias [15]. El electrohilado ofrece la posibilidad de ajustar finamente las propiedades mecánicas durante la fabricación, controlando la microarquitectura porosa, el tamaño y la orientación de las fibras, logrando comportamientos anisotrópicos como los observados en los vasos sanguíneos. Además, mediante el empleo de un colector rotatorio de pequeño diámetro se genera una tubuladura sin costura ideal para aplicaciones vasculares. Todas estas ventajas posicionan a la técnica de electrohilado como una técnica ideal para la producción de injertos vasculares de pequeño diámetro.

## **4. Utilización de Polímeros sintéticos y/o Naturales**

Los polímeros biorreabsorbibles son los candidatos preferidos para la producción de matrices extracelulares temporales durante el proceso de regeneración. Teniendo en cuenta que durante el proceso de degradación se modifican las propiedades químicas, físicas, mecánicas y biológicas de la matriz soporte, la selección del material más apropiado para la aplicación deseada es crítica. En el caso de los injertos vasculares, se busca obtener una estructura completamente regenerada mecánica y biológicamente, lo cual requiere de la degradación completa de la matriz soporte y la regeneración y remodelado del tejido con organización celular bien definida.

El desarrollo de injertos vasculares compuestos de un solo tipo de polímero se ha centrado principalmente en el estudio de injertos a partir de polímeros sintéticos como PCL [16, 17, 18, 19], PLGA y poli(glicerol sebacato) (PGS) [20, 21, 22], PGA [23], poliuretanos estables [24, 25, 26, 27, 28] y biodegradables [29, 30, 31, 32]. Si bien estos injertos presentaron resultados prometedores, con la ventaja de poder ajustar sus propiedades mecánicas y velocidad de degradación, así como también uniformidad de propiedades entre lotes distintos, éstos carecen de sitios de unión específicos para la interacción celular. Además, las tubuladuras compuestas de un único polímero presentan propiedades mecánicas extremas (o muy rígidas o muy elásticas).

También se han desarrollado injertos monocapa a partir de biopolímeros/polímeros naturales como el colágeno [33], la gelatina [34], la fibrina de seda [35, 36, 37] y tropoelastina recombinante humana [38]. Los polímeros naturales poseen propiedades biológicas intrínsecas, como bioactividad, la habilidad de presentar ligandos receptor-unión a las células, susceptibilidad a la degradación proteolítica desencadenada por las células y remodelado natural. Sin embargo, su utilidad se ha limitado debido a la posibilidad de desarrollar una respuesta inmunogénica fuerte, transmisión de enfermedades y su compleja purificación. Además, los polímeros naturales poseen pobres propiedades mecánicas e inestabilidad dimensional causadas por la contracción y la prematura disolución en condiciones de cultivo que los obliga a la necesidad de realizar un proceso posterior de entrecruzamiento [39, 40, 41].

Se ha demostrado que una tubuladura compuesta por un solo material no puede satisfacer todos los requerimientos para el éxito de un injerto vascular en simultáneo. Para sobrellevar este problema, la ingeniería de tejidos vasculares ha centrado sus desarrollos en la utilización de copolímeros y mezcla de polímeros con el fin de mejorar tanto la respuesta mecánica, como biológica. En particular, la mezcla de polímeros naturales con sintéticos promete combinar dos características deseadas: la resistencia y durabilidad de los polímeros sintéticos con la afinidad celular de las proteínas naturales. Además, los polímeros naturales aumentan la hidrofiliidad de la mezcla, lo que favorece a la fijación, migración y proliferación celular. Una vez implantado el injerto, los polímeros naturales invariablemente se degradan creando mayor porosidad para la migración celular y regeneración del tejido, mientras los polímeros sintéticos mantienen la integridad estructural hasta que el vaso sanguíneo se haya regenerado por completo [41]. Con esta visión se han desarrollado injertos vasculares a partir de

mezclas de distintos poliésteres sintéticos, colágeno y elastina [42, 43, 44, 45]; poligecaprona (PGC), PCL, elastina soluble bovina y gelatina bovina [46]; PLCL con colágeno y quitosano [47]; PLLA y colágeno [48]; PCL y quitosano [49]; nano-celulosa bacteriana y poli(vinil alcohol) [50]; entre otros.

Los injertos electrohilados de mezclas de polímeros presentan un mejor comportamiento, tanto mecánico como biológico, sin embargo, la estructura en capas de las arterias naturales sugiere que los injertos con dos o tres capas concéntricas pueden lograr un mayor grado de biomimeticidad.

## **5. Estructuras c/comportamiento mecánico biomimético**

Las arterias naturales presentan una estructura jerárquica en capas, compuestas por distintas proporciones de colágeno, elastina, células de músculo liso, proteoglicanos y células endoteliales [51]. Esta compleja estructura multicapa les confiere un desempeño mecánico propio.

Las arterias se encuentran sometidas a una presión interna de naturaleza pulsátil. Las propiedades de la pared arterial dependen del rol mecánico que desempeñan sus componentes pasivos (fibras de elastina y colágeno) y los componentes activos (células de músculo liso). Los valores del módulo de Young de las fibras de colágeno y elastina son extremadamente distintos, y contribuyen individualmente a la elasticidad total de la arteria. Además, se observan cambios en la elasticidad bajo la activación de las células de músculo liso y el reclutamiento de las fibras de colágeno que soportan las tensiones de la pared arterial [52, 53, 54, 55, 56, 57]. La elastina es el principal protagonista de la función de amortiguamiento en el sistema circulatorio. Las fibras de colágeno están dispuestas de tal forma que actúan protegiendo al vaso de la ruptura por grandes deformaciones, limitando su expansión circunferencial. Esta configuración de las fibras de colágeno y elastina resulta en una respuesta elástica no lineal de la pared arterial [55, 56, 58, 59]. Cuando las arterias son sometidas a presiones bajas, se observa una alta distensibilidad y baja rigidez, fenómeno atribuido fundamentalmente a las fibras de elastina. A medida que la presión aumenta, las fibras de colágeno se alinean y orientan, disminuyendo la distensibilidad de la arteria. Finalmente, a presiones altas la respuesta mecánica se debe principalmente al colágeno presente, observando una alta rigidez en las arterias. Este comportamiento no lineal es conocido como curva “J” [52, 60, 61].

Los reemplazos de las arterias naturales, al igual que éstas, se encuentran sometidos a una presión cíclica y constante impuesta por el corazón que influye en el comportamiento de las células y los tejidos. Por lo tanto, el desempeño mecánico y consecuentemente las propiedades mecánicas de los materiales que constituyen los injertos vasculares son factores clave para un desempeño apropiado para ingeniería de tejidos. En particular, el desajuste entre la *compliance* del injerto vascular y la arteria nativa conduce a una falla para periodos prolongados de implantación, especialmente para conductos de pequeño diámetro [61].

Por lo tanto, los materiales presentes en la estructura porosa deben comportarse como los componentes presentes en la matriz extracelular de las arterias, principalmente colágeno y elastina. Debido a la particular estructura nativa de los vasos sanguíneos, ha surgido un interés en la construcción de matrices soporte multicapas compuestas. De esta forma pueden ajustarse las propiedades mecánicas al variar los porcentajes relativos de cada material presente y obtener una capa interna más distensible que actúe a bajas presiones, así como una capa externa más rígida que resista las altas tensiones como las fibras de colágeno. Además, esta estructura en capas permite el sembrado de distintos tipos celulares (células endoteliales, células de músculo liso) en cada capa para la regeneración coordinada del vaso sanguíneo [41].

Numerosas investigaciones se han centrado en el desarrollo de este tipo de injertos, en algunos casos mediante injertos híbridos con una capa electrohilada y otra obtenida mediante otras técnicas de obtención de fibras o matrices porosas [62, 63, 64, 65], y en otros casos a partir de capas con distinta morfología y porosidad pero con el mismo polímero [66]. La mayoría de estos estudios se enfocaron en injertos con multicapas electrohiladas de mezclas de distinta composición y en algunos casos tomando como base los estudios previos en injertos monocapa de mezclas de polímeros.

S. Kidoaki y colaboradores fueron los primeros en producir injertos vasculares multicapa por la técnica de electrohilado. Su trabajo se centró en la descripción de la técnica de electrohilado secuencial. Realizaron injertos bicapa con una capa interna de colágeno y una externa de un poliuretano bioestable [67]. El grupo de Y.K. Vohra también estudió y optimizó injertos multicapas [68, 69, 70]. En una primera aproximación, produjeron injertos bicapa y tricapa a partir de elastina, gelatina y poligliconato (PG) (Maxon®) con distinta porosidad. Los autores consideraron a los injertos como buenos candidatos, sin embargo carecen de una caracterización mecánica profunda, así como también estudios de citotoxicidad [68]. Posteriormente, en base a los injertos monocapa de mezclas [46], realizaron tubuladuras bicapa de PGC, PCL, elastina y colágeno para la capa interna y PGC, PCL y elastina para la capa externa [69, 70]. Estudiaron el comportamiento mecánico en forma un poco más completa, pero sin realizar ensayos dinámicos bajo regímenes fisiológicos. También estudiaron la capacidad de regeneración de endotelio *in vitro* de los injertos, obteniendo buenos resultados.

G.L. Bowling y su grupo desarrollaron injertos tricapa a base de PCL, elastina y colágeno o fibrina de seda [71, 72]. Los injertos se caracterizaron mecánicamente, mediante ensayos dinámicos bajo sollicitaciones fisiológicas, ensayos de resistencia a la sutura y presión de reventado. La variación en la composición de la capa media y externa, así como también la presencia de colágeno o fibrina de seda en la mezcla de la capa y el tipo de entrecruzante utilizado, permitieron modular la respuesta mecánica. Las propiedades mecánicas no tuvieron variaciones significativas luego de 4 semanas de degradación hidrolítica. El análisis realizado permitió concluir que los injertos resultaron mecánicamente biomiméticos, y que son potenciales candidatos para el reemplazo de vasos de pequeño diámetro. Sin embargo, aún se requieren estudios celulares *in vitro* y/o *in vivo* previos a los estudios clínicos.

## *Nuevas Estrategias para el Desarrollo de Injertos Vasculares*

S.G. Wise y colaboradores realizaron injertos vasculares bicapa, con una capa interna a partir de elastina sintética y una capa externa a partir de una mezcla de PCL y elastina. Los autores concluyen que la capa interna estimula la endotelización y evita la adhesión de plaquetas en el lumen del injerto, mientras que la capa externa le confiere estabilidad mecánica [73]. El injerto imita el desempeño mecánico de la arteria mamaria.

El grupo de T. Wu desarrolló un injerto tricapa de fibras alineadas de PLCL/colágeno en la capa interna, hilados electrohilado de poli(lactida-co-glicolida) (PLGA)/fibrina de seda en la capa media y fibras al azar de PLCL/colágeno en la capa externa mediante electrohilado secuencial en tres pasos [74]. Se estudió su respuesta mecánica y biológica, obteniéndose resultados prometedores como posibles injertos vasculares. Se demostró que la capa interna de fibras alineadas logró organizar la morfología del endotelio en el lumen del injerto, mientras que los hilos orientados circunferencialmente regularon la organización de las células de músculo liso a lo largo de los mismos. La capa externa de fibras al azar mantuvo la estructura del injerto. También se observó infiltración celular, biodegradación y producción de colágeno luego de ensayos *in vivo* por 10 días. El mismo grupo también estudió un injerto multicapa mediante electrohilado gradual, donde se evita un cambio brusco en la concentración del injerto en la interface entre cada capa mediante el electrohilado de ambas soluciones previo al paso a la segunda [75]. Sus propiedades mecánicas fueron caracterizadas, obteniéndose baja distensibilidad comparada con arterias naturales. También se estudió cómo la degradación afecta su resistencia y elongación, observando una disminución gradual de las mismas hasta los 3 meses. Los ensayos biológicos mostraron buena biocompatibilidad e indicios de posible penetración celular dentro del injerto.

A. Abdal-hay y colaboradores obtuvieron un injerto bifásico mediante el electrohilado de poliuretano encima de una tubuladura de PCL obtenida capa por capa por deposición con aerógrafo. Se caracterizó el injerto mecánicamente y los resultados mostraron un efecto sinérgico entre los componentes del mismo, logrando una combinación favorable de rigidez, resistencia, ductilidad y tenacidad confirmando su idoneidad como estructuras vasculares para ingeniería de tejidos [76].

Por otra parte, H-Y. Mi y colaboradores desarrollaron injertos tricapa mediante la combinación de distintas técnicas de fabricación de forma de obtener distinto grado de porosidad en cada capa [77, 78]. En una primera aproximación utilizaron un poliuretano de grado médico y seda combinando electrohilado, trenzado de hilos y separación de fases inducida térmicamente, donde la capa interna se obtuvo por electrohilado de poliuretano, la media mediante el trenzado de fibras de seda y la externa por separación de fases de poliuretano. Las distintas estructuras de cada capa y las propiedades de los materiales utilizados permitieron obtener una curva tipo J en tracción, con buena resistencia al reventado y la sutura. Además se observó que células endoteliales podrían formar una capa celular en la cara interna del injerto [77]. En segunda instancia, utilizando las mismas técnicas, produjeron un injerto tricapa de poli(carbonato de propileno) (PPC) y poliuretano, donde la capa interna y externa fueron electrohiladas de poliuretano y PPC respectivamente, mientras que la media se obtuvo por separación de fases poliuretano. La caracterización mecánica mostró buenas propiedades por parte del injerto no obstante la respuesta tipo J no se observó. Los ensayos biológicos



revelaron buena afinidad con células endoteliales del PPC [78].

Nuestro grupo desarrolló un conducto electrohilado nanofibroso bicapa biorreabsorbible a partir de mezclas de PLLA y poliuretano segmentado (PHD) [79]. La idea central del diseño se basa en imitar la relación de colágeno y elastina natural observada en las capas media y adventitia de las arterias coronarias, las cuales son las principales encargadas de soportar las sollicitaciones dinámicas pulsátiles del flujo sanguíneo [80]. El PLLA posee un alto módulo elástico, requerido para soportar altas presiones y flujos sin colapso o degradación hasta que el tejido se desarrolle y madure *in vivo*. Además, el PLLA mostró tener una respuesta mecánica similar al colágeno [81]. El PHD se empleó para lograr una respuesta más biomimética. Los elastómeros como el PHD son materiales termoplásticos con propiedades físicas excelentes como resistencia a la tracción, buena compliance y biocompatibilidad. Considerando sus propiedades superiores, principalmente su naturaleza distensible viscoelástica, el PHD proporciona una respuesta mecánica similar a la elastina. La hipótesis que el PLLA y el PHD se comportan mecánicamente similar al colágeno y la elastina se corroboró experimentalmente [82, 83]. También se estudió la degradación hidrolítica de las capas del injerto, observando una velocidad de degradación equivalente para las dos capas del injerto con un tiempo de degradación en concordancia con el tiempo de regeneración de tejido vascular *in vitro* [84].

## 6. Incorporación de agentes terapéuticos y modificación superficial de injertos vasculares

Todos estos enfoques han producido resultados interesantes y alentadores, aunque presentan algunas limitaciones y principalmente la necesidad de un tiempo de cultivo *in vitro* previo a la realización del implante. En ese sentido la ingeniería de tejidos *in vivo* permite que el crecimiento y la proliferación celular suceda una vez implantado el injerto. Hoy en día, el enfoque se dirige a cambiar la función del sustrato desde una matriz meramente pasiva o semi-bioactiva hacia una verdaderamente bioactiva, que interaccione y responda a los estímulos biológicos del cuerpo [85].

Como una primera aproximación, se han preparado injertos vasculares con distintos agentes terapéuticos, como factores de crecimiento y agentes anticoagulantes, mezclados físicamente dentro de las estructuras soporte, para, mediante su liberación, mejorar la formación de endotelio, la infiltración celular y evitar la formación de trombos [86, 87, 88, 89]. Estos injertos presentaron mejores resultados frente a cultivos celulares *in vitro* y ensayos *in vivo* que sus contrapartes sin agentes terapéuticos. No obstante, en la mayoría de los casos se observó una liberación no uniforme del agente bioactivo, con un efecto *burst* en la primera etapa de la liberación. Zhao y colaboradores estudiaron una nueva técnica para la encapsulación de factores de crecimiento dentro de la matriz soporte de forma de evitar el efecto *burst* y modular el perfil de liberación [90]. Si bien se obtuvieron resultados alentadores, estos estudios están aún en etapa preliminar y no garantizan evitar una etapa de cultivo previa *in*

*vitro*.

Una de las propiedades más importantes de los injertos vasculares es la compatibilidad de su superficie con la sangre o hemocompatibilidad. La superficie debe poder mantener bajo control los procesos de coagulación e inflamación al ponerse en contacto con sangre en las condiciones hemodinámicas dadas. En cuanto a la interacción de la sangre con la superficie, la respuesta de la sangre es sensible al área superficial, cristalinidad, hidrofobicidad/hidrofilicidad, estructura externa y química de la superficie. Por lo tanto, un injerto vascular para ingeniería de tejidos necesita expresar actividad anticoagulante hasta que se logre un revestimiento completo de células endoteliales, y promover la adhesión y proliferación celular. Las estrategias más utilizadas para resistir la adhesión no específica de proteínas, aumentar la hemocompatibilidad y mejorar la permeabilidad del injerto sintético a largo plazo son las modificaciones superficiales, ya sea física o química, mientras que algunos estudios también consideran la endotelización de la superficie interna de los biomateriales.

Entre las estrategias más utilizadas en la modificación superficial de injertos vasculares se encuentra la inmovilización de biomacromoléculas para incrementar eficientemente la hemocompatibilidad y prevenir en consecuencia la trombosis [91, 92].

El poli(etilenglicol) (PEG) y sus derivados se han utilizado debido a su hidrofilicidad, y a su resistencia a la adsorción de proteínas de plasma y adhesión de plaquetas por su alta movilidad bajo condiciones fisiológicas. Dado que el PEG es soluble en medio acuoso, como la sangre, es necesaria su unión covalente a la superficie de los biomateriales. Y. Feng y su grupo obtuvieron matrices porosas por electrohilado de poli(carbonato uretano) (PCU) modificadas mediante polimerización de radicales por transferencia de átomos para unir cadenas de poli(etilenglicol)metacrilato (PEGMA) a su superficie. Las superficies modificadas mostraron resistencia efectiva a la adhesión de plaquetas y soportaron adhesión y proliferación celular con una respuesta mejor que las matrices no modificadas de PCU [93].

Las betaínas de polímeros zwitterionicos generan una capa de agua estructurada estrechamente unida alrededor de los grupos de cabeza zwitteriónicos a través de la hidratación electrostática inducida por el enlace de hidrógeno en el agua, reduciendo así perceptiblemente la adsorción de proteínas y la adherencia de plaquetas y controlando eficazmente la cascada de la coagulación y la inflamación inmune. S. Yuan y colaboradores diseñaron una superficie multifuncional con propiedades antibacterianas, antitrombogénicas y citocompatibles para potencial aplicación en ingeniería de tejidos vasculares [94]. La superficie de un film de PCL se modificó mediante la inmovilización covalente de péptidos cortos de Arg–Glu–Asp–Val (REDV) sobre cadenas zwitteriónicas de poli(carboxibetanías). Las propiedades bactericidas y hemocompatibles fueron mejoradas en comparación con la superficie sin modificar de PCL, promoviéndose también la proliferación de células endoteliales.

La heparina, fármaco anti-coagulante ampliamente conocido, se ha utilizado en stents y es clínicamente el polisacárido aplicado más exitoso. Su función anticoagulante se basa en su interacción con las antitrombinas III (AT III), como la trombina y el factor Xa, las cuales son inhibidores de proteasas de serina. Su unión causa un cambio conformacional en AT

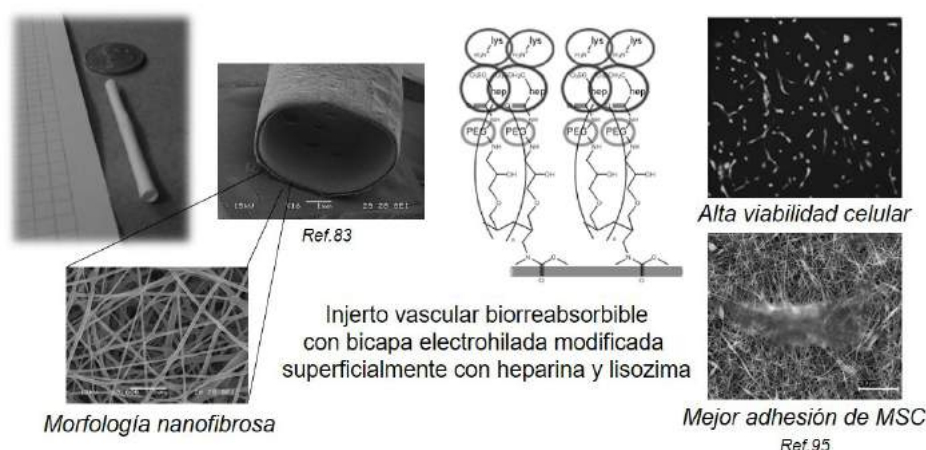


Fig. 1. Modificación de superficie interna de un injerto vascular biorreabsorbible bicapa.

III, y acelera la unión adicional de proteasas de serina; de esta forma se puede prevenir una cascada de coagulación de la sangre. La heparina se ha empleado exitosamente en la mejora de biomateriales mediante recubrimientos, inmovilización covalente y tecnología capa-por-capla (LbL). La inmovilización covalente de heparina se ha estudiado y evaluado ampliamente. La introducción en la superficie polimérica de grupos de anclaje de tipo amino o ácidos carboxílicos es generalmente una etapa necesaria.

Los enlaces covalentes de la heparina evitan que ésta se elimine fácilmente cuando la superficie del biomaterial se pone en contacto con el flujo sanguíneo. Sin embargo, el movimiento libre de las moléculas de heparina es obstaculizado y restringido por la inmovilización directa e inespecífica. En consecuencia, la configuración natural de la heparina puede afectarse y modificarse durante y luego de la inmovilización, afectando su actividad luego de la modificación superficial de los injertos vasculares. Una estrategia para aumentar la hemocompatibilidad de las superficies heparinizadas consiste en introducir espaciadores hidrofílicos de cierta longitud entre la heparina y la superficie del material. En los injertos bicapa PLLA/PHD desarrollados por nuestro grupo se ha modificado la cara interna con heparina mediante la unión previa de cadenas cortas de PEG en la superficie [95]. Se abordaron dos rutas, una mediante la modificación del PLLA con la generación de grupos ácidos en superficie y la otra mediante la reacción con grupos uretano del PHD. Se encontró que la modificación mediante la vía poliuretánica mostró mejores resultados de hemocompatibilidad, resistencia a la adhesión de plaquetas y proliferación celular (Fig. 1).

Q. Li y colaboradores [96] prepararon injertos vasculares mediante electrohilado de PCU tratados con  $\text{NH}_3$  plasma y entrecruzados químicamente con heparina sódica. Se logró unir la heparina sódica a la superficie del injerto, el cuál presentó baja hemólisis, y buena biocompatibilidad demostrada por su baja citotoxicidad *in vitro* e *in vivo*. Estos resultados los posicionan como injertos vasculares con potencial aplicación clínica, no obstante, solo el aspecto biológico fue evaluado.

Por otro lado, el grupo de J.J.D. Henry desarrolló un método para aumentar la capacidad de uniones superficiales en polímeros biodegradables electrohilados mediante la mezcla con polímeros de bajo peso molecular. Lograron aumentar la densidad de grupos funcionales disponibles e incrementar la capacidad de conjugación de heparina superficial [97]. Además, la mezcla de polímeros de distinto peso molecular permitió ajustar las propiedades mecánicas de los materiales obtenidos. Los ensayos *in vivo* mostraron una mejora en la formación de endotelio y la permeabilidad de los injertos, así como un aumento en la infiltración celular.

Además, se ha reportado la modificación superficial mediante la estrategia de inmovilización de punto final de heparina, donde se inmovilizó cada molécula de heparina en la superficie mediante un único enlace covalente en el final de la cadena polimérica con el fin de mantener su configuración natural y bioactividad. Por ejemplo, X. Qiu y colaboradores modificaron injertos electrohilados de PCU mediante esta técnica [98]. Se obtuvieron buenos resultados en cuanto a la actividad antitrombogénica de las moléculas de heparina inmovilizadas. Los ensayos *in vivo* mostraron una buena permeabilidad, una mejor endotelización de la superficie interna con células endoteliales orientadas y organizadas en una monocapa, así como una mejor integración de los injertos en términos de vascularización e infiltración celular.

Si bien la inmovilización de moléculas bioactivas con propiedades anticoagulantes ha mejorado la respuesta de los biomateriales frente al contacto con la sangre, al mismo tiempo incrementó notablemente la hidrofiliidad de la superficie evitando que las células endoteliales se unan y cubran la superficie. En este sentido, se sabe que tener un endotelio biofuncional y confluyente en la capa interna de los injertos vasculares puede imitar la túnica íntima de los vasos sanguíneos, y así permitir la aplicabilidad a largo plazo de dichos implantes. De lo contrario, la falta de endotelización usualmente resulta en bajas tasas de permeabilidad a largos tiempos de implantación. Para lograr esta respuesta, se ha estudiado la modificación superficial con proteínas adhesivas celulares, péptidos activos y moléculas bioactivas de forma de promover la adhesión de células endoteliales y la endotelización *in situ* rápida de los injertos vasculares. Las superficies de los materiales se pueden revestir con péptidos activos, o éstos pueden inmovilizarse o injertarse covalentemente en las mismas mediante absorción física o reacciones químicas. Entre los péptidos más utilizados se encuentran los tripéptidos Arg-Gly-Asp (RGD) y Cys-Ala-Gly (CAG), los tetrapéptidos REDV y Val-Ala-Pro-Gly (VAPG), y el péptido Tyr-Lle-Gly-Ser-Arg (YIGSR) [99, 100, 101, 102, 103, 104].

Algunos autores hicieron uso de ambas estrategias, produciendo injertos vasculares modificados con heparina y péptidos bioactivos, para mejorar las propiedades antitrombogénicas y la endotelización de los mismos a la vez [105, 106].

Otra estrategia reciente y que promete una endotelización más rápida para lograr así la implantación inmediata de los injertos vasculares es la auto-endotelización *in vivo*. El mayor desafío de la endotelización *in situ* es superar la realidad de la baja actividad proliferativa de las células endoteliales y lograr una regeneración rápida del endotelio. Las células progenitoras endoteliales presentan una solución prometedora a este problema y la biofuncionalización de la superficie de los injertos vasculares con moléculas bioactivas, como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) o los anticuerpos contra CD34 (anti-CD34Ab),

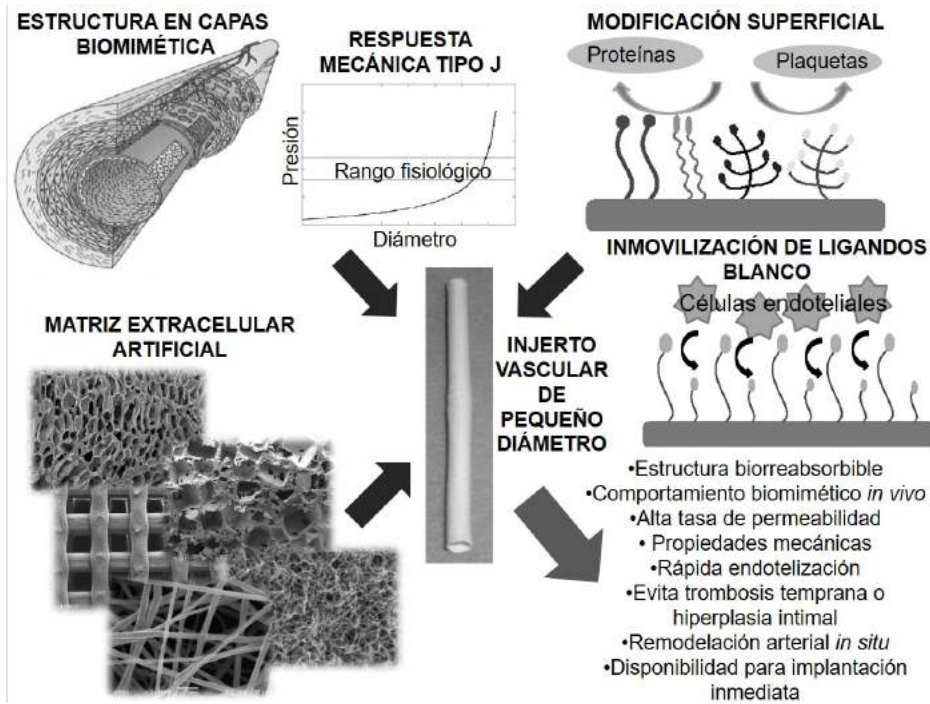


Fig. 2. Estrategias actuales para mejorar la biomimeticidad de los injertos vasculares.

que favorecen la migración, adhesión y proliferación de dichas células hacia el interior del injerto presenta una potencial solución. En este sentido se han llevado a cabo algunos estudios en matrices porosas planas y tubulares con potencial aplicación en ingeniería de tejidos vasculares [107, 108, 109, 110, 111].

Si bien se han obtenido resultados prometedores dentro de la modificación superficial, con mejoras en la hemocompatibilidad y biocompatibilidad celular de injertos vasculares, la mayoría de los estudios se ha centrado en lograr una buena modificación y estudiar la respuesta biológica utilizando filmes o estructuras porosas de biomateriales modelo. La modificación de estructuras multicapas mecánicamente biomiméticas aún se encuentra en sus inicios, y por lo tanto la obtención de un injerto vascular exitoso.

## 7. Perspectivas Futuras y Desafíos

En los últimos años los avances en el campo de ingeniería de tejidos vasculares han sido muy importantes. Existen aún grandes desafíos en la búsqueda de injertos vasculares de pequeño diámetro (<6mm) reabsorbibles que posean un comportamiento biomimético *in vivo* ideal, es decir que mantengan su tasa de permeabilidad y propiedades mecánicas durante el proceso de regeneración, presenten rápida endotelización, no generen trombosis temprana o hiperplasia intimal y permitan la remodelación arterial *in situ* (Fig. 2).

## REFERENCIAS

La ingeniería de tejidos vasculares requiere de un sistema de co-cultivo para integrar los diferentes tipos celulares que constituyen una arteria. Este sistema involucra el uso de biorreactores en los que los constructos biomaterial-célula estén sujetos a gradientes bioquímicos, eléctricos y mecánicos que imiten el medio fisiológico arterial. El remodelado arterial, en el cual actúan enzimas proteolíticas que intervienen en el proceso de degradación de la matriz, aún permanece como un desafío crucial. Las diferentes estrategias para la modificación superficial continúan mejorando la hidrofiliidad e inmovilización de agentes bioactivos promoviendo la adhesión, migración y proliferación de células endoteliales así como el proceso de angiogénesis *in vivo*. Las matrices multicapa con capacidad para liberar localmente factores de crecimiento, genes no virales y otros agentes bioactivos en forma sostenida constituyen otra aproximación atractiva para avanzar hacia injertos vasculares con control de liberación espacio-temporal. Las tecnologías de impresión tridimensional y bioimpresión prometen, por sí mismas y combinadas con electrohilado, desarrollar configuraciones complejas que puedan imitar la micro y macroestructura y biofunción de los vasos sanguíneos.

Aunque todas estas estrategias exploran las formas de sobrellevar las actuales limitaciones de los injertos de pequeño diámetro, aún no se ha iniciado la etapa de ensayo clínico. La combinación de nuevos materiales, procesos, post-tratamientos de modificación de superficies se visualiza como un camino a seguir en busca del injerto vascular artificial ideal, mientras que al mismo tiempo se necesita un mejor entendimiento de los mecanismos que regulan las interacciones entre la superficie y las células endoteliales, sistemas de liberación de factores de crecimiento y genes.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (subsidio PICT224), CONICET (subsidio PIP089) y UNMdP (Proyecto 15/G479) por los subsidios recibidos.

## REFERENCIAS

- [1] D. G. Seifu, A. Purnama, K. Mequanint, D. Mantovani, *Nat Rev Cardiol* **10**, 410 (2013).
- [2] J. T. Willerson, D. Sabiston, *Cecil-Tratado de medicina interna* (Interamericana-McGraw Hill, 1991), pp. 362–379.
- [3] P. Libby, *et al.*, *Harrison-principios de medicina interna* (McGraw Hill Madrid, 1998), pp. 1536–1574.

- [4] C. Canver, *Chest* **108**, 1150 (1995).
- [5] R. Kannan, H. Salacinski, P. Butler, G. Hamilton, A. Seifalian, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* **74B**, 570 (2005).
- [6] S. Ravi, E. Chaikof, *Regenerative Medicine* **5**, 107 (2009).
- [7] H. Kurobe, M. Maxfield, C. Breuer, T. Shinoka, *Stem Cells Translational Medicine* **1**, 566 (2012).
- [8] F. O'Brien, *Materials Today* **14**, 88 (2011).
- [9] N. L'Heureux, *et al.*, *Nature Medicine* **12**, 361 (2006).
- [10] G. Konig, *et al.*, *Biomaterials* **30**, 1542 (2009).
- [11] C. Weinberg, E. Bell, *Science* **231**, 397 (1986).
- [12] L. Niklason, *et al.*, *Science* **284**, 489 (1999).
- [13] N. Kimizuka, *Self-Assembled Nanomaterials I: Nanofibers* (Springer Berlin Heidelberg, 2008).
- [14] V. Beachley, X. Wen, *Progress in Polymer Science* **35**, 868 (2010).
- [15] A. Hasan, *et al.*, *Acta Biomaterialia* **10**, 11 (2014).
- [16] S. Drilling, J. Gaumer, J. Lannutti, *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **88A**, 923 (2009).
- [17] B. Nottelet, *et al.*, *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **89A**, 865 (2009).
- [18] H. Wu, J. Fan, C.-C. Chu, J. Wu, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **21**, 3207 (2010).
- [19] D. Mugnai, *et al.*, *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* **146**, 400 (2013).
- [20] J. Gao, P. Crapo, R. Nerem, Y. Wang, *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **85A**, 1120 (2008).
- [21] P. M. Crapo, C. Wang, *Biomaterials* **31**, 1626 (2010).
- [22] M. Kim, *et al.*, *Macromolecular Research* **16**, 345 (2008).
- [23] T. Telemeco, *et al.*, *Acta Biomaterialia* **1**, 377 (2005).
- [24] T. How, D. Annis, *Journal of Biomedical Materials Research* **21**, 1093 (1987).
- [25] D. Annis, *et al.*, *ASAIO Journal* **24**, 209 (1978).

## REFERENCIAS

- [26] T. Matsuda, *et al.*, *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **73A**, 125 (2005).
- [27] C. Grasl, H. Bergmeister, M. Stoiber, H. Schima, G. Weigel, *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **93A**, 716 (2010).
- [28] H. Bergmeister, *et al.*, *Acta Biomaterialia* **9**, 6032 (2013).
- [29] T. Courtney, M. Sacks, J. Stankus, J. Guan, W. Wagner, *Biomaterials* **27**, 3631 (2006).
- [30] A. Nieponice, *et al.*, *Biomaterials* **29**, 825 (2008).
- [31] P. Punnaikitikashem, D. Truong, J. Menon, K. Nguyen, Y. Hong, *Acta Biomaterialia* **10**, 4618 (2014).
- [32] J. Han, *et al.*, *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **96A**, 705 (2011).
- [33] C. Ghezzi, B. Marelli, N. Muja, S. Nazhat, *Acta Biomaterialia* **8**, 1813 (2012).
- [34] Y. Elsayed, C. Lekakou, F. Labeed, P. Tomlins, *Materials Science and Engineering: C* **61**, 473 (2016).
- [35] B. Marelli, *et al.*, *Acta Biomaterialia* **6**, 4019 (2010).
- [36] S. Liu, *et al.*, *Acta Biomaterialia* **9**, 8991 (2013).
- [37] I. Cattaneo, *et al.*, *The International Journal of Artificial Organs* **36**, 166 (2013).
- [38] K. McKenna, *et al.*, *Acta Biomaterialia* **8**, 225 (2012).
- [39] S. Sell, *et al.*, *Polymers* **2**, 522 (2010).
- [40] M. Li, *et al.*, *Biomaterials* **26**, 5999 (2005).
- [41] E. Ercolani, C. D. Gaudio, A. Bianco, *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* **9**, 861 (2015).
- [42] J. Stitzel, *et al.*, *Biomaterials* **27**, 1088 (2006).
- [43] B. Tillman, *et al.*, *Biomaterials* **30**, 583 (2006).
- [44] S. Lee, J. Yoo, G. Lim, A. Atala, J. Stitzel, *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **83A**, 999 (2007).
- [45] S. Lee, *et al.*, *Biomaterials* **29**, 2891 (2008).
- [46] X. Zhang, Y. Xu, V. Thomas, S. Bellis, Y. Vohra, *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **97A**, 145 (2011).
- [47] A. Yin, *et al.*, *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **101A**, 1292 (2013).



- [48] L. Jia, M. Prabhakaran, X. Qin, S. Ramakrishna, *Materials Science and Engineering: C* **33**, 4640 (2013).
- [49] T. Fukunishi, *et al.*, *PLoS ONE* **11**, e0158555 (2016).
- [50] J. Tang, L. Bao, X. Li, L. Chen, F. Hong, *Journal of Materials Chemistry B* **3**, 8537 (2015).
- [51] J. Rhodin, *Comprehensive Physiology* (John Wiley & Sons, Inc., 2011), chap. Architecture of the vessel wall, pp. 1–31.
- [52] M. R. Roach, A. Burton, *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* **35**, 681 (1957).
- [53] M. O'Rourke, *Arterial function in health and disease* (Churchill Livingstone, 1982).
- [54] R. Armentano, *et al.*, *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* **260**, H1870 (1991).
- [55] Y.-C. Fung, *Biomechanics: Mechanical properties of living tissues* (Springer-Verlag, 1993).
- [56] J. Barra, *et al.*, *Circulation Research* **73**, 1040 (1993).
- [57] R. Shadwick, *Journal of Experimental Biology* **202**, 3305 (1999).
- [58] D. Bergel, *The Journal of Physiology* **156**, 458 (1961).
- [59] D. Bergel, *The Journal of Physiology* **156**, 445 (1961).
- [60] R. Armentano, J. Barra, J. Levenson, A. Simon, R. Pichel, *Circulation Research* **76**, 468 (1995).
- [61] H. Sonoda, K. Takamizawa, Y. Nakayama, H. Yasui, T. Matsuda, *Journal of Biomedical Materials Research* **55**, 266 (2001).
- [62] L. Soletti, *et al.*, *Acta Biomaterialia* **6**, 110 (2010).
- [63] H. Rapoport, *et al.*, *Tissue Engineering Part C: Methods* **18**, 567 (2012).
- [64] M. Williamson, R. Black, C. Kielty, *Biomaterials* **27**, 3608 (2006).
- [65] J.-H. Lin, *et al.*, *Materials Letters* **190**, 201 (2017).
- [66] S. de Valence, *et al.*, *Acta Biomaterialia* **8**, 3914 (2012).
- [67] S. Kidoaki, I. Kwon, T. Matsuda, *Biomaterials* **26**, 37 (2005).
- [68] V. Thomas, X. Zhang, S. Catledge, Y. Vohra, *Biomedical Materials* **2**, 224 (2007).
- [69] X. Zhang, V. Thomas, Y. Xu, S. Bellis, Y. Vohra, *Biomaterials* **31**, 4376 (2010).

## REFERENCIAS

- [70] X. Zhang, V. Thomas, Y. Vohra, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **21**, 541 (2010).
- [71] M. McClure, D. Simpson, G. Bowlin, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* **10**, 48 (2012).
- [72] M. McClure, S. Sell, D. Simpson, B. Walpoth, G. Bowlin, *Acta Biomaterialia* **6**, 2422 (2010).
- [73] S. Wise, *et al.*, *Acta Biomaterialia* **7**, 295 (2011).
- [74] T. Wu, *et al.*, *Materials Science and Engineering: C* **82**, 121 (2018).
- [75] T. Wu, *et al.*, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **133**, 179 (2015).
- [76] A. Abdal-hay, M. Bartnikowski, S. Hamlet, S. Ivanovski, *Materials Science and Engineering: C* **82**, 10 (2018).
- [77] H.-Y. Mi, *et al.*, *Materials Letters* **161**, 305 (2015).
- [78] H.-Y. Mi, *et al.*, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **55**, 882 (2016).
- [79] P. Caracciolo, F. Buffa, G. Abraham, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **20**, 145 (2009).
- [80] F. Montini-Ballarin, P. Caracciolo, E. Blotta, V. Ballarin, G. Abraham, *Materials Science and Engineering: C* **42**, 489 (2014).
- [81] D. S. Bagnasco, *et al.*, *Materials Science and Engineering: C* **45**, 446 (2014).
- [82] F. Montini-Ballarin, *et al.*, *Materials Letters* **209**, 175 (2017).
- [83] F. Montini-Ballarin, *et al.*, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* **60**, 220 (2016).
- [84] F. Montini-Ballarin, P. Caracciolo, G. Rivero, G. Abraham, *Polymer Degradation and Stability* **126**, 159 (2016).
- [85] C. Bouten, *et al.*, *Advanced Drug Delivery Reviews* **63**, 221 (2011).
- [86] F. Han, *et al.*, *Biomaterials* **34**, 7302 (2013).
- [87] W. Zhang, *et al.*, *Fibers and Polymers* **18**, 922 (2017).
- [88] A. R. Park, *et al.*, *Macromolecular Research* **23**, 924 (2015).
- [89] Y.-T. Hu, X.-D. Pan, J. Zheng, W.-G. Ma, L.-Z. Sun, *International Journal of Surgery* **44**, 244 (2017).
- [90] Q. Zhao, W. Lu, M. Wang, *Materials Letters* **193**, 1 (2017).

- [91] X. Ren, *et al.*, *Chemical Society Reviews* **44**, 5680 (2015).
- [92] I. Adipurnama, M.-C. Yang, T. Ciach, B. Butruk-Raszeja, *Biomaterials Science* **5**, 22 (2017).
- [93] Y. Feng, *et al.*, *Journal of Controlled Release* **172**, e142 (2013).
- [94] S. Yuan, *et al.*, *Journal of Materials Chemistry B* **3**, 8088 (2015).
- [95] P. C. Caracciolo, *et al.*, *Materials Science and Engineering: C* **75**, 1115 (2017).
- [96] Q. Li, *et al.*, *Materials Science and Engineering: C* **78**, 854 (2017).
- [97] J. Jeffrey, *et al.*, *Biofabrication* **9**, 035007 (2017).
- [98] X. Qiu, *et al.*, *Acta Biomaterialia* **51**, 138 (2017).
- [99] W. Seeto, Y. Tian, E. Lipke, *Acta Biomaterialia* **9**, 8279 (2013).
- [100] S. Noel, A. Hachem, Y. Merhi, G. D. Crescenzo, *Biomacromolecules* **9**, 1682 (2016).
- [101] L. Antonova, *et al.*, *International Journal of Molecular Sciences* **17**, 1920 (2016).
- [102] C. y. Zhang, D. c. Zhang, D. l. Chen, M. Li, *Polymer Composites* **37**, 523 (2016).
- [103] F. Zhou, *et al.*, *Materials Science and Engineering: C* **68**, 623 (2016).
- [104] W. Choi, *et al.*, *Macromolecular Research* **17**, 458 (2009).
- [105] W. Choi, *et al.*, *ACS Applied Materials & Interfaces* **8**, 4336 (2009).
- [106] M. Cutiongco, D. Anderson, M. Hinds, E. Yim, *Acta Biomaterialia* **25**, 97 (2015).
- [107] Y. Joung, I. Hwang, K. Park, C. Lee, *Macromolecular Research* **18**, 904 (2010).
- [108] H.-F. Guo, *et al.*, *Acta Biomaterialia* **18**, 107 (2017).
- [109] E. Goh, E. Wong, Y. Farhatnia, A. Tan, A. Seifalian, *International Journal of Molecular Sciences* **16**, 597 (2015).
- [110] A. Melchiorri, *et al.*, *Biomacromolecules* **16**, 437 (2015).
- [111] M. Yin, Y. Yuan, C. Liu, J. Wang, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **20**, 1513 (2009).

## **Autores**

**Florencia Montini Ballarin.** Ingeniera en Materiales y Doctora en Ciencia de Materiales UNMdP. Investigadora Asistente de CONICET en la División Polímeros Biomédicos del Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales, INTEMA (UNMdP-CONICET) y Ayudante de Primera de los Departamentos de Matemática y Materiales. Ha recibido el premio Innovadores menores de 35 años del MIT Technology Reviews. Su área de interés está centrada en: diseño y obtención de matrices poliméricas biocompatibles y biomiméticas, por electrohilado y manufactura aditiva mediante electrohilado de fundidos, caracterización y modelado constitutivo mecánico. Web: [www3.fi.mdp.edu.ar/biomat](http://www3.fi.mdp.edu.ar/biomat)

**Pablo C. Caracciolo.** Licenciado en Química y Doctor en Ciencia de Materiales UNMdP. Investigador Adjunto de CONICET en la División Polímeros Biomédicos del Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales, INTEMA (UNMdP-CONICET) y Ayudante de Primera del Departamentos de Ingeniería Química. Su área de interés está centrada en: síntesis, caracterización, procesamiento de poliésteres y poliuretanos biorreabsorbibles, matrices para ingeniería de tejidos, electrohilado de polímeros, impresión 3D (manufactura aditiva) y modificación superficial de polímeros para diferentes aplicaciones biomédicas. Web: [www3.fi.mdp.edu.ar/biomat](http://www3.fi.mdp.edu.ar/biomat)

**Gustavo A. Abraham.** Licenciado en Química y Doctor en Ciencia de Materiales UNMdP. Investigador Principal de CONICET, Jefe de la División Polímeros Biomédicos del Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales, INTEMA (UNMdP-CONICET), Profesor Asociado D.E. del Departamento de Ingeniería Química. Su área de interés está centrada en: síntesis y caracterización de polímeros biomédicos, diseño y obtención de matrices poliméricas biocompatibles y biomiméticas, procesamiento de biomateriales poliméricos y compuestos mediante técnicas electrohidrodinámicas y de manufactura aditiva, encapsulación de agentes terapéuticos para sistemas de liberación controlada. Web: [www3.fi.mdp.edu.ar/biomat](http://www3.fi.mdp.edu.ar/biomat)

## CAPÍTULO 3

# EL CÓDIGO NEURONAL

*Camilo J. Mininni<sup>2</sup>, B. Silvano Zanutto<sup>1,2</sup> y Sergio E. Lew<sup>1\*</sup>*

<sup>1</sup> Instituto de Ingeniería Biomédica, Facultad de Ingeniería, Universidad de Buenos Aires

<sup>2</sup> Instituto de Biología Experimental (IBYME) – CONICET

### Resumen

El sistema nervioso de los animales y los humanos está fundamentalmente constituido por unidades funcionales básicas conocidas como neuronas. Allá por 1880 Santiago Ramón y Cajal postuló la existencia de estas unidades funcionales, en contraposición con la idea reinante en esos tiempos, de que el cerebro era una red continua de fibras nerviosas. Casi medio siglo después, Edgar Adrian registró por primera vez actividad eléctrica proveniente de una fibra nerviosa y, desde entonces, enormes fueron los avances en la disciplina conocida como Neurociencias. La interacción masiva y transversal de científicos de todo el mundo permitió leer la actividad cerebral desde distintos enfoques, tales como la electroencefalografía (EEG), la resonancia magnética funcional (fMRI), la magnetoencefalografía (MEG), el registro intracelular, el registro extracelular y las imágenes de calcio. Hoy es posible registrar la actividad eléctrica de cientos de neuronas individuales gracias al uso de métodos ópticos y electrofisiológicos. Sin embargo, sigue bastante ajena al entendimiento humano la manera en que estas unidades básicas, las neuronas, procesan la información recibida del entorno, para convertirla en una acción, es decir, la manera en que reaccionamos en función de los estímulos que nos rodean. Uno de los principales obstáculos para develar este enigma es la complejidad del sistema. Lo que hace robusto al cerebro frente a muchas condiciones adversas, externas e internas, tales como la variabilidad del entorno en el que vivimos y el mismo envejecimiento es, justamente, su complejidad. Millones de neuronas trabajan juntas, sin responsabilidades muy diferenciadas entre ellas, para proveer de funciones superiores como la memoria, la discriminación de estímulos, la ejecución de respuestas motoras, el aprendizaje y ejecución de reglas simples y complejas. Es imprescindible entonces, para entender el código neuronal, abordar el sistema como uno complejo. En este capítulo expondremos el estado del arte en este tópico, uno de los más desafiantes de las neurociencias: descubrir el código neuronal.

## **Abstract**

**The neural code.** The nervous system is built from basic functional units known as neurons. In 1880, Santiago Ramón y Cajal postulated the existence of such functional units, against the ruling idea by those times of the brain as a continuous network of nervous fibers. Fifty years later, Edgar Adrian was the first scientist who could record electrical activity in a nervous fiber and, since then, there was an enormous progress in this new discipline known as Neuroscience. A big effort and cooperation among researchers around the world allowed to extract cerebral information from different approaches: electroencephalography (EEG), functional magnetic resonance imaging (fMRI), magnetoencephalography (MEG), intracellular and extracellular recordings and calcium imaging. Now, it is possible to record electrical activity from hundreds of neurons with the aid of optical and electrophysiological methods. However, the way these neurons process external information in order to coordinate a behavioural response remains obscure. It is the complexity of the brain that makes this enigma so hard to solve. The same complexity that makes the brain robust in the face of the challenges of the external world as well as against aging, is also the main barrier to understand how it works. Millions of neurons work together without significant different functionality among them in order to provide the brain with emergent collective properties such as memory, stimuli discrimination, behavioural responses and learning of simple and complex rules. Then, to understand the neural code it is mandatory to study the nervous system as it is: a complex one. In this chapter we will expose the state of the art of this challenging topic of neuroscience: breaking the neural code.

**Keywords:** *Information, learning, neural code*

# **1. Introducción**

## **1.1. La neurona**

Cómo imaginar la sorpresa de Don Santiago Ramón y Cajal cuando, sentado a su microscopio, observó por primera vez que la porción de cerebro que tenía debajo del objetivo no era una masa protoplásmica continua, sino que estaba constituida por unidades bien diferenciadas [1]. Allá por los finales del siglo XIX, Ramón y Cajal discutía fervientemente con sus colegas acerca de la estructura del tejido nervioso. Por aquellos tiempos la teoría dominante consideraba al cerebro como una gran red continua (la llamada “teoría reticular”). No fue sino hasta que el médico italiano Camillo Golgi descubrió un nuevo método de tinción celular lo que le permitió a Ramón y Cajal diferenciar células nerviosas en la muestra de tejido cerebral, iniciando la “doctrina de la neurona”. Recibieron juntos el premio Nobel de

Medicina por su contribución al descubrimiento de la estructura del tejido nervioso en 1906, y abrieron la puerta al estudio del sistema nervioso y de sus elementos constitutivos.

Las neuronas son células con morfologías de lo más variada. Sin embargo, salvo excepciones, en todas ellas pueden distinguirse tres estructuras clave: el axón, por el cual viaja el impulso eléctrico - el llamado potencial de acción (PA) -, un árbol dendrítico que recibe los impulsos eléctricos de axones provenientes de otras neuronas; y un soma haciendo de nexo entre estos dos. El intercambio de información se hace posible cuando el axón y la dendrita forman conexiones íntimas llamadas sinapsis, término acuñado por Charles Scott Sherrington en 1897 [2], y cuya existencia fue esbozada por Ramón y Cajal, y demostrada con la ayuda del microscopio electrónico por Palade y Palay por un lado, y de Robertis y Bennett, por otro [3]. Es en la sinapsis donde la conversión entre un código eléctrico y un código químico ocurre. El PA que viaja por el axón produce la liberación de moléculas de neurotransmisores (NT) que difunden por el estrecho espacio sináptico hasta encontrarse con receptores específicos ubicados en la dendrita de la neurona receptora. Allí, la unión del NT con su receptor produce diversos efectos sobre la membrana neuronal, dependiendo del NT en cuestión: excitación, inhibición, o bien la modulación de características más indirectas, como la excitabilidad general, o la regulación de la densidad de receptores, entre otros. Es de esta manera que las neuronas forman enormes redes en las cuales unas se afectan a las otras, dando lugar a dinámicas complejas que, literalmente, materializan todo lo que podemos pensar, sentir, e imaginar.

Fue Edgar Douglas Adrian, un médico egresado del Trinity College de Londres quien, luego de haber servido como médico en la primer guerra mundial, regresó a Cambridge y comenzó a estudiar los impulsos nerviosos. Algunos años más tarde publicó dos trabajos fundacionales sobre la manera en que las células nerviosas podrían transmitir información: **Las bases de la sensación** [4], en 1928 y **Los mecanismos de la acción nerviosa** [5], en 1932. Posteriormente, con **Las bases fisiológicas de la percepción** (1954) [6], Adrian sentó las bases de una nueva rama de la fisiología: la neurofisiología. Pocos años después, en 1952, Alan Hodgkin y Andrew Huxley realizaron un exhaustivo trabajo de electrofisiología y modelado matemático que les permitió dilucidar los mecanismos que generan los impulsos nerviosos, los PA [7]. A partir del modelo de potencial de acción de Hodgkin y Huxley (HH) fue posible predecir cambios en la respuesta neuronal debido a alteraciones de la membrana neuronal y de las concentraciones iónicas intra y extra-celular. Con estas herramientas a disposición, la comunidad científica se volcó al estudio del sistema nervioso de diferentes especies animales, consideradas como especies modelo, y en un ida y vuelta entre lo experimental y lo teórico se obtuvieron logros que ayudaron a entender cómo ciertos tipos de neuronas codifican estímulos externos. En el resto de este capítulo mostraremos ejemplos de codificación neuronal en regiones corticales y subcorticales. Algunos de ellos permiten inferir estrategias directas de codificación de la información mientras que otros hacen uso de propiedades emergentes de una población neuronal para codificar y mantener la información contenida.

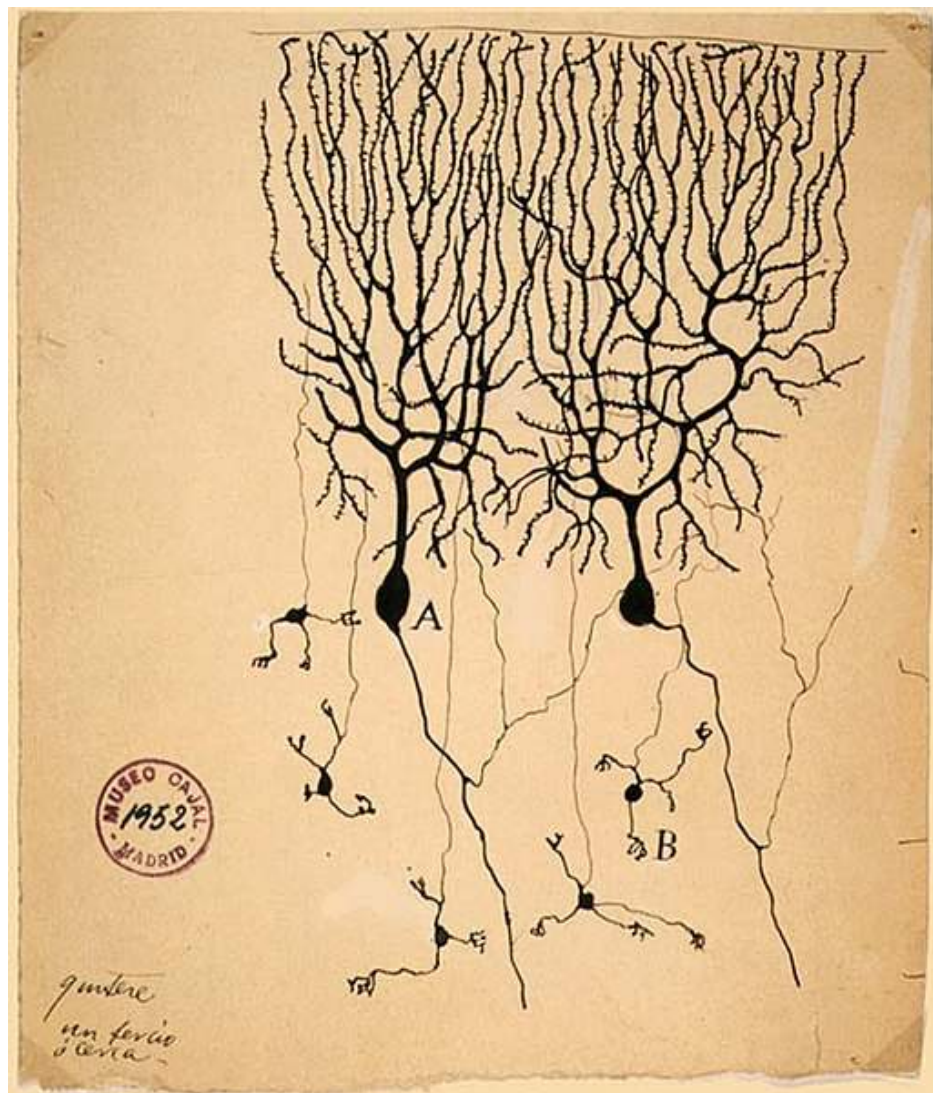


Fig. 1. Dibujo en tinta china realizado por Ramón y Cajal. Se observan dos grandes neuronas con un árbol dendrítico extenso y pequeñas neuronas que se conectan a las anteriores.



## **2. Neuronas visuales: Hubel y Wiesel**

Cierto es que los grandes avances de la ciencia han demandado un esfuerzo increíble, y que si no fuera por seres incansables para quienes la frustración se transforma en desafío para continuar buscando, muchos de estos avances nunca hubieran visto la luz. Pero también es cierto que en esa búsqueda tenaz, muchas veces los descubrimientos aparecen por casualidad, cuando ya el investigador está a punto de darse por vencido. Y este parece ser el caso de David Hubel y Torsten Wiesel, dos investigadores de John Hopkins que a principios de los 50's estudiaban las neuronas de la corteza visual en gatos. Con electrodos fabricados con alambres de tungsteno manualmente afinados y recubiertos con laca aislante, previamente desarrollados por Hubel, ambos investigadores escuchaban la actividad neuronal de la corteza cuando el animal, anestesiado, veía imágenes de diferentes tipos. Este tipo de electrodo no penetraba dentro de las neuronas sino que captaba la despolarización del campo eléctrico extracelular producida por un potencial de acción. Y bien decimos que Hubel y Wiesel escuchaban la actividad neuronal, porque con los instrumentos electrónicos de la época era más fácil captar esta actividad con el oído que con la vista. Así es que las señales registradas se amplificaban lo necesario para ser acopladas a un parlante que, cuando las neuronas próximas al electrodo disparaban, emitía una serie de tics característicos. Luego de interminables fracasos en sesiones de registro donde Hubel y Wiesel trataban de encontrar la relación entre la actividad neuronal y las imágenes constituidas por círculos negros sobre un fondo blanco que proyectaban sobre la retina de los animales, la casualidad hizo que uno de ellos saque violentamente la transparencia que en ese momento estaba en el oftalmoscopio y la esperada secuencia de tics apareció en el parlante. Inmediatamente, volvieron a colocar la transparencia y nada se escuchó hasta que decidieron retirarla, y la secuencia de tics apareció nuevamente. Y luego de mucho probar arribaron a la conclusión de que era el movimiento de la transparencia lo que producía la activación de las neuronas que estaban registrando. Más aún, no un movimiento en cualquier dirección ni en cualquier lugar del oftalmoscopio, más bien uno en el lugar y la dirección apropiada. Finalmente descubrieron que lo que estimulaba a estas neuronas era una línea recta del borde de la transparencia que, al ser movida en una dirección apropiada y en el lugar apropiado del oftalmoscopio, lograba el efecto deseado [8]. Durante los experimentos subsiguientes Hubel y Wiesel fueron capaces de demostrar que las neuronas de la corteza visual primaria V1 disparaban cuando la línea en cuestión se proyectaba en algún lugar particular de la retina, que la actividad de estas neuronas cambiaba según la orientación de la línea proyectada y que existe un mapa topográfico en la corteza visual que representa al campo visual. En este mapa, neuronas cercanas procesan información de campos visuales cercanos. Más aún, este trabajo sentó las bases para construir un modelo de la corteza visual con una arquitectura muy precisa. En este modelo, las neuronas que responden a la misma orientación en determinada parte del campo visual están organizadas en columnas, que funcionan como pequeñas máquinas computacionales que detectan información simple y la envían a otras áreas donde la imagen final es conformada.

### **3. Neuronas dopaminérgicas y el error en la predicción**

Que aprendemos por prueba y error es algo que la humanidad descubrió hace mucho tiempo, a través de la simple observación de cómo el ser humano, y la mayoría de los animales, modifican sus respuestas conductuales para adaptarse de la mejor manera posible al contexto. Así es que nos acercamos hacia aquellos estímulos placenteros (apetitivos) y nos alejamos de los perjudiciales (aversivos), como postuló Edward Thorndike en 1911, en su conocida Ley del Efecto [9]. Lo que sin embargo tardó más de noventa años en descubrirse fueron las bases neurales que explican esa preferencia por acercarse a los estímulos apetitivos. Se sabía que ciertas drogas como las anfetaminas y la cocaína generan sus efectos adictivos mediando en la respuesta de neuronas que reciben aferencias de centros dopaminérgicos. Que cuando a un animal se le da a elegir entre presionar una palanca que da comida u otro que estimula eléctricamente esos centros dopaminérgicos, elige la segunda, incluso cuando hay riesgo de muerte por inanición. Y que aquellos animales que fueron suministrados con un bloqueante de dopamina aprenden más lentamente. Así, la dopamina se convirtió en un candidato para explicar las bases del aprendizaje por condicionamiento.

Fue en una serie de experimentos en monos donde Wolfram Schultz, de la Universidad de Friburgo, en Suiza, encontró una explicación que conciliaba aprendizaje con dopamina [10]. Registrando la actividad de neuronas dopaminérgicas en una tarea de condicionamiento clásico (Pavloviano), donde luego de un estímulo neutro como una luz o un tono - llamado estímulo condicionado (CS) - se le dió al animal jugo de frutas como estímulo apetitivo - estímulo incondicionado (US) -, se vió que las actividad de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia *nigra pars compacta* (SNpc) y el *área tegmental ventral* (ATV) respondían de manera particular. La Fig. 2 refleja cambios en la tasa de disparo de las neuronas dopaminérgicas cuando los animales estudiados reciben una pequeña cantidad de jugo de fruta. Cada gráfico muestra con un punto el momento (eje X) en que la neurona estudiada disparó un potencial de acción y en el eje Y se muestran 20 ensayos consecutivos. En A, antes del aprendizaje, cuando una gota de jugo (R) es entregada al animal, la neurona dispara potenciales de acción con más frecuencia que normalmente. En B, un estímulo luminoso -CS- es presentado con anterioridad a R. Cuando este apareamiento entre estímulos es presentado al animal durante una serie de ensayos, se observa que la neurona dopaminérgica es activada luego de la aparición de la luz, y no después de la entrega del jugo de fruta, como en A, prediciendo con el cambio de la tasa de disparo la entrega del jugo de frutas. En C se probó que luego del aprendizaje, si el jugo de fruta no es entregado, una disminución de la tasa de disparo ocurrió.

De esta manera, las neuronas dopaminérgicas codifican el valor de un estímulo incondicionado disparando solo cuando este es apetitivo, predicen la llegada de un estímulo apetitivo cuando este fue previamente apareado con un estímulo incondicionado e indican si hubo un error de predicción ante la ausencia de un estímulo predicho. Así, dada la masiva inervación dopaminérgica de la corteza frontal, la modulación dopaminérgica de la actividad cortical provee información con valor evolutivo: la capacidad de aprender prediciendo el

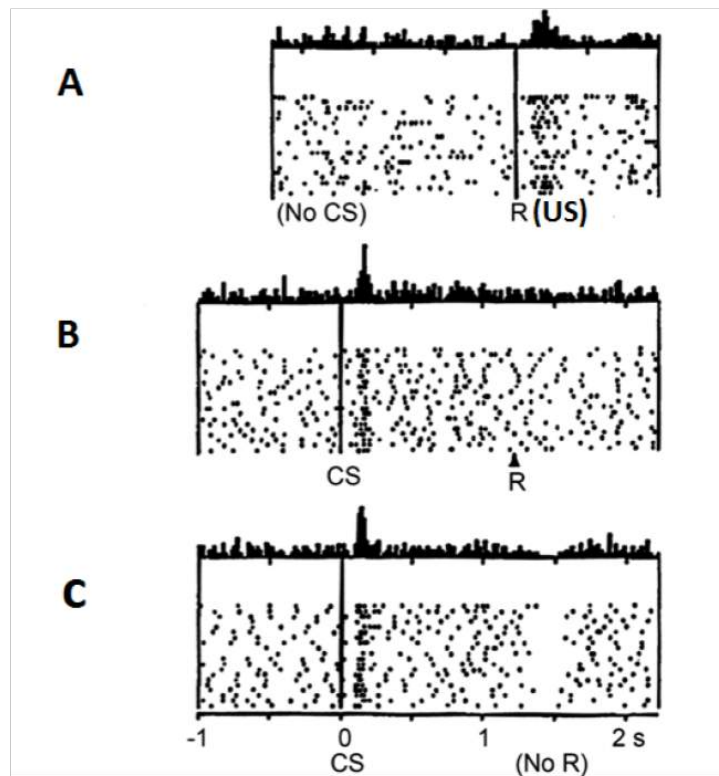


Fig. 2. Actividad de una neurona dopaminérgica ante la presentación de un estímulo apetitivo no predicho (A), ante un estímulo condicionado que predice la llegada del estímulo apetitivo (B), y ante la omisión de un estímulo apetitivo predicho (C). En (B) se puede observar que al momento de la llegada del jugo de frutas (R), la neurona no cambia su tasa de disparo, mientras que en (C) la tasa de disparo cae por debajo del nivel basal cuando R es omitido. Por esa razón se dice que esa neurona dopaminérgica codifica el error en la predicción acerca de la llegada del refuerzo: el error es positivo cuando R aparece y no es esperado, es cero cuando lo esperado coincide con lo entregado, y negativo cuando lo entregado es menor que lo esperado. (Pedir permiso de figura)

advenimiento de un estímulo apetitivo.

## **4. Neuronas de la corteza frontal**

La corteza prefrontal (CPF), ubicada en la región más frontal del cerebro, es quizás una de las regiones cerebrales que más dificultades presenta a la hora de entender su funcionamiento. Esto no es sorprendente cuando reparamos en las funciones tan variadas y complejas que se le atribuyen. Como ha ocurrido repetidas veces en la historia de la ciencia, un primer acercamiento al funcionamiento de la CPF fue alcanzado por accidente, cuando el lóbulo frontal de trabajador ferroviario Phineas Gage, oriundo de Estados Unidos, fue atravesado por la varilla de 3 cm de diámetro que usaba para presionar cargas explosivas durante la instalación de vías ferroviarias en el año 1848 [11]. Phineas sobrevivió al accidente y los reportes tempranos dicen que sus facultades cognitivas no fueron afectadas, pero que su personalidad había cambiado radicalmente: el Phineas equilibrado y respetado por sus empleados se convirtió en un ser irreverente y difícil de tratar. Como suele suceder, la realidad es compleja, ya que reportes posteriores observan una mejora de Gage en controlar su conducta. De cualquier modo, el hecho fue tomado como fuerte evidencia de que la personalidad era una función cerebral localizada, concepto discutido en aquella época.

A lo largo de los años, el estudio sistemático de la CPF a llevado a vincularla con la capacidad de retener información por tiempos cortos, la toma de decisiones, la capacidad de hacer planes, los estados emocionales, y la inhibición de respuestas inadecuadas, entre otras funciones. Aunque se han hecho grandes progresos, el código neuronal de la CPF es pobremente entendido si lo comparamos con lo conocido sobre la corteza visual, por dar un ejemplo. Sin embargo, podemos encontrar pistas de estos códigos en los estudios sobre la CPF y su relación con la memoria de trabajo, en particular las investigaciones realizadas en el laboratorio de Patricia Goldman-Rakic [12].

Como ocurre frecuentemente, nuevos descubrimientos requieren de paradigmas experimentales que permitan exponer el fenómeno de estudio en una forma susceptible de indagación científica. En el caso de la CPF, Goldman-Rakic y colaboradores utilizaron una tarea de respuesta oculomotora con retardo, en simultáneo con registros eléctricos de neuronas individuales de la CPF de monos, para poder dilucidar si la relación entre la CPF y la memoria de trabajo podía rastrearse hasta la actividad de neuronas únicas, tal como la actividad de la neuronas de V1 habían sido vinculadas a la función visual. En esta tarea un mono debía mantener los ojos fijos en el centro de una pantalla mientras que un estímulo visual era mostrado en una de ocho posiciones posibles distribuidas en círculo alrededor del centro. Entonces, la imagen era removida y, luego de una pausa, el mono debía mover su mirada a la posición donde la imagen había sido presentada. De esta manera los investigadores pudieron hacer la observación clave: neuronas de la CPF incrementaban su tasa de disparo durante la pausa luego de la presentación del estímulo visual, es decir, durante el momento en que el mono debía mantener en memoria la posición del estímulo [13, 14]. Aún más, este incremento en

la actividad de las neuronas de CPF era específico para cada posición, pudiendo encontrar grupos de neuronas diferentes que codificaban, cada una, una única posición definida: los llamados campos de memoria en el espacio visual. Por primera vez se encontraba un posible correlato neuronal para una de las funciones de la CPF, algo que hasta esa fecha había sido posible sólo en estructuras sensoriales. Posteriores trabajos mostraron que la selectividad de las neuronas de CPF se mantiene aun cuando durante la pausa se presentan estímulos distractores, mostrando una relación entre la CPF y la función atencional. Asimismo, las neuronas de CPF pueden tener actividad sostenida y selectiva no sólo frente a estímulos específicos, sino a reglas abstractas, tales como responder frente a estímulos similares o diferentes. De esta manera, los trabajos de Goldman-Rakic sirvieron de punto de partida para un sinnúmero de investigaciones posteriores que tuvieron a la CPF como protagonista.

Aun así, muchos son los interrogantes a responder. Por ejemplo, los experimentos que hemos descripto evidencian un código neuronal basado en cambios en la tasa de disparo de las neuronas individuales. Aunque fácil de interpretar por el experimentador, es difícil entender cómo las neuronas pueden con este código representar grandes cantidades de información sin que las representaciones interfieran entre sí. Este problema puede ser solucionado en un código poblacional que explote la capacidad combinatoria de numerosas neuronas. A estos códigos le dedicaremos algunas líneas más adelante.

## **5. La neurona de Jeniffer Aniston**

Las neuronas codifican información modificando su patrón de disparo. Por ejemplo, hemos visto que en la corteza visual primaria V1, las neuronas codifican características fundamentales que componen una imagen: bordes, frecuencia espacial y colores. Este es el primer paso dentro de un proceso de abstracción que obtiene características cada vez más y más generales dentro del espacio visual. Las neuronas de una etapa del proceso proyectan sus axones hacia la siguiente región, en la cual nuevos patrones son encontrados. De esta manera, las neuronas de V1 envían información a través de sus axones a la región V2, en donde las neuronas exhiben propiedades más complejas, tales como la representación de ángulos o la capacidad de diferenciar entre figura y contorno [15, 16]. De esta manera, sucesivas etapas de procesamiento dan lugar a representaciones más generales y explícitas de lo que el sujeto está viendo. Cabe preguntarse entonces ¿hasta qué nivel de abstracción este proceso es capaz de llegar? ¿Es posible que existan neuronas cuya actividad codifique conceptos enteros? La respuesta la podemos encontrar en los trabajos de Quian Quiroga y colaboradores [17, 18]. Estos investigadores trabajan en colaboración con neurólogos que tratan pacientes con epilepsia resistente a los tratamientos farmacológicos, pudiendo llegar a requerir la extracción del tejido cerebral donde la crisis epiléptica tiene su origen – el foco epiléptico – como tratamiento. Sólo en casos de este tipo se acepta el implante de electrodos en seres humanos, teniendo como objetivo el de precisar la ubicación del foco para posteriormente removerlo. En este contexto los investigadores tienen una oportunidad única: estudiar la actividad de neuronas en seres humanos, pudiendo de esta manera contestar preguntas que

resultan difíciles de hacer con otras especies, como la formación de conceptos abstractos.

Quian Quiroga y colaboradores registraron neuronas de ciertas regiones cerebrales que se encuentran dentro del lóbulo temporal medial (LTM). Esta región se encuentra al final del camino visual y ya era sabido que sus neuronas constituyentes codifican estímulos visuales complejos, tales como rostros, animales, objetos, y lugares. Sin embargo, la especificidad en el disparo de estas neuronas resultó ser aún mucho mayor. Por ejemplo, en uno de los experimentos, una neurona respondió con un aumento en su tasa de disparo frente a la presentación de siete fotos diferentes en las que aparecía la actriz Jennifer Aniston, mientras que no mostró respuesta significativa frente a otras ochenta fotografías. Este tipo de respuesta difiere completamente de la observada en estructuras visuales primarias, donde la codificación es implícita, en el sentido que resulta necesario integrar la información de muchas neuronas para poder descifrar la imagen presentada. Por el contrario, la codificación de información en las neuronas del LTM es explícita, en tanto que tan sólo una, o unas pocas neuronas señalizan la presencia de un estímulo complejo específico.

En otro experimento, una neurona aumentó su tasa de disparo frente a fotografías de la actriz Halle Berry. Más sorprendente aún, la misma neurona respondió frente a la presentación del nombre de la actriz escrito en la pantalla, y también frente al sonido de una voz pronunciándolo. Esto nos indica que en el LTM las neuronas integran información multisensorial (en este caso, visual y auditiva) y que su respuesta codificaría el concepto representado por esta información. Vale aclarar que si el concepto “Halle Berry” fuera codificado por tan sólo una neurona, la probabilidad de encontrarla sería muy baja, lo que indica que la neurona que los investigadores identificaron es simplemente un ejemplo de un conjunto más grande de neuronas con especificidad para tal concepto.

El LTM es una estructura cerebral grande donde se puede distinguir varias regiones, las cuales difieren en su perfil de respuesta. Tanto la selectividad como la invariancia y respuesta multisensorial van en aumento desde la corteza para-hipocampal, llegando a un máximo en el hipocampo, siguiendo una jerarquía que se asemeja a la jerarquía anatómica existente entre dichas regiones. De entre estas estructuras resalta el hipocampo, debido a que este desempeña un papel clave en la formación de nuevas memorias. Esta coincidencia de funciones en dicha estructura cerebral ha llevado a proponer la sugestiva hipótesis de que las neuronas Jennifer Aniston del hipocampo son el sustrato neuronal detrás de, no tanto la capacidad de reconocer a la actriz en una foto, sino de la formación de nuevas memorias que conectan el concepto de Jennifer Aniston con nuevos eventos o conocimiento que el sujeto adquiere en su vida. La veracidad de la hipótesis implicaría que cuando observamos la actividad de estas neuronas no solo estamos viendo el resultado del procesamiento progresivo de la entrada sensorial, estamos adentrándonos en la maquinaria que construye nuestros recuerdos y nuestra capacidad de relacionar.

Claro está que para poder entender procesos neuronales tan fundamentales como los mencionados, no podemos limitarnos a una sola región cerebral o a un solo nivel de análisis. Aunque los procedimientos en seres humanos facilitan el abordaje de temas complejos, tales como la formación de conceptos abstractos, los pensamientos, o la conciencia, se

hace necesario, para realmente entender los mecanismos neuronales detrás de estos procesos, el uso de modelos animales que permitan estudiar los distintos niveles de complejidad, desde las moléculas hasta los circuitos de neuronas, todos formando parte de un único gran sistema.

## **6. Poblaciones neuronales**

En las secciones anteriores se mostraron ejemplos de neuronas cuya actividad contenía información acerca de los estímulos que el sujeto en experimentación percibía. Sin embargo, no debe confundirse el hecho de que esta información se mide en una neurona con la idea de que esta neurona alcanza para codificar el estímulo, o que cada estímulo dentro de los millones de estímulos posibles, tiene una neurona asociada responsable de codificarlo. El cerebro es por excelencia un sistema robusto: es resistente tanto a perturbaciones externas como a la muerte neuronal, y sus propiedades son emergentes de un gran número de neuronas que, individualmente, no las poseen. Así es que la neurona que en el hipocampo responde ante la presentación de una cara determinada no está sola sino que hay una población de cientos de miles de ellas que responden en mayor o menor medida a esta cara, formando una red neuronal cuya propiedad emergente es codificar un concepto. La información contenida en la red neuronal es, como mínimo, la información que posee la neurona que mejor la codifica. Sin embargo, es muy frecuente que diferentes neuronas contengan información acerca de diferentes características de un estímulo y que, combinadas, contengan más información que la suma de las informaciones individuales. En el ejemplo de la Fig. 3 se ilustra la situación en la que dos neuronas responden diferencialmente ante la presentación de dos estímulos, A y B. Cuando se presenta el estímulo A (rojo) ambas neuronas disparan con una tasa de disparo promedio baja, 5 Hz y 8 Hz respectivamente. La línea vertical que divide al eje de las abscisas es la línea de decisión óptima para una distribución de tasas de disparo gaussiana. Ante la aparición del estímulo B (azul) ambas neuronas incrementan su tasa de disparo promedio a 13 Hz y 17 Hz respectivamente, y la línea horizontal indica la división óptima para este caso. Si un observador debiera decidir acerca de cuál es el estímulo presentado conociendo la tasa de disparo de sólo una de estas neuronas, la mejor estrategia será utilizar la línea que óptimamente separa las distribuciones de tasas de disparo y decidir si el estímulo presentado fue A o B dependiendo de si la tasa de disparo medida en ese momento es menor o mayor que el valor óptimo. Aún conociendo el valor óptimo para tomar una decisión, el observador cometería errores debido a que este valor, aún siendo óptimo, no separa completamente a la nube de puntos azules de los rojos. Sin embargo, no es difícil ver que si se cuenta con la información de la tasa de disparo de ambas neuronas, la línea punteada permite separar las dos distribuciones perfectamente, y para el observador en este caso el error decrece a cero.

En el ejemplo de la Fig. 3, ambas neuronas tienen información acerca de si el estímulo presentado es A o B y, juntas, tienen más información aún, pudiendo decidir cuál es el estímulo sin error. Sin embargo, existen otros mecanismos poblacionales que aportan a la robustez del sistema, sin ser necesariamente sinérgicos. Tal es el caso de las neuronas de la corteza

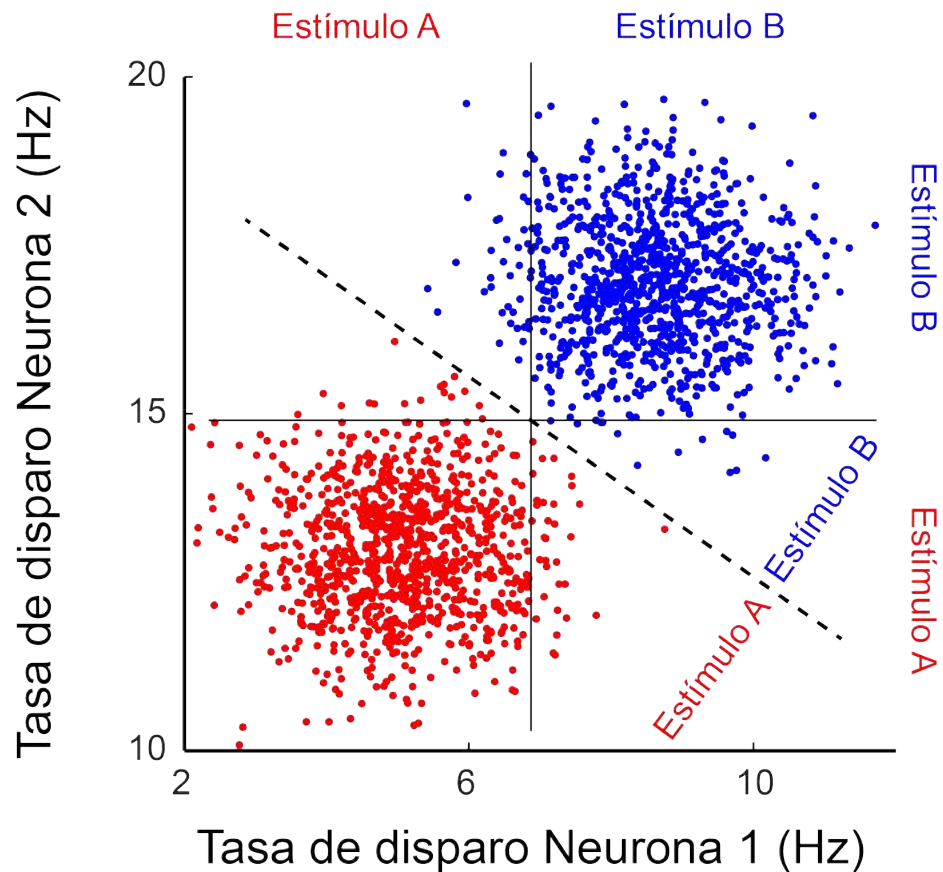


Fig. 3. Dos neuronas codifican en su tasa de disparo la aparición de los estímulos A y B. La línea vertical/horizontal muestra la frontera óptima de decisión para separar a los estímulos en base a la tasa de disparo de la neurona 1/neurona 2. Sin embargo, cuando la información de ambas neuronas es tomada en cuenta, la línea punteada separa perfectamente a los estímulos, dando muestras de la sinergia de la población.



motora, donde grandes conjuntos de neuronas se muestran más proclives a mantener información predictiva redundante [19]. Así, cuando se requiere una respuesta motora efectiva, la variabilidad neuronal se ve disminuida por la actividad promedio de la población, y la respuesta se ejecuta tal cual lo planeado.

Sin embargo, medir la actividad de una población neuronal no es tarea simple, requiere del desarrollo continuo de métodos de registro y de un enorme trabajo de experimentación, con la limitación de que por razones éticas los experimentos en humanos están restringidos al caso de pacientes con enfermedades del sistema nervioso. Es por este motivo y por el incremento en el poder de cálculo de las computadoras actuales que para estudiar estos fenómenos poblacionales, muchas veces se hace uso de modelos computacionales que, incorporando hipótesis de la neurofisiología y la anatomía, reproducen las propiedades emergentes del sistema y permiten sacar conclusiones acerca de la validez de las hipótesis propuestas [20, 21, 22].

## **7. El estudio del código neuronal en el Instituto de Ingeniería Biomédica**

Hace casi 50 años el Dr. Houssay creaba el Instituto de Ingeniería Biomédica (IIBM) por sugerencia de uno de sus discípulos, el Dr. Segura, quien pensaba la evolución biológica como una gran “bioingeniería”, ya que durante la evolución se resolvieron múltiples adaptaciones. De esta manera el Dr. Segura se transformó en uno de los pioneros en abordar la neurofisiología desde una perspectiva bioingenieril. Siguiendo esos lineamientos, actualmente el Laboratorio de Neuroingeniería del IIBM en conjunto con el Grupo de Circuitos Neuronales, Cognición y Conducta del Laboratorio de Biología del Comportamiento del Instituto de Biología y Medicina Experimental, estudia la conducta como emergente de circuitos neuronales, haciendo uso de variadas técnicas de registro y paradigmas conductuales. Por ejemplo, Rapanelli y colaboradores pusieron a prueba la hipótesis que propone que los niveles de dopamina en la PFC afectan la velocidad de aprendizaje [23]. La hipótesis fue puesta a prueba en experimentos en los cuales se entrenaron ratas para que presionaran una palanca a cambio de comida. Para reducir los niveles de dopamina se inyectó, específicamente en dicha región cerebral una enzima, COMPT, que tiene como función degradar la dopamina una vez que esta es liberada por el terminal axónico. El resultado de esta manipulación coincidió con el hipotetizado: las ratas demoraron más en aprender a presionar la palanca. Por otro lado, para aumentar los niveles de dopamina se inyectó la droga Entacapone, la cual inhibe a la enzima COMPT endógena de la PFC. Esta manipulación tuvo el resultado opuesto: los animales con más dopamina en la PFC aprendieron más rápido la tarea de palanqueo.

Siguiendo una aproximación experimental diferente, Mininni y colaboradores registraron la actividad de las neuronas de la PFC y de la VTA simultáneamente [24]. En este trabajo se entrenó a ratas de la cepa Long Evans para que discriminen un tono grave (1 KHz) de un tono

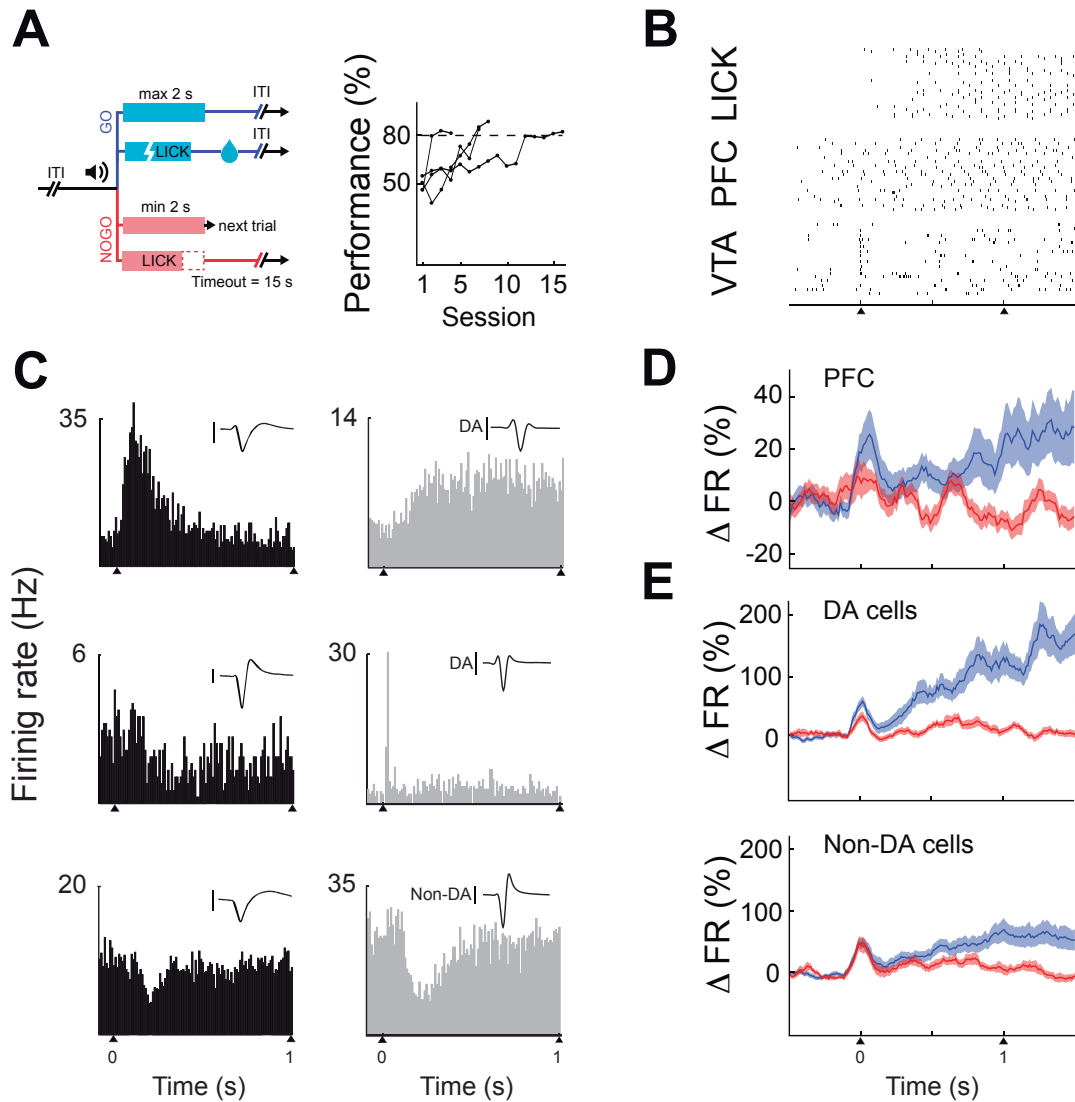


Fig. 4. A) Protocolo de entrenamiento en una discriminación auditiva bajo el paradigma GO/NOGO, y desempeño a lo largo del entrenamiento de 4 animales que aprendieron la tarea. B) raster plot en el que cada marca vertical muestra un evento de protusión de la lengua (Lick), un disparo de PFC, o uno de VTA, para 30 ensayos GO consecutivos. C) Tasa de disparo en el tiempo, para neuronas de PFC (barras negras) y neuronas DA y non-DA de VTA (barras grises). Los triángulos negros muestran el inicio y fin de la presentación de la clave sonora. Se muestra un histograma por neurona, junto con la forma de potencial de acción correspondiente. D) Cambio porcentual en la tasa de disparo respecto de la tasa de disparo basal (antes del estímulo sonoro), para el total de neuronas de PFC, y de VTA (DA y non-DA) durante ensayos GO correctos (en azul) y NOGO correctos (en rojo).

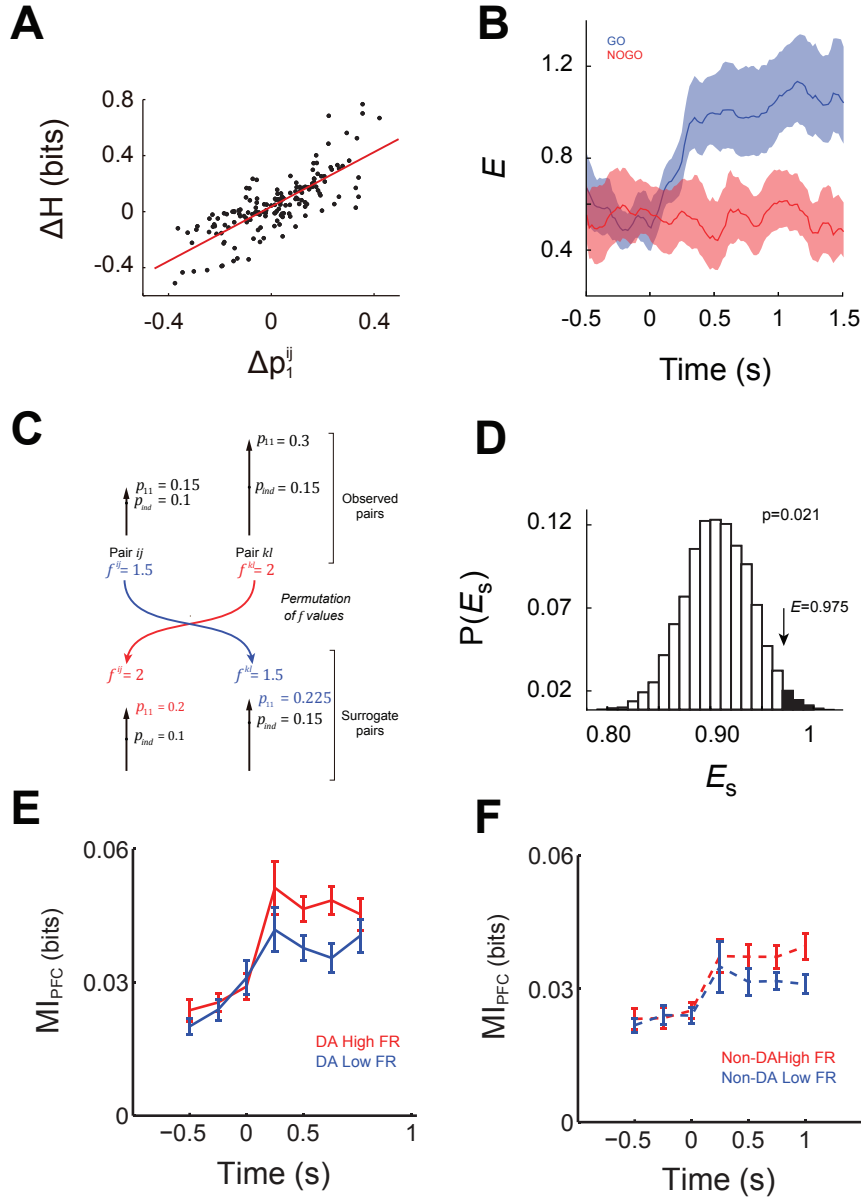


Fig. 5. A) La pendiente de la línea roja indica cuánto sube la cantidad de información promedio en el conjunto de neuronas en función del incremento en la probabilidad de disparo. Cuanto más empinada es la línea roja, mayor es la eficiencia ( $E$ ) del proceso. B) Se ilustra el incremento en eficiencia ante la aparición (en  $t = 0$ ) de un estímulo que predice un refuerzo apetitivo (GO, en azul) versus otro que no lo predice (NOGO, en rojo). C) Esquema del test de permutación utilizado para probar la significancia del resultado de aumento de eficiencia. D) El aumento de eficiencia es significativo ( $p = 0,021$ ), esto significa que la pendiente de la línea roja del panel A no puede explicarse por azar. E) Información mutua (MI) entre la actividad de neuronas de PFC y el estímulo sonoro durante la presentación del mismo. La información conferida por la PFC acerca del estímulo es mayor cuando las neuronas DA disparan por encima de su media (curva roja) que cuando disparan por debajo de su media (curva azul). F) Mismo análisis que en E), pero analizando el efecto de las neuronas non-DA cuando éstas disparan por encima de su media (curva azul) o por debajo (curva roja). La información conferida por las neuronas de la PFC acerca del estímulo no es afectada significativamente por el disparo de las neuronas non-DA.

## *El código neuronal*

agudo (8 KHz), indicando cual tono era el presentado en cada ocasión con dos respuestas: sacar la lengua durante una ventana de tiempo de 2 segundos (respuesta GO) o esconderla durante ese mismo período (respuesta NOGO). En la Figura 3A se muestra el protocolo de entrenamiento. Para descartar la posibilidad de que los animales percibieran sólo uno de los tonos, dos animales fueron entrenados para ejecutar la respuesta GO ante la presentación de un tono agudo mientras que otros dos debían ejecutarla ante la presentación de un tono grave. Cada respuesta GO correcta fue premiada con una gota de agua automáticamente entregada por el sistema de entrenamiento, mientras que las respuestas incorrectas no sólo no fueron premiadas sino que además se agregó una penalización en forma de *time-out*, que retardaba la posibilidad de acceder al agua por 15 segundos en promedio. En la misma figura se puede observar el progreso en el desempeño para los cuatro animales. Los animales fueron implantados con una pieza de aluminio específicamente diseñada para sujetar la cabeza del animal de modo que quede solidaria a un marco estereotáxico. Dicho implante permitió la inserción de 12 microelectrodos en PFC y otros 12 en VTA, mientras el animal ejecutaba la tarea de discriminación.

En total se logró aislar la actividad de 95 neuronas de PFC y 153 de VTA. En la Figura 4B se puede observar un ejemplo de actividad de neuronas de PFC y VTA para un conjunto de ensayos GO durante la presentación de un tono, y la respuesta de sacar la lengua luego de la aparición del tono (Lick). La Figura 4C muestra el perfil de disparo de alguna de estas neuronas antes y durante la presentación de un tono, indicada con triángulos sobre el eje de las ordenadas. Las neuronas de VTA fueron separadas en neuronas dopaminérgicas (DA) y no dopaminérgicas (Non-DA) de acuerdo a su respuesta a una droga agonista de receptores de dopamina D2 (Pramipexole). Las Figuras 4D y E muestran la actividad promedio de las 95 neuronas de PFC y de las neuronas de VTA, separadas de acuerdo a su pertenencia al grupo DA o Non-DA. Se puede observar que la presencia del tono asociado a la respuesta GO produce mayor activación neuronal en ambas áreas, y que esta activación es mayor en las neuronas DA que en las Non-DA.

De esta forma, los investigadores mostraron que la cantidad de información promedio contenida en las neuronas de la PFC de ratas se incrementa cuando el animal percibe un estímulo sonoro que predice la aparición de un refuerzo apetitivo. Más aún, en el mismo trabajo se observó que el aumento de información promedio es óptimo, en el sentido de que cualquier otra estrategia de codificación mediada por la tasa de disparo sería ineficiente desde el punto de vista metabólico, como se ilustra en las Figuras 5A y 5B. Por otro lado, mediante un análisis de datos surrogados se pudo ver que la manera en que las neuronas codifican información es óptima, en el sentido de que cualquier otra estrategia de codificación que implique la misma energía disipada almacena menos información, Figuras 5C y 5D. A partir de estos resultados, cabe preguntarse acerca del impacto de las neuronas dopaminérgicas del VTA sobre la cantidad de información codificada por las neuronas de PFC sobre los estímulos sonoros asociados al refuerzo. En este sentido, los investigadores encontraron que cuanto mayor es la actividad de las neuronas DA, mayor es la cantidad de información que las neuronas de PFC codifican, mientras que la actividad de las neuronas Non-DA no impacta diferencialmente en la codificación, Figuras 5E y 5F. Tomados en su conjunto, los experimentos descriptos

permitieron por primera vez comprobar el impacto de las neuronas dopaminérgicas sobre la codificación de información en las estructuras frontales.

## REFERENCIAS

- [1] C. Sotelo, *Nature Reviews Neuroscience* **4**, 71 (2003).
- [2] J. M. S. Pearce, *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* **75**, 544 (2004).
- [3] W. A. Wells, *The Journal of Cell Biology* **168**, 12 (2005).
- [4] E. D. Adrian, *British Medical Journal* **1**, 287 (1928).
- [5] E. D. A. Adrian, *The mechanism of nervous action: electrical studies of the neurone*, Johnson Foundation lectures (University of Pennsylvania Press, 1932).
- [6] E. D. Adrian, *Brain Mechanisms and Consciousness*, J. F. Delafresnaye, ed. (Blackwell, 1954), pp. 237–248.
- [7] A. L. Hodgkin, A. F. Huxley, *The Journal of physiology* **117**, 500 (1952).
- [8] D. H. Hubel, T. N. Wiesel, *The Journal of physiology* **148**, 574 (1959).
- [9] E. L. Thorndike, *Animal intelligence: Experimental studies* (Macmillan, 1911).
- [10] T. Ljungberg, P. Apicella, W. Schultz, *Journal of neurophysiology* **67**, 145 (1992).
- [11] A. García-Molina, *Neurología (Barcelona, Spain)* **27**, 370 (2012).
- [12] P. Goldman-rakic, M. Mishkin, M. Schwartz, L. Selemon, *Neuron* **40**, 465 (2003).
- [13] S. Funahashi, C. J. Bruce, P. S. Goldman-Rakic, *Journal of neurophysiology* **61**, 331 (1989).
- [14] S. Kojima, P. S. Goldman-Rakic, *Brain Research* **248**, 43 (1982).
- [15] M. Ito, H. Komatsu, *Journal of Neuroscience* **24**, 3313 (2004).
- [16] F. T. Qiu, R. Von Der Heydt, *Neuron* **47**, 155 (2005).
- [17] R. Q. Quiroga, L. Reddy, G. Kreiman, C. Koch, I. Fried, *Nature* **435**, 1102 (2005).
- [18] R. Q. Quiroga, *Nature Reviews Neuroscience* **13**, 587 (2012).
- [19] N. S. Narayanan, *Journal of Neuroscience* **25**, 4207 (2005).
- [20] D. C. Somers, S. B. Nelson, M. Sur, *Journal of Neuroscience* **15**, 5448 (1995).

## REFERENCIAS

- [21] A. Compte, N. Brunel, P. S. Goldman-Rakic, X.-J. Wang, *Cerebral Cortex* **10**, 910 (2000).
- [22] S. E. Lew, K. Y. Tseng, *Neuropsychopharmacology* **39**, 3067 (2014).
- [23] M. Rapanelli, L. R. Frick, A. M. M. M. Fernández, B. S. Zanutto, *Behavioural brain research* **280**, 92 (2015).
- [24] C. J. Mininni, C. F. Caiafa, B. S. Zanutto, K. Y. Tseng, S. E. Lew, *PLoS ONE* (2017).

## Autores

**Camilo J. Mininni.** Licenciado en Ciencias Biológicas (2010, UBA). Doctor en Ciencias Biológicas (2016, UBA). Realizó su trabajo de doctorado bajo la dirección del Dr. Silvano Zanutto, acerca de la interacción entre la corteza prefrontal y el sistema dopaminérgico. Actualmente es becario postdoc en el IIBM, estudiando la neurofisiología de la toma de decisiones.

**B. Silvano Zanutto.** Doctor de la UBA en el área de Biología, Ingeniero Electrónico de la UBA y fue Investigador Asociado al Department of Psychological & Neuroscience de Duke University (EEUU). Actualmente es el Director del Instituto Ingeniería Biomédica de la UBA. Es Investigador del CONICET y Profesor Titular de la UBA. Su producción científica consta de más de 60 trabajos publicados y más de 100 congresos ( la mayoría de ellos internacionales). Su área de interés es la Bioingeniería y trabaja en teorías computacionales en neurociencias del comportamiento.

**Sergio E. Lew.** Ingeniero Electrónico (Universidad de Buenos Aires, 1992) y Dr. En Ingeniería de la UBA (2007). Profesor Asociado interino del Instituto de Ingeniería Biomédica de FIUBA en la carrera de Ingeniería Electrónica y el Doctorado en Ingeniería, y Profesor Adjunto Visitante de la Universidad de Texas en Houston, EEUU. Director del grupo de Redes Neuronales.

## CAPÍTULO 4

### PROCESAMIENTO DE SEÑALES

Para los problemas directo e inverso en electro– y magneto–encefalografía, tomografía de impedancia eléctrica y estimulación eléctrica

*Carlos H. Muravchik<sup>1,2</sup>, Mariano Fernández Corazza<sup>1,3</sup> y Santiago Collavini<sup>1,3,4</sup>*

<sup>1</sup> LEICI Instituto de Investigaciones en Electrónica, Control y Procesamiento de Señales, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata - CONICET

<sup>2</sup> Comisión de Investigaciones Científicas de la Prov. de Buenos Aires (CIC-PBA)

<sup>3</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

<sup>4</sup> ENyS Estudios en Neurociencias y Sistemas Complejos, Hospital El Cruce - Universidad Nacional Arturo Jauretche - CONICET

#### Resumen

Se desarrolla el proceso de modelización y formulación numérica para el problema directo de electroencefalografía (EEG), magnetoencefalografía (MEG), tomografía de impedancia eléctrica (EIT) y estimulación eléctrica; con el complemento de imágenes de resonancia magnética estructural (MR) y de tomografía computada (CT). También se muestra la modelización estadística, y se describen técnicas de procesamiento para resolver el problema inverso y para verificar su desempeño o calidad de estimación. Este conjunto de herramientas permite, en un contexto asociado a pacientes con epilepsia, estudiar las zonas y redes epileptógenas, ubicación, características y conectividad, buscando mejoras tanto en aspectos de investigación, como en el diagnóstico y tratamiento.

**Palabras clave:** electroencefalografía, magnetoencefalografía, tomografía de impedancia, estimulación eléctrica cerebral, conectividad efectiva, epilepsia

#### Abstract

**Signal processing for the direct and inverse problems of electro– and magneto–encephalography, electrical impedance tomography and electrical stimulation.** Modeling and

numerical formulation procedures are described to solve the direct problem of electroencephalography (EEG), magnetoencephalography (MEG), electrical impedance tomography (EIT) and electrical stimulation; with the aid of structural magnetic resonance (MR) and computed tomography (CT) imaging. Statistical modeling is also considered and processing techniques to solve the inverse problem and checking its performance or estimation quality are delineated. This set of tools provides the means, in a context related to epilepsy patients, to study epileptogenic zones and networks, their location, characteristics and connectivity, aiming at improvements in research as well as in diagnosis and medical treatment.

**Keywords:** electroencephalography, magnetoencephalography, impedance tomography, electrical cerebral stimulation, effective connectivity, epilepsy

## 1. Introducción

Dada la naturaleza del cerebro, formado por millones de neuronas que se comunican entre sí de forma electroquímica, una de las maneras más efectivas para su estudio, es el registro de su actividad eléctrica. Desde el punto de vista electromagnético un conjunto de neuronas activas del cerebro, denominado genéricamente *fuentes*, puede describirse como generando una distribución de densidad de corriente eléctrica. Las ecuaciones de Maxwell permiten describir la distribución de potencial eléctrico, de densidad de corriente y de campo magnético generados por dicha fuente, y de esta manera pueden predecirse, conociendo la fuente, forma y propiedades eléctricas y geométricas de la cabeza, las diferencias de potencial que se registrarán entre distintos puntos de la cabeza.

EEG y MEG son técnicas que permiten estudiar la actividad cerebral de manera no invasiva y con excelente resolución temporal del orden de milisegundos [1]. Estas técnicas consisten en medir el potencial eléctrico en el cuero cabelludo o el campo magnético sobre la superficie de la cabeza, generado por grupos de neuronas activas en el cerebro [2]. La técnica en que el potencial eléctrico se mide sobre la corteza cerebral se denomina electro-corticografía (ECoG) y si se mide mediante pequeños electrodos de múltiples contactos insertados dentro del cerebro se habla de estéreo-EEG (sEEG). Estas dos últimas son invasivas y se llaman genéricamente EEG intracraneal (iEEG).

De manera “recíproca” se puede inyectar una corriente (continua ó alterna) entre puntos de la cabeza y midiendo los potenciales eléctricos resultantes, generar un mapa 3D de impedancia, lo que se conoce como tomografía de impedancia eléctrica (EIT); mientras que si lo que se busca es generar una distribución de potencial para modificar los umbrales de activación de las neuronas aumentando o disminuyendo su tasa de disparos [3], estamos ante la estimulación eléctrica transcraneal o intracraneal (en este trabajo ambas se denotarán TES). La principal motivación de la TES es la posibilidad de direccionar el tratamiento hacia una región espacial particular del cerebro y afectando mínimamente al resto del mismo, para el tratamiento de desórdenes del comportamiento, enfermedad de Parkinson o epilepsia [4, 5, 6], como alternativa al uso de psicofármacos.



La predicción de las señales que se medirían conociendo la fuente se conoce como *problema directo* (PD) y la estimación de parámetros de una fuente a partir de mediciones en otros puntos es el llamado *problema inverso* (PI). Éste último debe resolverse con técnicas de procesamiento estadístico de señales ya que las mediciones están inevitablemente contaminadas por ruido y las propiedades eléctricas de la cabeza son conocidas con incertezas.

Entre muchos otros ejemplos de aplicación de EEG, MEG y TES en neurociencias se encuentran el estudio de potenciales evocados (respuestas a estímulos sensoriales), potenciales relacionados con eventos (incluyendo cognitivos) y en la clínica e investigación sobre epilepsia. Una parte considerable de las aplicaciones que se presentarán aquí están dictadas por el trabajo en colaboración con grupos más especializados en los aspectos médicos. Tal es el caso de nuestro trabajo desde 1999 con el grupo sobre epilepsia que formó y dirige la Dra Silvia Kochen, ENyS Estudios en Neurociencias y Sistemas Complejos (Hospital “N. Kirchner” de F. Varela - Universidad Nacional Arturo Jauretche - CONICET) así como su vinculación directa con el Centro de Epilepsia del Hospital “Ramos Mejía” de CABA y el Centro de Neurociencia Clínica y Experimental del Instituto de Biología Celular y Neurociencias “Prof. E. De Robertis” (IBCN), Facultad de Medicina, UBA. En el caso de datos de EIT y TES transcraneal, estos fueron obtenidos y elaborados en colaboración con los grupos que dirigen el Dr. Sergei Turovets del NeuroInformatics Center de la University of Oregon, y el Dr. Don Tucker, de Electrical Geodesics Inc.; ambos de Eugene, Oregon, EEUU.

El trabajo con epilepsia resulta relevante no sólo por su propia significación médica, sino porque su tratamiento es una importante fuente de información que muy difícilmente pueda obtenerse de otro modo. La epilepsia es una enfermedad crónica con una prevalencia del 0.5 %, caracterizada por la presencia de crisis recurrentes durante la vida del individuo. La neurofisiopatología que subyace la crisis, es una descarga neuronal hipsincrónica en el sistema nervioso central. La mayoría de los pacientes, aproximadamente el 95 % [7] presenta actividad epileptiforme entre las crisis, lo que se denomina actividad interictal. El tratamiento médico de la epilepsia se basa en el uso de drogas antiepilépticas. Sin embargo, el 30 % de los pacientes con epilepsia no responde positivamente al tratamiento farmacológico [8] y continúan con la enfermedad; pudiendo transformarse en una población de riesgo con un elevado grado de discapacidad. Para aproximadamente el 50 % de esta población la única solución posible es el tratamiento quirúrgico [9]. En estos casos, poder determinar correctamente la zona a resear (ubicación, intensidad, orientación, extensión espacial, etc) es fundamental para una correcta evolución post-quirúrgica. Esta zona se denomina *zona epileptógena* (ZE) y se caracteriza por ser la responsable de los eventos ictales [10, 11]. A su vez, suele estar correlacionada con la *zona irritativa* responsable de la actividad interictal. De manera que el registro a través de sensores apropiados de señales superficiales y/o intracraneales proporciona los datos de donde se deben inferir las características recién mencionadas, así como brindar valiosa información para estudiar de manera única una enorme variedad de problemas en neurociencias.

## **1.1. Modelización y Sensores**

La modelización eléctrica de la cabeza es necesaria para resolver tanto el PD como el PI. Por las frecuencias involucradas en las señales de las técnicas en este trabajo, el modelo es “cuasi-estático” [12] y basta con especificar sólo la conductividad de cada punto de los tejidos de la cabeza. Frecuentemente ésta se describe por capas de conductividad constante asociadas con los tejidos (cuero cabelludo, cráneo, líquido céfalo-raquídeo (CSF), materia gris, materia blanca, etc). Esta información, así como la configuración geométrica, es obtenida a partir imágenes de MR en sus diferentes modalidades (T1, T2, Flair, tensor de difusión, etc.), y CT. También es posible ubicar fuentes de actividad neuronal con MR funcional (fMRI); sin embargo las técnicas eléctricas proporcionan una resolución temporal de milisegundos mientras que fMRI lo hace en una escala de segundos. Como contrapartida, la resolución espacial de MRI es mejor que la obtenida con EEG y sus variantes.

Las señales con las que se trabaja son mediciones de potencial eléctrico y/o del campo magnético. En el caso de EEG de superficie, EIT y TES transcraneal se emplean electrodos especiales que contactan con el cuero cabelludo (y el pelo). Para favorecer el contacto se inserta un gel especial conductor y para lograr una distribución espacial dada, se utilizan gorras elásticas que sostienen los electrodos. Como interesa la distribución espacial, se suele utilizar un número grande (más de 32) de electrodos, llegando en ocasiones a usarse 256, ver Fig. 1. Para captar el campo magnético en MEG (de aproximadamente 10 órdenes de magnitud menor que el campo terrestre) se utilizan -200 a 300- sensores superconductores -por lo que los sensores están a 4°K sumergidos en He líquido- denominados SQUID (superconductor quantum interference device) y en un casco que rodea la cabeza. Lógicamente se trata de un sistemas muchísimo más costoso que EEG [1]. Para ECoG se utiliza una lámina aislante con electrodos dispuestos en los nodos de una grilla, por ejemplo de 8 electrodos por lado, separados 1cm entre sí. Se aplica directamente sobre el cerebro de manera obviamente invasiva. Para sEEG y TES intracraneal se utilizan electrodos como cánulas de alrededor de 1mm de diámetro que se introducen en el lugar deseado del cerebro, a través de agujeros en el cráneo. Los contactos (unos 8 por electrodo) están depositados en franjas de alrededor de 1 a 2mm de alto sobre la cánula y los cables van por el interior de la misma [13], ver Fig. 2.

Más recientemente se comenzó a trabajar con microelectrodos. Estos son 9 hebras de cable de unos 50micrones de diámetro deslizables dentro de una cánula similar a la de sEEG y que una vez que ésta se instala son empujados de manera que, al deslizarse contactan directamente sobre el medio cerebral, ver Fig. 2. Los registros con microelectrodos se conocen como de “neurona individual” ya que son capaces de “ver” por una distancia limitada y brindan información muy local, del orden de una decena de neuronas. Con esta resolución es posible individualizar las neuronas reconociendo la forma, contenido frecuencial, tasa a la que generan las espigas, etc [14].



Fig. 1. EEG - Gorra con electrodos

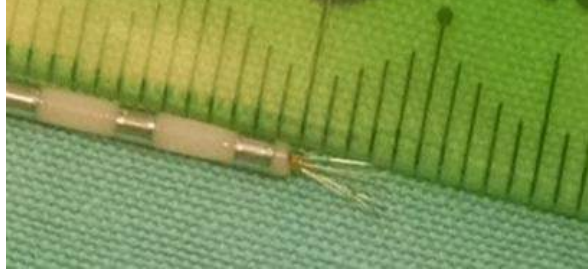


Fig. 2. iEEG: Electrodo de sEEG y microelectrodos

## 2. Problema directo

Tanto en EEG, MEG, iEEG, EIT y TES, el problema directo consiste en el cálculo de la distribución de potencial eléctrico generado por fuentes eléctricas suponiendo que la cabeza se modeliza como una forma y una distribución volumétrica de conductividad eléctrica conocidas. En el caso de EEG y MEG, las fuentes representan a la actividad eléctrica del cerebro que típicamente se modelan como dipolos eléctricos (ver sección 2.4). En cambio, en EIT y TES, las fuentes son la corriente eléctrica externa que se aplica, ya sea en electrodos sobre el cuero cabelludo o en electrodos intracraneales.

Las ecuaciones de Maxwell gobiernan el fenómeno electromagnético sobre un volumen conductor [15]. Para bajas frecuencias (menores a  $\sim 100$  kHz), se utiliza la aproximación cuasi-estática [12]. Esto es usual en la mayoría de los estudios ya que reduce la complejidad del problema [16]. La ley de conservación de la corriente establece que la divergencia de la densidad de corriente es cero en todos lados excepto en las fuentes. El campo eléctrico  $\Phi$  debe satisfacer la ecuación de Poisson en el sólido  $\Omega$ , con condiciones de Neumann<sup>1</sup> en su frontera  $\delta\Omega$ ,

$$\begin{cases} \vec{\nabla} \cdot (\boldsymbol{\sigma}(\vec{x}) \vec{\nabla} \Phi(\vec{x})) = -\vec{\nabla} \cdot \vec{J}_p(\vec{x}) & \text{en } \Omega \\ \boldsymbol{\sigma}(\vec{x}) \vec{\nabla} \Phi(\vec{x}) \cdot \hat{n} = j(\vec{x}), & \text{en } \delta\Omega \end{cases} \quad (1)$$

donde  $\vec{x}$  es un punto arbitrario del espacio,  $\Phi$  es el potencial eléctrico,  $\boldsymbol{\sigma}(x)$  es el tensor de conductividad,  $\vec{J}_p$  es la corriente primaria de las fuentes electromagnéticas dentro del sólido y  $j$  es la componente normal de la densidad de corriente en su superficie. Típicamente, en EEG y MEG,  $j = 0$ , y en EIT y TES,  $\vec{J}_p = 0$ . El planteo (1) es válido para electrodos puntuales. Otra posibilidad es considerar el modelo de electrodo completo (CEM, por “complete electrode model”), en donde el planteo del problema directo se ve modificado de

<sup>1</sup>Las condiciones de Neumann se refieren a conocer la derivada del potencial eléctrico en la frontera. Por otro lado, las condiciones de borde de Dirichlet se refieren a conocer directamente el potencial sobre la frontera.

la siguiente manera [17]:

$$\begin{cases} \vec{\nabla} \cdot (\sigma \vec{\nabla} \Phi) = -\vec{\nabla} \cdot \vec{J}_p & \text{en } \Omega \\ \sigma \vec{\nabla} \Phi \cdot \hat{n} = 0, & \text{en } \overline{\delta\Omega} \\ \Phi + z_l \sigma (\vec{\nabla} \Phi) = V_l & \text{en } E_l \\ \int_{E_l} \sigma (\vec{\nabla} \Phi) \cdot \hat{n} dS = I_l & \text{en } E_l, \end{cases} \quad (2)$$

donde  $\overline{\delta\Omega}$  es la superficie que no está en contacto con los electrodos,  $E_l$  es la superficie en contacto con los electrodos,  $z_l$  es la impedancia de contacto,  $V_l$  es el potencial en el electrodo  $l$ , e  $I_l$  es la corriente aplicada por el electrodo  $l$ . Notar que la tercera ecuación en (2) puede interpretarse como que el potencial en el electrodo  $V_l$  es igual al potencial  $\Phi$  en la superficie de contacto menos la caída producida por el paso de la corriente normal ( $\sigma(\vec{\nabla}\Phi)$ ) por la impedancia de contacto  $z_l$ . La cuarta ecuación en (2) establece que la integral de la componente normal de la densidad de corriente ( $\sigma(\vec{\nabla}\Phi)$ ) en la superficie de contacto de cada electrodo es igual a la corriente inyectada en cada electrodo.

## 2.1. Solución al problema directo

El problema directo (1) o (2) posee solución analítica involucrando desarrollos en series cuando se trabaja con geometrías regulares como círculos o esferas [18, 19, 20]. Actualmente, es práctica habitual utilizar modelos realistas que requieren soluciones numéricas. Los métodos típicos son: el método de elementos de contorno (BEM, por “boundary element method”), el método de elementos finitos (FEM, por “finite element method”) y el método de diferencias finitas (FDM, por “finite difference method”). En todos los casos se transforma el problema (1) o (2) en un sistema lineal de ecuaciones de la forma  $\mathbf{Ax} = \mathbf{b}$

El método FEM se basa en subdividir a todo el volumen en unidades elementales (típicamente, tetraedros o hexaedros), proceso conocido como “mallado”, ver 2.2. Dentro de cada elemento, se propone una base de funciones que pueden ser lineales (lo más usual), cuadráticas o de mayor orden [21], y se realiza un procesamiento que transforma (1) o (2) en el sistema lineal de ecuaciones [22, 17, 23, 24]. La matriz  $\mathbf{A}$  resultante es rala, es decir, con una gran cantidad de elementos nulos, lo que constituye una ventaja en términos computacionales. Otra ventaja de FEM es la posibilidad de asignar un tensor de conductividad diferente por cada elemento, permitiendo incluir anisotropía e inhomogeneidad en los modelos eléctricos.

El método BEM se basa en superficies que separan al sólido en distintos compartimientos. Estas superficies son típicamente mallados triangulares. Dentro de cada compartimiento se supone que la conductividad eléctrica es isótropa y homogénea. Este método presenta la ventaja que el sistema lineal resultante es de una dimensión pequeña (número de nodos), aunque la matriz del sistema  $\mathbf{A}$  es llena y no rala [1, 25, 26]. En FDM, no es necesaria la

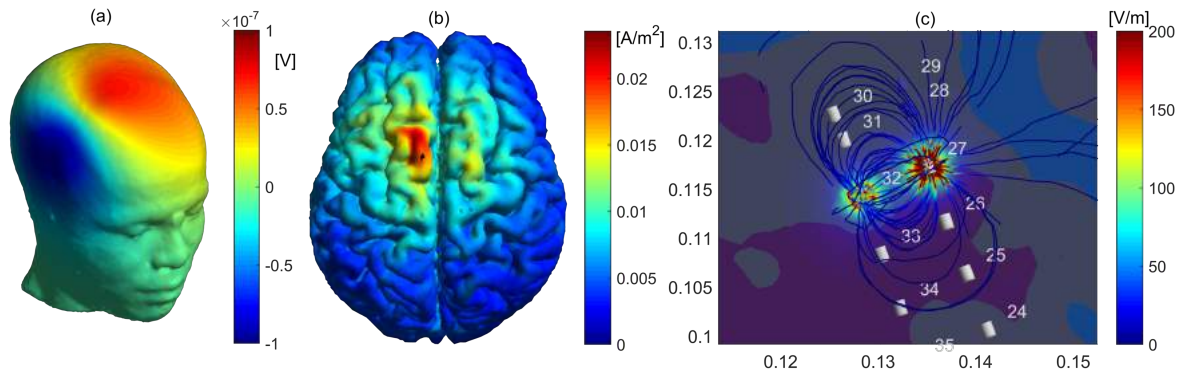


Fig. 3. Problema directo. (a) Solución al problema directo en EEG, potencial sobre el cuero cabelludo generado por un dipolo ubicado en la corteza cerebral. (b) Solución al problema directo en TES transcranial, densidad de corriente sobre la corteza al inyectar corriente por electrodos en el cuero cabelludo. (c) Solución al problema directo en TES intracraneal, intensidad del campo eléctrico dentro del cerebro cuando se estimula con electrodos intracraneales, modelados como cilindros metálicos. También se grafican algunas líneas de corriente. Los tejidos líquido cefalorraquídeo, materia gris y materia blanca se muestran como marca de agua

construcción de mallados superficiales ni volumétricos como en BEM y en FEM sino que se puede trabajar directamente en el mismo espacio nativo de la MR o la CT, una vez realizada la segmentación (ver 2.2), y esa es su principal ventaja. También permite incorporar anisotropía e inhomogeneidad en los modelos. Las ecuaciones diferenciales se resuelven a partir de convertir a las derivadas en diferencias con, típicamente, los seis vóxeles vecinos inmediatos. Presenta la desventaja de que el sistema lineal final es muy grande en comparación con los otros métodos y que las superficies que subdividen a los tejidos son rugosas, ya que están ligadas inherentemente a la resolución de las imágenes originales [27].

El sistema lineal resultante de BEM, FEM o FDM se resuelve mediante algoritmos que permiten manejar grandes sistemas lineales. Notar que la matriz  $A$  es cuadrada de tamaño  $K \times K$  y de rango  $K - 1$  por la referencia flotante del potencial eléctrico. Para FEM, por ejemplo,  $K$  es del orden de los 6 millones en modelos actuales [28]. Existen varios algoritmos para resolver el sistema lineal, como el algoritmo de gradientes biconjugados estabilizado [29], o el algoritmo de gradientes conjugados preconditionado [30], especialmente aptos para trabajar con matrices ralas. La Fig. 3 muestra ejemplos de la solución del problema directo para EEG, TES transcranial y TES intracraneal.

## 2.2. Segmentación y mallado

Para las tres modalidades, BEM, FEM y FDM, se realiza una segmentación del sólido en distintos tejidos. Generalmente se parte de la imagen T1 de la MR sola, o bien combinada con una T2 o con una imagen de CT. La imagen T1 permite una buena diferenciación entre

la materia gris, la materia blanca y el líquido cefalorraquídeo (Fig. 4 (a)). También permite segmentar al cráneo del cuero cabelludo, aunque resulta dificultoso distinguir la interfaz entre el cráneo y el líquido cefalorraquídeo ya que ambos aparecen oscuros en una imagen T1. En la imagen T2, el CSF aparece brillante, por lo que puede utilizarse para distinguirlo del cráneo. Otra posibilidad es utilizar una combinación de T1 con una imagen de CT. La imagen de CT permite separar el cráneo del resto de los tejidos con gran precisión, permitiendo construir modelos del cráneo bien detallados. Si se utilizan dos modalidades de imágenes, es necesario realizar, en primera instancia un alineamiento y remuestreo entre ambas imágenes, proceso llamado corrección, que puede ser realizado con herramientas como SPM<sup>2</sup> o 3DSlicer<sup>3</sup>.

De las imágenes corregidas se procede a la segmentación, que consiste en etiquetar a cada voxel con el tejido al que pertenece (Fig. 4(b)). Para ello existen varias herramientas de uso libre como Freesurfer [31], FSL [32], o bien de uso comercial como BrainK [33]. En general, estas herramientas utilizan combinaciones de distintas técnicas del procesamiento digital de imágenes tales como umbralización, umbralización de Otsu [34], “region growing” o “watershed” [35]. Freesurfer permite obtener una segmentación detallada, incluso subdividiendo las distintas regiones anatómicas de la corteza, utiliza algoritmos más complejos y tarda un mayor tiempo ( $\sim 10$  horas en una PC estándar).

A partir de la imagen segmentada, es posible resolver el PD utilizando FDM, pero para FEM o BEM, resta el mallado. Tetgen [36] permite realizar el mallado superficial (como el requerido para BEM) a partir de la imagen volumétrica segmentada, aunque requiere que las superficies no se intersecten. Para FEM, existen al menos dos alternativas: la primera consiste en generar el mallado de tetraedros a partir de las superficies utilizadas en BEM y la segunda es construir el mallado directamente desde la imagen segmentada. La primera permite construir mallados con elementos de mejor calidad, aunque todas las superficies deben ser cerradas y concéntricas (resultando en capas sin orificios). La segunda en cambio, permite generar superficies complejas, incluyendo orificios o zonas aisladas, pero tiene como desventaja algunas superficies pueden presentar pequeños “spikes” o puntas filosas que resultan en errores numéricos [37]. También es posible utilizar una combinación de ambos métodos, es decir, utilizar la segunda alternativa para superficies complejas como el cráneo y el cuero cabelludo, y utilizar mallado a partir de superficies para las capas internas como el líquido cefalorraquídeo, la materia gris y la materia blanca, que son concéntricas y cerradas [38] (Fig. 4(c)).

Una vez armado el modelo resta realizar la corrección con las ubicaciones de los electrodos. Para electrodos ubicados sobre el cuero cabelludo es posible utilizar imágenes fotográficas [39, 40], o bien sensores de ubicación magnéticos. En el caso de sensores intracraneales de electrodos profundos, la ubicación puede obtenerse a partir de imágenes de CT [13]. En todos los casos, si a los electrodos se los modela como puntuales, sólo basta encontrar el nodo del mallado más cercano a cada electrodo y utilizar estos nodos como electrodos.

---

<sup>2</sup><http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>

<sup>3</sup><https://www.slicer.org/>

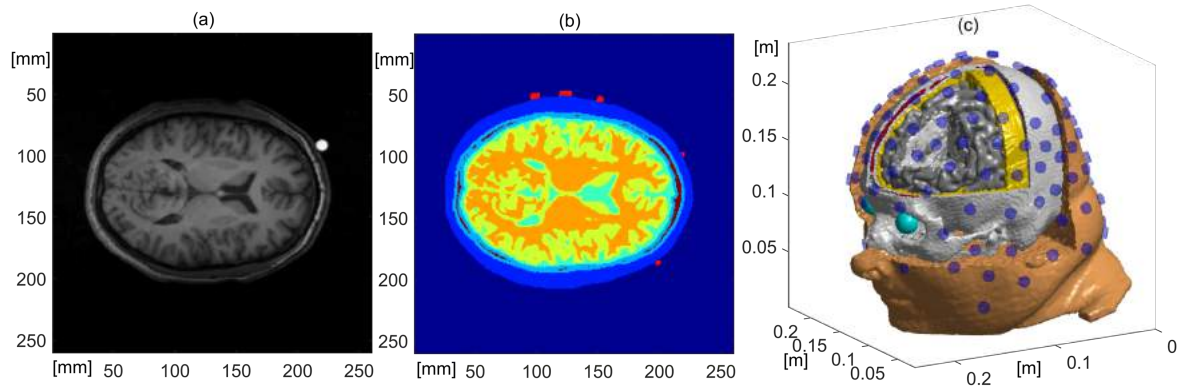


Fig. 4. Segmentación y mallado del atlas Colin27<sup>4</sup>. (a) Corte axial de una imagen de resonancia magnética del cerebro. (b) Segmentación del mismo corte. Los electrodos marcados en rojo son agregados artificialmente, y la segmentación del hueso esponjoso se realizó basándose en imágenes de tomografía computada del mismo sujeto. (c) Mallado final del modelo eléctrico donde se distinguen los distintos tejidos.

En el caso de modelar a los electrodos como CEM, usualmente se refina el mallado de las superficies de contacto entre los electrodos y la cabeza. Otra opción es utilizar electrodos volumétricos, que consisten en modelar directamente a los electrodos (típicamente como una capa de gel y otra de metal) y utilizar las fórmulas de electrodos puntuales inyectando sobre algún punto del metal [41]. En el caso de electrodos intracraneales se los puede modelar como pequeños cilindros dentro de la cabeza [42].

### 2.3. Estimación de la conductividad eléctrica

Conocer los valores de conductividad eléctrica de los tejidos que conforman la cabeza humana *in-vivo* es necesario para poder construir modelos confiables que permitan una mayor precisión en el análisis de datos y en la planificación de experimentos. Esta mejora en la precisión es de interés al determinar la ubicación de la actividad neuronal utilizando registros de EEG y/o MEG [43, 44], al calcular la dosis efectiva en TES [45, 38] o al localizar cambios de conductividad eléctrica en EIT [46].

En [47] se realiza una completa descripción de las propiedades eléctricas de los tejidos de la cabeza y en particular del cráneo y del cuero cabelludo. El cráneo es altamente resistivo con respecto a los tejidos que lo circundan, lo que produce un efecto de blindaje eléctrico entre las zonas exterior e interior a el mismo. Por otro lado, la conductividad del cuero cabelludo tiene efectos significativos en EEG, EIT y TES ya que es la primera capa con la que se encuentra en contacto con los electrodos. Las conductividades de estas dos capas suelen modelizarse como homogéneas e isotrópicas, es decir, con un valor equivalente constante y sin una dirección preferencial, aunque también pueden modelizarse como anisótropas, donde la

<sup>4</sup><http://www.bic.mni.mcgill.ca/ServicesAtlases/Colin27>

conductividad tangencial difiere de la radial [48, 49].

EIT paramétrico (o bEIT, por bounded EIT) es una modalidad de EIT que permite estimar valores de conductividad eléctrica equivalentes de los principales tejidos de la cabeza, en particular, del cráneo y el cuero cabelludo. El método consiste en ajustar el potencial eléctrico medido con EIT versus el potencial eléctrico simulado que es función de la conductividad eléctrica. A diferencia de los tejidos blandos de la cabeza, la conductividad del cráneo no puede ser obtenida a partir de la técnica de DTI; y por el otro, EIT paramétrico permite una estimación *in-vivo* y específica de cada individuo de manera mínimamente invasiva, a diferencia de otras mediciones de la conductividad del cráneo que han sido realizadas post-mortem, o de manera invasiva [50, 51, 52, 28].

## **2.4. Fuentes**

Como es habitual en problemas inversos, éste no tiene solución única a menos que se pueda postular un modelo espacio-temporal con un número relativamente reducido de parámetros. Un modelo satisfactorio para la masa neuronal involucrada -ZE- en el mecanismo epileptógeno permite no solamente la resolución del problema inverso sino que brinda además conocimiento sobre las causas y desarrollo de la enfermedad y sus posibilidades terapéuticas.

La fuente de actividad neuronal puede describirse como una distribución de potencial que se extiende dentro de la cabeza [53]. El empleo de modelos (macroscópicos) permite una simplificación de la que sería en general una intrincada distribución de acuerdo a la descripción previa. Un modelo parsimonioso, con pocos parámetros pero representativos, redundará en mayor precisión en la estimación de los mismos. El que estos modelos no formen parte de protocolos estándar en neurología es porque se conoce en forma incompleta su vinculación o su asociación con aspectos morfológicos o funcionales.

Los diversos modelos de fuentes se pueden clasificar en estáticos, dinámicos y de conectividad. Los modelos estáticos son esencialmente una sucesión de “fotos” instantáneas que resultan en una fuente que se mueve, aunque para obtener las características de una foto sólo se usa información correspondiente a un solo instante [54]. Los modelos dinámicos utilizan información de correlación temporal de la fuente [55]. Más recientemente se ha comenzado a estudiar las fuentes empleando información de su correlación espacial y temporal. Como justamente ésta es desconocida, debe ser inferida en forma “ciega” de los registros de EEG, lo que origina incertidumbres en su causalidad, entendida como el conjunto de “regresores significativos” [56].

Los modelos más difundidos y simples para ciertas epilepsias (focales) son el de un dipolo equivalente de corriente (ECD) para fuentes concentradas en el cerebro, no muy profundas [57] y el de múltiples dipolos [58]. El uso del ECD está también muy difundido por ser un modelo de pocos parámetros lo que permite predecir que puede ser estimado con mayor precisión que modelos con mayor número de parámetros. Es común restringirlos para forzar



a las fuentes a que se encuentren dentro de la materia gris y orientados perpendicular a la (intrincada) corteza cerebral.

También se han propuesto modelos menos “focales” y más “distribuidos” para describir la ZE en casos de epilepsias cuyo origen se atribuye a malformaciones corticales. En nuestro caso, continuando los modelos concentrados de [59] se postularon distribuciones lineales para señales de EEG en [60] y de MEG [61]; así como distribuciones superficiales para señales de EEG en [62] y de MEG en [63].

Es claro que los modelos heurísticos ya mencionados se beneficiarían de introducir restricciones dinámicas que reflejen información neurofisiológica típica de la corteza, como estructura anatómica y fisiológica. Esto condujo a postular fuentes como grupos de neuronas (excitatorias e inhibitorias) *acoplados* no linealmente y la formulación de *modelos fisiológicamente plausibles* [64, 65]. Con estos modelos puede aproximarse el paso de actividad interictal a crisis por medio de cambios en parámetros de acoplamiento [66]; abriendo la posibilidad para motivar el efecto que debe causar la neuroestimulación para detener -o aún prever- una crisis.

### 3. Problema inverso

#### 3.1. Modelo de señal y ruidos

En EEG y MEG, la señal medida en  $L$  sensores o electrodos puede escribirse como:  $\mathbf{y}(t, x_0) = \mathbf{lf}(x_0)\mathbf{d}(t) + \mathbf{n}(t)$ , suponiendo una fuente dipolar en  $x_0$  con momento dipolar  $\mathbf{d}$ , y donde  $\mathbf{lf}$  (de tamaño  $(L - 1) \times 3$ , ya que un electrodo se utiliza generalmente como referencia) es el potencial eléctrico en cada electrodo ó las componentes del campo magnético en MEG (en este caso,  $\mathbf{lf}$  es de tamaño  $L \times 3$ , ya que por electrodo magnético -bobina captora- se mide típicamente sólo la componente radial) obtenidos a partir de resolver el PD. El problema se puede generalizar armando una matriz aumentada  $\mathbf{LF}$ , con todas las  $N$  posibles ubicaciones (discretas) de la fuente dipolar. En FEM, se puede suponer una ubicación por tetraedro del cerebro, o mejor aún, por tetraedro de la materia gris. En BEM, las posibles ubicaciones son típicamente los distintos triángulos de la superficie externa de la materia gris. Es así que el modelo de señal queda definido como:

$$\mathbf{y}(t, x_0) = \mathbf{LF} \cdot \mathbf{D}(x_0, t) + \mathbf{n}(t) \quad (3)$$

donde  $\mathbf{LF}$  es de  $(L - 1) \times 3N$  (ó  $2L \times 3N$  en MEG) y  $\mathbf{D}$  es de  $3N \times 1$ . Existe la posibilidad de incorporar la restricción fisiológica que los dipolos se encuentran orientados normalmente respecto a la superficie externa de la materia gris. En ese caso, la matriz  $\mathbf{LF}$  es de tamaño  $L \times N$  (ó  $2L \times N$  en MEG) ya que por cada elemento sólo se considera una única orientación posible para los dipolos. El término  $\mathbf{n}(t)$  modeliza el ruido electrónico de los sensores y otros efectos de no-interés.

En EIT, generalmente 2 electrodos se utilizan para la inyección de corriente,  $L - 3$  para medir y uno de referencia, y el procedimiento se repite para varios pares de inyección. Es usual suponer que el par de inyección se cambia a una frecuencia mayor que la dinámica de la conductividad interna, obteniendo  $M$  conjuntos de  $L - 3$  mediciones para una misma instantánea, donde  $M$  es la cantidad de pares de inyección utilizados.  $M = (L - 1)(L - 2)/2$  es el máximo número de pares posibles no redundantes para  $L - 1$  electrodos disponibles. En ausencia de ruido, y debido a la linealidad del fenómeno,  $M = L - 1$  pares son suficientes para generar el resto de las  $(L - 1)(L - 2)/2$  mediciones [17]. El potencial sobre los electrodos  $\mathbf{y}(t)$  para un cierto instante de tiempo  $t$  es una función no lineal del mapa de conductividad  $\sigma(t)$ , aunque es usual linealizar el problema alrededor de una conductividad de referencia  $\sigma_i$  y medir cambios de conductividad, así:

$$\delta \mathbf{y}(t) = \mathbf{s}(x_0) \delta \sigma(t) + \delta \mathbf{n}(t) = \mathbf{S} \delta \sigma(t, x_0) + \delta \mathbf{n}(t), \quad (4)$$

donde  $\mathbf{s}(x_0)$  es llamado el *vector de sensibilidad* del elemento que contiene a  $x_0$  que se calcula resolviendo el PD,  $\delta \mathbf{y}(t)$  es la diferencia de mediciones antes y después de un cambio de conductividad  $\delta \sigma(t)$ . Se puede proceder de manera similar a EEG y MEG, obteniendo la formulación general para cambios de conductividad en cualquier lugar del cerebro (expresión de la derecha en (4)), donde,  $\mathbf{S} = [\mathbf{s}(1)\mathbf{s}(2)\dots\mathbf{s}(N)]$  es la *matriz de sensibilidad* o *Jacobiano* de tamaño  $M(L - 3) \times N$ .

En TES, las dimensiones del problema cambian ligeramente. Con el problema directo se calcula la densidad de corriente  $\mathbf{t}_i$  (de tamaño  $3N \times 1$ ) en cada elemento del cerebro (o de la materia gris) cuando se inyecta corriente por un determinado par de electrodos  $i$ . En general,  $i = 1..(L - 1)$  suponiendo que usamos un electrodo de referencia como sumidero y los  $L - 1$  electrodos restantes como fuentes y, por linealidad, es posible conocer la distribución de densidad de corriente en el cerebro para cualquier patrón de inyección de corriente. El problema general queda entonces de la siguiente manera:

$$\mathbf{j} = \mathbf{T}\mathbf{p}, \quad (5)$$

donde  $\mathbf{p}$  es el patrón de inyección,  $\mathbf{j}$  es la densidad de corriente resultado de aplicar  $\mathbf{p}$  y la matriz  $\mathbf{T} = [\mathbf{t}_1, \mathbf{t}_2, \dots, \mathbf{t}_{L-1}]$  de tamaño  $3N \times (L - 1)$  es llamada matriz de transferencia. En TES, también es posible considerar sólo la densidad de corriente en la dirección normal a la corteza, siendo  $\mathbf{T}$  es de tamaño  $N \times (L - 1)$ . Se puede demostrar que en ese caso  $\mathbf{T} = \mathbf{L}\mathbf{F}^T$  cuando sólo se considera la dirección normal, y el mismo electrodo se utiliza como sumidero en estimulación y como electrodo de referencia en EEG [67].

Es importante destacar que la geometría u otro modelo de electrodos como el modelo CEM sólo modifican las matrices  $\mathbf{L}\mathbf{F}$ ,  $\mathbf{S}$ , o  $\mathbf{T}$ , por lo que los métodos que se desarrollan a continuación son compatibles con otras modelizaciones simplemente modificando dichas matrices.

### 3.2. Algoritmos de resolución del problema inverso

Como se mostró en la sección anterior, en las distintas modalidades se llega a un sistema lineal del tipo  $\mathbf{y} = \mathbf{A}\mathbf{x}$  en donde  $\mathbf{A}$  será la matriz  $\mathbf{LF}$  en EEG y MEG, la matriz  $\mathbf{S}$  en EIT o la matriz  $\mathbf{T}$  en TES. En EEG, MEG y EIT, generalmente se tienen más incógnitas que datos (la matriz  $\mathbf{A}$  tiene más columnas que filas) siendo el problema lineal *subdeterminado* (es decir, que existen infinitas soluciones), mientras que en TES se tienen más datos (la densidad de corriente deseada en cada elemento del cerebro) que incógnitas (típicamente cuánta corriente inyectar por cada electrodo), siendo el problema lineal *sobredeterminado* en este caso (es decir, no hay solución).

El sistema lineal tendrá entonces una solución de cuadrados mínimos (LS, por “Least Squares”):

$$\hat{\mathbf{x}} = (\mathbf{A}^T \mathbf{A})^{-1} \mathbf{A}^T \mathbf{y}, \quad (6)$$

siempre que exista la inversa de  $\mathbf{A}^T \mathbf{A}$ , o su solución de mínima norma es

$$\hat{\mathbf{x}} = \mathbf{A}^T (\mathbf{A} \mathbf{A}^T)^{-1} \mathbf{y}, \quad (7)$$

si  $\mathbf{A} \mathbf{A}^T$  es invertible. Cuadrados mínimos se aplica directamente cuando el sistema es sobredeterminado (por ejemplo en TES [68]) mientras que las soluciones de mínima norma se aplican a problemas subdeterminados (en EIT, EEG o MEG [17, 69, 70, 71]). Si, a su vez, el problema es mal condicionado o singular, una alternativa es aplicar la regularización de Tikhonov, que consiste en resolver el problema de minimización con una restricción adicional de mínima norma en la solución, resultando:

$$\begin{aligned} \hat{\mathbf{x}} &= \underset{\mathbf{x}}{\operatorname{argmin}} \{ \|\mathbf{y} - \mathbf{A}\mathbf{x}\|^2 + \|\alpha \mathbf{\Gamma} \mathbf{x}\|^2 \} \\ &= (\mathbf{A}^T \mathbf{A} + \alpha^2 \mathbf{\Gamma}^T \mathbf{\Gamma})^{-1} \mathbf{A}^T \mathbf{y} \\ &= (\mathbf{\Gamma}^T \mathbf{\Gamma})^{-1} \mathbf{A}^T (\mathbf{A} (\mathbf{\Gamma}^T \mathbf{\Gamma})^{-1} \mathbf{A}^T + \alpha^2 \mathbf{I})^{-1} \mathbf{y}, \end{aligned} \quad (8)$$

en donde  $\mathbf{\Gamma}$  es la matriz de Tikhonov y  $\alpha$  es el parámetro de regularización. En la segunda línea de (8) se muestra la solución típica y en la última línea una formulación equivalente que se obtiene al aplicar la identidad de matrices de Woodbury.

Una posibilidad muy común es elegir  $\mathbf{\Gamma} = \mathbf{I}$ , donde  $\mathbf{I}$  es la matriz identidad. Otra alternativa es elegir  $\mathbf{\Gamma}$  de manera que asegure cierta suavidad en la solución, siendo lo más usual utilizar una matriz de suavidad de Laplace [17]. Esta solución también es conocida como solución de Gauss-Newton con regularización de Laplace [69].

En el problema de localización de fuentes de actividad neuronal a partir de registros de EEG o magnetoencefalografía MEG, el algoritmo más utilizado es sLORETA [72]. Esto se debe principalmente a su ventaja de ser teóricamente insesgado, además de poseer otras ventajas como su simpleza y su baja complejidad computacional [73, 74]. Esto no ocurre con Tikhonov, en donde se puede mostrar teóricamente que existe un sesgo hacia la ubicación

de los sensores [75]. sLORETA se basa en agregar un coeficiente escalar a la solución de mínima norma que sea función de la ubicación para eliminar el sesgo. Para un elemento particular de la discretización  $k$ , la solución sLORETA viene dada por [75]:

$$\widehat{\mathbf{x}}_k = \frac{\mathbf{a}_k^T (\mathbf{A}\mathbf{A}^T + \alpha^2 \mathbf{I})^{-1} \mathbf{y}}{\sqrt{\mathbf{a}_k^T (\mathbf{A}\mathbf{A}^T + \alpha^2 \mathbf{I})^{-1} \mathbf{a}_k}}. \quad (9)$$

donde  $\mathbf{a}_k$  es la  $k$ -ésima columna de  $\mathbf{A}$ . Existen diversas variaciones de sLORETA, siendo una de ellas incluir la matriz de suavizado de Laplace  $\Gamma$  [76]. La Fig. 5 (a) muestra un ejemplo de aplicación de sLORETA para localizar actividad neuronal en EEG en un experimento de reconocimiento de rostros [74]. Tanto LS, mínima norma como sLORETA se clasifican como filtros no-adaptivos y permiten generar una imagen por cada instante de tiempo (o instantánea).

La técnica de filtros espaciales adaptivos, o “beamforming” es otra manera de resolver el PI, que ha sido ampliamente utilizada en EEG y MEG [77, 75], recientemente introducida en EIT [78] y utilizada en TES [68, 38]. Esta técnica combina las señales obtenidas con un arreglo de sensores de una manera particular para orientar la máxima ganancia hacia una ubicación espacial en concreto. Luego, se realiza un barrido virtual por toda la zona de interés obteniendo un mapa de activación neuronal (en EEG/TES) o de cambios de conductividad (en EIT), generando un único mapa espacial que concentra la información de todo un intervalo temporal de interés. El filtro espacial lineal de mínima varianza con restricciones (LCMV, por Linearly Constrained Minimum Variance) es un filtro adaptivo particular muy utilizado que se basa en la minimización de la varianza de la salida del filtro bajo algún tipo de restricción. La restricción más común es la de no-distorsión [77]. Existen variaciones para filtros espaciales en EEG/MEG que tienen en cuenta la orientación de las fuentes [79, 80].

Básicamente, el filtro espacial LCMV propone un vector de pesos  $\mathbf{w}_k$  tal que  $\mathbf{w}_k^T \mathbf{y}(t)$  es un estimador de mínima varianza de la actividad neuronal o de los cambios de conductividad en la posición  $k$  [79, 80, 75], y tiene la forma:

$$\widehat{\mathbf{x}}_k^T = \mathbf{w}_k^T \mathbf{y} = (\mathbf{a}_k^T \mathbf{C}_Y^{-1} \mathbf{a}_k)^{-1} \mathbf{a}_k^T \mathbf{C}_Y^{-1} \mathbf{y}, \quad (10)$$

donde  $\mathbf{C}_Y$  es la matriz de covarianza de la señal  $\mathbf{y}$ . Se puede mostrar que la salida del filtro es insesgada para una fuente localizada y que el filtro fuerza automáticamente ganancia nula en la posición de otras fuentes no correlacionadas basándose en la información de  $\mathbf{C}_Y$  [75].

La sensibilidad del filtro LCMV decrece con la distancia a los electrodos, por lo que una medida absoluta no es lo más apropiado. En su lugar, se define un índice para cada ubicación  $k$  que normaliza la contribución de  $x$  con respecto a una situación de sólo ruido, llamado *índice de actividad neuronal (NAI)* (o *índice de cambio de conductividad (CCI)* para EIT) [77, 80, 78]:

$$NAI_k = \frac{\mathbf{j}_k^T \mathbf{C}_Y^{-1} \mathbf{C}_a \mathbf{C}_Y^{-1} \mathbf{j}_k}{\mathbf{j}_k^T \mathbf{C}_Y^{-1} \mathbf{C}_n \mathbf{C}_Y^{-1} \mathbf{j}_k}, \quad (11)$$

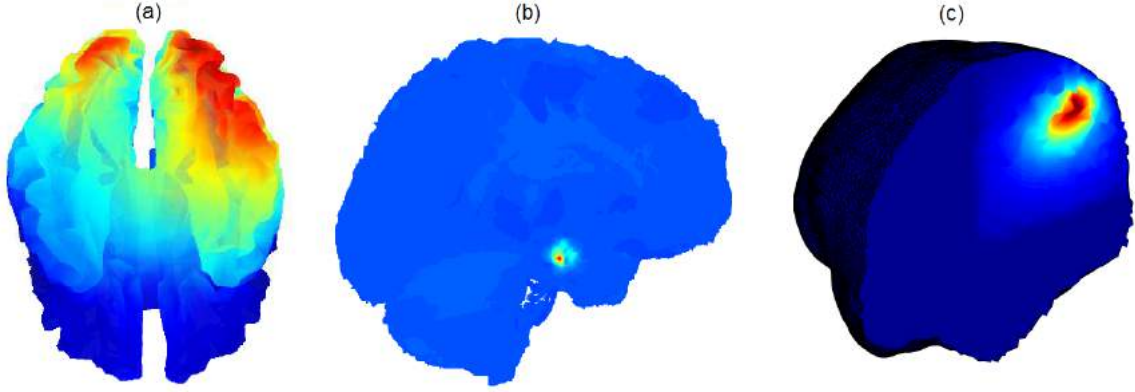


Fig. 5. Problema inverso. (a) Solución al problema inverso en EEG utilizando sLORETA en un experimento real de reconocimiento de rostros. (b) Solución al problema inverso en EEG utilizando electrodos intracraneales y con el método de filtrado espacial adaptivo LCMV, basado en simulaciones. (c) Solución al problema inverso en EIT utilizando LCMV para detectar cambios de conductividad, ejemplo de una simulación de accidente cerebro-vascular.

donde  $C_a$  es la matriz de covarianza de la señal de interés y  $C_n$  es la matriz de covarianza del ruido. El  $NAI_k$  se puede computar para todos los  $K$  elementos de la discretización resultando en un mapa de activación. y puede pensarse como la varianza de la salida del filtro de no-distorsión de la Ec.(10) normalizado por la varianza de la salida del filtro cuando sólo hay ruido. Existen diversos métodos para estimar las matrices de covarianza  $C_a$ ,  $C_n$  y  $C_Y$ , siendo el estimador más usual para  $C_Y$  la matriz de covarianza muestral  $C$  [77].

La Ec. (11) involucra la matriz inversa de  $C_Y$  que generalmente es mal-condicionada, especialmente para un bajo número de instantáneas  $T$ . Si  $T < M(L - 2)$ , directamente la matriz  $C$  es singular. La *regularización de Tikhonov* descrita anteriormente es la manera usual de mejorar el problema resultando  $C_Y = C + \alpha I$ . También se pueden aplicar otros métodos de regularización especialmente adecuados para  $T < M(L - 2)$  como el propuesto en [81]. La matriz de covarianza de ruido  $C_n$  es típicamente estimada en condiciones de ausencia de señal, o elegida como la matriz identidad multiplicada por la varianza de ruido si se supone ruido blanco gaussiano estacionario.

La Fig. 5(b) muestra el NAI obtenido en un ejemplo de simulación de localización de actividad neuronal con electrodos de EEG intracraneales, mientras que la Fig. 5(c) muestra el CCI para el caso de localización de cambios de conductividad utilizando EIT, en un ejemplo de simulación de un ataque cerebro-vascular.

En el caso de TES, el método LCMV fija una restricción de densidad de corriente deseada en un punto espacial  $\vec{x}$  y minimiza la potencia total de la solución, resultando [68, 38]:

$$\mathbf{p}_{LCMV} = (\mathbf{T}^T \mathbf{T})^{-1} \tilde{\mathbf{T}}^T \left( \tilde{\mathbf{T}} (\mathbf{T}^T \mathbf{T})^{-1} \tilde{\mathbf{T}}^T \right)^{-1} \mathbf{j}, \quad (12)$$

donde  $\tilde{\mathbf{T}}$  son las filas de  $\mathbf{T}$  correspondientes a los elementos que se desean estimular.

La utilización del método de la Ec. (12) resulta en soluciones de estimación en donde la región es estimulada exactamente en la orientación deseada (aunque probablemente con menor intensidad). El PI en estimación eléctrica también se puede resolver utilizando el principio de reciprocidad, que relaciona el problema directo en EEG con el problema inverso en TES, o bien por medio de algoritmos de optimización convexa numéricos. El teorema de reciprocidad [2, 82] enuncia que dado un dipolo eléctrico en la posición espacial  $\vec{x}$  y con momento dipolar  $\mathbf{d}$ , el potencial eléctrico  $\Phi$  que se genera en el cuero cabelludo entre los puntos  $A$  y  $B$  puede calcularse a través de un simple producto escalar entre vectores:

$$\Phi(A) - \Phi(B) = \mathbf{d}^T \cdot \frac{\vec{\nabla}\psi_{AB}(\vec{x})}{I_{AB}}, \quad (13)$$

donde  $\psi_{AB}(\vec{x})$  es el potencial eléctrico resultante de aplicar una corriente eléctrica  $I_{AB}$  en los puntos  $A$  y  $B$ .

En base a este principio se puede mostrar que si se eligen como puntos  $A$  y  $B$  a los puntos con una mayor diferencia de potencial  $\Phi$ , generado por un dipolo en  $\vec{x}$  y con momento  $\mathbf{d}$ , el gradiente del potencial  $\vec{\nabla}\psi_{AB}(\vec{x})$  debido a una corriente inyectada  $I_{AB}$  es el máximo posible dado un límite a la corriente total que se puede inyectar [38]. Es decir, usando reciprocidad podemos determinar automáticamente los puntos de inyección óptimos para maximizar la densidad de corriente en la dirección deseada en la región de interés [38].

### 3.3. Calidad de desempeño

En base a lo presentado en 3.1 y 3.2 se observa que en general ha sido posible expresar el PI, en cualquiera de sus variantes, como  $\mathbf{y} = \mathbf{A}\mathbf{x}$ , donde  $\mathbf{y}$  representan los valores medidos. En realidad, cualquier medición está sujeta a perturbaciones que en los casos que nos ocupan obedecen a (i) ruido de los amplificadores, de la resistencia de contacto de los sensores, etc.; (ii) ruido de fondo debido a la actividad neuronal exterior a la de la región de interés y (iii) incertezas en la modelización. Debido a su naturaleza aleatoria se puede modelizar el vector de mediciones en cada instante como

$$\mathbf{y} = \mathbf{m}(\boldsymbol{\theta}) + \mathbf{n} \quad (14)$$

donde  $\boldsymbol{\theta}$  es un vector con los parámetros a ser estimados, por ejemplo: 3 coordenadas de la ubicación de un dipolo, intensidad del dipolo, 2 ángulos de su orientación. En tanto el vector de ruidos  $\mathbf{n}$  es un proceso con media nula y matriz de covarianza  $R = E\{\mathbf{n}\mathbf{n}^T\}$ . Para los ruidos de tipo (i) es razonable pensar que la contribución corresponde a ruido Gaussiano independiente por cada sensor, es decir con  $R$  diagonal y constante en el tiempo. Sin embargo, para el ruido de tipo (ii) y (iii) la realidad indica que hay tanto correlación espacial como temporal; impidiendo considerar  $R$  diagonal. No obstante, a falta de mejor información, es habitual considerar que  $R$  es diagonal y temporalmente constante y el ruido Gaussiano.

La consideración de los ruidos hace que el  $\boldsymbol{\theta}$  a estimar a través de funciones de  $\mathbf{y}$  sea alea-

torio. La calidad con que es estimado resulta de sumo interés. Por ejemplo, al localizar una fuente, obviamente se quiere conocer con qué precisión se hace. En general, esto se puede estudiar por simulación (Monte Carlo), pero entonces el resultado depende del algoritmo a emplear. La cota de Cramér-Rao (CRB) permite calcular en forma analítica la mínima varianza alcanzable del error de estimación de un parámetro, sin importar el algoritmo que se emplee a condición de que sea insesgado [83]. En el caso vectorial y con las hipótesis hechas para el ruido

$$E \left\{ (\boldsymbol{\theta} - \hat{\boldsymbol{\theta}})(\boldsymbol{\theta} - \hat{\boldsymbol{\theta}})^T \right\} \geq \text{CRB}(\boldsymbol{\theta}) = [\mathbf{J}(\boldsymbol{\theta})]^{-1} \text{ con } J_{ij}(\boldsymbol{\theta}) = \frac{\partial \mathbf{m}^T}{\partial \vartheta_i} \mathbf{R}^{-1} \frac{\partial \mathbf{m}}{\partial \vartheta_j} \quad (15)$$

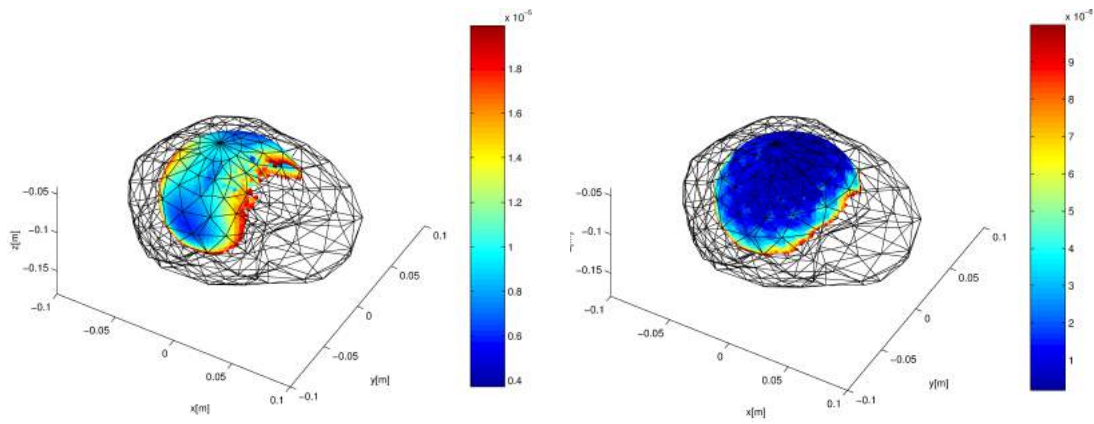


Fig. 6. Influencia de la modalidad en la calidad de la localización de una fuente dipolar. Izq.: MEG - Volumen del elipsoide de concentración de 90 %. Der.: MEG y EEG combinados

Esta cota ha sido usada para ver la calidad de la estimación obtenible usando sólo EEG, sólo MEG o ambos combinados. En la Fig. 6, en [84], se muestra el volumen del elipsoide de concentración de 90 % de probabilidad con que se estiman fuentes en una cabeza realista, pero donde por claridad se supuso una corteza para donde están las fuentes de forma esférica. Se deja ver la mejora -disminución del volumen del elipsoide de concentración- obtenido con la incorporación a MEG (izquierda) de mediciones de EEG con una gorra de 37 electrodos sólo cubriendo la parte superior de la cabeza (occipito-parietal).

Otro ejemplo también basado en el empleo de la CRB es el estudio [85] del efecto que tienen en la estimación de ubicación de una fuente dipolar las incertezas en la descripción de las superficies de los tejidos, derivadas de los errores de MR y CT y de las variaciones entre individuos en el caso de usarse superficies promedio. En la Fig. 7 se muestran estos efectos, para el caso de una fuente dipolar tangencial. A la izquierda, la raíz cuadrada de la cota en la estimación de la profundidad del dipolo y a la derecha, el mínimo volumen con probabilidad 90 % de contener a la fuente.

Para posicionar fuentes es necesario conocer la posición de los electrodos de medición en el mismo sistema de coordenadas en que se conocen las capas de distintos tejidos de la

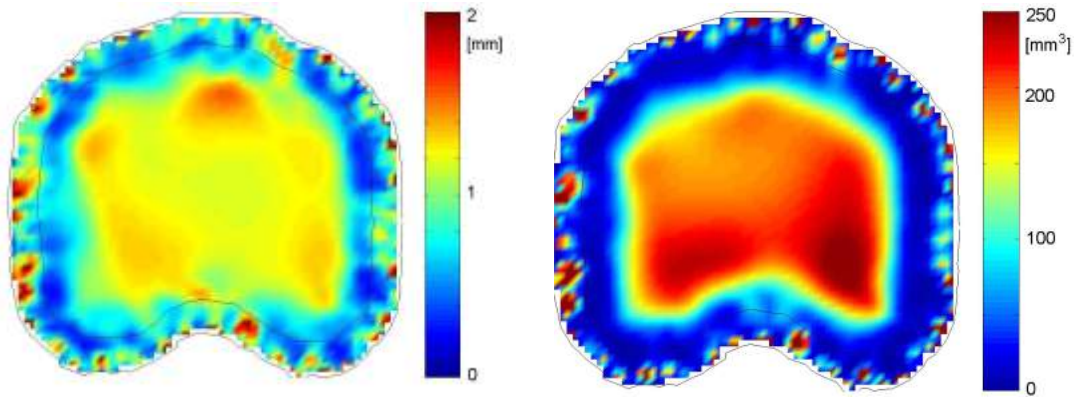


Fig. 7. Efecto de la configuración geométrica incierta en la calidad de la localización de una fuente dipolar. Izq.: Cota en estimación de profundidad. Der.: Volumen de concentración de 90 %

cabeza. La CRB fue usada en [86] para cuantificar el efecto de conocer inciertamente esas posiciones. En la Fig. 8 se aprecian a la izquierda las incertidumbres en la posición de electrodos de EEG y a la derecha el mínimo volumen del elipsoide de concentración de 90 % para estimación de posición de la fuente para un dipolo tangencialmente orientado.

#### 4. Conectividad en EEG, MEG y sEEG

El trabajo con las fuentes de actividad neuronal lleva rápidamente a postular la existencia de redes de fuentes que se conectan entre sí activándose posiblemente a distintos instantes. La *conectividad* designa genéricamente estas ideas [87]. En neurociencias existen distintas maneras de definir conectividad. La conectividad anatómica se refiere a establecer una trayectoria física (de fibras nerviosas) conectando distintas regiones del cerebro. Estas redes son estables en el tiempo y se establecen via DTI. La conectividad funcional refleja la interacción por correlación temporal entre eventos neurofisiológicos alejados. En cambio, la conectividad efectiva (EC) intenta describir la acción de una región sobre otra, en sentido causal y directo. EC interesa pues hay evidencia de que podría resultar afectada en ciertas patologías como en epilepsia [88, 89]. Es decir, el patrón de EC cambia durante los períodos interictal, pre-ictal e ictal; mostrando el papel preponderante en el origen y propagación de las crisis de ciertos nodos asociados con la ZE.

Incorporar la causalidad, en el sentido de Granger [90], a los efectos prácticos resulta en construir un modelo auto-regresivo (AR) multivariado de las mediciones  $Y(t)$

$$Y(t) = [Y'_1(t), Y'_2(t), \dots, Y'_d(t)]' \quad t = 1, \dots, N$$



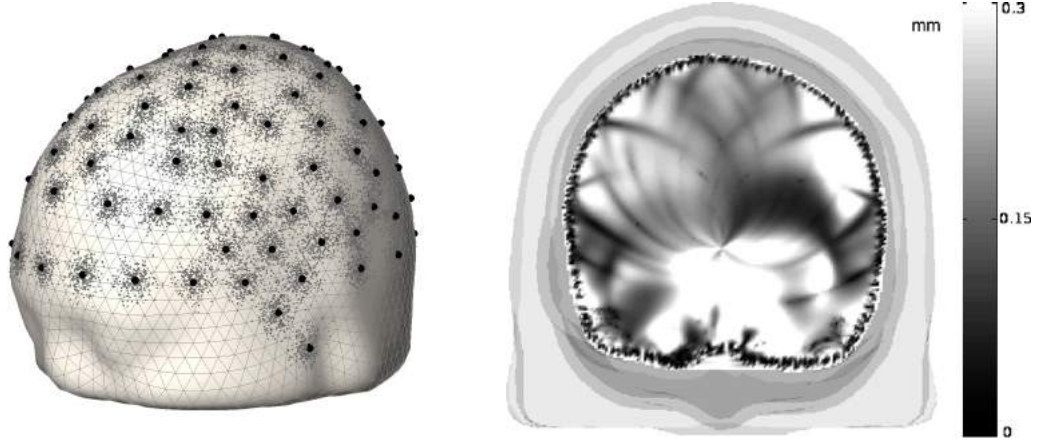


Fig. 8. Efecto de la posición de los electrodos en la calidad de estimación de parámetros de una fuente dipolar. Izq.: Electrodo de EEG posicionados con su dispersión típica. Der.: Mínimo volumen con probabilidad 90 % de contener a la fuente (dipolo tangencial; corte coronal).

como

$$Y(t) = - \sum_{i=1}^p A_i Y(t-i) + \varepsilon(t)$$

donde  $A_i \in \mathbb{R}^{d \times d}$  es la matriz de coeficientes del modelo AR, con  $A_0 \triangleq I$  y  $\varepsilon(t)$  es una secuencia de residuos que cuando el orden del modelo  $p$  es correcto, debe tener una matriz de covarianzas diagonal  $R_\varepsilon = \text{diag}[\sigma_1^2, \dots, \sigma_d^2]$ .

La conectividad puede apreciarse por ejemplo en el dominio de la frecuencia  $A(f)Y(f) = \varepsilon(f)$  ó  $Y(f) = H(f)\varepsilon(f)$  con  $A(f) = \sum_{i=0}^p A_i e^{-j2\pi fT}$ , donde  $T$  es el intervalo de muestreo, que describe la “función de transferencia”  $H(f)$ . Existen diversas medidas de conectividad [90] como la *función de transferencia direccional* (DTF) y otras. En nuestros trabajos hemos adoptado la *coherencia parcial direccional* (PDC) dada por

$$PDC_{ij}(f) \triangleq \frac{|A_{ij}(f)|}{\|A_j(f)\|}$$

que describe la influencia del nodo  $j$  en el  $i$ . Nótese la normalización de  $|A_{ij}(f)|$  para independizar de la intensidad puesta en juego por el nodo  $j$ . En ese sentido, es mejor usar GPDC o coherencia parcial direccional generalizada, que incorpora las diferentes varianzas de los nodos,:

$$GPDC_{ij}(f) \triangleq \frac{|A_{ij}(f)|/\sigma_i}{(\sum_{k=1}^d |A_{kj}(f)|^2/\sigma_k^2)^{1/2}}$$

Y si se considera que la matriz  $R_\varepsilon$  es estimada de los datos y no resulta exactamente diago-

nal, se podría usar

$$GGPDC_{ij}(f) \triangleq \frac{|\bar{A}_{ij}(f)|}{\|\bar{A}_{kj}(f)\|} \quad \text{donde } \bar{A}(f) = L^{-1}A(f), \quad R_\epsilon = LL'$$

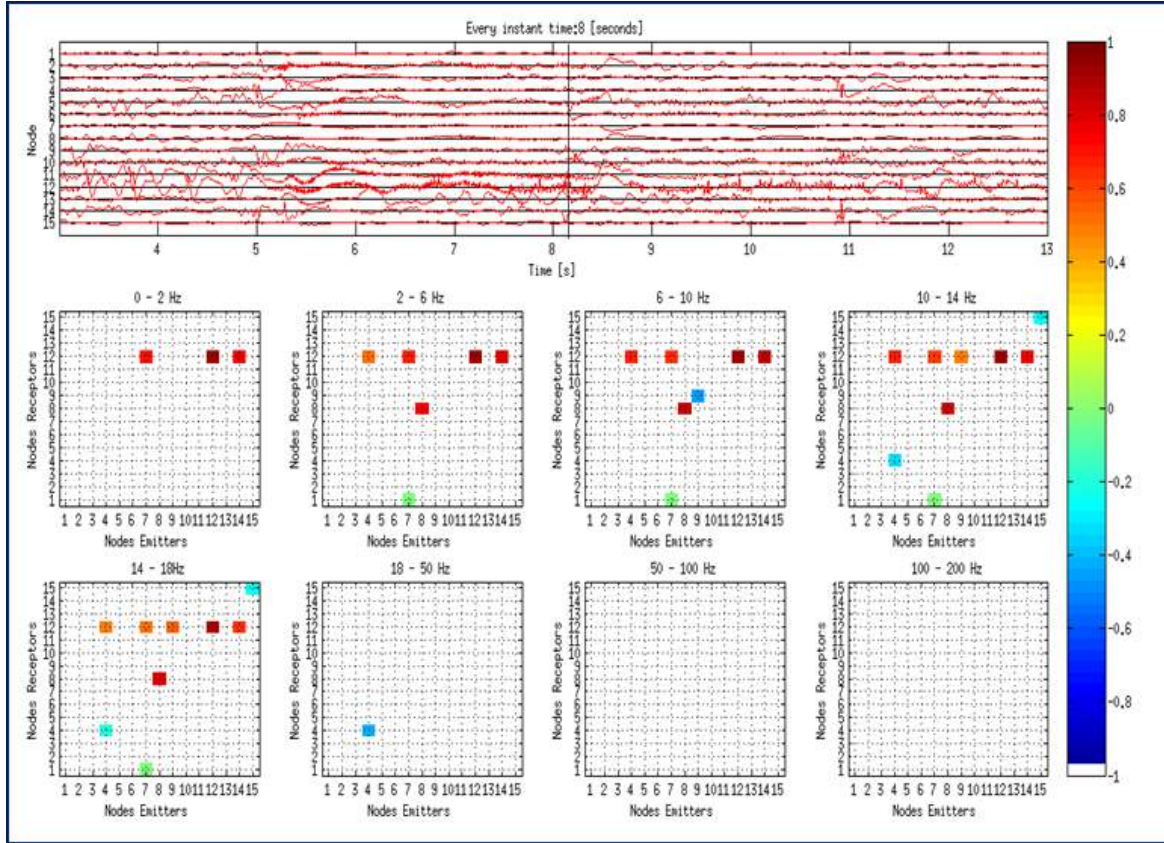


Fig. 9. Conectividad. (Arriba) Señales reales. (Medio y abajo) Conectividad por bandas de frecuencia.

Las medidas de conectividad son continuas y restringidas al intervalo  $[0, 1]$ . Por lo tanto es conveniente binarizarlas estableciendo un umbral conveniente, a partir del cual se decide que existe conectividad y por debajo del cual no la hay. Debido a que las distribuciones de los datos para calcular las de GPDC se desconocen, es común establecer tests no paramétricos, del tipo de permutación [91].

La Fig. 9 muestra cómo se pueden presentar resultados de conectividad, correspondiente a datos de sEEG. Los cuadrados muestran los nodos que están conectados con el color indicando su intensidad (antes de binarizar y con signo). Además se distingue por bandas de frecuencia. Se puede observar cómo los nodos 4, 7 y 14 influyen sobre el nodo 12 en casi todas las bandas de interés. Conocida la posición de los contactos, es posible asociar los nodos con fuentes que están inmediatamente cercanas a los contactos. Esto es porque con

métodos del PD se ha determinado que los contactos son sensibles sólo a fuentes cercanas. Esto es una ventaja de emplear iEEG pues no se puede aseverar lo mismo con EEG y se complica el análisis de conectividad, que debería hacerse entre fuentes (a ser localizadas) y no entre electrodos. También es interesante plantear la conectividad como un grafo y aplicar medidas típicas de estos para decidir el rol de cada nodo.

## **5. Conclusiones**

Este capítulo desarrolla el proceso de modelización y formulación numérica para el problema directo - problema inverso y está orientado mayormente a presentar tópicos trabajados en una colaboración que lleva unos 20 años. Lógicamente, existen muchísimos más temas y aspectos que han debido quedar soslayados para acotar este trabajo.

La modelización electromagnética permite un análisis cuantitativo de la actividad cerebral tanto de sus aspectos neurofisiológicos como en sus implicancias clínicas. Por otra parte posibilita cuantificar y predecir los efectos producidos por la estimulación eléctrica. En particular, en epilepsia permite por ejemplo, estudiar el funcionamiento de las redes epileptógenas y mejorar la evaluación pre-quirúrgica. Más aún, el enfoque integrado de los fenómenos eléctricos en el cerebro abre la posibilidad de estudiar la interacción entre la estimulación y la actividad neuronal en la red epileptógena.

## **Agradecimientos**

A todos nuestros coautores, colegas y discípulos, presentes y pasados; y a las instituciones que nos apoyaron.

## **REFERENCIAS**

- [1] M. Hämmäläinen, R. Hari, R. J. Ilmoniemi, J. Knuutila, O. V. Lounasmaa, *Rev. Mod. Phys.* **65**, 413 (1993).
- [2] J. Malmivuo, R. Plonsey, *Bioelectromagnetism: Principles and Applications of Bioelectric and Biomagnetic Fields* (Oxford University Press, 1995).
- [3] N. Lang, *et al.*, *Eur J Neurosci* **22**, 495 (2005).
- [4] P. S. Boggio, *et al.*, *J Neurol Sci* **249**, 31 (2006).
- [5] S.-W. Yook, S.-H. Park, J.-H. Seo, S.-J. Kim, M.-H. Ko, *Ann. Rehabil. Med.* **35**, 579 (2011).

## REFERENCIAS

- [6] U. G. Kalu, C. E. Sexton, C. K. Loo, K. P. Ebmeier, *Psychol. Med.* **42**, 1791 (2012).
- [7] Stüve, O. and C. B. Dodrill and M. D. Holmes and J. W. Miller, *Epilepsia* **42**, 778 (2001).
- [8] Kwan, P. and A. Arzimanoglou and A. T. Berg and M. J. Brodie and W. Allen Hauser and G. Mathern and S. L. Moshé and E. Perucca and S. Wiebe and J. French, *Epilepsia* **51**, 1069 (2010).
- [9] Engel, J. , *Neurology* **51**, 1243 (1998).
- [10] Talairach, J. and J. Bancaud, *Confinia neurologica* **27**, 91 (1966).
- [11] Chauvel, P. and P. Buser and J. M. Badier and C. Liegeois-Chauvel and P. Marquis and J. Bancaud, *Revue neurologique* **143**, 443 (1987).
- [12] D. B. Geselowitz, *Biophys. J.* **7**, 1 (1967).
- [13] A. O. Blenkmann, *et al.*, *Front. Neuroinform.* **11** (2017).
- [14] R. Q. Quiroga, L. Reddy, G. Kreiman, C. Koch, I. Fried, *Nature* **435**, 1102 (2005).
- [15] J. D. Jackson, *Classical Electrodynamics Second Edition* (John Wiley & Sons, New York, 1975).
- [16] R. Bayford, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **8**, 63 (2006).
- [17] W. Lionheart, N. Polydorides, A. Borsic, *Electr. Impedance Tomogr. Methods, Hist. Appl.* **32**, 3 (2004).
- [18] E. Frank, *J. Appl. Phys.* **23**, 1225 (1952).
- [19] A. P. Calderón, *Semin. Numer. Anal. its Appl. to Contin. Physics, Soc. Bras. Mat.* (Rio de Janeiro, 1980), pp. 65–73.
- [20] J. de Munck, M. Peters, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **40**, 1166 (1993).
- [21] P. P. Silvester, R. L. Ferrari, *Finite Elements for Electrical Engineers* (Cambridge University Press, Cambridge, 1994).
- [22] Y. W. Kwon, H. Bang, *The Finite Element Method Using MATLAB (2Nd Ed.)* (CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, USA, 2000).
- [23] L. Beltrachini, N. von Ellenrieder, C. H. Muravchik, *Actas del XVII Métodos numéricos y sus Apl. ENIEF* (2008), vol. XXVII, pp. 10–13.
- [24] M. Fernández-Corazza, Electrical impedance tomography signal processing for the study of brain activity, Ph.D. thesis, National University of La Plata (2015).

- [25] J. C. De Munck, T. J. C. Faes, A. J. Hermans, R. M. Heethaar, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **873**, 440 (1999).
- [26] N. Von-Ellenrieder, Configuración geométrica estocástica en electro y magneto-encefalografía, Ph.D. thesis, Universidad Nacional de La Plata (2005).
- [27] S. Turovets, V. Volkov, A. Zherdetsky, A. Prakonina, A. D. Malony, *Comput. Math. Methods Med.* **2014**, 1 (2014).
- [28] M. Fernández-Corazza, *et al.*, *Enviado a IEEE Trans. Biomed. Engieneerig* (2017).
- [29] H. A. van der Vorst, *SIAM J. Sci. Stat. Comput.* **13**, 631 (1992).
- [30] R. Barrett, *et al.*, *Templates for the Solution of Linear Systems: Building Blocks for Iterative Methods, 2nd Edition* (SIAM, Philadelphia, PA, 1994).
- [31] A. M. Dale, B. Fischl, M. I. Sereno, *Neuroimage* **9**, 179 (1999).
- [32] M. Jenkinson, C. F. Beckmann, T. E. Behrens, M. W. Woolrich, S. M. Smith, *Neuroimage* **62**, 782 (2012).
- [33] K. Li, X. Papademetris, D. M. Tucker, *Comput. Intell. Neurosci.* **2016**, 1 (2016).
- [34] N. Otsu, *IEEE Trans. Syst. Man. Cybern.* **9**, 62 (1979).
- [35] R. C. Gonzalez, R. E. Woods, *Digital Image Processing* (Addison-Wesley Longman Publishing Co., Inc., Boston, MA, USA, 2001), second edn.
- [36] H. Si, *ACM Trans. Math. Softw.* **41**, 1 (2015).
- [37] The CGAL Project, *CGAL User and Reference Manual* (CGAL Editorial Board, 2016), fourth edn.
- [38] M. Fernández-Corazza, S. Turovets, P. Luu, E. Anderson, D. Tucker, *Front. Psychiatry* **7** (2016).
- [39] G. S. Russell, K. Jeffrey Eriksen, P. Poolman, P. Luu, D. M. Tucker, *Clin. Neurophysiol.* **116**, 1130 (2005).
- [40] N. von Ellenrieder, *et al.*, *30th Int. Epilepsy Congr.* (Montreal, Canada, 2013), vol. 54, p. 358.
- [41] M. Fernandez-Corazza, S. Turovets, P. Govyadinov, C. H. Muravchik, D. Tucker, *IFM-BE Proc. II Lat. Am. Conf. Bioimpedance* (2016), vol. 54, pp. 4–7.
- [42] M. Fernández-Corazza, S. Collavini, J. P. Princich, S. Kochen, C. H. Muravchik, *SA-BI2017* (Ciudad de Córdoba, Argentina, 2017).
- [43] B. Lanfer, *et al.*, *Neuroimage* **62**, 418 (2012).

## REFERENCIAS

- [44] V. Montes-Restrepo, *et al.*, *Brain Topogr.* **27**, 95 (2014).
- [45] C. Schmidt, S. Wagner, M. Burger, U. van Rienen, C. H. Wolters, *J. Neural Eng.* **12**, 046028 (2015).
- [46] M. Fernández-Corazza, N. von Ellenrieder, C. H. Muravchik, *15th Int. Conf. Biomed. App. Electr. Impedance Tomogr.* (2014), p. 31.
- [47] L. Horesh, Some Novel Approaches in Modelling and Image Reconstruction for Multi-Frequency Electrical Impedance Tomography of the Human Brain, Ph.D. thesis, University College London (2006).
- [48] S. Rush, D. a. Driscoll, *Anesth Analg* **47**, 717 (1968).
- [49] M. Fernández-Corazza, *et al.*, *Biomed Signal Proces* **8**, 830 (2013).
- [50] T. F. Oostendorp, J. Delbeke, D. F. Stegeman, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **47**, 1487 (2000).
- [51] S. Goncalves, *et al.*, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **50**, 754 (2003).
- [52] Y. Zhang, W. Van Drongelen, B. He, *Appl Phys Lett* **89**, 22 (2006).
- [53] B. He, Y. Wang, D. Wu, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **46**, 1264 (1999).
- [54] J. Mosher, R. Leahy, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **45**, 1342 (1998).
- [55] A. Dogandzic, A. Nehorai, *IEEE Trans. Signal Process.* **48**, 13 (2000).
- [56] P. A. Valdes-Sosa, *Neuroinformatics* **2**, 239 (2004).
- [57] J. S. Ebersole, *Acta Neurol. Scand. Suppl.* **152**, 20 (1994).
- [58] Lütkenhöner, B. , *5th Int. Conf. on Functional Mapping of the Human Brain (HBM99)* (1999).
- [59] Kochen, S. and C. Papayannis and H. Laforcada and D. Consalvo and W. Silva and J. P.San Martin and N. von Ellenrieder and C. H. Muravchik, *Epilepsia* **47** (2006).
- [60] Nannan Cao, I. Yetik, A. Nehorai, C. Muravchik, J. Haueisen, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **53**, 2156 (2006).
- [61] I. Yetik, A. Nehorai, C. Muravchik, J. Haueisen, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **52**, 839 (2005).
- [62] Nannan Cao, I. Yetik, A. Nehorai, C. Muravchik, J. Haueisen, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **53**, 2414 (2006).
- [63] I. Yetik, A. Nehorai, C. Muravchik, J. Haueisen, M. Eiselt, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **53**, 1872 (2006).

- [64] F. Wendling, J. J. Bellanger, F. Bartolomei, P. Chauvel, *Biol. Cybern.* **83**, 367 (2000).
- [65] K. J. K. J. Friston, W. D. Penny, J. Ashburner, S. J. Kiebel, T. E. Nichols, *Statistical parametric mapping : the analysis of functional brain images* (Academic Press, London, 2006).
- [66] A. Blenkmann, *et al.*, *Epilepsy Res.* **98**, 223 (2012).
- [67] J. P. Dmochowski, L. Koessler, A. M. Norcia, M. Bikson, L. C. Parra, *Neuroimage* **157**, 69 (2017).
- [68] J. P. Dmochowski, A. Datta, M. Bikson, Y. Su, L. C. Parra, *J Neural Eng* **8**, 046011 (2011).
- [69] A. Adler, *et al.*, *Physiol. Meas.* **30**, S35 (2009).
- [70] A. Javaherian, A. Movafeghi, R. Faghihi, *App Math Model* **37**, 5637 (2013).
- [71] J. Liu, L. Lin, W. Zhang, G. Li, *Physiol Meas* **34**, 823 (2013).
- [72] R. D. Pascual-Marqui, *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* **24 Suppl D**, 5 (2002).
- [73] M. Rullmann, *et al.*, *Neuroimage* **44**, 399 (2009).
- [74] L. Beltrachini, *et al.*, *J. Phys. Conf. Ser.* **332**, 012019 (2011).
- [75] K. Sekihara, S. S. Nagarajan, *Adaptive Spatial Filters for Electromagnetic Brain Imaging* (Springer, Berlin, 2008).
- [76] M. Fernández-Corazza, N. Von-Ellenrieder, C. H. Muravchik, N. von Ellenrieder, C. H. Muravchik, *XV Reun. Trab. Proces. la Inf. y Control RPIC 2013* (Bariloche, Argentina, 2013), pp. 283–288.
- [77] B. D. van Been, W. van Drongelen, M. Yuchtman, A. Suzuki, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **44**, 867 (1997).
- [78] M. Fernández-Corazza, N. von Ellenrieder, C. H. Muravchik, *Int J Numer Method Biomed Eng* **31**, n/a (2015).
- [79] J. Vrba, S. Robinson, *Conf. Rec. Thirty-Fourth Asilomar Conf. Signals, Syst. Comput. (Cat. No.00CH37154)* (IEEE, 2000), vol. 1, pp. 313–317.
- [80] Yong-Sheng Chen, Chih-Yu Cheng, Jen-Chuen Hsieh, Li-Fen Chen, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **53**, 1765 (2006).
- [81] L. Beltrachini, N. von Ellenrieder, C. H. Muravchik, *IEEE Trans. Signal Process.* **61**, 1797 (2013).
- [82] P. L. Nunez, R. Srinivasan, *Electric Fields of the Brain: The Neurophysics of EEG* (Oxford University Press, 2006).

## REFERENCIAS

- [83] S. M. Kay, *Fundamentals of statistical signal processing: estimation theory* (Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ, USA, 1993).
- [84] Muravchik, C.H. and A. Nehorai, *IEEE Transactions on Signal Processing* **49**, 470 (2001).
- [85] von Ellenrieder, N. and C. H. Muravchik and A. Nehorai, *IEEE Transactions on Bio-medical Engineering* **53**, 421 (2006).
- [86] Beltrachini, L. and N. von Ellenrieder and C.H. Muravchik, *Computer Methods and Programs in Biomedicine* **103**, 1 (2011).
- [87] L. A. Baccalá, K. Sameshima, *Biol. Cybern.* **84**, 463 (2001).
- [88] G. Varotto, L. Tassi, S. Franceschetti, R. Spreafico, F. Panzica, *Neuroimage* **61**, 591 (2012).
- [89] P. van Mierlo, *et al.*, *Epilepsia* **54**, 1409 (2013).
- [90] L. Baccalá, ed., *Methods in Brain Connectivity Inference through Multivariate Time Series Analysis*, vol. 20145078 of *Frontiers in Neuroengineering Series* (CRC Press, 2014).
- [91] T. E. Nichols, A. P. Holmes, *Hum. Brain Mapp.* **15**, 1 (2002).

## Autores

**Mariano Fernández Corazza.** Es Ingeniero en Electrónica (UNLP, Argentina, 2007) y Doctor en Ingeniería (UNLP, 2015). Es Profesor Adjunto en el Departamento de Ciencias Básicas de la UNLP desde 2012. Se desempeñó como Investigador Asistente del CONICET en el Instituto LEICI (UNLP-CONICET), y colabora activamente con el NeuroInformatics Center de la Universidad de Oregon (Eugene, EEUU) desde 2014. Sus investigaciones se centran en el modelado electromagnético del cerebro y en el procesamiento estadístico de señales de tomografía de impedancia eléctrica, electroencefalografía (EEG), estÈreo-EEG y estimulación eléctrica cerebral transcraneal e intracraneal.

**Santiago Collavini.** Es Ingeniero Biomédico (Universidad Favaloro, 2015). Es estudiante del Doctorado en Ingeniería en la Universidad Nacional de la Plata. Trabaja en el procesamiento de señales para el análisis de la red epileptógena mediante potenciales de campo en múltiples escalas, en el Instituto de investigaciones en electrónica, control y procesamiento de señales - LEICI (CONICET-UNLP) y la unidad ejecutora Estudios en Neurociencias y Sistemas Complejos-ENyS (CONICET, Hospital de Alta Complejidad El Cruce y Universidad Nacional Arturo Jauretche), donde colabora con las investigaciones para el diagnóstico y tratamiento de patologías neurofisiológicas.



**Carlos H. Muravchik.** Es Ingeniero en Telecomunicaciones (UNLP; 1973); M.Sc. in Statistics; M.Sc. y Ph.D. (1983) in Electrical Engineering (1983, 1980, 1983; Stanford University, EEUU). Es Profesor del Departamento de Electrotecnia de la UNLP e Investigador Superior de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Pcia. de Buenos Aires. Fue Profesor Visitante en varias oportunidades en Yale University, University of Illinois at Chicago, Washington University in St Louis. Desde 1999 integra el Advisory Board de Latin American Applied Research y fue Associate Editor de IEEE Transactions on Signal Processing. Ha recibido distinciones como el Premio Consagración en ingeniería de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (Argentina). Se interesa en el procesamiento estadístico de señales de arreglos de sensores, con aplicaciones a bioingeniería, comunicaciones y sistemas no lineales.

## CAPÍTULO 5

# PROYECTO PÁNCREAS ARTIFICIAL EN ARGENTINA

*P. Colmegna<sup>1,4</sup>, F. Garelli<sup>2,4</sup>, H. De Battista<sup>2,4</sup> y R. S. Sánchez-Peña<sup>3,4\*</sup>*

<sup>1</sup> Universidad Nacional de Quilmes (UNQ)

<sup>2</sup> Universidad Nacional de La Plata (UNLP)

<sup>3</sup> Instituto Tecnológico de Buenos Aires (ITBA)

<sup>4</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

### Resumen

La Diabetes Mellitus Tipo 1 (DMT1) es una enfermedad autoinmune, también llamada diabetes juvenil, que afecta a una gran cantidad de pacientes de todo el mundo. En la República Argentina hay alrededor de 3 millones de pacientes con diabetes de los cuales aproximadamente el 10 % tiene DMT1. Puede aparecer a temprana edad y afecta a todo el grupo familiar, especialmente en el caso de niños. Consiste en la incapacidad del organismo de generar insulina, debido a la destrucción de células  $\beta$  del páncreas. Como la insulina es la encargada de favorecer la absorción de la glucosa en el organismo, los niveles de glucosa en sangre aumentan significativamente. Los pacientes de DMT1 son, por lo tanto, insulino-dependientes y deben administrarse esta hormona de forma externa.

El Páncreas Artificial (PA) consiste en un mecanismo de control que regula la cantidad de insulina externa que se administra al paciente para mantener los niveles de glucosa dentro de valores normales. Este mecanismo de control automático se basa en un algoritmo que realiza esta regulación basado en modelos matemáticos de la dinámica insulina-glucosa. El algoritmo recibe los valores de glucosa intersticial medidos por un monitor continuo de glucosa y calcula un valor de insulina que se le inyecta al paciente a través de una bomba de insulina. Este sistema de bomba, monitor y algoritmo de control se denomina PA. Se presenta aquí el desarrollo llevado a cabo entre 2010 y 2017 que concluyó con la realización de las dos primeras pruebas clínicas en pacientes en Latinoamérica realizadas en el Hospital Italiano de Buenos Aires (HIBA).

**Palabras clave:** *Control Automático, Monitor de Glucosa, Bomba de Insulina, Páncreas Artificial.*

## **Abstract**

**Artificial Pancreas project in Argentina.** Type 1 Diabetes Mellitus is an autoimmune disease, also called Juvenile Diabetes that affects numerous patients around the world. In Argentina there are approximately 3 million patients with diabetes and approximately 10 % of them have type 1 diabetes. It can appear at an early age and it affects the whole family, especially in the case of children. In this disease, the body cannot generate insulin due to the destruction of the  $\beta$ -cells. Insulin is in charge of favouring the absorption of glucose in the blood stream and hence, the glucose levels can significantly increase. Patients with type 1 diabetes are therefore insulin-dependent and this hormone has to be administered externally.

The Artificial Pancreas consists of a control mechanism that regulates the amount of insulin that is injected externally to maintain the glucose level in normal values. This automatic control is an algorithm that performs this regulation and is based on mathematical models that represent the insulin-glucose dynamics. The input to this algorithm is the subcutaneous glucose level obtained from the continuous glucose monitor, and the output is the insulin value that should be injected to the patient through the pump. The pump, monitor and algorithm system is called Artificial Pancreas. Here, we present the development between 2010 and 2017 that concluded with the first two clinical trials in patients in Latin America at the Hospital Italiano de Buenos Aires (HIBA).

**Keywords:** *Automatic Control, Glucose Monitor, Insulina Pump, Artificial Pancreas.*

## **1. Introducción**

La diabetes es una enfermedad asociada a una producción deficiente o una utilización ineficaz de la hormona insulina, la cual regula la concentración de glucosa en sangre. Dado que la insulina reduce los niveles de glucosa, la diabetes se caracteriza por concentraciones altas de glucosa (hiperglucemia) que pueden llegar a ser perjudiciales. Con el tiempo, la hiperglucemia puede poner en peligro los órganos principales del cuerpo y provocar ataques cardíacos, accidentes cerebro-vasculares, neuropatías, insuficiencia renal, ceguera e infecciones que pueden necesitar amputación [1, 2, 3].

Existen dos formas principales de diabetes:

- La Diabetes Mellitus Tipo 1 (DMT1) está asociada a la falta total de insulina, por lo cual es necesario administrarla de forma externa, y suele generarse a temprana edad.
- La Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2) se relaciona con la insulino resistencia, es decir, la incapacidad del cuerpo de hacer un uso eficaz de la insulina que este produce. Suele aparecer a edad avanzada, y por lo general los pacientes tienen sobrepeso y son sedentarios.

La diabetes constituye el tercer factor de riesgo en importancia como causa de muerte a nivel global. Se estima que en el mundo el número total de individuos que padecen diabetes se elevará de 415 millones de personas en el 2015 a 642 millones en el año 2040 [4]. A nivel global y en particular en Argentina, donde hay 3 millones de diabéticos, aproximadamente el 10 % de los pacientes padecen DMT1.

En uno de los mayores estudios realizados hasta la fecha sobre las tendencias de la diabetes, los investigadores indicaron que **el envejecimiento de la población y el aumento de la obesidad en el mundo** implican que la enfermedad se esté convirtiendo en “un tema decisivo para la salud pública global” [5]. Casi 30 millones de personas padecen la enfermedad en Centro América y Sudamérica, un número que podría escalar a casi 50 millones para 2040, de acuerdo a datos de la Federación Internacional de Diabetes.

El Páncreas Artificial (PA) es básicamente un mecanismo de control automático que puede ayudar al paciente con DMT1 a desentenderse, aunque sea parcialmente, de esta enfermedad. A través de la medición de glucosa y la infusión de insulina, ambas en forma automática, se pretende mediante un algoritmo de control mantener los niveles de glucosa dentro de un rango seguro para el paciente. En este capítulo se describirá el proyecto de PA que se desarrolló en la Argentina a partir de 2010 y que logró las primeras pruebas clínicas en pacientes en Latinoamérica con este dispositivo en 2016-2017.

## **2. Orígenes y Desarrollo del Proyecto**

Muchos emprendimientos humanos están motivados en razones personales y este proyecto no escapa a esta regla. El contacto del director de este proyecto con el nieto de un colega de 3 años que ya cargaba con esta enfermedad, lo hizo pensar en la posibilidad de utilizar su experiencia en el área de control automático para llevar adelante un desarrollo que ya estaba adelantándose en EEUU y en la UE.

De esta motivación personal se pasó a la acción, trabajando con algoritmos de control avanzados provenientes del Control Robusto, que no habían sido aplicados anteriormente a este problema. Se aprovechó la realización de una importante conferencia internacional organizada por la Sociedad de Bioingeniería del *Institute of Electrical and Electronic Engineers* (IEEE) para presentar un primer trabajo sobre control Lineal de Parámetros Variantes (LPV) [6], utilizando el modelo dinámico de Bergman [7]. Allí fue posible contactar a pacientes e investigadores, como E. D. Lehmann, que ya trabajaban en esta área y proponer nuevas alternativas [8].

Un tema importante a resolver fue el de acceder a un simulador de la dinámica insulina-glucosa suficientemente fiel a la realidad para probar *in silico* la eficiencia de nuestros algoritmos de control. Existían simuladores desarrollados en las Universidades de Cambridge, Padova y Virginia, así como el programa gratuito *AIDA*. Esto dio lugar a uno de nuestros primeros trabajos que comparaba los modelos y simuladores más representativos en esta

área [9]. Uno de ellos, el de las universidades de Virginia y Padova (UVA/Padova), llamó particularmente nuestra atención, ya que su versión completa estaba autorizada por la *Food and Drug Administration* (FDA) de EEUU para suplir las pruebas en animales [10, 11]. Esto simplificaba enormemente los ensayos, ya que evitar las pruebas en animales y sólo recurrir a pruebas *in silico* para verificar nuestros algoritmos de control, no solamente ahorra recursos sino muchísimo tiempo. Compramos la versión comercial del simulador UVA/Padova que incluye 30 pacientes virtuales: 10 adultos, 10 adolescentes, 10 niños. Usar la versión completa de 300 pacientes era privativo de los grupos que trabajaban para el proyecto internacional PA, sostenidos por el *Juvenile Diabetes Research Foundation* (JDRF). La solución a este problema se dio en un encuentro en 2012 en la *American Control Conference*, entre el director de este proyecto y Frank Doyle III, ex compañero de universidad y fundador de uno de los grupos más prestigiosos en esta área. Esto derivó en el viaje de P. Colmegna en 2013 para trabajar con el *Doyle's Group* en la Universidad de California, Santa Bárbara (UCSB) para entrenarse y probar en el simulador completo UVA/Padova nuestros primeros algoritmos [12]. Además generó una fructífera colaboración que dio lugar a varias publicaciones internacionales [13, 14] y a la posibilidad de nuevos contactos.

Paralelamente, los encuentros en conferencias locales con otros equipos que también trabajaban en este tema (Universidades Favaloro y de Rosario) nos llevaron a contactar con el grupo de la UNLP en el año 2012. Ellos ya tenían experiencia en pruebas clínicas realizadas en España en colaboración con las universidades de Girona y la Politécnica de Valencia, con lo cual acordamos aunar esfuerzos y trabajar en colaboración para el desarrollo del PA en el país. El grupo de la UNLP tenía en pleno desarrollo una estrategia basada en acondicionamiento de señales por modos deslizantes (SMRC) [15] como capa de seguridad para evitar los eventos de hipoglucemia severos [16, 17, 18]. Esta técnica podía ser incorporada a distintos tipos de controladores, con lo cual resultaba complementaria del controlador desarrollado en el ITBA y la UNQ.

Con excelentes resultados en las pruebas *in silico* en UCSB, el desarrollo de nuevos y más avanzados algoritmos de control y la experiencia del grupo de la UNLP, empezamos a pensar en futuras pruebas clínicas conjuntas en el país. Para ello nos contactamos a finales de 2013 con el director del área de diabetes del HIBA y reciente presidente de la Sociedad Argentina de Diabetes, el Dr. León Litwak. Este nos contactó con el resto del grupo del HIBA con los que más adelante pudimos concretar las pruebas clínicas.

Ese mismo año también comenzó el trabajo de conseguir fondos para este proyecto, sabiendo que realizar pruebas clínicas resultaría muy costoso. Gracias al Depto. de Relaciones para el Desarrollo del ITBA se pudo contactar al representante de las Fundaciones Nuria (Argentina) y Cellex (España) que financian este tipo de investigaciones. Se les presentó el proyecto y, luego de varias revisiones, ofrecieron financiar la primera fase del proyecto (2013-2014) que consistía en desarrollar un prototipo de PA para ser probado en un futuro *in vivo* en pacientes.

Gracias a los resultados que obtuvimos en nuestra colaboración con el *Doyle's Group* y a sus publicaciones, encontramos interés por parte del director del *Center for Diabetes Technology*

(CDT) de UVA, el Dr. Boris Kovatchev. El primer encuentro fue en la *IEEE Conference on Decision and Control* en 2014 y de allí pudimos dar con un médico argentino que trabajaba en ese grupo y que fue esencial para la concreción de las pruebas clínicas, el Dr. Daniel Cherniavsky.

En 2015 se trabajó duro para obtener una extensión de la financiación y así poder realizar una segunda fase (2015-2017) que concluiría con pruebas clínicas en pacientes. Se aprobó esta financiación y comenzamos a trabajar en colaboración con los grupos de la UNLP para producir nuevos algoritmos, y del HIBA para redactar un protocolo médico que pudiera ser aprobado por el Comité de Ética del hospital y la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT).

A finales de 2016, luego de la aprobación de ANMAT se decide realizar una primera prueba clínica en noviembre con 5 pacientes con DMT1 durante 36 horas en el HIBA [19]. El algoritmo utilizado allí fue el desarrollado por UVA, dado que ya había sido probado exitosamente en EEUU y la UE.

Finalmente en junio de 2017, se realiza la segunda prueba clínica, pero esta vez con el algoritmo *Artificial Regulation of Glucose* (ARG), desarrollado por los autores de este capítulo. Este algoritmo y los resultados de las pruebas serán explicados en mayor detalle en secciones subsiguientes. Ambas pruebas clínicas revisten gran interés, pero especialmente la segunda que contó con un algoritmo desarrollado completamente en Argentina, y representó junto con la primera fase las primeras verificaciones experimentales en pacientes con un PA en toda Latinoamérica.

### **3. De la Terapia Convencional al Control Automático**

Como se mencionó anteriormente, el paciente con DMT1 es insulino-dependiente con lo cual, de acuerdo a la terapia clínica convencional, debe monitorear su concentración de glucosa y aplicarse inyecciones de insulina todos los días durante toda su vida. Esto convierte a la DMT1 en una enfermedad altamente demandante tanto para el paciente como para su familia. Por ejemplo, el paciente no sólo tiene que lograr obtener un nivel basal de insulina que le permita estabilizar su glucemia en ayuno, sino que también previo a cada ingesta de alimentos tiene que contar la cantidad de carbohidratos para saber qué cantidad de insulina tiene que aplicarse a fin de *cubrir* esa comida. Lamentablemente ese cálculo dista mucho de ser exacto en la realidad, por lo que el paciente se expone constantemente a situaciones de hiperglucemia (en caso de subestimación del número de carbohidratos) o hipoglucemia (en caso de sobreestimación de los mismos). También, existe riesgo de hipo- e hiperglucemia debido a los efectos del estrés, de la actividad física y de otras múltiples situaciones asociadas con la vida cotidiana que terminan influyendo en la glucemia del paciente, y por ende, en su calidad de vida. Es por esto que regular automáticamente el nivel de glucosa en sangre en DMT1 es un problema de larga data con sus inicios en la década de 1960. En esos primeros pasos se consideraba tanto para la infusión de insulina como para la medición de glucosa

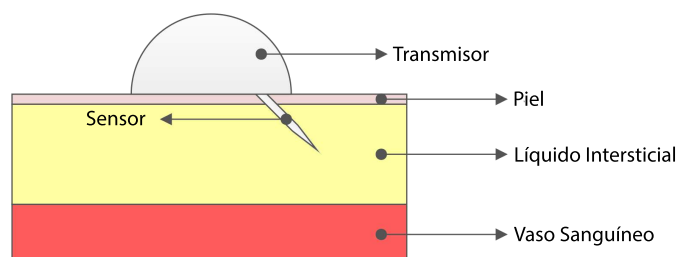


Fig. 1. Medición continua de glucosa en el espacio intersticial.

la vía intravenosa. A partir de allí, se analizó la factibilidad de diferentes rutas de infusión y medición, pero el mayor auge se experimentó en la década de 1990 con la aparición del monitoreo continuo de glucosa o CGM (*Continuous Glucose Monitoring*) por sus siglas en inglés. Esto permitía pasar de obtener mediciones puntuales a lo largo del día, a mediciones cada 5 min (o menos) a través de un procedimiento mínimamente invasivo. En la Fig. 1 se presenta un esquema de este sistema de medición. Su principal desventaja es que existe un retardo entre lo que se está midiendo y lo que está ocurriendo a nivel plasmático, dado que las mediciones ocurren en el espacio intersticial.

Con respecto a la infusión de insulina, las primeras bombas de infusión continua de insulina subcutánea o CSII (*Continuous Subcutaneous Insulin Infusion*) por sus siglas en inglés, surgieron a mediados de 1970 de la mano de Dean Kamen. A pesar que las bombas implantables en la cavidad peritoneal representan una alternativa más acorde desde el punto de vista fisiológico, las bombas de infusión subcutáneas al ser menos costosas e invasivas terminaron prevaleciendo, junto con los sensores CGM, como las principales opciones para la constitución de un PA. Sin embargo, lo que se conoce en el comunidad científica como PA, necesita además del sensor CGM y de una bomba CSII, un elemento para cerrar el circuito. Dicho elemento es el algoritmo de control que se encarga de calcular la cantidad adecuada de insulina a infundir de acuerdo al nivel de glucosa medido (ver Fig. 2). Calcular la cantidad adecuada de insulina no es una tarea simple. Algunos de los mayores desafíos a los que

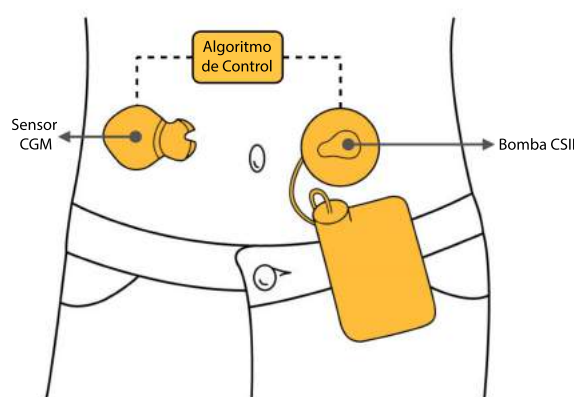


Fig. 2. Esquema de un PA.

se enfrenta el algoritmo de control son los siguientes:

- Con un esquema de medición subcutánea existe un retardo temporal de varios minutos entre lo que se mide y lo que ocurre en sangre, es decir, lo que se mide es la historia pasada de la glucemia. Además, las mediciones suelen tener un error significativo, por lo cual los sensores requieren calibraciones diarias.
- Al igual que con la medición subcutánea existe un retardo temporal de varios minutos asociado a la absorción plasmática de insulina que es infundida en el espacio subcutáneo. Más aún, el pico de acción de la insulina no ocurre hasta un tiempo después de infundirse ( $\approx 1$  h), y su efecto prevalece por varias horas. Esto quiere decir que las decisiones que se tomen a cada instante en relación a cuánto infundir, tienen consecuencias prolongadas en el tiempo. Un efecto asociado a esto es la acumulación de insulina activa, o lo que se conoce como *Insulin On Board* (IOB). Esto quiere decir que si no se toman en cuenta las infusiones pasadas, se puede generar una acumulación de insulina y, en consecuencia, una hipoglucemia.
- Diferentes pacientes responden de manera diferente a la misma dosis de insulina (variabilidad interpaciente).
- El mismo paciente en diferentes oportunidades puede responder de manera diferente a la misma dosis de insulina (variabilidad intrapaciente).

Un aspecto fundamental para aumentar la celeridad en el desarrollo del PA fue el desarrollo de modelos computacionales de la dinámica insulina-glucosa. Generalmente, el diseño de un algoritmo de control está basado en un modelo matemático del proceso que se pretende controlar. Es por eso que desde la década de 1970 se han propuesto numerosos modelos de simulación que describen la dinámica de DMT1. Estos modelos han permitido avanzar rápidamente no solo en el diseño de diferentes controladores, sino también en las pruebas de factibilidad *in silico* necesarias previo a las pruebas *in vivo* con pacientes reales. Como se mencionó en la sección anterior, el simulador UVA/Padova resulta ser la plataforma de simulación más interesante para trabajar, considerando que ha sido elegido como *la* herramienta para la validación de controladores previo al desarrollo de pruebas clínicas.

## 4. Algoritmo ARG

En la Fig. 3 se ilustra el sistema de regulación de glucosa a lazo cerrado con el algoritmo ARG para un paciente  $\#j$ . De la figura se desprende que el algoritmo está compuesto por dos elementos principales:

- un regulador Lineal Cuadrático Gaussiano (LQG, por sus siglas en inglés) conmutado;  
y



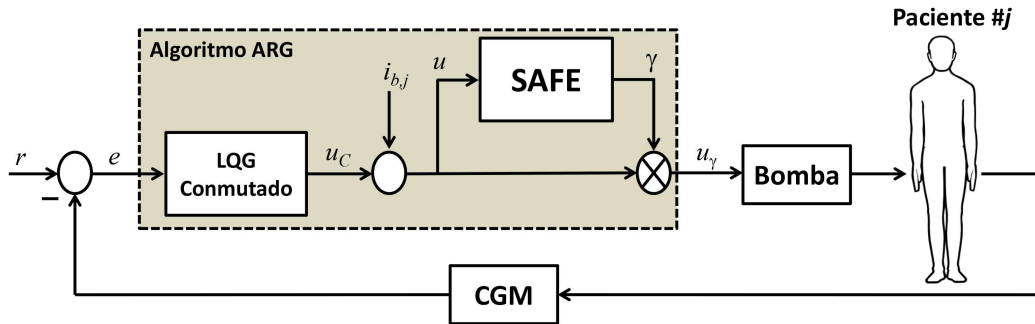


Fig. 3. Sistema a lazo cerrado con el algoritmo ARG.

- una capa de seguridad llamada SAFE (*Safety Auxiliary Feedback Element*) por sus siglas en inglés.

A pesar que más adelante explicaremos en detalle cómo funcionan cada uno de estos elementos, aquí comentaremos brevemente cómo interactúan entre sí a modo de introducción.

Como es habitual en un lazo cerrado, hay una señal de referencia deseada  $r$ , que en este caso es la concentración de glucosa que pretendemos alcanzar en situaciones de ayuno. La diferencia entre la concentración deseada y la medida por el sensor CGM generan la señal de error  $e$  que es la entrada del algoritmo ARG. Internamente el algoritmo ARG genera una acción de control  $u_C$ , que es la salida del LQG conmutado. Como el controlador no tiene acción integral para evitar la acumulación de insulina, la señal  $u_C$  se suma a la infusión de insulina basal del paciente  $i_{b,j}$  para generar la señal  $u$ . Sin la existencia del bloque SAFE, dicha señal  $u$  sería la infusión de insulina con la que se comandaría la bomba del paciente. Sin embargo, con la presencia del SAFE, cuya entrada es la señal  $u$  y cuya salida es la señal  $\gamma$ , se modula la infusión propuesta por el LQG conmutado a fin de evitar la sobredosificación de insulina. Es así, que la acción de control que finalmente llega a la bomba es  $u_\gamma$  que es la infusión propuesta por el LQG conmutado  $u$  multiplicada por la salida del bloque SAFE  $\gamma$ .

#### 4.1. Regulador LQG Conmutado

El regulador LQG conmutado está formado por 2 reguladores LQG: uno  $K_1$  orientado a generar correcciones suaves en la infusión basal de insulina, y otro  $K_2$  orientado a generar correcciones rápidas y agresivas. La conmutación al controlador  $K_2$  ocurre al momento de las comidas y puede ser manual o automática. Si es manual, el paciente debe anunciar al controlador, por ejemplo pulsando un botón, el instante de la comida. Si es automática, debe existir un mecanismo de detección que permita inferir, por ejemplo mediante la señal CGM, que el paciente ha comido. El problema con este mecanismo es que existe un fuerte compromiso entre lograr inmunidad al ruido del CGM, que es elevado, frente a una detección rápida, que es necesaria para controlar adecuadamente la glucemia postprandial. Es por esto que para las primeras pruebas clínicas los autores han optado por el mecanismo con

anuncio manual de la comida, a pesar de haber obtenido buenos resultados *in silico* con el mecanismo automático [12, 13, 14, 20].

Es importante destacar que aunque el paciente debe anunciar el instante de la comida, no debe contar la cantidad los carbohidratos que ingerirá, traducéndose así en una menor carga en sus tareas diarias. Una vez que el paciente anuncia la comida, no se conmuta inmediatamente al controlador agresivo  $\mathcal{K}_2$ , sino que el algoritmo ingresa en un modo *listening* en el cual se analiza la tendencia de la señal CGM. Cuando se detecta un crecimiento sostenido en las mediciones, ahí sí se conmuta a  $\mathcal{K}_2$ , con el fin de generar una acción de control similar al bolo de insulina que el paciente se aplica en la terapia convencional. La conmutación de  $\mathcal{K}_2$  a  $\mathcal{K}_1$  es automática. En esta etapa se ha optado por conmutar nuevamente a  $\mathcal{K}_1$  luego de 1 hora, pero otras estrategias que involucran a la capa SAFE también pueden ser exploradas.

Un elemento fundamental en el diseño de los controladores son los modelos orientados al control. Por un lado, el principal objetivo de los modelos de simulación, como el caso del UVA/Padova, es dar una respuesta lo más cercana posible a una situación real, por lo que suelen presentar una complejidad matemática elevada. Por otro lado, la teoría de control generalmente aplica a modelos más simples que permiten obtener controladores de bajo orden y mejor condicionados numéricamente. Para ello normalmente se realizan suposiciones sobre los modelos de simulación, dando lugar a modelos simples (orientados al control) durante la etapa de diseño de los algoritmos de control. El inconveniente que se suma a la obtención de modelos orientados al control en DMT1 es que lo que comúnmente se conoce como la *planta* en ingeniería de control, en DMT1 son personas. Esto significa que los procesos de identificación habituales para otro tipo de sistemas, como lo podría ser un motor, aquí por obvias razones no son extrapolables. Es por eso que habitualmente en esta área se proponen inicialmente modelos promedio que describan de manera simplificada la dinámica insulina-glucosa. No obstante, como se mencionó anteriormente, existe una gran variabilidad interpaciente que hace imposible diseñar un único controlador para todos los pacientes, entonces: ¿Cómo se ajustan los modelos? La personalización de los modelos suele realizarse en la mayoría de los casos a través de parámetros clínicos del paciente como lo son el peso, la Insulina Total Diaria (TDI), la relación insulina-carbohidratos (CR, por sus siglas en inglés), entre otros. Es decir, se toman en cuenta los parámetros que los pacientes usan diariamente para autocontrolarse, para ajustar los modelos con los que se diseñan sus controladores.

El regulador LQG conmutado del algoritmo ARG está basado en una versión Lineal de Tiempo Invariante (LTI) de un modelo orientado al diseño de controladores Lineal de Parámetros Variante (LPV) que hemos desarrollado previamente [21]. Sin entrar en todos los detalles, en [21] se propone inicialmente el siguiente modelo LTI de bajo orden, similar al planteado en [22], cuya entrada es la infusión subcutánea de insulina (en pmol/min) y cuya salida es la desviación de la concentración de glucosa (en mg/dl):

$$G(s) = k \frac{s + z}{(s + p_1)(s + p_2)(s + p_3)} e^{-15s}. \quad (1)$$

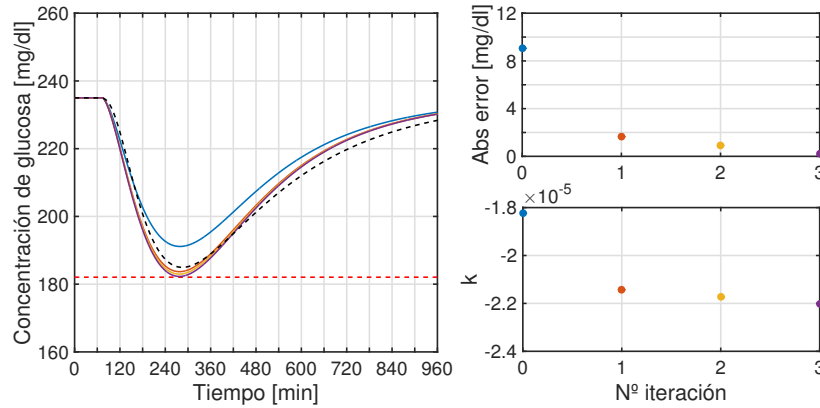


Fig. 4. Proceso de ajuste del parámetro  $k$  para un adulto de la base de datos del simulador UVA/Padova. **Izquierda:** Excursión de glucosa ante 1 U de insulina para el modelo LPV promedio (línea celeste) y el modelo no lineal (línea a trozos negra); concentración de glucosa mínima a alcanzar estipulada por la regla del 1800 (línea a trozos roja). **Derecha-arriba:** Error absoluto entre la caída de glucosa obtenida y la deseada. **Derecho-abajo:** Evolución del parámetro  $k$ .

Luego, se describe el comportamiento variante con el tiempo del sistema insulina-glucosa, a través de la construcción de un modelo LPV promedio, haciendo variar el parámetro  $p_1$  con respecto al nivel de glucosa  $g$  y manteniendo los otros parámetros fijos:  $z = 0,1501$ ,  $p_2 = 0,0138$  y  $p_3 = 0,0143$ . El parámetro  $k$  también es invariante con el tiempo, pero su valor se ajusta para cada paciente particular, utilizando un factor de sensibilidad a la insulina habitual en la terapia convencional como la regla del 1800. Dado un paciente  $\#j$ , la regla del 1800 se calcula como  $1800/TDI_j$ , siendo  $TDI_j$  la insulina total diaria para ese paciente particular, e indica la caída de glucosa en mg/dl ante la inyección de 1 U de insulina rápida. Debido a que la sensibilidad a la insulina del paciente depende, entre otros factores, de la concentración de glucosa, la regla del 1800 se verifica en promedio partiendo de una concentración de glucosa inicial de 235 mg/dl [21]. Por lo tanto, el proceso de ajuste consiste en obtener el valor personalizado de  $k$ , es decir  $k_j$ , tal que cuando el modelo es excitado con 1 U de insulina a 235 mg/dl, el subvalor que se obtenga coincida con el determinado por la regla del 1800. Cuanto más grande es esa caída, más sensible es el paciente a la insulina, y por consiguiente, mayor es el valor absoluto de  $k_j$ . En la Fig. 4 se ilustra un ejemplo del proceso iterativo utilizado (podría también calcularse analíticamente) para obtener el parámetro  $k_j$ , cuyo valor se ajusta mediante un controlador Proporcional-Integral (PI) discreto, hasta que el error relativo entre las caídas de glucosa obtenidas con la regla del 1800 y el modelo LPV sea menor a  $5 \times 10^{-3}$ . En resumen, se propone primero un modelo LPV promedio de bajo orden que luego se personaliza a través de un parámetro de fácil acceso y conocido por el paciente.

Si bien habíamos diseñado previamente controladores LPV y obtenido resultados exitosos, la idea original en el desarrollo del ARG era que tuviese el menor costo computacional posible en vistas a su verificación en pruebas clínicas. Es por eso que se optó por reguladores LQG que permiten ajustar su agresividad de forma fácil e intuitiva. Así, para cada paciente

## Proyecto Páncreas Artificial en Argentina

#j se diseñan 2 reguladores LQG:  $\mathcal{K}_{i,j}$  con  $i \in \mathcal{I} = \{1, 2\}$ , basados en el siguiente modelo:

$$G_j(s) = k_j \frac{s + z}{(s + p_1^*)(s + p_2)(s + p_3)} e^{-15s}, \quad (2)$$

el cual es la versión LTI del modelo LPV personalizado con  $p_1^* = p_1(120)$ . Es decir, se fija  $p_1$  para una concentración de 120 mg/dl que es la concentración de glucosa basal promedio determinada en el simulador UVA/Padova.

Como el sensor CGM no envía mediciones en forma continua, sino cada 5 min, el modelo continuo  $G_j(s)$  se convierte al modelo discreto  $G_j(z)$  mediante un retenedor de orden cero, y este último se expresa a través de la siguiente realización:

$$\begin{aligned} x(k+1) &= A_j x(k) + B_j u_\Delta(k) \\ y_\Delta(k) &= C_j x(k) \end{aligned} \quad (3)$$

con  $u_\Delta(k) = u(k) - i_{b,j}$ , e  $y_\Delta(k) = y(k) - 120$  mg/dl. Dada esa realización, se propone un control por realimentación de estados:

$$u_\Delta(k) = -K_{i,j} x(k) \quad (4)$$

que minimiza el siguiente funcional de costo:

$$J_i(u_\Delta, y_\Delta) = \sum_{k=0}^{\infty} (R_i u_\Delta^2 + Q y_\Delta^2) \quad (5)$$

con  $R_1 = 1$ ,  $R_2 = 0,5$ , y  $Q = 5 \times 10^3$ . El parámetro  $R_2$  se define menor a  $R_1$  con el fin que  $\mathcal{K}_{2,j}(z)$  sea más agresivo que  $\mathcal{K}_{1,j}(z)$ . Además, los estados se estiman con un filtro de Kalman de la forma:

$$\hat{x}(k+1|k) = A_j \hat{x}(k|k-1) + B_j u_\Delta(k) + L_{i,j} [y_\Delta(k) - C_j \hat{x}(k|k-1)] \quad (6)$$

donde  $L_{i,j}$  se obtiene asumiendo que los ruidos de proceso  $w(k)$  y de medición  $v(k)$  son ruido blanco que satisfacen:

$$E[w(k)w(k)^T] = W_i, \quad E[v(k)v(k)^T] = V_i \quad (7)$$

con  $W_1 = V_1 = W_2 = 3$ , y  $V_2 = 45 \times 10^{-4}$ . Aquí,  $V_2$  se define menor que  $V_1$  a fin que  $\mathcal{K}_{2,j}(z)$  responda más rápido que  $\mathcal{K}_{1,j}(z)$ .

De acuerdo a la metodología aplicada, ambos controladores  $\mathcal{K}_{1,j}(z)$  y  $\mathcal{K}_{2,j}(z)$  tienen una estructura de observador con realimentación de estados, que luego es utilizada para construir el controlador conmutado de acuerdo a la teoría detallada en [23]. Los detalles de dicha teoría están fuera del alcance de este capítulo, pero la idea básica es expresar el controlador

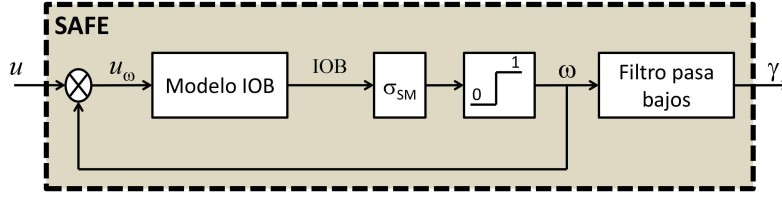


Fig. 5. Diagrama en bloques de la capa de seguridad SAFE.

conmutado de forma tal de poder conmutar arbitrariamente entre ambos controladores LQG sin necesidad de resetear los estados y de una manera muy simple (sólo se conmuta parte de la matriz  $C$  del controlador conmutado).

## 4.2. Capa de Seguridad SAFE

La capa de seguridad SAFE está basada en el acondicionamiento de señales por modos deslizantes desarrollado en la Tesis de Doctorado de uno de los autores y explicada en mayor detalle en [15]. Esta técnica, desarrollada en general para el control de sistemas dinámicos con restricciones, fue aplicada por primera vez al problema de la DMT1 en [16], y luego evaluada exitosamente en ensayos clínicos en España. Su principal objetivo es modular la ganancia del controlador para evitar que la insulina activa o IOB supere un determinado umbral  $\overline{\text{IOB}}_j(t)$ , reduciendo así el riesgo de hipoglucemias en los períodos postprandiales tardíos.

Con el objetivo de programarla en el hardware provisto para los ensayos, la capa SAFE original fue simplificada tal como se muestra en la Fig. 5. Como en todo control por modo deslizante, el elemento clave es el bloque conmutado, cuya lógica de conmutación es:

$$w(t) = \begin{cases} 1 & \text{si } \sigma_{\text{SM}}(t) > 0 \\ 0 & \text{caso contrario} \end{cases} \quad (8)$$

siendo la función de deslizamiento  $\sigma_{\text{SM}}(t)$  en este caso simplemente la diferencia entre la insulina activa actual y su correspondiente límite:

$$\sigma_{\text{SM}}(t) = \overline{\text{IOB}}_j(t) - \text{IOB}(t). \quad (9)$$

A priori, consideraremos límites  $\overline{\text{IOB}}_j(t)$  constantes a tramos tal como se explica más adelante.

Debido a que la insulina activa IOB no puede ser medida en tiempo real, la misma debe ser estimada. Para ello, se consideró el modelo presentado en [24], el cual tiene la ventaja de

que puede ser personalizado basándose solo en un único parámetro clínico:

$$\begin{aligned}\dot{I}_{sc1}(t) &= -K_{DIA} I_{sc1}(t) + u_w(t) \\ \dot{I}_{sc2}(t) &= K_{DIA} [I_{sc1}(t) - I_{sc2}(t)] \\ IOB(t) &= I_{sc1}(t) + I_{sc2}(t).\end{aligned}\tag{10}$$

donde  $I_{sc1}$  y  $I_{sc2}$  son, respectivamente, la cantidad de insulina no-monomérica y monomérica en el espacio subcutáneo,  $u_w$  es la tasa de infusión de insulina en [pmol/min/kg], y  $K_{DIA}$  [ $\text{min}^{-1}$ ] es una constante a sintonizar de manera de replicar la duración de la acción de la insulina (DIA) en cada paciente [25]. Cabe destacar que el DIA es uno de los parámetros que el médico debe ajustar en las bombas de insulina. Como punto de partida se eligió un DIA poblacional de 5 horas, para lo cual el parámetro  $K_{DIA}$  se fijó en  $16,3 \times 10^{-3} [\text{min}^{-1}]$  [18].

Al alcanzarse el límite  $\overline{IOB}_j(t)$  se establece un régimen deslizante sobre la superficie  $\sigma_{SM}(t) = 0$ . Durante este modo, a partir de (8), la señal  $w(t)$  conmuta a muy alta frecuencia entre 0 y 1 de manera de cumplir con la restricción impuesta y forzar al sistema (10) a permanecer dentro del conjunto invariante

$$\Sigma = \{x(t) \mid \sigma_{SM}(t) \geq 0\}\tag{11}$$

donde  $x(t) \in \mathbb{R}^2$  son los estados de (10). La señal de conmutada  $w(t)$  es suavizada por un filtro de primer orden (o bien promediada entre intervalos de infusión), dando lugar a  $\gamma(t)$ , que es el factor por el que se atenúa la señal comandada a la bomba.

*Observación:* Es fácil demostrar que la derivada de la función de conmutación  $\sigma_{SM}(t)$  depende de la acción  $u_w(t)$ , y por tanto de la acción discontinua  $w(t)$ , lo que es una condición necesaria para el establecimiento del modo deslizante, conocida como Condición de Transversalidad.

Al igual que el controlador, el algoritmo SAFE se implementa en forma discreta. A partir de (10), resulta:

$$\begin{aligned}x(k+1) &= \begin{bmatrix} 1 - K_{DIA}T_r & 0 \\ K_{DIA}T_r & 1 - K_{DIA}T_r \end{bmatrix} x(k) + \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \end{bmatrix} u_w(k) \\ IOB(k) &= \begin{bmatrix} 1 & 1 \end{bmatrix} x(k)\end{aligned}\tag{12}$$

siendo  $T_r = 0,1$  min el tiempo de muestreo. Notar que  $T_r$  es mucho menor que  $T_s = 5$  min dado que el algoritmo SAFE se programa enteramente en software, con lo cual su frecuencia de conmutación solo está limitada por la velocidad del microprocesador de la bomba.

Si bien pueden existir diversos criterios para definir el límite de IOB, en los ensayos clínicos realizados el mismo se definió a partir de una clasificación en el tamaño de las comidas, de

la siguiente manera:

- Comidas pequeñas  $< 35$  gCHO.  $\overline{\text{IOB}}_{s,j}(t) = \text{IOB}_{ss,j}(t) + 40 \text{ gCHO}/\text{CR}_j(t)$ .
- Comidas medianas  $[35, 65)$  gCHO.  $\overline{\text{IOB}}_{m,j}(t) = \text{IOB}_{ss,j}(t) + 55 \text{ gCHO}/\text{CR}_j(t)$ .
- Comidas grandes  $\geq 65$  gCHO.  $\overline{\text{IOB}}_{l,j}(t) = \text{IOB}_{ss,j}(t) + 70 \text{ gCHO}/\text{CR}_j(t)$ .

donde  $\text{IOB}_{ss,j}(t)$  es el valor de estado estacionario del modelo (12) ante la tasa de insulina basal correspondiente a cada paciente  $i_{b,j}(t)$ , y  $XX \text{ gCHO}/\text{CR}_j(t)$  es el bolo de insulina correspondiente a  $XX$  gramos de carbohidratos (gCHO) usando el factor  $\text{CR}_j(t)$  del paciente al momento de la comida. Cuando el sistema no se encuentra en situación prandial, el límite de IOB se fija como  $\overline{\text{IOB}}_{s,j}(t)$ , es decir, el asociado a una comida chica. De esta forma, se le da cierta libertad al controlador a realizar ajustes en la infusión basal cuando sea necesario.

## 5. Simulaciones

Todas las simulaciones se realizaron con el simulador metabólico UVA/Padova, considerando:

- un sensor CGM Dexcom G4 Share<sup>®</sup>;
- una bomba CSII genérica de insulina con una cuantización de 0.1 U, y un bolo máximo de 25 U (características análogas a la bomba Accu-Check Combo<sup>®</sup> de Roche);
- una referencia de 120 mg/dl; y
- anuncio al controlador del instante de la comida.

En la Fig. 6 se ilustra un ejemplo del funcionamiento del algoritmo ARG. Como se muestra en esa figura, normalmente el comando de la infusión de insulina está a cargo del controlador  $\mathcal{K}_1$ , mientras que el controlador  $\mathcal{K}_2$  sólo se selecciona durante las ingestas. Una vez seleccionado el controlador  $\mathcal{K}_2$  se infunden bolos de insulina mayores a fin de minimizar el riesgo de hiperglucemia postprandial. Dichos bolos son modulados por la acción del SAFE mediante la señal  $\gamma$ , de forma tal que el IOB estimado no supere el límite impuesto. Así, se logra evitar la acumulación excesiva de insulina activa y, en consecuencia, se reduce el riesgo de hipoglucemia postprandial. De este análisis se desprende que mientras el modo *agresivo* del regulador LQG conmutado, es decir  $\mathcal{K}_2$ , tiene como objetivo reducir el riesgo hiperglucémico, el SAFE por su lado, tiene como objetivo reducir el riesgo hipoglucémico. Ambos sistemas funcionan en conjunto de forma tal de conseguir que la glucemia del paciente se mantenga dentro del rango deseado  $[70, 180]$  mg/dl o aceptable  $[70, 250]$  mg/dl.

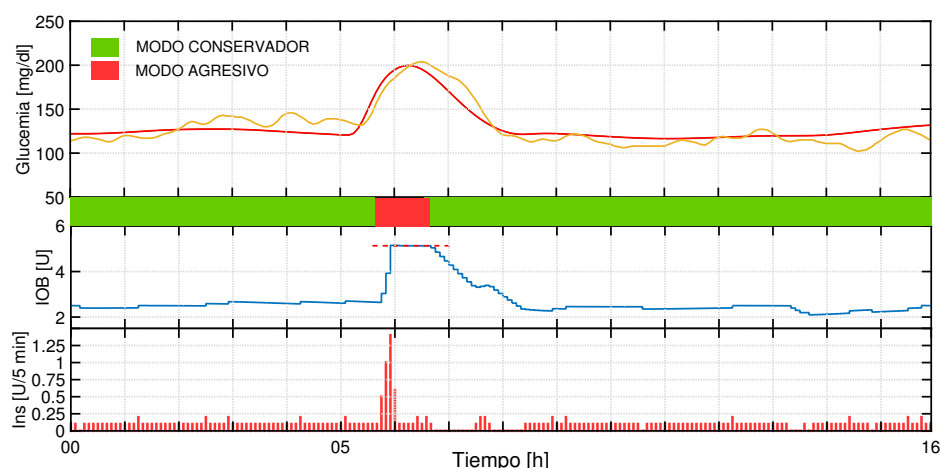


Fig. 6. Ejemplo de la respuesta a lazo cerrado obtenida ante una comida de 50 gCHO para un paciente *in silico* del simulador UVA/Padova. La ingesta se produce 5 horas luego del inicio de la simulación.

También es importante destacar que, como se aprecia en la figura, el pico de infusión de insulina ocurre tiempo después de producirse la ingesta de comida, a diferencia de la terapia convencional en la cual el paciente se inyecta un bolo de insulina minutos antes o al instante de comer. Este retardo temporal es producto de la estrategia de realimentación. El efecto de la ingesta de alimentos no se detecta inmediatamente en la señal CGM medida, sino que deben transcurrir algunos minutos. La consecuencia es que existe un crecimiento inicial de la glucemia inevitable, que luego se compensa con la acción rápida y agresiva del regulador LQG, cuya agresividad, luego se modula con la capa de seguridad SAFE. Otras estrategias de control aplican una estructura híbrida, en la cual el paciente se aplica el bolo de insulina normalmente y el controlador se encarga únicamente de regular la infusión basal. De esa forma, podrían reducirse los picos de glucemia postprandiales, dado que el bolo se adelantaría temporalmente en relación a la estrategia acá propuesta. No obstante, nuevamente recaería sobre el paciente la carga del conteo de carbohidratos, que en la práctica suele no ser exacto.

En la Fig. 7 se grafican las respuestas a lazo cerrado promedio para la base de datos de adultos del simulador UVA/Padova completo, junto con el gráfico Control Variability Grid Analysis (CVGA, por sus siglas en inglés). Las categorías del CVGA representan niveles de control glucémico de la siguiente forma:

- **A-zone:** Preciso.
- **Lower/Upper B-zones:** Desviación benigna a la hipo/hiperglucemia.
- **B-zone:** Control benigno.
- **Upper/Lower C-zone:** Sobrecorrección de hipo/hiperglucemia.
- **Lower/Upper D-zone:** Falla para controlar hipo/hiperglucemia.



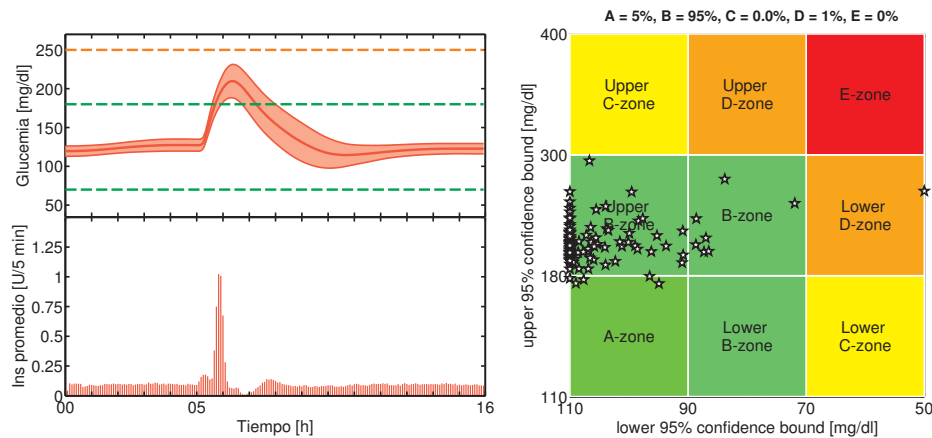


Fig. 7. Respuesta a lazo cerrado promedio para todos los adultos del simulador completo UVA/Padova para una comida de 50 gCHO. **Arriba-izquierda:** La línea roja gruesa indica la glucemia promedio y el área sombreada  $\pm 1$  desviación estándar. Las líneas punteadas indican los límites de los rangos deseables (verde) y aceptables (naranja). **Abajo-izquierda:** Infusión de insulina promedio. **Derecha:** Gráfico CVGA.

- **E-zone:** Control erróneo.

Como se mencionó previamente, producto de la mayor independencia que se le da al paciente, existe una mayor densidad de casos que caen en Upper B-zone, aunque esto no implica un riesgo en su salud. En la figura también puede detectarse que existe una respuesta que cae en Lower D-zone, que indicaría de acuerdo a la descripción anterior, una falla en la corrección de hipoglucemia. Por un lado, hay que considerar que no todos los pacientes presentan parámetros con un sentido fisiológico, dado que la base de datos se generó con fines estadísticos. Por otro lado, la estrategia de control propuesta permite abordar dichos casos particulares donde la acción de control resultó o muy suave o muy agresiva. A modo de ejemplo, en la Fig. 8 se ilustra como un ligero ajuste en el límite de IOB para ese paciente particular, permite evitar la hipoglucemia postprandial.

En la Fig. 9 se presentan resultados con comidas con diferentes cantidades de carbohidratos o consecutivas, a fin de verificar el funcionamiento del algoritmo ante dicha variabilidad sin considerar el clasificador de tamaño de comidas, es decir, definiendo siempre un límite de IOB para comidas medianas. En la Tabla 1 se muestran los resultados promedios para todos los casos considerados. Allí se analiza el período de simulación completo y, particularmente, el período postprandial definido como las 5 horas posteriores a la ingesta de la comida. Además, se incluyen los índices de riesgo de hipoglucemia (LBGI) y de hiperglucemia (HBGI). En [26] se definen las siguientes escalas para dichos índices:

- **Riesgo de hipoglucemia:**  $LBGI \leq 2.5$  (bajo);  $2.5 < LBGI \leq 5$  (moderado);  $LBGI > 5$  (alto).
- **Riesgo de hiperglucemia:**  $HBGI \leq 4.5$  (bajo);  $4.5 < HBGI \leq 9$  (moderado);  $HBGI > 9$  (alto).

Tabla 1. Resultados a lazo cerrado promedio con el algoritmo ARG, analizando por separado el tiempo de simulación completo (C) y el período postprandial (PP).

|                            |    | Comida de 50 g | Comida de 25 g | Comida de 75 g | Dos comidas de 50 g |
|----------------------------|----|----------------|----------------|----------------|---------------------|
| Glucemia promedio [mg/dl]  | C  | 132            | 126            | 141            | 139                 |
|                            | PP | 160            | 135            | 188            | 155                 |
| % tiempo en [70 180] mg/dl | C  | 91.8           | 99.1           | 84.8           | 86.2                |
|                            | PP | 68.5           | 96.5           | 46.3           | 73.4                |
| % tiempo > 250 mg/dl       | C  | 0.2            | 0.0            | 2.2            | 0.3                 |
|                            | PP | 0.8            | 0.0            | 9.7            | 0.6                 |
| % tiempo > 180 mg/dl       | C  | 8.1            | 0.7            | 15.1           | 13.6                |
|                            | PP | 31.4           | 2.9            | 53.7           | 26.5                |
| % tiempo < 70 mg/dl        | C  | 0.1            | 0.3            | 0.1            | 0.2                 |
|                            | PP | 0.1            | 0.5            | 0.0            | 0.1                 |
| LBG1                       |    | 0.1            | 0.1            | 0.0            | 0.1                 |
| HBGI                       |    | 1.7            | 0.8            | 3.2            | 2.7                 |

> 9 (alto).

De esta forma, los resultados presentados en Tabla 1 arrojan riesgos mínimos de hipo- e hiperglucemia. Aunque los resultados son satisfactorios, pueden ser mejorados con la incorporación del clasificador de comidas para la definición de un límite de IOB más adecuado. Por ejemplo, cuando el límite de IOB para comidas pequeñas (<35 gCHO) se considera en las simulaciones con una comida de 25 gCHO, el porcentaje promedio de tiempo con una concentración de glucosa menor a 70 mg/dl se reduce de 0.5 % a 0.2 %, manteniendo un porcentaje promedio en el rango de [70, 180] mg/dl de 96.5 % durante la etapa postprandial. Por otro lado, cuando se fija un límite de IOB para comidas grandes (>65 mg/dl) en las simulaciones con una comida de 75 gCHO, el porcentaje promedio de tiempo en el rango de [70, 180] mg/dl aumenta de 46.3 % a 52.5 % durante la etapa postprandial, con un in-

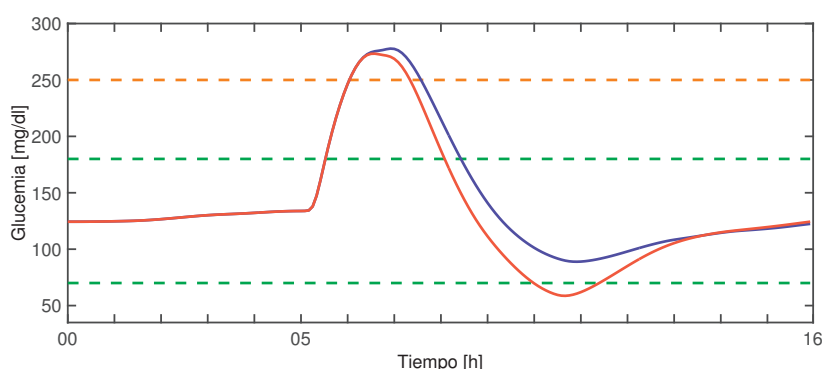


Fig. 8. Respuesta a lazo cerrado para el adulto #090 del simulador UVA/Padova completo con un límite de IOB estándar (rojo) y con un límite de IOB 30 % inferior al estándar (azul). Las líneas punteadas indican los límites de los rangos deseables (verde) y aceptables (naranja).

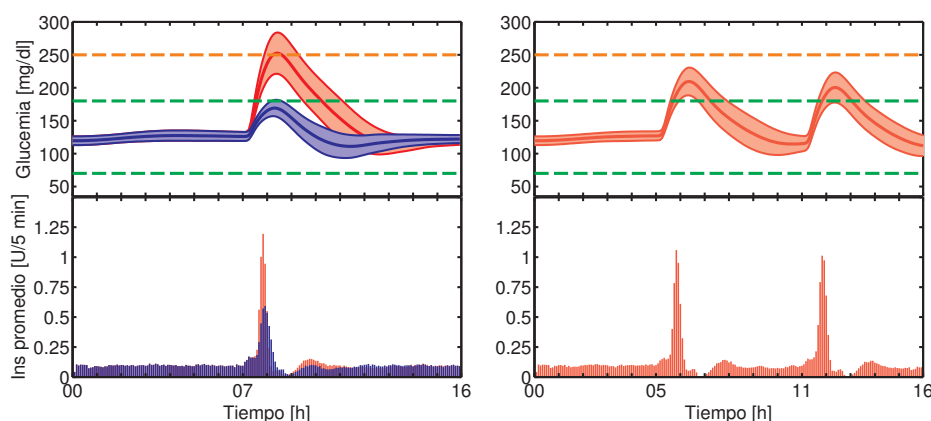


Fig. 9. Respuesta a lazo cerrado promedio para todos los adultos del simulador completo UVA/Padova para una comida de 25 gCHO (izquierda-azul), 75 gCHO (izquierda-rojo) y dos comidas de 50 gCHO (derecha). **Arriba:** La línea gruesa indica la glucemia promedio y el área sombreada  $\pm 1$  desviación estándar. Las líneas punteadas indican los límites de los rangos deseables (verde) y aceptables (naranja). **Abajo:** Infusión de insulina promedio.

cremento mínimo del porcentaje promedio de tiempo por debajo de 70 mg/dl de 0.0 % a 0.1 %.

## 6. Pruebas Clínicas

Las primeras pruebas clínicas con un PA en Latinoamérica se llevaron a cabo en dos etapas en el HIBA. Una primera etapa en noviembre de 2016 con el algoritmo de control desarrollado en la Universidad de Virginia, que ya había sido probado en numerosos centros alrededor del mundo, y una segunda etapa en junio de 2017 con el algoritmo ARG desarrollado en Argentina en colaboración con el ITBA, la UNLP y la UNQ. Ambas etapas contaron con la misma cantidad de pacientes con DMT1 (5) y con el mismo sistema de comunicación entre componentes. Sin embargo, la principal diferencia es que en la segunda etapa el paciente no se debía aplicar el bolo de insulina previo a las comidas como en la terapia convencional, sino que sólo debía anunciar el instante en que iba a comer. Aquí, nos centraremos en esta segunda etapa.

### 6.1. Selección de los pacientes

La elección de los 5 pacientes con DMT1 que participaron en las pruebas clínicas se basó en los siguientes criterios de inclusión y exclusión.

- **Criterio de inclusión**

## *Proyecto Páncreas Artificial en Argentina*

- Haber sido diagnosticados con DMT1 hace al menos 2 años y que estuviesen utilizando bomba de insulina con sensor de monitoreo continuo de glucemia por un período no menor a 6 meses previos al inicio del estudio.
- Edad entre 18 y 65 años.
- HbA1c  $> 6.5\%$  y  $< 10\%$ .
- Aquellas mujeres que fuesen potencialmente fértiles debían utilizar efectivos métodos contraceptivos y presentar B-HCG negativa en el laboratorio de *screening*.
- Adecuado estado mental y cognitivo como para comprender las consideraciones del estudio y para el manejo de los componentes del sistema cerrado.
- Pacientes entrenados en el conteo de carbohidratos.
- Individuos que hubiesen comprendido el presente protocolo y hubiesen firmado el Formulario de Consentimiento Informado.

### ● **Criterio de exclusión**

- Haber sido hospitalizados por cetoacidosis diabética en los últimos 12 meses.
- Haber presentado hipoglucemias severas con pérdida de consciencia en los últimos 12 meses.
- Presentar alguna enfermedad coronaria.
- Padecer hipertensión arterial no controlada.
- Presentar cualquier otra condición que a criterio del investigador aumente el riesgo de hipoglucemia.
- Sospecha o diagnóstico de proceso infeccioso activo.
- Fibrosis quística.
- Mujeres embarazadas, con intención de quedar embarazadas o en lactancia.
- Haber estado hospitalizados para tratamiento psiquiátrico en los últimos 6 meses.
- Sospecha o diagnóstico previo confirmado de enfermedad adrenal.
- Presentar alteración hepática con transaminasas elevadas  $> 2$  veces por encima del VSN.
- Presentar función renal disminuida, con  $FG < 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$ .
- Insuficiencia cardíaca congestiva descompensada o sintomática actual.
- Padecer gastroparesia activa, definida como sintomatología compatible con gastroparesia por más de tres meses al menos tres veces por semana.
- Uso de paracetamol en los últimos 72 horas previas al estudio.
- Uso de antidiabéticos orales e incretinas.
- Paciente en tratamiento por enfermedad oncológica.

## 6.2. Hardware y software

Para la implementación del PA en estas pruebas se utilizó para cada paciente:

- un sensor CGM Dexcom G4 Share<sup>®</sup>;
- una bomba de insulina Accu-Check Combo<sup>®</sup> de Roche; y
- un smartphone basado en Android con el sistema Diabetes Assistant (DiAs) [27].

El sistema DiAs es un software formado por una red de aplicaciones móviles que permite cada 5 minutos la comunicación del algoritmo de control con el sensor CGM (con Dexcom por Android Bluetooth Low Energy) y la bomba insulina (con Roche por Bluetooth clásico). Dado que el objetivo general del sistema operativo Android no está relacionado con aplicaciones médicas, para que sea aceptado por la FDA como un dispositivo médico Clase III se removieron las funciones de llamadas, navegador, Android Market, juegos, música y demás. Además, el sistema cuenta con una base de datos SQLite para el manejo de datos, y con actividades y servicios que pueden operar de manera asincrónica en respuesta a la interacción del usuario con el sistema.

El sistema DiAs es un sistema modular, en donde el algoritmo de control representa uno de dichos módulos. Por eso, para la migración del algoritmo ARG al DiAs se escribió el código bajo el paradigma de la programación orientada a objetos, lo que permitió encapsular el código facilitando el proceso. Una vez migrado el código, luego sólo restó compatibilizar las entradas y salidas. Para llevar a cabo esta tarea de programación se utilizó Eclipse IDE for Java Developers versión: Kepler Service Release 2, con el plugin Android Development Tools (ADT).

## 6.3. Procedimientos clínicos/Comidas

Con relación a los procedimientos clínicos, se convocó a los pacientes seleccionados al HIBA nueve días antes, donde se explicó el estudio, se firmó el Consentimiento Informado, se revisaron los criterios de inclusión/exclusión y se realizó una extracción de sangre para el laboratorio de *screening* de los pacientes. Estos resultados se revisaron 2 días antes del estudio junto con un control rutinario de glucemia supervisado. En esa instancia se les colocó la bomba de infusión de insulina y el sensor de glucosa, entrenándolos en los mismos. Se verificó que la comunicación entre los componentes del sistema fuera el correcto. El sistema permaneció en lazo abierto y los pacientes realizaron sus controles usuales y registraron ocho controles diarios de glucemia capilar hasta el día de la internación. Esto serviría para comparar con el desempeño en lazo cerrado.

La internación comenzó a las 17 hs del día 0 y finalizó a la mañana del día 2. Se cerró el lazo de control y se realizaron cinco comidas en total: dos cenas, un almuerzo, un desayuno y una merienda con un monitoreo continuo de los valores de glucemia y de insulina inyectados.

## Proyecto Páncreas Artificial en Argentina

El menú acordado con la nutricionista fue el siguiente:

### • Desayuno y merienda

| Alimento                                       | Cantidad (g)    | Cantidad de hidratos (g) |
|------------------------------------------------|-----------------|--------------------------|
| Infusión (té, café o mate cocido)              | C/N             | -                        |
| Pan integral fargo o 5 galletitas tipo de agua | 50 (2 unidades) | 20                       |
| Dulce diet                                     | 8 (1 pote)      | -                        |
| Queso untable                                  | 20              | -                        |
| Total                                          |                 | 28                       |

### • Cena

| Alimento                                      | Cantidad (g) | Cantidad de hidratos (g) |
|-----------------------------------------------|--------------|--------------------------|
| Pasta integral Knorr con salsa fileto natural | 50 (crudo)   | 40                       |
| Carne magra                                   | 100          | -                        |
| Fruta fresca                                  | 1 unidad     | 15                       |
| Total                                         |              | 55                       |

### • Almuerzo

| Alimento                        | Cantidad (g)     | Cantidad de hidratos (g) |
|---------------------------------|------------------|--------------------------|
| Puré de papas con agua (285 cc) | 200 (2 unidades) | 40                       |
| Carne magra                     | 100              | -                        |
| Fruta fresca                    | 1 unidad         | 15                       |
| Total                           |                  | 55                       |

## 6.4. Resultados preliminares

El análisis completo de los resultados obtenidos durante las pruebas es aún un trabajo en proceso de elaboración. No obstante, aquí se presentan algunos resultados preliminares.

Para el análisis del período a Lazo Abierto (LA) se consideró el intervalo temporal desde el 21/09 a las 19 hs hasta el 23/09 a las 07 hs y para el período en Lazo Cerrado (LC) el intervalo temporal desde el 23/09 a las 19 hs hasta el 25/09 a las 07 hs. La bomba de insulina de uno de los pacientes tuvo una oclusión durante la primera noche en LC, por lo que dichas horas no se consideraron en el análisis. Además, es importante destacar que si bien los pacientes no realizaron exactamente la misma dieta estando en LA que estando en LC, sirve

Tabla 2. Comparación de los datos estadísticos obtenidos con los resultados de 36 horas en LA vs 36 horas en LC, considerando un Intervalo de Confianza (IC) del 95 %.

|                          | LA    |              | LC    |              |
|--------------------------|-------|--------------|-------|--------------|
|                          | Media | IC 95 %      | Media | IC 95 %      |
| % tiempo [70, 250] mg/dl | 82.9  | [67.3, 98.6] | 88.6  | [82.4, 94.7] |
| % tiempo [70, 180] mg/dl | 59.1  | [41.9, 76.2] | 74.7  | [68.1, 81.4] |
| % tiempo < 70 mg/dl      | 7.6   | [2.9, 12.4]  | 5.8   | [1.6, 10.0]  |
| % tiempo < 50 mg/dl      | 1.7   | [0.3, 3.1]   | 0.8   | [0.2, 3.5]   |
| LBGI                     | 2.8   | [1.8, 3.7]   | 2.3   | [1.4, 3.1]   |
| HBGI                     | 7.2   | [3.4, 11.0]  | 4.9   | [2.9, 6.9]   |

Tabla 3. Comparación de los datos estadísticos obtenidos con los resultados de 15 horas en LA y las últimas 15 horas en LC, considerando un IC del 95 %.

|                          | LA    |              | LC    |              |
|--------------------------|-------|--------------|-------|--------------|
|                          | Media | IC 95 %      | Media | IC 95 %      |
| % tiempo [70, 250] mg/dl | 73.5  | [49.8, 97.2] | 94.7  | [83.8, 98.4] |
| % tiempo [70, 180] mg/dl | 49.8  | [24.5, 75.1] | 82.6  | [69.9, 95.2] |
| % tiempo < 70 mg/dl      | 13.6  | [4.4, 22.7]  | 4.1   | [0.8, 18.0]  |
| % tiempo < 50 mg/dl      | 5.4   | [1.6, 16.4]  | 0.2   | [0.0, 3.5]   |
| LBGI                     | 4.2   | [2.1, 6.2]   | 1.8   | [0.3, 3.3]   |
| HBGI                     | 8.7   | [2.9, 14.5]  | 2.8   | [0.1, 5.5]   |

para tener una idea de cómo es la situación habitual del paciente sin regulación automática de insulina. En la Tabla 2 se presentan los datos estadísticos obtenidos en LC para las 36 horas del ensayo y su comparación con los obtenidos con los pacientes en LA. Como puede apreciarse, existe una mejora importante en la regulación de la concentración de glucosa del paciente cuando se utiliza el algoritmo ARG. La hipótesis nula que la diferencia entre los resultados obtenidos en LA y LC tenga media nula a un nivel de significancia del 5 % ( $p = 0.05$ ) no puede ser rechazada en el % tiempo promedio en el rango [70, 180] mg/dl ( $p = 0.0356$ ). De acuerdo a eso, esa variable resulta estadísticamente significativa.

Dado que era la primera vez que se probaba el algoritmo ARG con pacientes reales, se utilizaron las primeras 3 comidas para realizar los ajustes necesarios del límite máximo de IOB. Es por eso, que si el análisis de los resultados se concentra en las últimas 15 horas en LC, y su comparación con 15 horas a lazo abierto que involucren el mismo período del día, se obtiene una mejora en el control aún más significativa que se refleja en la Tabla 3. La hipótesis nula que la diferencia entre los resultados obtenidos en LA y LC tenga media nula a un nivel de significancia del 5 % ( $p = 0.05$ ) no puede ser rechazada en el % de tiempo promedio en el rango [70, 180] mg/dl ( $p = 0.0142$ ), en % tiempo promedio < 70 mg/dl ( $p = 0.049$ ), en el índice LBGI ( $p = 0.0383$ ) y en el índice HBGI ( $p = 0.0469$ ). De acuerdo a eso, esas variables resultan estadísticamente significativas.

Otro análisis importante es el relacionado al período nocturno (desde las 23 horas hasta las 07 horas del día siguiente). En la Fig. 10 se resalta la comparación de los resultados obtenidos durante la segunda noche en LA y en LC donde el paciente no ingiere alimentos y en la Tabla 4 se presentan los datos estadísticos. Nuevamente se destaca la mejora cuando se utiliza el algoritmo ARG. Aquí se obtiene significancia estadística para el % tiempo promedio en el rango [70, 180] mg/dl ( $p = 0.0351$ ) y para el índice HBGI ( $p = 0.0309$ ).

## Agradecimientos

Los autores quisieran reconocer especialmente al Dr. Daniel Chernavsky por su desinteresada colaboración para llevar este proyecto adelante. Asimismo agradecemos a los médicos

## REFERENCIAS

Tabla 4. Comparación de los datos estadísticos obtenidos con los resultados para la segunda noche en LA y la segunda noche en LC, considerando un IC del 95 %.

|                          | LA    |              | LC    |              |
|--------------------------|-------|--------------|-------|--------------|
|                          | Media | IC 95 %      | Media | IC 95 %      |
| % tiempo [70, 250] mg/dl | 78.1  | [29.1, 96.9] | 95    | [66.9, 99.4] |
| % tiempo [70, 180] mg/dl | 50.3  | [23.2, 77.4] | 87.7  | [76.5, 99.0] |
| % tiempo < 70 mg/dl      | 3.6   | [0.3, 29.5]  | 5     | [0.6, 33.1]  |
| % tiempo < 50 mg/dl      | 0     | [0.0, 0.0]   | 0     | [0.0, 0.0]   |
| LBGI                     | 2.0   | [0.6, 3.4]   | 1.5   | [0.4, 4.1]   |
| HBGI                     | 9.8   | [2.8, 16.8]  | 1.9   | [0.4, 5.7]   |

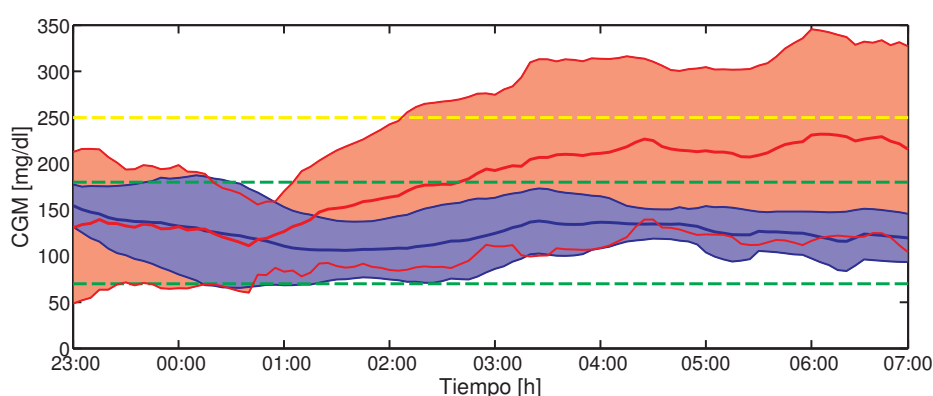


Fig. 10. Glucemia promedio para los 5 pacientes en LA (rojo) y en LC (azul) durante el período nocturno. La línea gruesa indica la glucemia promedio y el área sombreada  $\pm 1$  desviación estándar.

del Hospital Italiano Ventura Simonovich, Paula Scibona, Cintia Rodríguez, Javier Giunta y Valeria Beruto dirigidos por los Dres. Luis Grosembacher y Waldo Belloso sin cuyo aporte esto no podría haberse concretado. Además, expresamos nuestra gratitud a la nutricionista Marianela Stasi que trabajó con nosotros en la determinación del menú para los ensayos clínicos. Agradecemos a Marcela Moscoso-Vásquez y Demián García Violini becarios doctorales y posdoctorales de CONICET en el ITBA y a Emilia Fushimi y Nicolás Rosales becarios doctorales de CONICET y la UNLP respectivamente, que aportaron su invaluable ayuda para la realización de este desarrollo. Finalmente, destacamos la colaboración de Dexcom, la generosa donación de Roche y el aporte de fondos de las Fundaciones Nuria (Argentina) y Cellex (España) sin las cuales no se hubieran podido realizar estas pruebas clínicas.

## REFERENCIAS

- [1] A. Peters, L. Laffel, *Type 1 Diabetes Sourcebook* (American Diabetes Association, 2013).



- [2] F. Kaufman, *Medical Management of Type 1 Diabetes* (American Diabetes Association, 2012).
- [3] M. Fowler, *Clinical Diabetes* **26**, 77 (2008).
- [4] International Diabetes Federation, *IDF Diabetes Atlas, 7th edn* (International Diabetes Federation, Brussels, Belgium, 2015). <http://www.diabetesatlas.org/>.
- [5] NCD Risk Factor Collaboration, *The Lancet* **387**, 1513 (2016).
- [6] R. S. Sánchez-Peña, A. Ghersin, *Proceedings 32nd Annual International Conference, IEEE EMBS*, ed. (Buenos Aires, Argentina, 2010), pp. 680–683.
- [7] G. Pacini, R. Bergman, *Comput. Meth. Prog. Bio.* **23**, 113 (1986).
- [8] R. S. Sánchez-Peña, A. Ghersin, F. Bianchi, *J. Electr. Comput. Eng.* (2011). , Special Issue Electrical and Computer Technology for Effective Diabetes Management and Treatment.
- [9] P. Colmegna, R. S. Sánchez-Peña, *Comput. Meth. Prog. Bio.* **113**, 371 (2014).
- [10] C. Dalla-Man, *et al.*, *J. Diabetes Science and Technology* **8**, 26 (2014).
- [11] C. Dalla-Man, *et al.*, *Diabetes Technology and Therapeutics* **16**, 428 (2014).
- [12] P. Colmegna, R. S. Sánchez-Peña, R. Gondhalekar, E. Dassau, F. J. Doyle III, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **61**, 2939 (2014).
- [13] P. Colmegna, R. S. Sánchez-Peña, R. Gondhalekar, E. Dassau, F. J. Doyle III, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **63**, 1192 (2016).
- [14] P. Colmegna, R. S. Sánchez-Peña, R. Gondhalekar, E. Dassau, F. J. Doyle III, *J. Diabetes Sci. Technol.* **10**, 744 (2016).
- [15] F. Garelli, R. Mantz, H. De Battista, *Advanced control for constrained processes and systems* (IET Institution of Engineering and Technology, London, United Kingdom, 2011).
- [16] A. Revert, *et al.*, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **60**, 2113 (2013).
- [17] F. León-Vargas, F. Garelli, J. Picó, H. De Battista, J. Vehi, *Biomed. Signal Process Control* **8**, 724 (2013).
- [18] F. León-Vargas, F. Garelli, H. De Battista, J. Vehi, *Biomed. Signal Process Control* **16**, 80 (2015).
- [19] R. Sánchez Peña, *et al.*, *IFAC World Congress* (2017), pp. 7997–8002.

## REFERENCIAS

- [20] P. Colmegna, F. Garelli, H. De Battista, R. S. Sánchez-Peña, *The 9th International Conference on Advanced Technologies & Treatments for Diabetes* (Milán, Italia, 2016). Póster.
- [21] P. Colmegna, R. Sánchez-Peña, R. Gondhalekar, *Biomed. Signal Process Control* **40**, 204 (2018).
- [22] K. van Heusden, E. Dassau, H. C. Zisser, D. E. Seborg, F. J. Doyle III, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **59**, 1839 (2012).
- [23] J. P. Hespanha, A. S. Morse, *Automatica* **38**, 1905 (2002).
- [24] M. E. Willinska, *et al.*, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **52**, 3 (2005).
- [25] J. Walsh, R. Roberts, *Pumping Insulin* (Torrey Pines Press, San Diego, CA, 2006), fourth edn.
- [26] B. Kovatchev, G. Umpierrez, A. DiGenio, R. Zhou, S. E. Inzucchi, *J. Diabetes Science and Technology* **9**, 1227 (2015).
- [27] P. Keith-Hynes, B. Mize, A. Robert, J. Place, *Electronics* **3**, 609 (2014).

## Autores

**Patricio Colmegna.** Recibió su título de Ingeniero en Automatización y Control Industrial en la Universidad Nacional de Quilmes (UNQ) en 2010, y de Doctor en Ingeniería en el Instituto Tecnológico de Buenos Aires (ITBA) en el año 2014. En 2011 recibió el premio Mejor Egresado de la Academia Nacional de Ingeniería. Finalizó sus estudios postdoctorales a través de una beca CONICET en 2017, y actualmente es Investigador Asistente del CONICET e instructor del área de Control Automático de la UNQ. Sus áreas de trabajo incluyen modelado, identificación y control, siendo su principal línea de investigación el proyecto Páncreas Artificial.

**Fabrizio Garelli.** Es Profesor Titular (Diseño Industrial) y Profesor Adjunto (Ingeniería Electrónica) de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP) e Investigador Independiente del CONICET. Es autor de un libro publicado por el Instituto de Ingeniería y Tecnología europeo (IET) y de una centena de artículos en revistas o congresos científicos. Sus temas de interés incluyen el control automático y la estimación de sistemas multivariables con restricciones mediante técnicas basadas en modos deslizantes, con aplicación a procesos y bioprocesos industriales, robótica y sistemas biomédicos (páncreas artificial).

**Hernán De Battista.** Ingeniero Electrónico (1994) y Doctor en Ingeniería (2000) de la U.N.L.P. Actualmente se desempeña como Profesor Titular Dedicación Exclusiva de la

U.N.L.P. e Investigador Principal del CONICET. Recibió los premios E. Galloni de la Academia Nacional de Ciencias Exactas Físicas y Naturales (2002) y S. Gershanik de la Academia de Ingeniería de Buenos Aires (2006). Su área de investigación es el control de sistemas dinámicos y sus aplicaciones.

**Ricardo S. Sánchez-Peña.** Ingeniero en Electrónica de la Universidad de Buenos Aires (1978), Master of Science y Ph.D. del California Institute of Technology (1986, 1988), ambos en Ingeniería Eléctrica. Fue Prof. Titular Plenario de la UBA (1989-2004) y en España Investigador Ramón y Cajal (2004-05) e Investigador Senior de ICREA (2005-09) ambos en la Universitat Politècnica de Catalunya. Fue Profesor e Investigador visitante en universidades de EEUU y la UE. Recibió premios de la NASA, IEEE, UBA, AADECA y de la ANCEFN. Actualmente es Director de Investigación y Doctorado del ITBA e Investigador Principal del CONICET. Ha aplicado Identificación y Control a problemas de acústica, mecánica, energía eólica, aeroespacio, y actualmente a diabetes y neurobiología.

## CAPÍTULO 6

# MODELIZACIÓN Y SIMULACIÓN DEL SISTEMA CARDIOVASCULAR

*Marcelo Risk<sup>1,2,3</sup>, Eduardo San Román<sup>2</sup> y Fernán González Bernaldo de Quirós<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

<sup>2</sup> Hospital Italiano de Buenos Aires (HIBA)

<sup>3</sup> Instituto Tecnológico de Buenos Aires (ITBA)

### Resumen

El sistema cardiovascular tiene como principales funciones el transporte de oxígeno y nutrientes a todos los órganos del cuerpo humano. El volumen minuto cardiaco es la cantidad de sangre que el corazón hace circular en un minuto, el cual depende de la frecuencia cardiaca (FC) y de la descarga sistólica del ventrículo izquierdo. El control de FC se realiza fundamentalmente a través del sistema nervioso autónomo (SNA). En condiciones de enfermedad, tales como la diabetes, entre otras, el SNA deja de funcionar correctamente, produciendo un mal funcionamiento de los órganos controlados por el mismo, este estado se denomina neuropatía autónoma. La modelización y simulación del sistema cardiovascular, ya sea en forma parcial, permite comprender mejor los mecanismos de regulación tanto en condiciones de salud como de enfermedad. En el presente capítulo se describe un modelo de regulación de la FC a través del SNA, basado en el modelo IPFM (integral pulse frequency modulation), luego se describe un método de obtención de la FC instantánea, basados en filtros de respuesta finita al impulso (FIR), y finalmente se evalúa el desempeño del método a través de simulaciones y con datos reales.

**Palabras clave:** Sistema nervioso autónomo, neuropatía diabética, control cardiovascular, variabilidad del ritmo cardiaco, análisis espectral.

## Abstract

**Modeling and simulation of the Cardiovascular system.** The main functions of the cardiovascular system are the transport of oxygen and nutrients to all organs of the human body. The cardiac minute volume is the amount of blood that the heart circulates in one minute, which depends on the heart rate (HR) and left ventricular systolic discharge. The control of HR is performed mainly through the autonomic nervous system (ANS). In conditions of disease, such as diabetes, among others, the ANS stops working properly, causing a malfunction of the organs controlled by it, this state is called autonomic neuropathy. The modeling and simulation of the cardiovascular system, either in a partial way, allows a better understanding of the mechanisms of regulation in both health and disease conditions. This chapter describes a model of regulation of HR through the ANS, based on the IPFM (integral pulse frequency modulation) model, then describes a method of obtaining instantaneous HR, based on finite impulse response filters (FIR), and finally its performance is evaluated through simulations and real data.

**Keywords:** *Autonomic nervous system, diabetic neuropathy, cardiovascular control, heart rate variability, spectral analysis.*

## 1. Introducción

El sistema cardiovascular está compuesto por el corazón y los vasos (arterias y venas), tiene como principales funciones el transporte de oxígeno y nutrientes a todos los órganos del cuerpo humano, y colabora con la remoción de las resultantes del metabolismo celular y el dióxido de carbono. Los nutrientes esenciales son la glucosa, los aminoácidos, las vitaminas, minerales y grasas. Entre otras funciones distribuye calor y controla su disipación a través de la piel y los pulmones, y provee protección a través de la coagulación, y la inmunidad básicamente por los globulos blancos y los anticuerpos. El volumen minuto cardiaco es la cantidad de sangre que el corazón hace circular en un minuto, dicho volumen minuto depende de la frecuencia cardiaca y de la descarga sistólica del ventrículo izquierdo. El control de la frecuencia cardiaca regula en parte el volumen minuto, y en consecuencia permite adaptarse, a demanda de las necesidades, como el estado de reposo por un lado, o la necesidad de correr ante una amenaza por otro lado, es decir de un estado de baja demanda de volumen minuto la primera, y de alta la segunda. El control de la frecuencia cardiaca se realiza fundamentalmente a través del sistema nervioso autonómico, por medio de dos subsistemas: el simpático que la acelera, y el parasimpático que la enlentece. Por lo tanto el estudio de los mecanismos responsables del control neural y humoral de la frecuencia cardiaca y de otras variables fisiológicas como la descarga sistólica y la resistencia periférica, permite el mejoramiento del diagnóstico y tratamiento de enfermedades tales como la hipertensión arterial, complicaciones de la diabetes y el estado de shock en una terapia intensiva, así como la verificación de la efectividad terapéutica en estas patologías. La bioingeniería con el desarrollo de modelos, y luego simulando dichos modelos en una computadora, permiten

## Modelización y Simulación del Sistema Cardiovascular

estudiar el control cardiovascular, comprender mejor sus mecanismos, y probar respuestas ante diversas situaciones. El estudio de la variabilidad de la frecuencia cardiaca (VFC) y la presión arterial (PA) provee una forma no invasiva de estudiar el sistema nervioso autonómico (SNA). El sistema nervioso autonómico controla otros órganos, entre los cuales podemos citar los pulmones, la elasticidad de arterias y venas, las glándulas sudoríparas, el sistema digestivo, entre otros [1].

El SNA se divide en dos partes: el *simpático* y el *parasimpático*, delimitadas anatómicamente y funcionalmente. En el caso del control cardiaco por parte del SNA, el *simpático* aumenta la frecuencia cardiaca, y por otro lado el *parasimpático* la disminuye, la frecuencia cardiaca para un latido dado es el resultado del balance de los dos subsistemas del SNA; por otro lado el *simpático* a través de sus inervaciones en las arterias, produce un incremento en rigidez de las mismas, consecuentemente aumenta la resistencia hidráulica, que produce un aumento de la PA media. El control cardiovascular cierra su lazo principal con el sensado de la PA, que se produce en los baroreceptores situados en las arterias carótidas y la aorta, luego los valores de PA arterial sensados son integrados en el sistema nervioso central, y luego el SNA produce los cambios anteriormente descritos [1]. La principal medición del lazo de control cardiovascular, el cual es un sistema de control realimentado, se denomina sensibilidad barorefleja (SBR), y se expresa en cuantos milisegundos de duración de un latido cardiaco cambia por milimetro de mercurio de variación en la PA ( $ms/mmHg$ ).

En condiciones de enfermedad, tales como la diabetes entre otras, el SNA deja de funcionar correctamente, produciendo un mal funcionamiento de los órganos controlados por el mismo, este estado se denomina neuropatía autonómica, y en el caso de diabéticos se denomina neuropatía autonómica diabética [2]. Por ejemplo se ha comprobado que la disminución de la VFC en diabéticos está asociada con un incremento de un 25 % al 50 % en la mortalidad a 10 años [3] [4] [5] [6, 7].

La VFC y la SBR son estudiadas en otras enfermedades tales como la hipertensión arterial y la insuficiencia cardiaca y la enfermedad de Chagas-Mazza, y han demostrado ser marcadores importantes de riesgo cardiovascular [8] [9] [10, 11, 7].

Tanto para el diagnóstico como para el seguimiento de un tratamiento, es necesario calcular con la mayor exactitud posible la VFC y la SBR. Los métodos de cálculo de la VFC se pueden dividir de acuerdo a la longitud de los registros en estudios de corto y largo plazo, y de acuerdo a la metodología de cálculo en estimaciones en el dominio del tiempo y de la frecuencia [10] [11], otras metodologías más modernas combinan el tiempo y la frecuencia utilizando onditas [12]. En los casos de estimaciones en los dominios de la frecuencia y tiempo-frecuencia, los métodos de estimación espectral, basados en la transformada de Fourier o en filtros digitales, necesitan que las series temporales de frecuencia cardiaca y la PA estén equiespaciadas en el tiempo, es decir a una frecuencia de muestreo determinada; para lograr dicha condición es necesario interpolar las series de latidos, provenientes de la medición de la frecuencia cardiaca.

El objetivo del presente trabajo fue estimar el efecto de la interpolación en el cálculo de las

series temporales, en el estudio de la VFC y la PA, simulando oscilaciones conocidas de frecuencia cardiaca, y con datos reales provenientes de una base de datos con bloqueos farmacológicos y posturales del SNA [13]. El procesamiento del presente trabajo fue realizado integralmente con el lenguaje de programación R [14].

## 2. Simulación y medición de la frecuencia cardiaca

### 2.1. Simulación de la frecuencia cardiaca

Uno de los modelos mas utilizados para la simulación de la frecuencia cardiaca es el modelo IPFM (integral pulse frequency modulation) [15]. La figura 1 muestra el diagrama en bloques del modelo IPFM, donde podemos apreciar que la señal de entrada  $x(t)$  pasa a través de un integrador, la salida del mismo  $yi(t)$  pasa a una de las entradas de un comparador, la otra entrada del comparador está conectada a un valor umbral  $V_T$ , la salida del comparador resetea el integrador y es a su vez la salida del modelo [7].

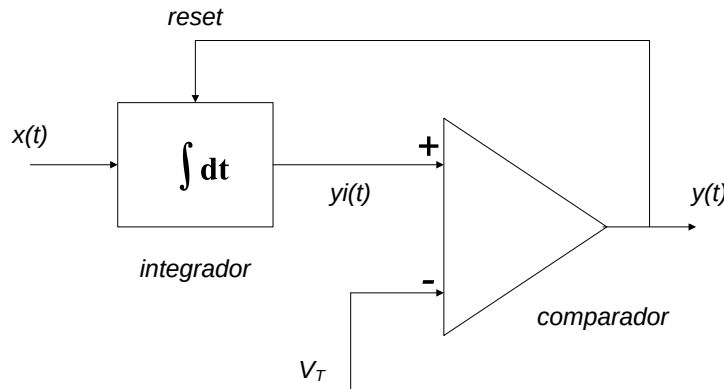


Fig. 1. Diagrama en bloques del modelo IPFM.

La salida del integrador en el modelo IPFM sigue las ecuaciones (1) y (2):

$$yi(t) = \frac{1}{x_k} \int_{t_k}^t dt \quad \text{si } yi(t) < V_T \quad t_k \leq t < t_{k+1} \quad (1)$$

$$yi(t) = 0 \quad \text{si } yi(t) = V_T \quad t = t_{k+1} \quad (2)$$

De las ecuaciones (1) y (2):

$$V_T = \frac{1}{x_k} \int_{t_k}^t dt = \frac{t_{k+1} - t_k}{x_k} = \frac{\tau_k}{x_k} \quad (3)$$

donde  $t_{k+1} - t_k$  es el intervalo entre dos latidos consecutivos.

De la ecuación (3), obtenemos la ecuación (4) que es la simulación de la frecuencia cardiaca latido a latido:

$$y(t) = \sum_k \delta(t - t_k) \quad (4)$$

La figura 2 muestra una simulación con el modelo IPFM, donde  $x(t) = x_0 + A_0 \sin(f_0 2\pi t) + A_1 \sin(f_1 2\pi t)$ , para una  $f_0 = 0.1$  Hz y  $f_1 = 0.25$  Hz; en dicha figura podemos apreciar  $x(t)$ , la salida del integrador  $y_i(t)$ , y la salida del modelo IPFM  $y(t)$ . En la presente simulación  $V_T = 1000$  ms.

La figura 3 muestra la serie de latidos simulada por el modelo IPFM, con una modulación de dos sinusoides.

## 2.2. Medición de la frecuencia cardiaca

La medición de la frecuencia cardiaca se realiza a través del procesamiento del ECG, la figura 4 muestra 5 latidos reales de electrocardiograma (ECG), la señal derivada del ECG denominada serie de latidos de FC, calculada a partir de la detección de las ondas R (picos) del ECG, y finalmente la serie temporal equiespaciada a intervalos  $\Delta t$ .

Los algoritmos de detección de las ondas R se realiza mediante técnicas de procesamiento de señales que combinan filtros digitales con detecciones de umbrales [10]. Los algoritmos de detección se ocupan primero de determinar el complejo QRS del ECG [16], dentro del cual luego buscan el pico de la onda R, este punto se denomina *fiducial*, y determina el comienzo de un latido cardiaco; por lo tanto el intervalo entre dos ondas R determina la duración de dicho latido, como podemos observar en la figura 4.

En la figura 4 note que la serie de latidos muestra durante la duración de cada latido un valor constante de frecuencia cardiaca, sin embargo la frecuencia cardiaca *instantánea* que se obtiene con la serie temporal equiespaciada en el tiempo, puede tener valores de frecuencia distintos dentro de un mismo latido, la idea entre otras cosas es suavizar los cambios abruptos.



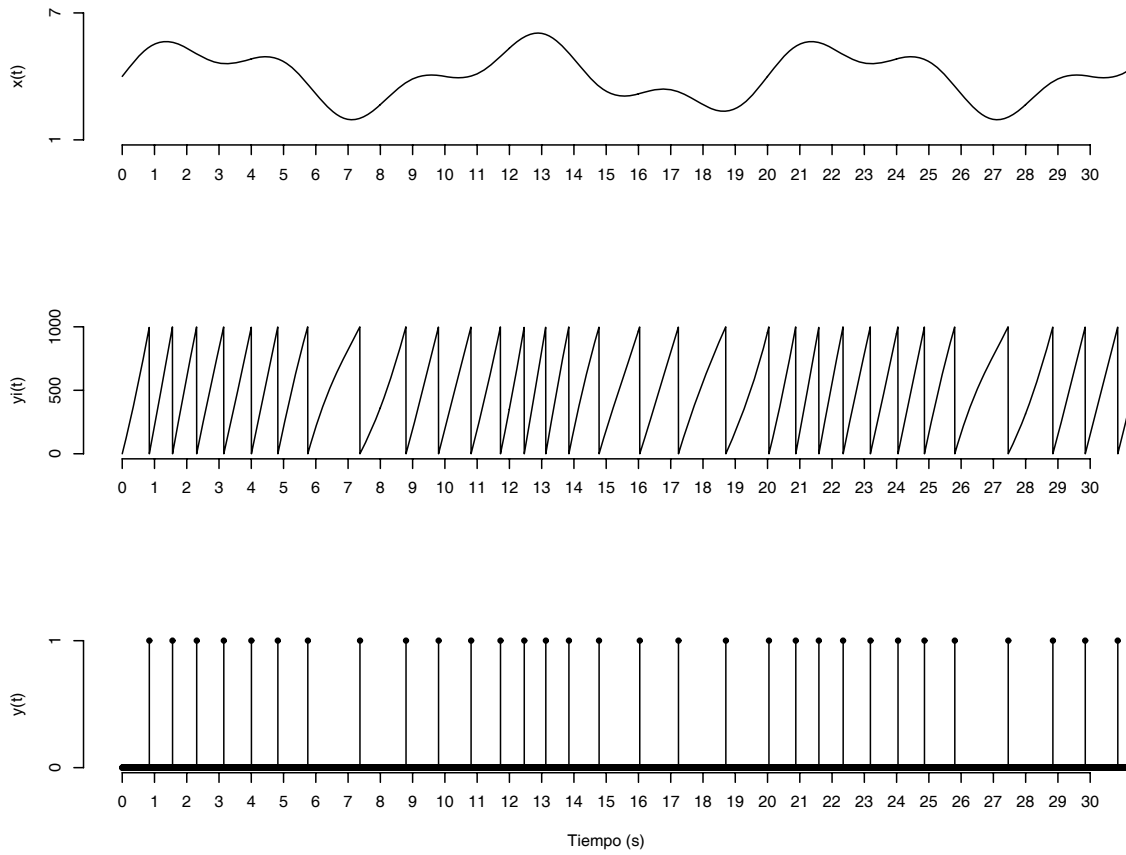


Fig. 2. Señales del modelo IPFM para una modulación por dos sinusoides combinadas de 0.1 Hz y 0.25 Hz.

### 3. Métodos de interpolación

#### 3.1. Método de splines cúbicas

El método de interpolación con splines cúbicas [17], está basado en la construcción de un polinomio de orden tres, que pasa a través de los puntos originales de la función, y para el cual se pone en cero su segunda derivada, proveyendo una condición de contorno que completa el sistema de ecuaciones [7]. El método obtenido se denomina *spline cúbica natural*.

Por ejemplo dada una función  $y_i = y(x_i)$ , para  $i = 1 \dots N$ , si ponemos atención en un intervalo en particular entre  $x_j$  y  $x_{j+1}$ ; la interpolación lineal en dicho intervalo es:

$$y = Ay_j + By_{j+1} \quad (5)$$

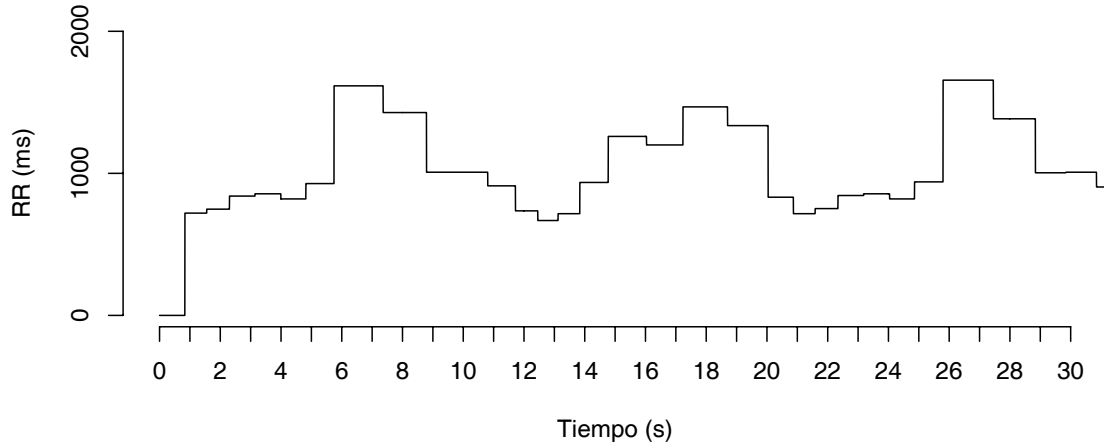


Fig. 3. Serie de latidos simulada por el modelo IPFM, con una modulación de dos sinusoides.

donde:

$$A \equiv \frac{x_{j+1} - x}{x_{j+1} - x_j} \quad B \equiv 1 - A = \frac{x - x_j}{x_{j+1} - x_j} \quad (6)$$

Las ecuaciones (5) y (6) son un caso especial del método de interpolación de Lagrange [17] [18]. La ecuación (5) tiene una segunda derivada igual a cero en cada intervalo interior, y valor indefinido o infinito en los extremos.

El objetivo de la interpolación con splines cúbicas es lograr una fórmula mas suavizada para la primera derivada y continua en la segunda derivada, tanto para cada intervalo como para los extremos. Para el cálculo de las splines cúbicas necesitamos construir un conjunto de datos con los valores de la segunda derivada:  $y''$ ; entonces para cada intervalo tendremos  $y''_i$ .

Entonces tenemos:

$$y = Ay_i + By_{j+1} + Cy''_j + Dy''_{j+1} \quad (7)$$

donde:

$$C \equiv \frac{1}{6}(A^3 - A)(x_{j+1} - x_j)^2 \quad D \equiv \frac{1}{6}(B^3 - B)(x_{j+1} - x_j)^2 \quad (8)$$

La derivada de la ecuación (7) con respecto a  $x$ , utilizando las definiciones de  $A$ ,  $B$ ,  $C$  y  $D$  son  $dA/dx$ ,  $dB/dx$ ,  $dC/dx$ , y  $dD/dx$ :

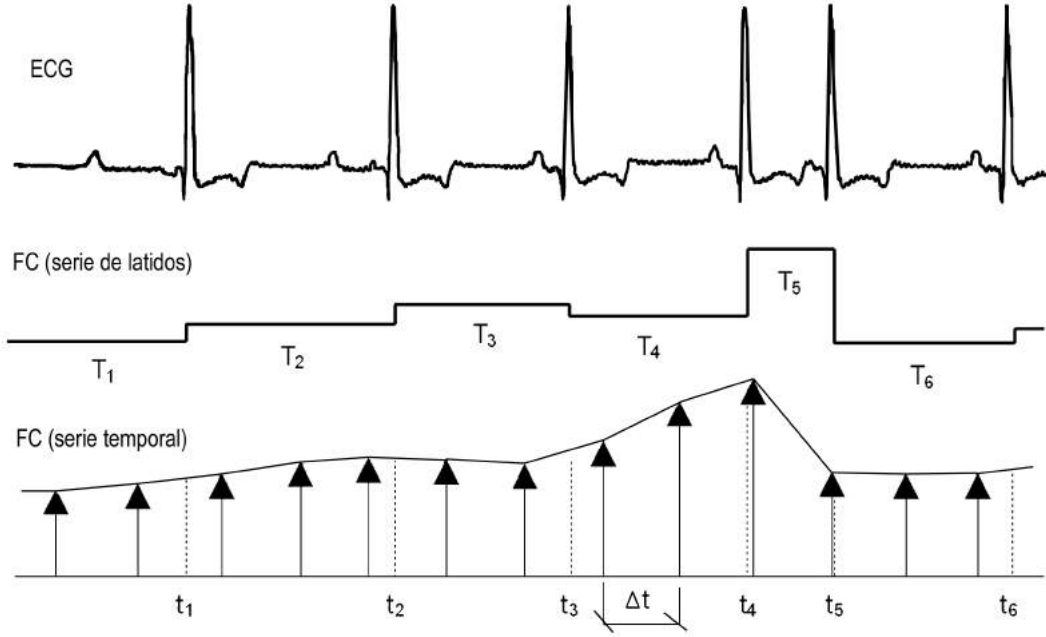


Fig. 4. Señal de ECG; serie de latidos de FC derivada del ECG;  $T(t)$  en línea fina y en flechas la FC instantánea, muestreada a un intervalo constante  $\Delta t$ .

$$\frac{dy}{dx} = \frac{y_{j+1} - y_j}{x_{j+1} - x_j} - \frac{3A^2 - 1}{6}(x_{j+1} - x_j)y_j'' + \frac{3B^2 - 1}{6}(x_{j+1} - x_j)y_{j+1}'' \quad (9)$$

Entonces la segunda derivada es:

$$\frac{d^2y}{dx^2} = Ay_j'' + By_{j+1}'' \quad (10)$$

La principal idea de las splines cúbicas es requerir la continuidad de la primera derivada, y de esta forma poder calcular la segunda derivada. Las ecuaciones que responden a este requisito se obtienen cuando (9) es evaluada para  $x = x_j$  en el intervalo  $(x_{j-1}, x_j)$  igual a la misma ecuación evaluada para  $x = x_j$  pero en el intervalo  $(x_j, x_{j+1})$ . Entonces para  $j = 2, \dots, N - 1$ :

$$\frac{x_j - x_{j-1}}{6}y_{j-1}'' + \frac{x_{j+1} - x_{j-1}}{3}y_j'' + \frac{x_{j+1} - x_j}{6}y_{j+1}'' = \frac{y_{j+1} - y_j}{x_{j+1} - x_j} - \frac{y_j - y_{j-1}}{x_j - x_{j-1}} \quad (11)$$

De esta forma contamos con  $N - 2$  ecuaciones lineales de las  $N$  derivadas segundas des-

conocidas. Para obtener una única solución es necesario especificar una de las siguientes dos condiciones, tomadas en los límites  $x_1$  y  $x_N$ : a) igualar a cero una o las dos derivadas segundas  $y_1''$  y  $y_N''$ , de esta forma se logra la denominada *spline cúbica natural*; y b) calcular cualquiera de las dos derivadas segundas  $y_1''$  y  $y_N''$  con las ecuaciones (9).

Las splines cúbicas son muy prácticas porque el conjunto de ecuaciones (11) está compuesto por ecuaciones lineales de fácil resolución.

La figura 5 muestra el resultado del cálculo de la serie temporal con splines cúbicas para la señal simulada por el modelo IPFM, en el caso de la modulación por dos sinusoides.

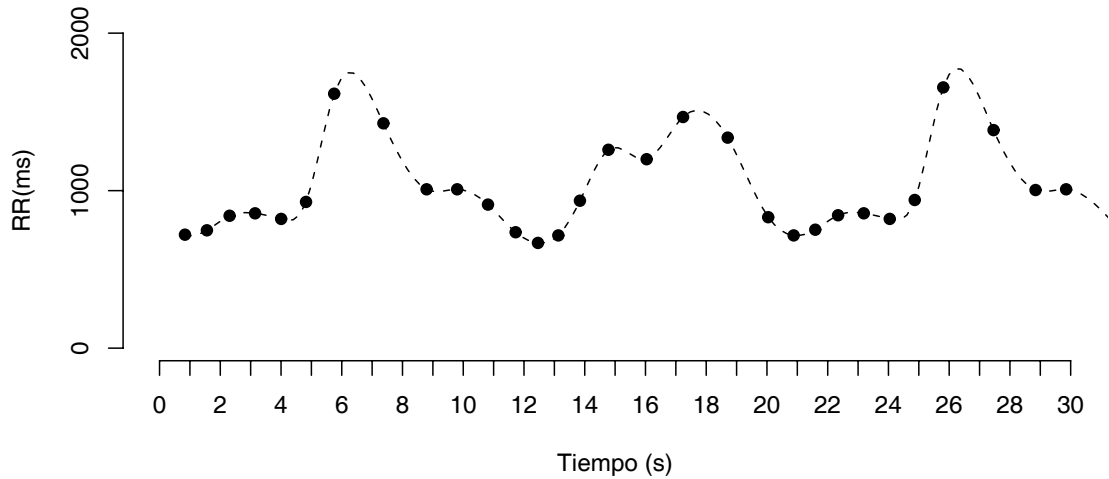


Fig. 5. Serie temporal calculada con splines cúbicas para la señal simulada por el modelo IPFM por dos sinusoides.

### 3.2. Método con filtros FIR

Los métodos de interpolación con filtros FIR se han utilizado para una cantidad de aplicaciones, tales como procesamiento de voz, y se basan en la optimización de filtros FIR, especialmente en la distorsión de fase [18].

El proceso de interpolación con filtros FIR se puede categorizar como un procesamiento multirate [19], en el cual se combinan cambios de frecuencia de muestreo, es decir decimaciones, con filtros FIR previos a cada etapa de decimación.

En las aplicaciones que requieren cambios de frecuencia de muestreo grandes, generalmente se concatenan varias etapas de conversión, de esta forma la reducción total  $M = M_1 M_2 \dots M_I$ , para un total de  $I$  etapas. Cada etapa debe contar con un filtro pasabajos FIR

y luego con un bloque decimador, el filtro pasabajos es necesario para evitar el efecto de *aliasing* por la posterior decimación; si bien es posible utilizar otros filtros, como por ejemplo del tipo IIR, los filtros FIR cuentan con ventajas tales como estabilidad y la linealidad de la fase.

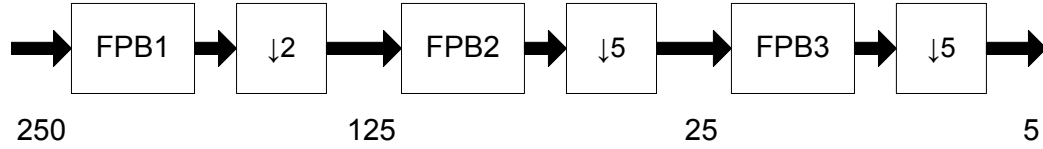


Fig. 6. Diagrama de las etapas del proceso de interpolación utilizando filtros FIR y decimación.

La figura 6 muestra tres etapas que juntas reducen la frecuencia de muestreo original de 250 a 5 muestras por segundo; al primer bloque le llega la serie de latidos a la frecuencia original de muestreo (ver figura 3), entonces el filtro pasabajos 1 (FPB1) precede al primer bloque de decimación que reduce por un factor 2 la frecuencia de muestreo, es decir a la salida del mismo la frecuencia es de 125 muestras por segundo. Luego en la misma figura 6 podemos apreciar las dos etapas siguientes, compuestas por los filtros FPB2 y FPB3, precedidos por dos bloques de decimación que reducen cada uno por un factor de 5 la frecuencia de muestreo, para lograr finalmente 5 muestras por segundo [7].

Para el cálculo de los filtros pasabajos FIR utilizamos el método de Remez [20], el cual permite diseñar filtros optimizados del tipo de aproximación de Chebyshev al filtro ideal FIR. La fórmula para calcular la cantidad de coeficientes del filtro FIR, para un ancho moderado de la banda de paso es la siguiente:

$$N = 1 + \frac{-20 \log \sqrt{\delta_1 \delta_2} - 13}{14,6(f_s - f_p)} \quad (12)$$

donde  $\delta_1$  determina el ripple máximo de la banda de paso,  $\delta_2$  determina la atenuación de la banda de atenuación,  $f_s$  y  $f_p$  son las frecuencias de corte y atenuación normalizadas respectivamente.

En nuestra aplicación  $\delta_1 = 0,025$ , y  $\delta_2 = 0,001$  para de esta forma lograr una atenuación de  $-60 \text{ dB}$  en la banda de atenuación. Si calculamos con la ecuación (12) la cantidad de coeficientes del FIR para una sola etapa de decimación, las frecuencias de corte serían  $f_s = 2/250$  y  $f_p = 1,5/250$ , obtenemos  $N = 1132$ , lo cual muestra claramente la necesidad de utilizar múltiples etapas.

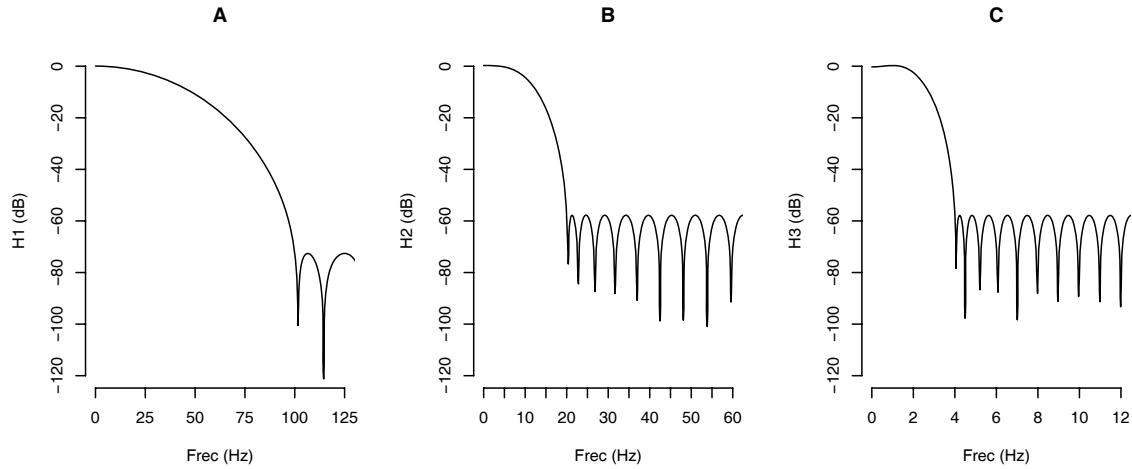


Fig. 7. Respuesta en frecuencia de los tres filtros pasabajos FIR del interpolador multirate, donde los paneles A, B y C corresponden a los filtros FPB1, FPB2 y FPB3 respectivamente.

La figura 6 muestra el diagrama de las etapas implementadas en el presente trabajo, para las cuales se calcularon las frecuencias de corte  $f_s = 100/250$  y  $f_p = 5/250$  para la primera etapa FPB1, luego  $f_s = 20/125$  y  $f_p = 5/125$  para FPB2, y finalmente  $f_s = 4/25$  y  $f_p = 1,5/25$  para FPB3, donde obtuvimos  $N1 = 7$ ,  $N2 = 21$  y  $N3 = 25$ , para la cantidad de coeficientes de cada etapa, FPB1, FPB2 y FPB3 respectivamente. La figura 7 muestra la respuesta en frecuencia de los filtros para cada una de las etapas.

## 4. Resultados

En el presente trabajo se realizaron dos estudios, el primero con la señal simulada con el modelo IPFM, y el segundo con datos reales de una base de datos con bloqueos al SNA.

### 4.1. Resultados con la simulación

Con una señal simulada con el modelo IPFM descrito en una sección anterior, obtuvimos la serie de latidos que observamos en la figura 3. Luego de aplicar los dos métodos descritos en secciones anteriores, obtuvimos las series temporales que podemos apreciar en la figura 8, donde podemos ver con puntos la serie de latidos, es decir la ocurrencia de ondas R en tiempo y duración, también podemos ver en línea continua la serie temporal calculada con el método que utiliza filtros FIR, y en línea a rayas la serie temporal calculada con splines cúbicas [7].

En la figura 8, al igual que en la figura 5, podemos ver que el método de splines cúbicas

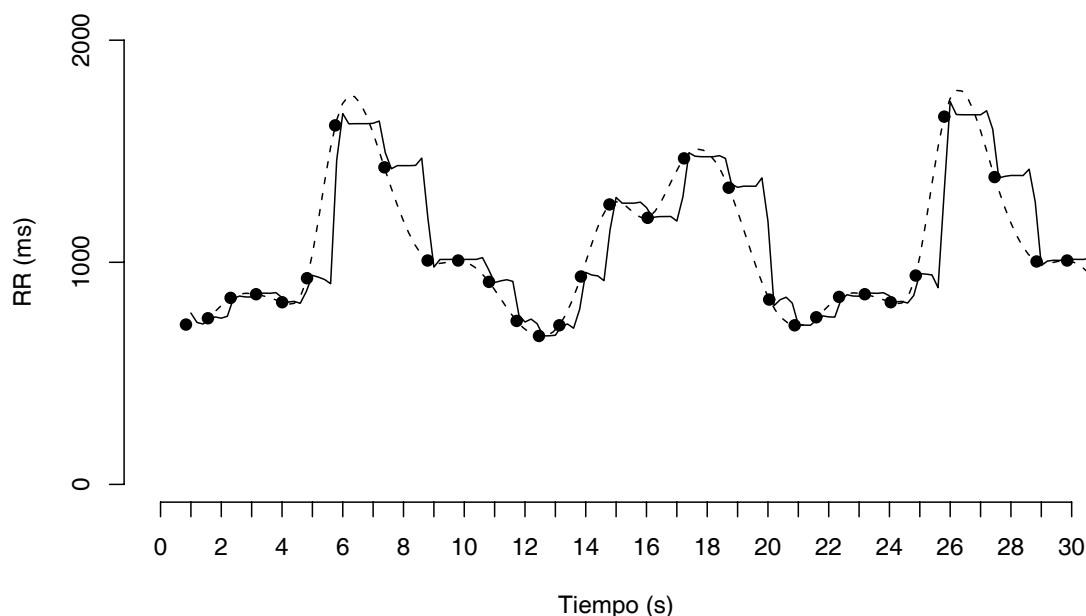


Fig. 8. Serie temporales de los intervalos RR para el método con filtros FIR (línea continua), y el método con splines cúbicas (línea a rayas); los puntos muestran las ocurrencias de las ondas R y sus correspondientes intervalos RR.

tiende a interpolar con valores que sobre estiman los intervalos RR, esto lo podemos notar en los picos máximos de dichas figuras. Esta sobre estimación podría llevar a una sobre estimación en el dominio de la frecuencia; sin embargo esta sobre estimación es apenas apreciable, como podemos ver en la figura 9. El espectro de potencia fue calculado con el método de Blackman-Tukey, que utiliza una ventana Gaussiana [10] [8].

En la figura 9 podemos ver una pequeña descalibración en la frecuencia a la cual se encuentran los dos picos, a 0.1 y 0.25 Hz, con la ayuda de las dos líneas verticales de la figura. Para el método con los filtros FIR, el máximo correspondiente a la sinusoide de 0.1 Hz, fue de  $754032 \text{ ms}^2/\text{Hz}$  y se encuentra a 0.100098 Hz; mientras que para la sinusoide de 0.25 Hz fue de  $151243 \text{ ms}^2/\text{Hz}$  a 0.246582 Hz. El máximo correspondiente a la sinusoide de 0.1 Hz, para el método con las splines cúbicas, fue de  $773225 \text{ ms}^2/\text{Hz}$  y se encuentra a 0.100098 Hz; mientras que para la sinusoide de 0.25 Hz fue de  $131310 \text{ ms}^2/\text{Hz}$  a 0.25146 Hz.

Las energías para las bandas de baja frecuencia (BF, 0.04 a 0.15 Hz) y de alta frecuencia (AF, 0.15 a 0.4 Hz), de acuerdo a los estudios de VFC [10] [8], fueron para el método con los filtros FIR de 40603 y  $9828 \text{ ms}^2$ , respectivamente. Por otro lado para el método con las splines cúbicas la energía para BF fue de  $40327 \text{ ms}^2$ , y la de AF fue de  $11057 \text{ ms}^2$ . La correlación entre cada valor de potencia espectral, dentro del rango de 0.04 a 0.4 Hz, entre

los dos métodos de cálculo de series temporales fue de 0.993; la resolución en frecuencia de la estimación de potencia espectral fue de 0.00244 Hz.

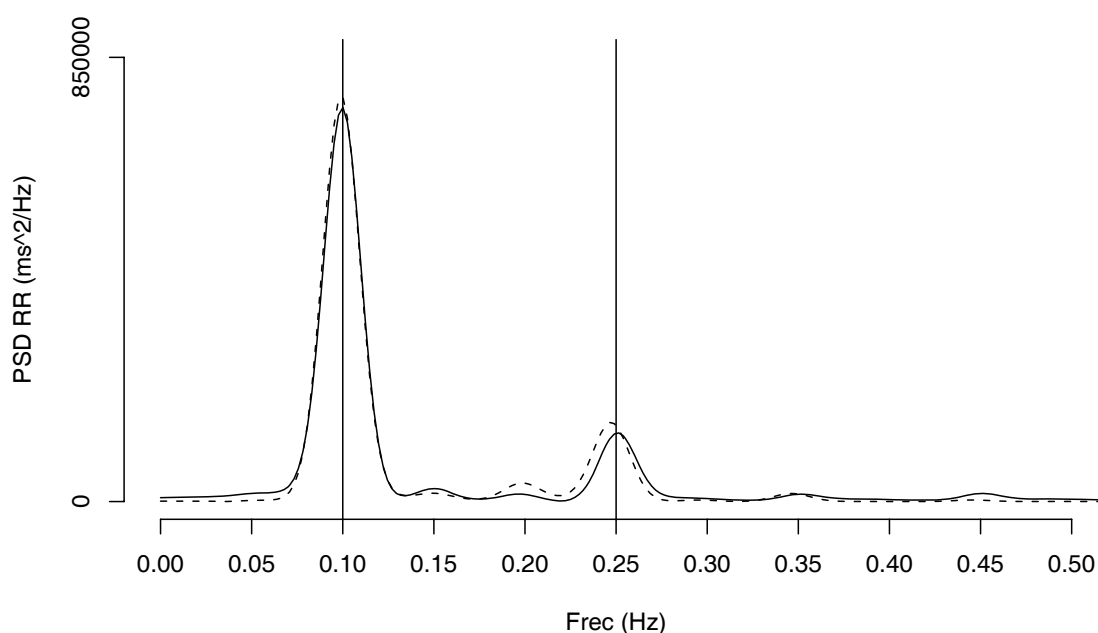


Fig. 9. Espectro de potencia de las series temporales simuladas, calculadas para el método con filtros FIR (línea continua), y el método con splines cúbicas (línea a rayas); las dos líneas verticales a 0.1 y 0.25 Hz son la referencia de las dos sinusoides simuladas con el modelo IPFM.

Un análisis mas preciso entre los espectros de potencia de los dos métodos en estudio se puede realizar con un modelo de regresión. La figura 10 muestra los gráficos de análisis de regresión entre las componentes de cada uno de los dos métodos en estudio, y el histograma de residuos de dicha regresión, donde podemos ver en el gráfico de regresión (panel A) la mayoría de los puntos alrededor de la recta de regresión [7].

El análisis de regresión mostró un *intercept* de  $2851 \text{ ms}^2/\text{Hz}$  ( $P = 0,001$ ) y una pendiente de  $0.963$  ( $P < 0,0001$ ); el índice de determinación fue  $r^2 = 0,9929$ . El panel B de la figura 10 muestra el histograma de los residuos del análisis de regresión, el cual fue significativamente distinto a una distribución normal equivalente, probada con la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk [21]; en dicha figura podemos apreciar que los residuos menores a  $-30000 \text{ ms}^2/\text{Hz}$  corresponden al pico de sobre estimación en la frecuencia de 0.2 Hz, que podemos apreciar en la figura 9 [7].



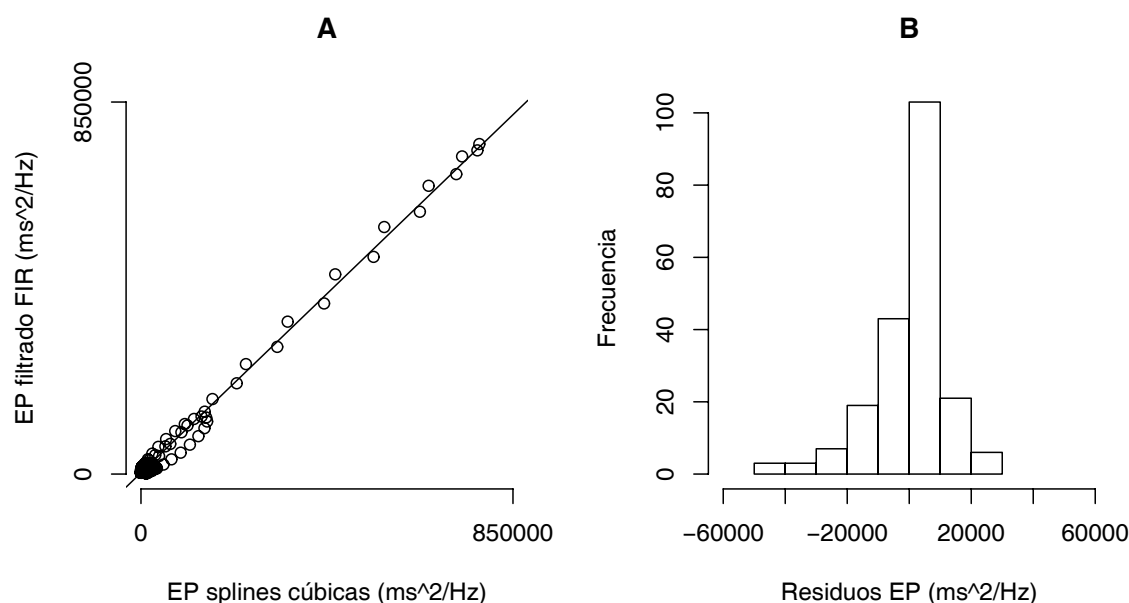


Fig. 10. Gráficos de análisis de regresión entre las componentes de cada uno de los dos métodos en estudio (A), y el histograma de residuos de dicha regresión (B).

## 4.2. Resultados con la base de datos

La base de datos utilizada en este estudio contiene registros de ECG, los cuales son una combinación de bloqueos farmacológicos del SNA, durante periodos de 7 minutos y en una combinación de posturas [13]. Un total de 14 sujetos masculinos no fumadores fueron estudiados (edades desde 19 a 38 años, con una mediana de 21 años) [13].

Los registros fueron realizados de acuerdo al siguiente esquema:

1. 12 sujetos del total fueron medidos en posición supina para control (SUC), luego a 6 de ellos se les suministró atropina (SUA) y a los 6 restantes propranolol (SUP).
2. 9 sujetos del total fueron medidos de pie para control (STC), luego a 4 de ellos se les suministró atropina (STA) y a los otros 5 propranolol (STP).
3. Finalmente a los sujetos en SUA y STA se les suministró propranolol, mientras que a los sujetos en SUP y STP se les suministró atropina, en ambos casos estos sujetos alcanzaron el bloqueo autonómico total (SUB y STB).

De esta forma la base de datos cubre una amplia gama de situaciones fisiológicas, que cubre tanto situaciones en reposo, en posiciones supina y parado, así como situaciones de control

cardiovascular solamente por el *simpático* o el *parasimpático*, o sin control en absoluto [13] [10].

Las figuras 11 y 12 muestran las series temporales y los espectros de potencia, para cada uno de los métodos en estudio, de dos registros ejemplo de la base de datos, los registros CRC03STC y CRC07SUA respectivamente.

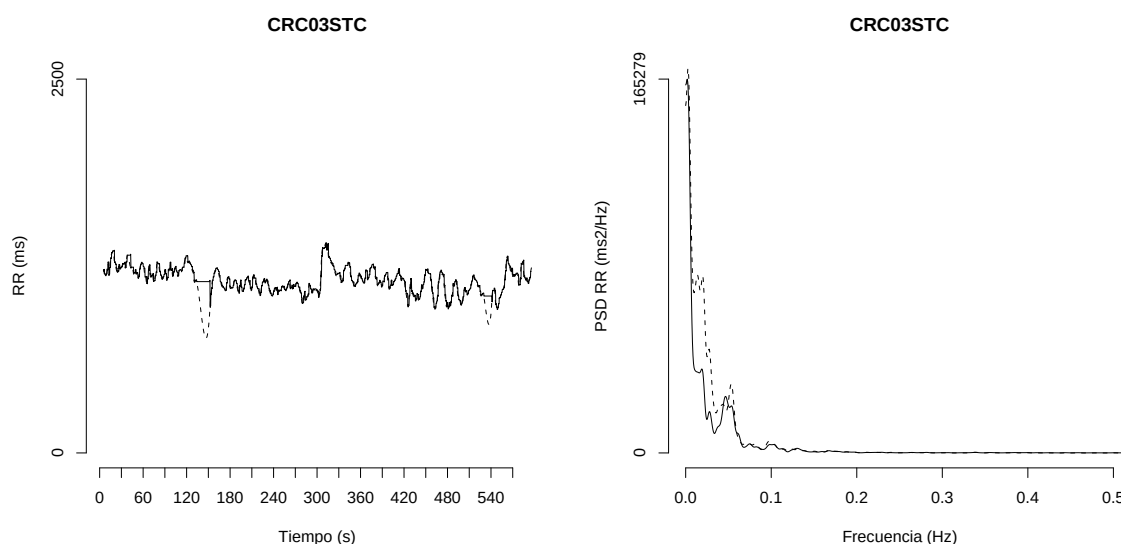


Fig. 11. Series temporales y espectros de potencia del registro ejemplo CRC03STC.

La figura 11 muestra en el panel de la izquierda, es decir las series temporales, que la serie temporal calculada con las splines cúbicas (línea a rayas) tienden en dos ocasiones a sobre estimar la excursión hacia abajo de dicha serie, esta sobre estimación en el dominio del tiempo produce una sobre estimación de la potencia espectral a bajas frecuencias, como podemos apreciar en el panel derecho de la misma figura 11.

La figura 12 muestra las series temporales y espectros de potencia del registro ejemplo CRC07SUA, en este caso los dos métodos con filtros FIR y con splines cúbicas, son muy similares.

El análisis de Bland y Altman [22], permite comparar las energías para las bandas de BF y AF de cada uno de los métodos en estudio. La figura 13 muestra el análisis de Bland y Altman para las BF y AF de los espectros de potencia para comparar los dos métodos de cálculo de series temporales.

El panel de la izquierda de la figura 13 muestra que para las BF el valor medio de las diferencias fue de  $-46.5 \text{ ms}^2$ , y el desvío estándar de  $131.3 \text{ ms}^2$ . El análisis de regresión del gráfico de Bland y Altman mostró un *intercept* no significativo, pero una pendiente significativa de  $-0.031$  ( $P = 0,0002$ ), mientras que el coeficiente de determinación fue  $r^2 = 0,16$ . El 95 % aproximadamente de las diferencias, es decir dentro de  $\pm 2DE$ , esta dentro de un rango de  $525 \text{ ms}^2$ .

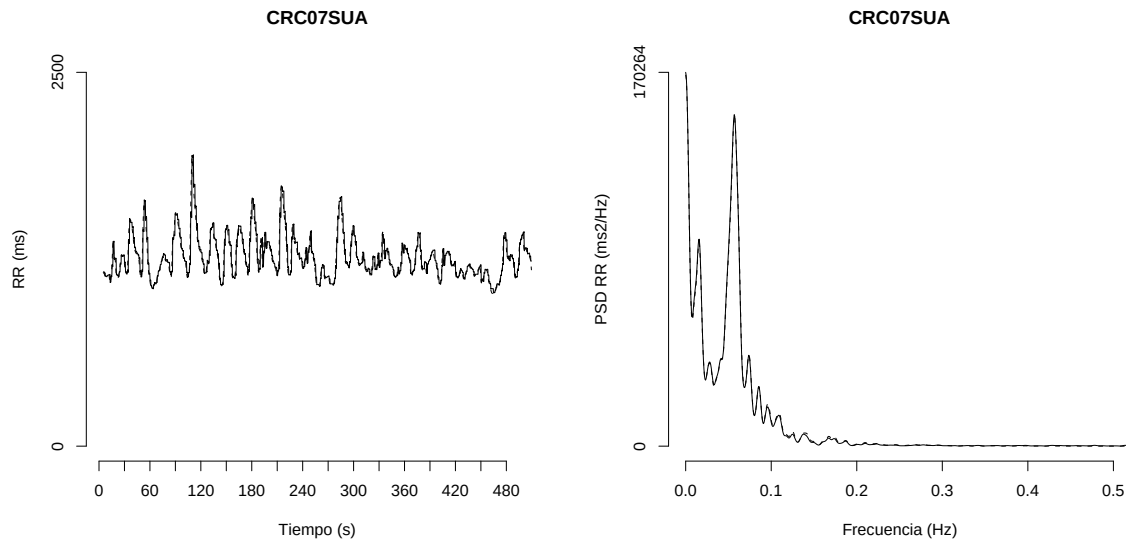


Fig. 12. Series temporales y espectros de potencia del registro ejemplo CRC07SUA.

El panel de la derecha de la figura 13 muestra que para las AF el valor medio de las diferencias fue de  $3 \text{ ms}^2$ , y el desvío estándar de  $48 \text{ ms}^2$ . El análisis de regresión del gráfico de Bland y Altman mostró un *intercept* no significativo, pero una pendiente significativa de 0.06 ( $P < 0,0001$ ), mientras que el coeficiente de determinación fue  $r^2 = 0,27$ . El 95 % aproximadamente de las diferencias, está dentro de un rango de  $192 \text{ ms}^2$ .

## 5. Discusión

En el presente trabajo se compararon dos métodos para el cálculo de serie temporales de frecuencia cardíaca a partir de sus series de latidos. El método que utiliza splines cúbicas es uno de los más difundidos en el estudio de la VFC [23], otros métodos utilizan interpolación lineal [10], así como otros métodos basados en [24].

El método aquí presentado con filtros FIR y decimación, prueba ser útil para el cálculo de series temporales. En el análisis de las series de latidos simuladas con el modelo IPFM, podemos observar que el método con los filtros FIR permite calcular con mayor precisión los picos de las dos sinusoides simuladas, en parte porque el método se basa en la decimación por enteros, con lo cual la reducción de la frecuencia de muestreo de 250 a 5 Hz se hace en forma exacta, en cambio el método de splines cúbicas debe calcular cada punto en el tiempo, esto puede introducir errores de redondeo, a los cuales son sensibles el análisis del espectro de potencia.

Por otro lado la observación de las series temporales calculadas con los dos métodos (figuras 5, 8 y 11), muestra que las splines cúbicas tienden a sobre estimar las fluctuaciones de los

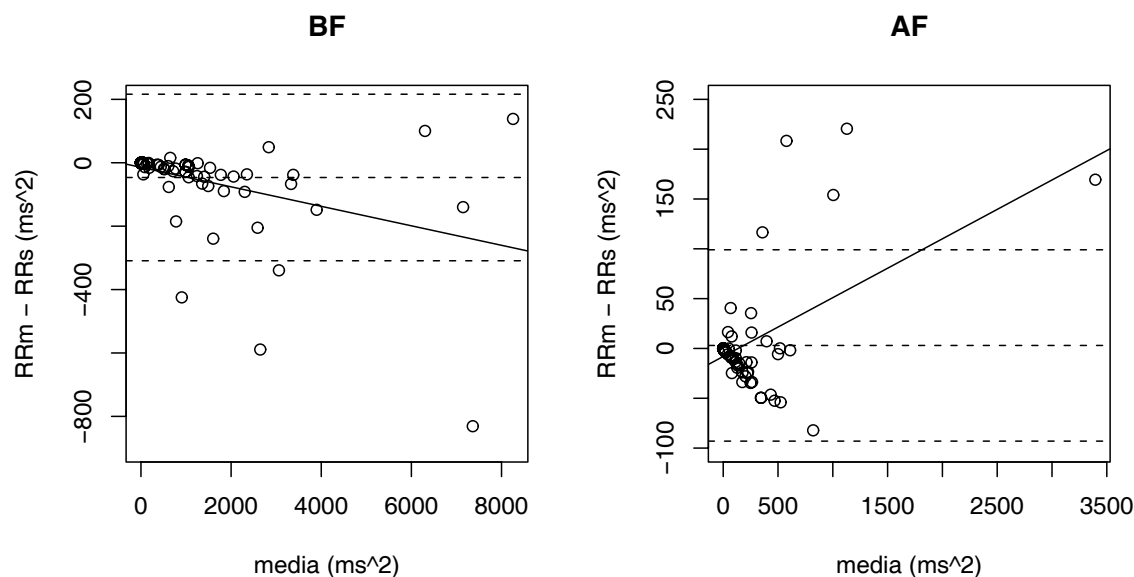


Fig. 13. Análisis de Bland y Altman para las BF y AF de los espectros de potencia para comparar los dos métodos de cálculo de series temporales.

intervalos RR, de esta forma la energía de la señal serie temporal en el dominio del tiempo se sobre estima, entonces lo mismo sucede con la estimación del espectro de potencia. Esto último se verifica tanto para la simulación como para los cálculos con la base de datos reales.

Sin embargo podemos decir que los dos métodos mostraron ser similares para la simulación, cuando estudiamos la regresión de uno contra el otro. El análisis de los residuos si bien demostró que no tiene una distribución normal (figura 10), puede explicar las diferencias con la oscilación a 0.2 Hz mediante el método de splines cúbicas.

En el análisis de los dos métodos con la base de datos reales, pudimos verificar que existen diferencias entre dichos métodos, cuando calculamos las energías en las bandas de BF y AF, con el método de comparación de métodos de diagnóstico de Bland y Altman [22]. En el caso de BF el 95 % de las diferencias se encontró en el rango de  $525 \text{ ms}^2$ , para una media máxima de más de  $8000 \text{ ms}^2$ , esto sugiere que las diferencias entre mediciones son por lo menos 15 veces menores que las medias máximas medidas. Por otro lado las AF muestran un rango de diferencias de  $192 \text{ ms}^2$ , para en este caso una media máxima de aproximadamente  $3500 \text{ ms}^2$ , por lo cual sugiere que las diferencias son en este caso 18 veces menores que las medias máximas medidas. En ambos casos las diferencias son tolerables para pruebas médicas.

Siguiendo con el análisis de Bland y Altman se verifica una tendencia negativa significativa para las BF, en el análisis de regresión de las diferencias versus las medias de las mediciones (panel izquierdo de la figura 13), esto quiere decir que a medida que aumenta la magnitud de la medición el método de splines cúbicas sobre estima la energía en esa banda. Para el caso

de las AF se verifica un efecto contrario, es decir en este caso una pendiente significativa positiva, que muestra que a medida que aumenta la magnitud medida se verifica una sobre estimación del método con filtros FIR (panel derecho de la figura 13). Estos dos efectos pueden ser debidos a que las splines cúbicas actúan como un suavizador, con un efecto pasabajos sobre las series temporales, mientras que las series temporales calculadas con el método con los filtros FIR conservan cambios abruptos, propios de las series de latidos.

## REFERENCIAS

- [1] J. E. Hall, *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology E-Book* (Elsevier Health Sciences, 2015).
- [2] F. R, *et al.*, *Archives of Neurology* **48**, 185 (1991).
- [3] D. Ziegler, *Diabetes/Metabolism Reviews* **10**, 339 (1994).
- [4] N. S. Levitt, K. B. Stansberry, S. Wynchank, A. I. Vinik, *Diabetes Care* **19**, 751 (1996).
- [5] A. I. Vinik, R. E. Maser, B. D. Mitchell, R. Freeman, *Diabetes Care* **26**, 1553 (2003).
- [6] M. Risk, V. Bril, C. Broadbridge, A. Cohen, *Diabetes technology & therapeutics* **3**, 63 (2001).
- [7] M. Risk, *Tesis de doctorado en Ciencias de la Ingeniería: Análisis de Tiempo-Frecuencia de la Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca y la Presión Arterial* (Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, 2008).
- [8] J. P. Saul, *Physiology* **5**, 32 (1990).
- [9] S. Guzzetti, *et al.*, *Journal of the autonomic nervous system* **30**, S79 (1990).
- [10] M. Risk, *et al.*, *Revista Argentina de Bioingeniería* **2** (1996).
- [11] M. Risk, *et al.*, *Revista Argentina de Bioingeniería* **2** (1996).
- [12] M. Risk, M. Berghoff, R. Freeman, *Computers in Cardiology 2000* (IEEE, 2000), pp. 411–414.
- [13] J. F. Sobh, M. Risk, R. Barbieri, J. Saul, *Engineering in Medicine and Biology Society, 1995., IEEE 17th Annual Conference* (IEEE, 1995), vol. 2, pp. 955–956.
- [14] R. Ihaka, R. Gentleman, *Journal of computational and graphical statistics* **5**, 299 (1996).
- [15] F. Yang, W. Liao, *IEEE engineering in medicine and biology magazine* **16**, 17 (1997).

## REFERENCIAS

- [16] W. J. Tompkins, *Editorial Prentice Hall* (1993).
- [17] W. H. Press, *Numerical recipes 3rd edition: The art of scientific computing* (Cambridge university press, 2007).
- [18] R. W. Schafer, L. R. Rabiner, *Proceedings of the IEEE* **61**, 692 (1973).
- [19] E. C. Ifeachor, B. W. Jervis, *Digital signal processing: a practical approach* (Pearson Education, 2002).
- [20] C. Rorabaugh, *Digital filter designer's hadnbook with c++ algorithms* (1997).
- [21] W. Venables, D. Smith, *An introduction to r: notes on r: a programming environment for data analysis and graphics. version 2.11. 0* (2010-04-22) (2010).
- [22] J. M. Bland, D. Altman, *The lancet* **327**, 307 (1986).
- [23] O. Rompelman, A. Coenen, R. Kitney, *Medical and Biological Engineering and Computing* **15**, 233 (1977).
- [24] R. D. Berger, S. Akselrod, D. Gordon, R. J. Cohen, *IEEE Transactions on biomedical engineering* pp. 900–904 (1986).

## Autores

**Marcelo Risk.** Doctor en Ciencias de la Ingeniería, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Doctor de la UBA, Facultad de Medicina, Magister en Dirección de Empresas (MBA), Universidad de Palermo - Ingeniero en Electrónica UTN. Formación predoctoral y posdoctoral: Fundación Favaloro y Harvard Medical School, Children's Hospital Boston, y Beth Israel Deaconess Medical Center, Boston, EEUU. Investigador categoría Independiente CONICET. Profesor y Coordinador del Doctorado en Ciencias de la Salud del Instituto Universitario del Hospital Italiano, Profesor Titular de Bioingeniería, Profesor y miembro de la comisión del doctorado en Ingeniería, Instituto Tecnológico de Buenos Aires. Lecturer, Harvard Medical School. Profesor de la Maestría en Explotación de Datos y Descubrimiento del Conocimiento, Facultades de Ciencias Exactas y Naturales y de Ingeniería, y Profesor del área Sistemas, Ciencias de la Computación, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales UBA.

**Eduardo San Román.** Médico, Facultad de Medicina UBA, especialista en Dirección de Instituciones de Salud, Escuela de Medicina Universidad Austral. Actualmente es jefe de la unidad de terapia intensiva de adultos del Hospital Italiano de Buenos Aires. Especialista en Medicina Crítica y tiene créditos además en medicina interna y cardiología. Visiting Fellow en el Jackson Memorial Medical Center de Miami, en la unidad de terapia intesiva, y en la unidad de trasplante de corazón y pulmón del Hospital de la University of Pittsburgh, EEUU. Durante el periodo 2005-07 fue presidente de la Sociedad Argentina de Terapia intensiva.

**Fernán González Bernaldo de Quirós.** Médico, diploma de honor, UBA. Especialista en Medicina Interna. Magíster en Gobierno y Dirección de Sistemas de Salud, Universidad Oberta de Cataluña, España. Profesor Titular de Fisiología, Salud Pública y Medicina Interna, Instituto Universitario del Hospital Italiano. Director de la Carrera de Especialista en Informática en Salud del IUHI. Vice-Director Médico de Planeamiento Estratégico del Hospital Italiano de Buenos Aires. Presidente del Comité Científico del Congreso Mundial de Informática en Salud (Medinfo 2017). Miembro Fundador de la International Academy of Health and Science Informatics y Fellow del American College of Health Informatics. Miembro del comité editorial de *Methods of Information in Medicine*, *Applied Clinical Informatics* y *Learning Health Systems*. Director de la Maestría de Investigación Clínica del Instituto Universitario del Hospital Italiano. Consultor en las Naciones Unidas (CEPAL). Miembro del Comité de Investigación del Hospital Italiano de Buenos Aires - Asesor para eHealth para la OMS. Technical expert and member for WHO Guidelines on Electronic Health Records. “IMIA François Grémy Award of Excellence for 2017” otorgado por la International Medical Informatic Association (IMIA) “debido a sus aportes significativos a la investigación, educación, desarrollo y aplicación de soluciones para la salud y la informática en salud a nivel global”.

# CAPÍTULO 7

## INGENIERÍA CARDIOVASCULAR

### Del laboratorio al paciente cardiometabólico

*Ricardo L. Armentano*<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ingeniería Traslacional, Universidad Favaloro

<sup>2</sup> Grupo de Investigación y Desarrollo en Bioingeniería, Universidad Tecnológica Nacional

<sup>3</sup> PEDECIBA. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo

#### Resumen

Durante los últimos 30 años se ha avanzado en la construcción de un marco teórico para facilitar la innovación en tecnología biomédica como ayuda al diagnóstico no invasivo y al posterior seguimiento de los efectos devastadores de los grandes flagelos del mundo moderno: la aterosclerosis, la hipertensión, la diabetes sin menospreciar los efectos del envejecimiento sobre el sistema cardiovascular. A pesar de la posibilidad de prevenirla, de conocer los principales factores de riesgo asociados a ella, y de contar con efectivos y seguros tratamientos para reducir su impacto, la enfermedad cardiometabólica continúa siendo en el mundo, causa principal de morbilidad y mortalidad. En este contexto, hemos dado respuesta a la necesidad de contar con abordajes de diagnósticos y/o terapéuticos que permitan reducir el impacto de la enfermedad sobre la base de consolidar e incrementar un equipo interdisciplinario, con el fin de desarrollar actividades de investigación y desarrollo en el campo de la Ingeniería Cardiovascular. Estas actividades se llevan a cabo mediante la sinergia entre diferentes instituciones de Argentina, Uruguay, Francia, Grecia, y España. Este trabajo ilustra la evolución de nuestro conocimiento de la Ingeniería Cardiovascular desde el inicio hasta el presente. Varias técnicas enfocadas en este tema a lo largo de nuestra historia se discuten en el mismo.

**Palabras clave:** *Pared arterial, mecánica vascular, elastina, colágeno, músculo liso, endotelio, función vascular, hipertensión, dilatación mediada por flujo, presión central, rigidez, edad vascular*



## Abstract

**Cardiovascular Engineering. From Laboratory Experiments to Point-of-Care of the Cardiometabolic Patient.** During the last 30 years, significative progress has been made in the construction of a theoretical framework to facilitate innovation in biomedical technology helping to the non-invasive diagnosis and the subsequent monitoring of the devastating effects of the great scourges of the modern world: atherosclerosis, hypertension, diabetes without neglecting the effects of aging on the cardiovascular system. To evaluate arterial physiopathology, complete arterial wall mechanical characterization is necessary. This study presents a model for determining the elastic response of elastin, collagen, and smooth muscle fibers and viscous and inertial aortic wall behaviors. We constructed the constitutive equation of the aortic wall on the basis of three different hookean materials and two nonlinear functions. The approach adopted by our group aimed at enlarging and encouraging the creation of an interdisciplinary team to develop research activities in the field of Cardiovascular Engineering, by means of the synergy between different institutions from Argentina, Uruguay, Greece, France and Spain. This paper illustrates the evolution of our knowledge of the arterial mechanics from the initial start times to the present. Several techniques focused on this topic throughout our history are discussed. To aid in patient-specific risk stratification and diagnosis, assessment of arterial structural and functional changes associated to a vascular disease in both early and advanced stages has been proposed, in order to limit the progression or revert vascular alterations.

**Keywords:** *Arterial wall, Vascular mechanics, Elastin, Collagen, Smooth Muscle, Endothelium, vascular function, hypertension, flow mediated dilation, central pressure, stiffness, vascular age*

## 1. Introducción

Las enfermedades cardiovasculares, especialmente la enfermedad coronaria y el accidente cerebro-cardiovascular, siguen siendo en el mundo la causa más común de morbilidad y mortalidad a pesar de la detección y tratamiento de los principales factores de riesgo tradicionales como la hipertensión arterial, la hipercolesterolemia, la diabetes y el tabaco. La implementación de diagnóstico de alto riesgo en individuos sin sintomatología de enfermedad cardiovascular integrando múltiples factores de riesgo tradicionales a partir de la determinación de diferentes ecuaciones (Framingham en USA y SCORE en Europa) obtenidas en estudios prospectivos ha mejorado parcialmente la estrategia de prevención. Sin embargo, a pesar de que la estratificación del multi-riesgo permite identificar a individuos con muy bajo o muy alto riesgo de contraer en los próximos 10 años un infarto de miocardio o un accidente cerebro-vascular, la mayor parte de la población está ubicada en el grupo de individuos con riesgo intermedio. Precisamente las complicaciones ocurren en individuos de riesgo bajo o intermedio en los cuales el poder predictivo de los factores de riesgo es bajo. Esto deja una importante población sin tratamiento preventivo adecuado.

Contrastando con su rol etiológico en el desarrollo de la enfermedad aterosclerótica, los factores de riesgo cardiovasculares han mostrado sus límites para predecir si un individuo desarrollará o no una complicación cardiovascular. Dicho de otra manera, por ejemplo, mientras es reconocido que el aumento de la presión arterial y del colesterol son una causa importante de accidente cerebro-vascular y de infarto de miocardio, y que la disminución de estos parámetros suelen bajar sustancialmente el riesgo de estas enfermedades en una población, la medida de la presión arterial y del colesterol son un test de detección muy pobre a nivel individual, puesto que son incapaces de distinguir aquellos que desarrollarán o no desarrollarán la complicación. Las enfermedades cardiometabólicas evolucionan durante muchos años en forma asintomática y silente, y frecuentemente su primera manifestación clínica se expresa con una complicación cardiovascular. Los progresos recientes de los que trata este artículo ofrecen la posibilidad de detectar diferentes anomalías de la función de las arterias en el hombre o de la estructura de la pared vascular. Al decir de Nicholo Machiavello, en el siglo XVI: “Al comienzo una enfermedad es fácil de curar pero difícil de diagnosticar; pero al pasar el tiempo y no haber sido reconocida o tratada, se convierte en fácil de diagnosticar y en difícil de curar”. Sin técnicas invasivas ni utilización de radiación ionizante con nuestros desarrollos actuales, puede conocerse el estado global del árbol arterial de un paciente y por ende su edad arterial puesto como ya decía Sydenham en 1928: “Un hombre es viejo como sus arterias”.

Desde el año 2007, la guía Europea para el manejo de la Hipertensión Arterial, incluye entre los marcadores de daño de órgano blanco a la mayoría de los marcadores que han surgido de nuestros laboratorios. El formalismo desarrollado en estas páginas, ha dado lugar a la realización de estudios que permiten para valorar la salud arterial y el riesgo de eventos en los pacientes añosos, diabéticos, hipertensos; así como los efectos devastadores de la hipercolesterolemia, la arteriosclerosis y la aterosclerosis entre otras patologías.

La Ingeniería Cardiovascular integra elementos de la biología, la ingeniería eléctrica, la ingeniería mecánica, la matemática y la física con el fin de describir y comprender al sistema cardiovascular. Su objetivo es desarrollar, comprobar y validar una interpretación predictiva y cuantitativa del sistema cardiovascular en un adecuado nivel de detalle, y aplicar conceptos resultantes hacia la solución de diversas patologías. La dinámica del sistema cardiovascular caracteriza al corazón y al sistema vascular como un todo, y comprende la física del sistema circulatorio incluyendo el continente (las paredes arteriales) y el contenido (sangre), así como la interrelación entre ambos. Este marco conceptual posibilitó desarrollar un alto grado de especificidad para abordar el fenómeno relativo a la interface pared arterial fluido (sangre) donde emergen las principales causas de las enfermedades cardiometabólicas. Esta interacción, además de potenciar la generación de tecnología a partir de desarrollos innovadores en las ciencias básicas, permite el desafío de la utilización de tecnología nacional, en centros de excelencia mundial en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades cardiovasculares relevantes. El abordaje multidisciplinario que converge en este proyecto, permite completar prácticamente todas las etapas de un proceso de investigación científica moderno: modelización matemática, simulación numérica, equipamiento “a medida”, innovación tecnológica y fisiopatología, sentando las bases para un grupo de con orientación a la biología molecular

y la ingeniería de tejidos. Para intentar abordar, entender y dar respuesta tecnológica a estos complejos mecanismos se estableció en 1986 una sociedad científica entre el Instituto Nacional de la Salud y la Investigación Médica de Francia (INSERM) y el Consejo Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICET, Argentina) para desarrollar actividades de investigación y desarrollo en los dominios de la ingeniería cardiovascular más específicamente en el campo de la dinámica del sistema arterial y honrar la trascendente meta de incrementar y fomentar la creación de un grupo multidisciplinario para investigar y formar recursos humanos, cumpliendo la inevitable función social de acceder a la innovación tecnológica para el mejoramiento de la salud pública a través de la sinergia entre la Facultad de Ingeniería (UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA, URUGUAY), el Instituto Langevin (PARIS VII DIDEROT), el Instituto Jean le Rond D'Alembert, (SORBONNE UNIVERSITES, FRANCIA), el Laboratorio de Polímeros Biomédicos del Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de los Materiales (INTEMA, FACULTAD DE INGENIERIA, UNIVERSIDAD DE MAR DEL PLATA), la Universidad Politécnica de Madrid (España) y el hospital europeo Georges-Pompidou (Facultad de Medicina Universidad Paris Descartes, París, Francia). Trabajando integradamente con los grupos mencionados, venimos investigando el desarrollo de técnicas que permitan cuantificar en forma localizada y con un elevado grado de precisión, marcadores precoces de las enfermedades cardiometabólicas. La fortaleza del trabajo conjunto se encuentra basada en la sólida experiencia en el campo de la ingeniería biomédica, fisiología, biomecánica, biomateriales, métodos numéricos y técnicas de mediciones no invasivas, que aportan los integrantes de estos equipos multinacionales y multidisciplinarios. Este apartado ilustra la evolución de nuestro conocimiento en el desarrollo del marco conceptual y formalismo desde los tiempos fundacionales hasta el presente. Se detallan los abordajes tecnológicos para llegar a la aplicación biomédica.

## **1.1. Un largo y fascinante periplo**

El maridaje de la física (propiedades hidrodinámicas y mecánicas) del sistema cardiovascular, y su relación con datos fisiológicos y patológicos ha sido el objetivo de varios científicos desde tiempos muy remotos. Aristóteles (384-322 a.C.) fue un elocuente defensor de la relación entre la Física (que él entendía como la descripción general del Universo) y el estudio de las cosas vivientes. El documento más antiguo que trata este tema se atribuye al papiro Ebers, 1550 a.C., donde se establece cierta relación entre la pulsatilidad y los latidos cardíacos. Las antiguas culturas china, egipcia e india establecieron relaciones entre las pulsaciones sanguíneas observadas en diferentes puntos y los latidos cardíacos. Por ejemplo, cientos de años atrás practicantes chinos usaban la palpación de las pulsaciones en la arteria radial como un medio para el diagnóstico del estado fisiológico de sus pacientes. En 1615, William Harvey (1578-1658) describió la circulación en un descubrimiento que puede ser catalogado como un desarrollo teórico debido a que llegó a tamizar sus convicciones a través de razonamientos lógicos, sin la necesidad de una comprobación experimental, postulando la obligada y lógica existencia de los vasos capilares, demostrados efectivamente en un microscopio por Marcello Malpighi (1628-1694) 45 años después. Un contemporáneo de

Harvey fue Galileo Galilei (1564-1642), quien fue estudiante de medicina antes de trascender como un físico famoso. Él descubrió la constancia del período del péndulo y la utilizó para medir la frecuencia cardíaca; fue asimismo inventor del termoscopio y diseñador de un microscopio (en el sentido actual), pero su mayor contribución al campo de la medicina fue tal vez su prédica sobre estos tópicos en Padua, donde Harvey era estudiante. Otro colega de Galileo fue Santorio Santorio (1561-1636), profesor de medicina en Padua y pionero en el uso de las mediciones físicas en medicina; diseñó y experimentó con una gran balanza para estudiar cambios metabólicos, por lo cual podría ser considerado el fundador del estudio moderno del metabolismo.

Los descubrimientos de Galileo y las demostraciones de Harvey y Santorio impulsaron la explicación de los procesos vitales mediante métodos físicos. Los fundamentos matemáticos de la fisiología inspiraron a René Descartes (1596-1650) a proponer una teoría fisiológica sobre bases mecánicas en el que se considera el primer libro moderno sobre este enfoque de la fisiología (publicado después de su muerte en 1662). Sobre bases teóricas desarrolló un complicado modelo animal incluyendo las funciones nerviosas. Estudios posteriores no pudieron comprobar la veracidad de este modelo lo cual provocó una gran pérdida de confianza en el enfoque de Descartes. A Giovanni Alfonso Borelli (1608-1679) celebre matemático, astrónomo y amigo de Galileo, se le atribuyó la escuela “iatrofísica” o “iatromatemática”. En su obra maestra, el libro *De motu animalium* (1680-1681), presenta una fisiología mecánica basada enteramente sobre la naturaleza corpuscular de la materia, en un intento de extender a la biología el riguroso estilo del análisis geométrico usado por Galileo en mecánica. Robert Boyle (1627-1691) estudió los pulmones y Robert Hooke (1635-1703) postuló la famosa ley de la elasticidad y fue además quién acuñó la palabra célula para designar a la unidad anatómica y fisiológica de los seres vivos. Thomas Young (1773-1829), el creador del módulo que lleva su nombre, fue un célebre médico londinense; sus trabajos sobre la teoría de la luz estaban dirigidos al astigmatismo en lentes y al color de la visión. En 1773, Hales registró la magnitud de la presión sanguínea alrededor de la cual se desarrollan las oscilaciones, pero para el conocimiento de la forma del pulso se debió esperar hasta 1863 cuando Chaveau y Marey registraron la presión cardíaca. Si bien el concepto de la onda reflejada fue tempranamente analizado por Harvey se debe a Frederick Mahomed (1872-1874) la descripción de la influencia de la onda reflejada en la modificación de las formas del pulso en pacientes con elevada presión arterial. De la propagación de ondas en las arterias se ocupó Leonhard Euler (1707-1783) en 1775. Mientras era estudiante de medicina, Jean Poiseuille (1799-1869) inventó el manómetro de mercurio para medir la presión en la aorta de un perro y desarrolló su ley de flujos viscosos luego de la graduación. Pero quién ha recibido el título de Padre de la Bioingeniería ha sido Hermann von Helmholtz (1821-1894), quién fue profesor de fisiología y patología en Königsberg, profesor de anatomía y fisiología en Bonn, profesor de fisiología en Heidelberg y finalmente profesor de física en Berlín (1871). Sus contribuciones abarcaron la óptica, la acústica, la termodinámica, la electrodinámica, la fisiología y la medicina. Se deben mencionar otros nombres por demás conocidos en los ámbitos de la ingeniería y la fisiología. Adolf Fick (1829-1901) fue el autor de la ley que rige la transferencia de masa, mientras que Diederik Johan Korteweg (1848-1941) y Horace Lamb (1849-1941) escribieron excelentes trabajos sobre la propagación de ondas en

arterias. Otto Frank (1865-1944) trabajó sobre hidrodinámica cardíaca, y Balthazar Van der Pol (1889-1959) modelizó en 1929 el corazón con realidad. Para completar esta amalgama entre la física y la biología sería interesante recordar que Thomas Young, cuando intentaba conocer la formación de la voz humana justificaba su licenciatura en física, diciendo que sin ella jamás hubiera podido escribir su disertación médica ni entender los temas referidos a ella. En ultimo 50 años y conjuntamente con el advenimiento de nuevas técnicas de medición se han desarrollado los conceptos modernos de la transmisión del pulso como los tratados por Mc Donald y Taylor, sin olvidar los reveladores trabajos de la teoría del flujo oscilante de Womersley .

## **1.2. A la Ingeniería Cardiovascular la trajo un cisne negro (no la cigüeña)**

Un “cisne negro” según dicen, es un hecho fortuito que satisface tres propiedades: gran repercusión, probabilidades imposibles de calcular y efecto sorpresa. En 1982 estaba culminando mis estudios de ingeniería electrónica con cierta insatisfacción vocacional, porque no me resultaba muy cómodo el ropaje de ingeniero: faltaba la componente vital, las aplicaciones paradigmáticas sobre las cuales vibraban mis compañeros eran para mi algo inerte, me parecía todo muy ramplón y superestructurado. Mi interés estaba en los sistemas vivientes y no en la ingeniería clásica porque en esos momentos se los veía como algo diametralmente opuesto, irreconciliables en estas latitudes pero no así en el mundo académico de los países centrales. Y la repuesta llegó de la mano de mi cisne negro, el Dr. René G. Favaloro (1923-2000 prestigioso cardiocirujano argentino, reconocido mundialmente por ser quien realizó el primer bypass cardíaco en el mundo). Gracias a él, se ha prolijado una singular trayectoria en el campo de la Ingeniería Biomédica área Cardiovascular, desde sus fundamentos teóricos hasta su aplicación en la práctica clínica, la que en mi posición como líder de proyecto me condujo a conseguir dos títulos de doctorado: el primero en Ciencias Fisiológicas en la Universidad de Buenos Aires (1984), y el segundo en Biomecánica de la Universidad de París VII Diderot (1999). Posteriormente estos estudios me han conducido a dos postdoctorados, uno en el departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de la República en Uruguay con el Profesor Ricardo Vellutti y como Becario Fondo Clemente Estable CONICYT en el área Fisiología Cuantitativa (2002-2003) otro a través de una beca senior Bourse, de la Ville de Paris en el área de Modelos predictivos de riesgo cardiovascular bajo la dirección del profesor Alain Simon en el Hôpital Européen Georges Pompidou, Université de Paris V Descartes en París Francia (2008-2009). Desde allí hasta el presente se han formado en este grupo y bajo mi dirección 15 doctores en el campo de Ingeniería Cardiovascular.

Este nuevo campo comenzó facticamente tres años antes de mi graduación como Ingeniero Electrónico, mediante una beca de pregrado en el Departamento de Ingeniería Biomédica de la Fundación Favaloro, para el desarrollo de equipos para la investigación biomédica. Allí recibí una formación intensiva en “Procesamiento digital de señales y modelización de

sistemas biológicos”. En 1986 siendo investigador independiente en el Departamento de Investigación y Docencia de la Fundación Favaloro obtuve mi primera beca de investigación concedida por el en el Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale INSERM (Francia) – CONICET (Argentina), en el marco de un acuerdo de cooperación, para investigar en Mecánica Arterial en el Centro de Medicina Preventiva Cardiovascular del Hospital Broussais, en París, Francia, bajo la dirección del Dr. Jaime Levenson. Desde allí hasta el presente, se han realizado los avances que se detallan en este artículo comenzando con el estudio de las propiedades mecánicas de la aorta torácica descendente en animales conscientes en estados fisiológicos, bajo la acción de distintas drogas vasoactivas (angiotensina II, nitroglicerina, adrenalina y noradrenalina), en diversas condiciones de bloqueos farmacológicos (atropina, propranolol y atropina asociada con propranolol) y en condiciones fisiológicas normales sin ningún tipo de bloqueo [1, 2]. En esos años iniciáticos se concentraron en la construcción de modelos in vivo para su uso en el laboratorio. Y esto fue la llave maestra porque la utilización de modelos in vivo de animales sigue siendo hoy en día un imperativo cuando hablamos de investigación concerniente a fenómenos fisiológicos, especialmente aquellos relacionados a mecanismos fisiopatológicos de las enfermedades. Los modelos tradicionales de animales pequeños (por ejemplo, ratas, ratones, conejos de indias, hámsters y conejos) han proporcionado a la comunidad científica acceso a modelos fisiológicos in vivo para estudiar mecanismos relacionados con enfermedades humanas y sus procesos biológicos básicos. Al considerar modelos animales apropiados para la investigación, el investigador y la institución patrocinadora deben primero evaluar sus responsabilidades con respecto a las regulaciones existentes. Todos los laboratorios que utilizan animales deben reconocer y cumplir con las definiciones actuales de cuidado y uso humano de los animales. En este sentido, cuanto más cercana esté la evaluación in vivo de una situación clínica, más clínicamente aplicables serán los resultados de la evaluación. En particular, la oveja es a menudo el modelo superior en la investigación cardiovascular, ya que es relativamente fácil de controlar muchas de sus variables fisiológicas. Además, los parámetros hemodinámicos y metabólicos de las ovejas a menudo se aproximan a la condición humana, especialmente con respecto a la trombogenicidad [3]. Nuestros primeros estudios relevantes aparecen en 1991, mostrando que la relación entre la tensión y la deformación de la pared aórtica en animales conscientes es estrictamente no lineal y dicha relación está constituida por la característica elástica de las fibras de elastina, las cuales soportan la resistencia a la deformación a bajos niveles de presión, la característica elástica de las fibras de colágeno, las cuales soportan la resistencia a la deformación a muy altos niveles de presión, y una función no lineal que representa el reclutamiento de la fibras de colágeno conforme la arteria es distendida [4].

Fueron estudiados los efectos de la calcinosis experimental inducida por vitamina D3 sobre las propiedades viscoelásticas de la pared arterial en perros conscientes. A los mismos, se les indujo calcinosis a través de una dieta conteniendo 500.000 UI de vitamina D3 por día durante 10 días. Antes y durante la administración de la vitamina D3 se estudiaron las propiedades viscoelásticas de la pared arterial. Este trabajo mostró que la calcinosis severa y acelerada que produce significativos depósitos de calcio a lo largo de todo el árbol arterial, está paradójicamente acompañada de una reducción en la rigidez de la pared aórtica, debido principalmente a los cambios estructurales y funcionales a las que fueron sometidas las

fibras colágenas. Este fenómeno tiene importantes implicancias fisiopatológicas concernientes al desarrollo de aneurismas [5]. En animales con hipertensión renovascular, se demostró que la acción de un inhibidor de la enzima de conversión actúa sobre la elasticidad de la pared arterial distendiéndola hasta restaurar los niveles compatibles con la normalidad además de la consabida disminución de la presión arterial, principalmente actuando sobre la conducta elástica de las fibras de elastina y músculo liso [6].

La contribución elástica del músculo liso vascular en animales conscientes ha sido llevada a cabo [7], utilizando un modelo de Maxwell modificado de tres elementos consistiendo en un componente contráctil que actúa como un simple elemento viscoso (en el músculo en reposo no ofrece resistencia permanente al estiramiento). Dos años después, se realizó la caracterización total de las propiedades mecánicas que posee la pared arterial como todo sistema físico: elasticidad, viscosidad e inercia se realizó en animales crónicamente instrumentados [8]. La parte elástica pura se subdividió en las correspondientes a elastina, colágeno y músculo liso. Se desarrollaron un conjunto de procedimientos para la cuantificación de la histéresis que presenta la relación presión-diámetro de la pared arterial en términos de viscosidad e inercia. Con la totalidad de las propiedades mecánicas parietales identificadas, se desarrolló un modelo para una mejor comprensión de la fisiología y fisiopatología de las arterias.

La influencia del endotelio sobre el comportamiento biomecánico de la pared arterial, se estudió mediante la dependencia endotelial sobre la elasticidad arterial modulada por la viscosidad sanguínea y la frecuencia cardíaca [9, 10, 11]. Dichos trabajos muestran que la elasticidad parietal de las arterias está influenciada por las condiciones reológicas de la sangre, probablemente debido a la presencia o ausencia de factores de relajación endotelial. Una acción directa del cizallamiento sobre el músculo liso vascular, a través de las células endoteliales, aumenta su elasticidad. Por otro lado, un incremento en la elasticidad arterial fue también observada luego de remover la adventicia, probando así la existencia de una función adventicial [12, 13, 14]. Fue también caracterizado los efectos del flujo retrogrado en la función arterial [15]. La presión, el flujo y el diámetro aórtico, se midieron en ovejas en situación basal y bajo solicitaciones extremas de flujo oscilatorio y retrogrado. Durante condiciones de flujo retrogrado extremo, forzado por un balón de contrapulsación se encontró un patrón de contracción y activación del músculo liso, con un incremento en la función de amortiguación y un decrecimiento en la función de conducción de las grandes arterias [15]. Para una mejor comprensión de las propiedades viscoelásticas de las arterias, y del comportamiento dinámico de la pared a diferentes excitaciones, se desarrolló un modelo simplificado para la obtención simultánea de los módulos elásticos, inerciales y viscosos y se evaluó el módulo complejo de Young en función de la frecuencia, en animales conscientes. Se utilizó un modelo paramétrico para caracterizar la dinámica del sistema a partir de la medición de presión y diámetro de las arterias en condiciones basales y después de activación del músculo liso. En activación por fenilefrina, los tres módulos anteriores aumentaron significativamente sugiriendo una disminución en la función de amortiguamiento [16, 17]. La utilización de modelos lineales autoregresivos es tan robusta y operativa que fue implementada posteriormente [18, 19], para evaluar in vitro la función del amortiguamiento

vascular (damping) de las arterias corótidas comunes humanas. En este trabajo que tuvo alto factor impacto se concluyó que, las células de musculo liso, son amortiguadores viscoelásticos inteligentes, que ejercen un efecto protector contra el estiramiento de la pared arterial en las altas frecuencias, ajustando la disipación de energía para proteger las fibras parietales de la usura mecánica producida por el pulso de presión. Estos resultados sugirieron que durante la hipertensión arterial, esta acción vascular protectora (modulada por la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina) reduce la carga extra al corazón y mantiene un mayor amortiguamiento de la pared arterial.

Las propiedades mecánicas de la pared arterial fueron posteriormente modeladas como una red fractal de resortes y amortiguadores viscosos. Este orden fractal, que puede ser entendido como una distribución infinita de elementos en un árbol o escalera, conduciendo al diseño de los denominados modelos fraccionarios [20]. En este sentido, la génesis fractal de todo el árbol arterial es incuestionable. Por esta razón, se evaluó también el comportamiento temporal de las variables hemodinámicas asociadas, aplicando metodologías de procesamiento (análisis de series cronológicas) en línea con dicha concepción. La caracterización de los cambios morfológicos sufridos por la forma de onda de la presión en hipertensión aguda arterial resultó en la acuñación del término "desarrugamiento"(unwrinkling) de la onda de presión [21].

## **2. Dinámica de la pared arterial**

### **2.1. Animales crónicamente instrumentados**

Se entiende por animal crónicamente instrumentado a aquél que ha sido sometido a una cirugía, bajo estrictas normas de asepsia, en la cual se han implantado los instrumentos de medición (transductores de presión, catéteres intravasculares o intracardíacos, sensores de dimensiones, dispositivos para alterar o interrumpir el flujo sanguíneo por un determinado vaso, etc.) en una primera etapa, y que luego de un período de recuperación postoperatoria es estudiado usando aquellos instrumentos [7]. Todos los procedimientos realizados para la concreción de este trabajo han estado de acuerdo a las normas de ética de nuestra institución, las cuales están en concordancia con los lineamientos de la American Physiological Society y de la Declaración de Helsinki concernientes al cuidado y uso de animales de laboratorio publicada por el US National Institutes of Health [22].

Debido a que la instrumentación ha sido realizada con antelación, el investigador dispone de un acceso directo e inmediato de las variables a estudiar sin necesidad de anestesiarse al animal, pudiéndose hacer estos estudios con el animal en estado consciente. Entiéndase por animal consciente, al animal que, sin ningún tipo de sedación y en estado de vigilia, conserva íntegramente su relación con el medio, es decir, que durante las sesiones experimentales tanto el sistema nervioso central como el sistema nervioso autónomo están trabajando normalmente. Esto es muy importante cuando se está estudiando el sistema cardiovascular dada



la activa participación del sistema nervioso en la regulación hemodinámica. Es importante remarcar que es un modelo de fisiología integrativa donde los mecanismos compensatorios fisiológicos están operativos e intactos [7]. Si bien esto dificulta el “control de variables”, facilita la extrapolación de los resultados a la situación clínica.

La mejor forma de medir la presión dentro del sistema cardiovascular por medio de microtransductores de estado sólido. Este tipo de microtransductores de presión tiene la ventaja de no requerir una columna fluida porque la parte sensora queda en contacto directo con la sangre, y por lo tanto poseen mayor respuesta en frecuencia que el sistema de catéter con columna fluida. Un tipo de estos microtransductores varía sus dimensiones entre 2.5 y 7 mm, y han sido diseñados para que puedan permanecer dentro del organismo por períodos largos de tiempo. Existe otro tipo de microtransductores intravasculares de estado sólido que están preparados para ser usados por cateterismo, pero no pueden quedar implantados en forma crónica dentro de un animal. Sin embargo, estos cuentan con la posibilidad de ser calibrados *in vitro* inmediatamente antes de ser usados. Consisten en un catéter que en su extremo posee un sensor de presión en sentido lateral al eje longitudinal. Una variante de este tipo de catéteres de estado sólido posee dos sensores de presión separados por una distancia de 10 cm.

La sonomicrometría es una técnica que mide la distancia entre pares de pequeños transductores implantados en el músculo o en tejidos similares. Franklin y Rushmer fueron los primeros en describir esta técnica en 1956. A partir de entonces, Franklin y otros han mejorado y refinado la sonomicrometría [7]. La distancia es determinada midiendo el tiempo de tránsito del ultrasonido entre el par de transductores (microcristales ultrasónicos). El tiempo es calibrado a una distancia equivalente. Para que la medición sea válida, la velocidad del sonido en el medio debe ser conocida y constante, independiente del tiempo, temperatura, orientación de las fibras, etc. Es sabido que la velocidad del sonido en el músculo cardíaco y en la sangre es muy cercana a un mismo valor (aproximadamente 1580 m/s). La enorme ventaja de esta técnica es que permite estudiar dimensiones cardiovasculares en animales crónicamente instrumentados a tórax cerrado. Los microcristales son fabricados en nuestro laboratorio con cerámica de zirconato titanato de plomo, de forma circular, con una frecuencia de emisión de 3 ó 5 MHz, con un diámetro que varía de 2 a 7 mm. La cerámica piezoeléctrica tiene soldado un cable a cada una de sus caras, las cuales están recubiertas con resina poliuretánica en forma semiesférica a modo de lentilla. La morfología de los pares de microcristales depende de la distancia y el tejido para el cual han sido construidos.

El aparato que activa el cristal emisor y recibe la señal captada por el receptor se denomina sonomicrómetro. Este aparato (Triton Technology, San Diego, California) posee cuatro canales por lo que permite medir cuatro señales en forma simultánea. Cada canal posee un módulo de calibración independiente que permite calibrar cada señal en milímetros lineales en un rango de 2 a 123 mm.

## **Módulo Integrado (adquisición y almacenamiento) de señales fisiológicas**

La adquisición y tratamiento simultáneo de señales cardiovasculares tiene que realizarse con módulo integrado que es el encargado de acondicionar las señales provenientes de sensores de presión invasivos de alta respuesta en frecuencia (Königsberg, 1200Hz), señales de electrocardiografía (ECG), señales de velocidad Doppler (velocidad center line) y señales de diámetros arteriales provenientes de cristales piezoeléctricos (sonomicrometría). Este módulo permite conectar los distintos tipos de sensores, teniendo en cuenta que se requieren 2 canales de diámetros, 2 de tonometría o mecanográficos, 3 canales de ECG (derivaciones), 2 de velocidad Doppler y 2 de presión invasiva (Königsberg). Para realizar un pre-procesamiento de las señales y convertir al módulo en un sistema semi-independiente, se dispone de un microcontrolador de bajo consumo, conversores analógico/digital (12bits, 5KHz max.) integrados y una conexión a una PC. Todo el procesamiento, visualización, almacenamiento, impresión y confección de resultados se realiza directamente a través de un software especialmente diseñado que cuente con las prestaciones de cada caso particular. Un sistema de bases de datos integrado, permite enviar los datos en formatos estándar para el intercambio de información remota con cualquier otra estación de trabajo, aún dentro de una red local. El sistema permite el ingreso de imágenes (secuencias), provenientes de un ecógrafo en modo B. Estas imágenes tienen un formato estándar (NTSC/PAL) y son ingresadas a través de una placa digitalizadora de imágenes. El software especializado se encarga del procesamiento de las imágenes y su almacenamiento en tiempo real. La placa de adquisición cuenta con una señal de disparo que podrá ser calibrada con la señal de ECG proveniente del módulo de adquisición de señales para coordinar determinados estudios no invasivos.

## **2.2. Estudios in vitro**

Se desarrolló para el abordaje experimental una estación de ensayos para estudios hemodinámicos in-vitro de venas y arterias, para estudiar el comportamiento in-vitro de interfaces sangre pared vascular (pared-fluido), en ambientes fisiológicos simulados (Temperatura, Presión, PH), de vasos, arterias y prótesis vasculares. Este conjunto que funciona como un corazón y sistema vascular artificial, permite interponer un segmento vascular y sobre el mismo imponer las mismas condiciones hemodinámicas que tenía el sistema in vivo del cual fue obtenido el segmento vascular [23, 24]. Este sistema permite la adición de un biorreactor para su aplicación a la ingeniería de tejidos.

## **2.3. Biorreactor**

Esta plataforma desarrollada por nuestro grupo en cooperación con un centro de la Universidad de Patras, permite generar condiciones de temperatura, tensión de cizallamiento, PH y presión, cuyo correcto establecimiento es vital para asegurar la viabilidad de las célu-

las en cultivo. El diseño fue llevado a cabo por procesamiento numérico computarizado (CFD), para la simulación dinámica de fluidos dentro de la cámara de flujo del biorreactor y simulación del fenómeno de conducción térmica en el material constitutivo del mismo. Esta última asegura una temperatura constante en el área de cultivo. Otro aspecto de relevancia, consiste en la selección de las geometrías adecuadas para realizar este tipo de experiencias y la solución a distintos tipos de problemas para el uso del dispositivo con microscopia en tiempo real. Es por ello que en lo concerniente al estudio de los resultados, resulta necesario el uso de microscopia de fluorescencia y de contraste de fases. Esta técnica permite efectuar un estudio sobre la orientación celular, diferenciación y respuesta a estímulos de distintas índoles, obteniéndose así una caracterización de la evolución del tejido en función del tiempo. Adicionalmente, son necesarias mediciones espaciales de óxido nítrico, tensión de cizallamiento y glucosa, con el objeto de determinar la capacidad de difusión [25, 26].

## **2.4. Instrumentación quirúrgica**

Durante los 30 días previos a la cirugía los animales fueron controlados clínicamente. La cirugía de instrumentación se realiza bajo anestesia general, inducida con tiopental sódico (20 mg/kg intravenoso). Luego de realizada la intubación endotraqueal, la anestesia es mantenida con enflurano (1.5 % en oxígeno a 4 L/min) a través de un tubo de Bain conectado a un respirador Bird Mark VIII (Palm Springs, California). Una toracotomía a nivel del quinto espacio intercostal permite visualizar al corazón, envuelto en el pericardio, al cayado aórtico y sus ramas y la aorta torácica descendente, luego de haber desplazado hacia el diafragma al pulmón izquierdo. Esta cirugía permite posicionar los sensores y posibilitar el estudio de las variables hemodinámicas en un entorno de fisiología integrativa.

## **2.5. Ecuación Constitutiva de la Pared Arterial**

El desarrollo de un modelo representativo del comportamiento de la pared arterial implica, como primera premisa, la identificación apropiada de los parámetros que gobiernan su función. En el análisis de la respuesta mecánica vascular, la presión arterial constituye el fenómeno responsable de la excitación del modelo, mientras que la variación de diámetro arterial se manifiesta como su respuesta asociada [27]. El enfoque clásico, sugiere utilizar componentes elementales que presentan una característica dominante, con el objeto de que su respuesta combinada permita estimar el comportamiento observado. El análisis de la trayectoria del bucle tensión-deformación de la pared arterial, da cuenta de la presencia de componentes elásticas puras (resortes ideales), inerciales puras (masas ideales) y viscosas puras (amortiguadores ideales). La acción conjunta de las mismas representará a la tensión ejercida por la pared para oponerse al estiramiento o demanda mecánica aplicada la misma [8].

Los resortes ideales se encuentran caracterizados por su constante elástica  $E$ , conforme lo

expresado por la ley de Hooke. La misma supone una relación lineal entre la tensión aplicada ( $\sigma$ ) y la deformación longitudinal experimentada ( $\epsilon$ ). En el caso de los amortiguadores ideales, la constante de amortiguamiento ( $\eta$ ) constituye la relación existente entre  $\sigma$  y la tasa de cambio temporal de  $\epsilon$ . Las componentes elásticas presentan reacción a la magnitud de la deformación, mientras que las componentes viscosas reaccionan a la velocidad con que dicha deformación tiene lugar. En virtud de lo expuesto, las componentes inerciales (M) reaccionan a la tasa de cambio de la velocidad. Estas últimas suelen ser despreciadas debido a su escasa contribución [27]. La misión del componente elástico es la de absorber los impactos producidos por la pulsatilidad característica de la onda de presión arterial. El mismo acumula energía cinética durante la sístole, la cual será devuelta durante la diástole, ante la ausencia del estímulo. El objetivo del amortiguador viscoso es el controlar la intensidad en la devolución de dicha energía, protegiendo al elemento elástico de reacciones bruscas que conduzcan a la pared, al impactar contra el fluido, hacia un régimen de oscilación permanente. Resumidamente, la función del amortiguador es la de disipar en forma de calor parte de la energía entregada por el elemento elástico [18, 27].

El modelo adoptado para representar la conducta de la pared arterial, contempla la capacidad de la misma para regular activamente su efecto de amortiguamiento. La ecuación constitutiva desarrollada en nuestro laboratorio permite realizar una biopsia matemática de la pared vascular caracterizando la respuesta elástica individual de las fibras de elastina, colágeno y músculo liso así como el componente viscoso e inercial de la pared asociada a procesos de hipertrofia e hiperplasia de las células musculares [7, 8, 18]. El tejido vascular se comporta como un material inteligente, con capacidad de ajustar los valores correspondientes a las componentes elástica y viscosa, con el fin de adaptarse en forma óptima a las diversas condiciones de pulsatilidad u oscilación, ya sea a corto, mediano o largo plazo [18].

## **2.6. Arreglo musculares de resortes-amortiguadores inteligentes**

Las vibraciones de alta frecuencia tienden a producir injurias mecánicas en todo sistema físico. En un artículo que tuvo alto impacto biomédico e ingenieril [18] hemos demostrado que las células de músculo actúan como un arreglo de resortes amortiguadores inteligentes, ejerciendo una acción protectora contra el estiramiento de altas frecuencias, ajustando la disipación de energía como sucede justamente en el caso de la hipertensión arterial donde la hiperpulsatilidad típica de la enfermedad produce alta energía vibracional como lo haría un terremoto sobre las estructuras civiles tales como edificios o puentes o cualquier estructuras de hormigón armado. En este artículo mostramos el análisis *in vitro* e *in vivo* de arterias carótidas comunes humanas utilizando técnicas de modelización adaptativa para calcular la impedancia mecánica, la fluencia y el relajación de tensiones. A partir de esos datos hemos demostrado que las células de músculo liso actúan como resortes amortiguadores inteligentes disipando componentes de alta frecuencia que pueden ser las responsables finales de los efectos dañinos que provocan usura mecánica sobre la pared arterial. En los pacientes hipertensos la disipación de energía se encuentra fuertemente aumentada protegiendo la pared arterial en sí misma pero produciendo una carga extra a la eyección ventricular, concluyendo

que las células de músculo liso modulan su grado de activación y el remodelamiento de la pared arterial, previniendo las vibraciones de alta frecuencia que dañan los componentes de pared arterial [19].

## **2.7. Mapeo viscoelástico de la pared arterial y modelos in silico**

Uno de los puntos más robustos de nuestro aporte en la caracterización de la conducta viscoelástica de venas y arterias fue realizado mapeando diferentes regiones del árbol vascular evaluando vasos de diferente composición y dimensiones [28, 29, 30]. Estudios in vitro de presión y diámetro vascular fueron medidas en 4 venas diferentes y en 11 diferentes arterias usando el sistema in vitro anteriormente descrito. Para una completa caracterización se modeló la respuesta viscoelástica con una función transferencia diámetro presión arteriales a partir de la cual las propiedades viscosas, elásticas e inerciales pueden calcularse latido a latido así como la energía disipada por el damping parietal y la función amortiguamiento de cada segmento. Se realizó un mapeo viscoelástico de las diferencias regionales de los vasos sanguíneos ovinos con la disipación de energía de cada segmento. Venas y arterias muestran un comportamiento mecánico correspondiente a la función biomecánica que cumplen para su estructura, localización y geometría. Las 11 arterias seleccionadas para el mapeo fueron [31] carótida, tronco braquiocefálico, aorta ascendente, aorta proximal, medial y distal, y arteria femoral. El sistema circulatorio in vitro se utilizó para imponer formas de onda de presión, las cuales fueron evaluadas internamente usando microestructores de estado sólido insertados en cada arteria a través de una pequeña incisión. Para la obtención de las formas de onda del diámetro externo se recurrió a la técnica sonomicrométrica anteriormente mencionado.

En este trabajo hemos demostrado como un simple modelo viscoelástico como el modelo de Kelvin puede ser usado para predecir simultáneamente el diámetro crosseccional y la presión arterial caracterizando como las propiedades viscoelásticas son modificadas en el espacio y el tiempo desde el corazón y hasta la periferia. Para un mayor formalismo se ha desarrollado un modelo matemático basado en las mediciones de presión y diámetro de los vasos sanguíneos y aplicando técnicas de optimización no lineal para computar aquellos parámetros de modelos viscoelásticos que minimizan la diferencias entre los valores estimados y los medidos. Fue demostrado, en este trabajo, que el modelo viscoelástico captura las características esenciales de los datos en forma significativamente mejor que el modelo elástico tradicional.

Estos estudios han confirmado que el módulo elástico cambia a lo largo del árbol vascular, siendo más rígidas aquellas que están ubicadas más lejos del corazón, en los vasos proximales, mientras que el tiempo de relajación viscoelástico que permanece constante o no significativamente estadístico a lo largo de diferentes puntos de medición del árbol arterial. En forma análoga pero más elegante se aplicó la teoría viscoelástica cuasilineal [32], en mediciones obtenidas en la aorta torácica descendente y arterias carótidas de arterias ovinas y humanas. En un paso más elaborado se aplicó un modelo 1D para una mimificar una

red dinámica del sistema arterial con 14 vasos para asimilarlo luego a una serie de datos temporales *ex vivo* 0D para determinar la dinámica de la relación presión área croseccional en 11 segmentos de oveja Merino macho [33]. El modelo se utilizó concomitantemente para estimar el perfil de entrada y los parámetros correspondientes a la resistencia y la complacencia total de la red distal y para demostrar los efectos de la incorporación viscosidad parietal. En uno de los mas reciente trabajos, la viscoelasticidad fue descrita por un modelo de Kelvin-Voigt no lineal en el que los coeficientes se ajustaron utilizando series temporales de presión y radio medidas obtenidas experimentales en una red arterial ovina [34]. Un hallazgo singular consistió en el que el tiempo de relajación viscoelástico (definido por la relación entre el coeficiente viscoso y el módulo de Young) era casi constante a lo largo de la red arterial elucidando una nueva constante biológica. Utilizando este mismo esquema de un modelo 1D paciente específico [35] se llegó a evaluar las reflexiones de onda de pulso cuando se utilizan diferentes técnicas de reparación endovascular de aneurisma de aorta abdominal.

## **2.8. Estudios de Criopreservación**

Un injerto arterial ideal sería aquel con idénticas propiedades funcionales con la arteria huésped. En este sentido, la reconstrucción quirúrgica de la arteria carótida común se realiza en varias situaciones clínicas, utilizando prótesis de politetrafluoroetileno expandido (ePTFE) o injertos de vena safena (SV). El uso de una arteria fresca o criopreservada / descongelada aparece como una alternativa interesante a partir del criterio anteriormente descrito. Uno de las aplicaciones de nuestro marco conceptual consistió en calcular propiedades funcionales de las arterias carótida y femoral, frescas y criopreservadas, y de injertos venosos y sintéticos [36]. Se llegó a establecer que las arterias carótida y femoral frescas y criopreservadas / descongeladas eran más parecidas, tanto a nivel viscoelástico como funcional, que los injertos de ePTFE y SV.

Es bien conocido que la impronta de donación y trasplante de tejidos difiere entre países latinoamericanos y europeos, pero el común denominador es la deficiencia de tejido. Para dar respuesta a este problema, se evaluó la viabilidad de establecer una red intercontinental para el intercambio de tejidos estudiando la distensibilidad de las arterias ovinas divididas en tres grupos: intacto (pruebas *in vivo*, animales conscientes), control fresco (pruebas *in vitro* inmediatamente después de la extirpación de la arteria, Uruguay) , y crioinjertos (pruebas *in vitro* de las arterias criopreservadas-transportadas-descongeladas, España). Este trabajo aportó el trascendente resultado que entre el control fresco y los crioinjertos no hay alteraciones de la distensibilidad arterial, ni debidas a la criopreservación ni a la red de intercambio intercontinental, a pesar de los cambios histológicos esperados en los crioinjertos. Como resultado, los crioinjertos serían capaces de garantizar un menor desajuste biomecánica [37] si son usados para reemplazar a los injertos de ePTFE y SV.

### **3. Dinámica Endotelial**

La dinámica del sistema arterial conlleva el análisis de sus componentes principales: las paredes arteriales, el flujo sanguíneo y la interrelación entre ambos, la cual esta gobernada con procesos complejos que pueden dar lugar a enfermedades arteriales [9, 11]. Uno de los objetivos finales de este marco conceptual es conocer la relación entre el comportamiento elástico de la pared y el cizallamiento de la sangre en la pared causada por el endotelio. Para este fin, se caracterizó el comportamiento elástico arterial de segmentos arteriales (tronco braquiocefálico) ovinos intactos y des-endotelizados y posteriormente se sometieron a diferentes niveles de viscosidad sanguínea, manteniendo los niveles de flujo constantes. Esencialmente, los cambios en el diámetro arterial medio causados por un aumento en la viscosidad de la sangre fueron más pronunciados en las arterias intactas que en las arterias sin endotelio. Para los mismos niveles de viscosidad sanguínea, las variaciones del módulo elástico en relación con su valor basal, antes y después de la eliminación del endotelio, fueron significativamente diferentes. Estos resultados muestran que la elasticidad de la pared arterial determinada por su módulo elástico incremental esta fuertemente influenciada por la viscosidad sanguínea (y por su esfuerzo de corte), probablemente debido a la presencia o ausencia de factores de relajación del endotelio o la activación del músculo liso arterial causada por la tensión cizalla directa sobre el músculo cuando se eliminaron las células endoteliales. La hipótesis subliminal del artículo es que el endotelio sano podría proteger la integridad del acoplamiento ventricular-arterial y caso contrario en presencia de disfunción endotelial, el aumento de la viscosidad sanguínea podría implicar cambios en el tono muscular con aumento de la rigidez arterial, afectando así a la función ventricular izquierda como una bomba de presión adaptativa [9, 11].

### **4. Dinámica Nolineal Aplicada**

#### **4.1. Aplicación de Modelos Fraccionales**

Los modelos viscoelásticos son útiles para comprender mejor la mecánica de las paredes arteriales en condiciones fisiológicas y patológicas. Como se ha indicado anteriormente, el comportamiento de los materiales viscoelásticos suele estar representado por modelos sencillos compuestos por elementos elásticos y viscosos, que pueden ser resortes lineales y amortiguadores. Modelos viscoelásticos fraccionales posibilitan dar un paso mas elegante en la caracterización de dinámica arterial, ya que ellos pueden incluir un elemento fraccional, también conocido como resortiguador apocope de resorte y amortiguador, en inglés spring-pot. Puede establecerse una correspondencia con una 'red fractal' de resortes y amortiguadores, con el fin de construir modelos dinámicos de orden fraccional similares para abordar las propiedades biomecánicas de los tejidos. El elemento de spring-pot representa un comportamiento intermedio entre un resorte lineal y un amortiguador lineal, ha demostrado ser muy

eficiente en la descripción biomecánica de los tejidos reológicos. Se propusieron dos modelos fraccionarios alternativos [20], con uno y dos spring-pots, aplicados sobre datos reales de animales anestesiados en estado de control y durante activación del músculo liso vascular. Sólo el modelo con dos spring-pots reproduce correctamente el estado de activación muscular con la mejor aproximación entre modelo y realidad. La relajación de tensiones de las arterias humanas se describió adecuadamente con esta metodología en [38] y su modelo numérico se desarrolló en una tesis doctoral que dió lugar a una importante publicación científica sobre los modelos fraccionales in silico [39].

## **4.2. Complejidad del arbol arterial: Analisis de las formas de onda de presion**

Los componentes de los modelos de orden fraccional pueden estar también relacionados con estructuras fractales que podrían a su vez estar asociadas a estructuras complejas de colágenos, presentes en los tejidos arteriales [40]. Este concepto fractal, fuertemente asociado a la génesis de la red arterial, dió lugar a un “enfoque holístico sobre las variaciones de la dimensión fractal a lo largo de la red arterial”, basado en el análisis de complejidad de la forma de onda de presión arterial, tanto en condiciones de salud como de enfermedad. La idealización del sistema arterial como un único conducto cerrado, con propiedades constantes o variables a lo largo de su longitud, ha generado resultados aceptables en relación con las perturbaciones de baja frecuencia [41]. Sin embargo, en el caso de frecuencias altas, las discrepancias son evidentes. La justificación de esta última situación reside en el hecho de que, aunque el sistema arterial no es un conducto único, está constituido por un conjunto de ramificaciones tubulares. Además, debe también considerarse el efecto de atenuación producido por la viscosidad de la pared arterial sobre las ondas que se propagan a través de la red. Uno de los aspectos más relevantes es la relación inversa que existe entre la frecuencia y la longitud de onda, ya que las longitudes de onda correspondientes a altas frecuencias producirán diferencias de fase significativas entre las ondas procedentes de diferentes sitios de reflexión. Por esta razón, la consideración del gradiente de rigidez junto con la naturaleza distribuida de las ramificaciones terminales afecta significativamente el comportamiento general del sistema arterial [41]. Las referencias explícitas a la creación de redes vasculares a partir de reglas fractales estas profusamente decriptas en la literatura [42], las cuales están en línea con las observaciones realizadas embrionariamente por Taylor [41]. Un fractal es una estructura compuesta por subunidades en múltiples niveles o escalas (auto-similitud), que se asemejan a la estructura de todo el objeto, y tiene una dimensión fraccional, rompiendo así los valores de las dimensiones enteras definidos para los objetos euclidianos (1, 2 o 3). La fracción obtenida (Fractal Dimension, FD) describe la existencia de una estructura altamente detallada cuya representación es absolutamente ignorada por la geometría tradicional. Varios patrones encontrados en la naturaleza (y particularmente en biología) manifiestan un comportamiento fractal. Pueden observarse en las ramificaciones arteriales y venosas, estructuras cardiopulmonares, conductos biliares y también en series de tiempos fisiológicos como la frecuencia cardíaca y la presión arterial.



El efecto de la estructura del árbol arterial en el comportamiento fractal de la presión arterial se llegó a comprobar en la estudios en animal in vivo [21]. En primer lugar, se aplicó la dimensión fractal, como medida no lineal, con el fin de cuantificar complejidad a través de la morfología de la forma de onda (o rugosidad) de la presión arterial aórtica. Seguidamente, se evaluó la rigidez de la pared arterial aórtica utilizando la primera derivada de la relación presión-deformación, mientras que el efecto de la reflexión de la onda se estimó a partir de las mediciones del índice de aumento (AIX). Con el fin de evitar las reflexiones de las ondas periféricas lejanas, se implantó un oclisor neumático hecho de goma de silicona posicionado alrededor de la aorta torácica descendente, proximalmente a los transductores presión y diámetro arterial (piezoresistivos y ultrasónicos, respectivamente) accionado externamente con un manguito. Se procedió al calculo de la rigidez aórtica por medio de la relación presión – diámetro puramente elástica P-D elast tanto en estado basal como de oclusión (activación del manguito e inducción de la reflexión total de ondas). Se ajustó un modelo bifásico, donde la pendiente a la relación a P-D elast a bajos niveles de presión se relacionó con la respuesta elástica de elastina, mientras que la pendiente a P-D elast en la zona de alta presión arterial indicó el reclutamiento de fibras de colágeno. Como resultado destacado, se observó una disminución significativa en la complejidad de la forma de onda de presión aórtica (señalada por una disminución de FD) durante el intervalo de oclusión concomitante a la rigidificación de la pared aórtica aórtico y al aumento de AIX. Esta singular situación también se constató durante la evaluación del efecto del pinzamiento cruzado arterial [43], (una estrategia común utilizada en cirugía vascular) sobre la rigidez arterial, en los seres humanos. El índice de aumento normalizado a 75 latidos por minuto (AIX @ 75) y FD se calcularon a partir de series de presión arterial radial durante la cirugía. En las intervenciones aórtica e iliofemoral, después del pinzamiento arterial, la media de AIX @ 75 aumentó y FD disminuyó significativamente siguiendo una imagen especular; lo contrario ocurrió después de liberar el campleo arterial. La complejidad de la presión arterial depende de las reflexiones.

### **4.3. Modelando la presión arterial por medio de solitones**

Como uno de los objetivos mas elevados sobre todo a nivel formal se abordó la propagación de la presión del pulso idealizándolo como una combinación de solitones (un paquete de ondas solitario que mantiene su forma mientras se propaga a una velocidad constante) a lo largo de la circulación sistémica. Se utilizó y se validó para tal fin la aplicabilidad de un modelo compartimental, en relación con la variación de la amplificación del pulso de presión asociada con el envejecimiento arterial [44]. Las formas de onda de la presión sanguínea arterial se sintetizaron usando solitones y luego se validaron mediante formas de onda obtenidas de individuos de grupos etarios bien diferenciados. Se verificaron cambios morfológicos en la forma de onda de la presión sanguínea como consecuencia del proceso de envejecimiento (debido al aumento de la rigidez arterial) y se modelaron mediante fenómenos de interacción no lineal presentes en la propagación de ondas mecánicas no lineales.

## **5. Desde la mesa del Laboratorio a la cabecera de la cama del paciente. Estado del Arte**

Cuando se modela la circulación sanguínea, el corazón suele ser considerado el elemento principal, el único que tiene una relevancia real en el funcionamiento del sistema, despreciando así los vasos sanguíneos, que son considerados simples conductos que conectan la bomba cardíaca con los órganos. Este enfoque básico subestima el papel prominente demostrado por los vasos sanguíneos en general y por las arterias en particular (especialmente la aorta) en la regulación del flujo sanguíneo impuesto periódicamente por la eyección cardíaca. Por lo tanto, el estudio del sistema arterial es muy importante, ya sea para entender su funcionamiento intrínseco o para evaluar las condiciones de acoplamiento óptimo con el corazón. La carga hidráulica arterial exhibida por la circulación hacia el ventrículo izquierdo puede dividirse en tres componentes principales: la resistencia vascular sistémica, la elasticidad arterial y la onda reflejada presente en la circulación, ya que su existencia es mandatoria en un sistema distribuido [45].

Aunque la resistencia arterial tiene el efecto más significativo sobre la eyección ventricular, es bien sabido que un aumento en la rigidez arterial resulta en un acoplamiento menos eficiente entre el corazón y las arterias, lo que es concomitante a un uso ineficiente de la energía suministrada por el ventrículo izquierdo. En particular, una caída en la capacitancia arterial podría causar un aumento en la presión sistólica [46] y por lo tanto imponer una carga suplementaria sobre el corazón [47]. Por otra parte, a pesar de ser un fluido heterogéneo, no newtoniano y por lo tanto difícil de estudiar, la sangre proporciona información extremadamente útil [48]. La viscosidad de la sangre depende de las condiciones de velocidad de la sangre, y por ende de los fenómenos de agregación y deformación eritrocitarios y por supuesto del nivel de hematocrito [9]. Todos estos parámetros están interrelacionados y están presentes en nuestro abordaje experimental pensando en lo clínico. Entre las aplicaciones mas relevantes de este marco conceptual puede mencionarse a la Ingeniería de tejidos que surge como una alternativa futurista, pasando del laboratorio al paciente, y que ha prohiado la Medicina Regenerativa. La ingeniería tisular se define como la aplicación de principios y métodos de la ingeniería y las ciencias de la vida a la comprensión de las relaciones estructura-función en condiciones normales o patológicas. Esta tecnología multidisciplinaria se utiliza actualmente para desarrollar sustitutos biológicos para reparar o regenerar tejidos y órganos funcionales. Los tres pilares de la ingeniería tisular son la biología celular, las ciencias de la ingeniería y la medicina clínica. Estas disciplinas enfrentan los siguientes retos: identificar los tejidos y órganos que pueden ser reemplazados; recolección de células madre embrionarias y adultas; la comprensión de la señalización celular; la realización de vascularización *in vitro* e *in vivo*; el desarrollo de matrices de construcción y biorreactores en desarrollo. Los estudios preliminares de nuestro grupo direccionados esta nueva impronta se basaron en la evaluación de las propiedades mecánicas de los injertos vasculares electrohilados (monocapa y bicapa), para ser utilizados en la ingeniería de tejidos y actuar como reemplazos vasculares [49, 50, 51] utilizando una gran parte de las técnicas desarrolladas en este artículo.

Las mismas técnicas han sido aplicadas para estudiar enfermedad cardiometabólica clínicamente continúa siendo la principal causa de morbilidad y mortalidad en el mundo. En este contexto, los nuevos abordajes médicos han llamado a la necesidad de tener enfoques diagnósticos y terapéuticos para superar las limitaciones de las acciones tradicionales para prevenir o tratar la enfermedad cardíaca, sobre la base de la determinación de los factores de riesgo y la reducción del impacto de este flagelo [52, 53, 54]. El cable a tierra del formalismo anteriormente desarrollado se tendió para evaluar los efectos intrínsecos de la hipertensión arterial en grandes arterias humanas, utilizando mediciones de diámetros arteriales y complacencia de la pared arterial [55]. Para avanzar con la caracterización de la enfermedad arterial se aplicó un modelo viscoelástico [56] que permitió la evaluación de las propiedades mecánicas de la pared en pacientes hipertensos esenciales. Una variación de este modelo logró mimificar las relaciones presión-diámetro de las arterias carótida y femoral, obtenidas de forma no invasiva de sujetos normotensos e hipertensos [57]. La determinación de la viscosidad arterial está intrínsecamente relacionada con la cantidad y calidad del músculo liso arterial, y para comprobar esa hipótesis se correlacionaron las alteraciones de la viscosidad de la pared en pacientes hipertensos y su relación con el espesor íntima-media (IMT) [58]. Y para este fin se desarrolló un sistema de procesamiento de imágenes para medir el IMT que posteriormente fue validado clínicamente [59] con el fin de obtener mediciones de las formas de onda del diámetro arterial y el IMT a partir de imágenes de ultrasonido en modo B. Los efectos vasculares de los fármacos antihipertensivos en hipertensos hipercolesterolémicos también fueron estudiados [60] a partir de las relaciones presión-diámetros carotídeos.

La traslación del marco conceptual se ve complementado con el cálculo de la inercia de la pared de la arteria carótida que también se evaluó en sujetos normotensos e hipertensos utilizando un modelo autorregresivo, discreto y lineal (ARMA) que permitió la estimación simultánea de la contribución elástica, viscosa e inercial de la dinámica de la pared [61]. Una vez completada la determinación de estas 3 propiedades mecánicas parietales, se imponía como próximo paso la caracterización mecánica del endotelio pero en arterias humanas in vivo. Para este fin, se desarrolló una nueva técnica para estudiar la reactividad arterial en humanos, ofreciendo la posibilidad de detectar una alteración en la función arterial relacionada con la aterosclerosis precoz [62]. Posteriormente, se procedió a una comparación de los efectos de un betabloqueante frente a un inhibidor de la enzima de conversión en pacientes hipertensos [63], a fin de determinar los diferenciales de efectos mecánicos e intrínsecos de ambos medicamentos sobre la elasticidad de la arterial braquial. Un paso concluyente fue determinar en humanos la modulación del amortiguamiento inteligente en la energía disipada de la pared carotídea en pacientes hipertensos [18].

Ya llegando a un enfoque holístico de la enfermedad cardiometabólica, se procedió a caracterizar la estructura y la dinámica de la pared arterial en diabetes mellitus tipo 2 [64]. Y finalmente se logró asociar el riesgo cardiovascular con el marcador más poderoso de enfermedad coronaria, el calcio coronario de forma tal que esta sea una evaluación integral de estado de salud de un paciente específico [65, 66].

Finalmente este mismo marco conceptual pudo aplicarse al estudio biomecánico y funcional

de homoinjertos vasculares crioconservados de humanos y animales, con análisis pre y post-implantes en términos de mecánica de la pared vascular, incluyendo la implementación de un sistema intercontinental de intercambio de tejido vascular [67, 68, 69, 37].

## **5.1. Laboratorio vascular no invasivo**

Nuestros desarrollos llevados a un abordaje no invasivo permiten la realización -en una hora- de los estudios necesarios para valorar la salud arterial y el riesgo de eventos de los pacientes, a través de los llamados biomarcadores tisulares, que se integran en el **laboratorio vascular no invasivo** [70], con cuatro módulos principales:

1. velocidad de onda de pulso: rigidez arterial
2. vasodilatación mediada por flujo: función endotelial
3. espesor intima media: edad arterial-remodelado arterial
4. caracterización de placas: vulnerabilidad personal

Este gran aporte clínico que surge de la ingeniería cardiovascular permite la detección de la enfermedad cardiometabólica antes de la complicación cardíaca o cerebral y ofrece una oportunidad única de prevenir muchos eventos cardiovasculares y cerebrales. Por lo tanto la combinación de la estimación de los factores de riesgo con la detección precoz de la enfermedad cardiometabólica que brindan nuestros desarrollos puede ayudar al médico a identificar aquellos pacientes que necesitan una terapéutica cuya agresividad debería adecuarse al nivel de riesgo. Este enfoque además de aumentar la objetividad en la individualización del riesgo vascular permite decidir que individuo necesita o no un tratamiento preventivo, permitiendo además un seguimiento de la eficacia del tratamiento.

## **5.2. Edad Vascular**

Con el fin de desarrollar y aplicar estrategias para mejorar la estratificación del riesgo cardiovascular y la detección de enfermedades vasculares subclínicas, se diseñó, desarrolló e implementó una herramienta informática para promover el diagnóstico de la enfermedad subclínica. Se desarrolló una base de datos centralizada para almacenar información obtenida en forma no invasiva desde cualquier lugar, y con este abordaje desarrollar un modelo biomatemático integrando los valores de estructura y función arterial en la evaluación tradicional de riesgo cardiovascular. El objetivo fue generar un informe detallado e integral para el especialista comparando datos de pacientes con datos de referencia de la población sana y generar un informe similar utilizando un algoritmo de edad arterial estructural y funcional evaluar el estado de las arterias de los pacientes [54]. El enfoque adoptado se basó

en la determinación de la presencia de placas en las arterias carótidas comunes, internas y externas, IMT y valoración del diámetro instantáneo, cálculo de PWV, análisis de ondas de pulso periféricas y centrales, función endotelial (dilatación mediada por flujo). y el índice tobillo-brazo [70]. El riesgo de enfermedad cardiovascular a 10 años se estimó con el modelo de riesgo tipo Framingham [17, 65], considerando la edad, colesterol LDL y HDL, presión braquial (variables continuas), sexo (sexo), tabaco y diabetes (variables categóricas). Para un procedimiento mas sistemático se aplicó un modelo de regresión lineal para obtener una edad (calculada o teórica) en función de los marcadores vasculares no invasivos (Velocidad de onda del pulso, IMT y AIX @ 75). En consecuencia, la edad obtenida se utilizó para calcular el riesgo de Framingham de enfermedad coronaria a 10 años. La consideración de los marcadores vasculares no invasivos resultó en diferencias entre la edad calculada (teórica) y cronológica en sujetos con enfermedad cardiovascular, siendo mayor la primera. El riesgo de Framingham estimado (o reajustado) para la enfermedad cardiovascular de 10 años (considerando la edad teórica) fue mayor que el puntaje de riesgo de Framingham calculado antes de la evaluación vascular. La integración de los parámetros vasculares para calcular la edad arterial o biológica para calcular el riesgo global podría ayudar en la individualización y la precisión del riesgo [54, 70]. Las plataformas digitales para el monitoreo cardiaco remoto incluirán mediciones de variables cardiometabólicas para luego tener esa información directamente subida a la nube y así analizar el estado de un grupo de pacientes y la evolución de su tratamiento [71] en forma remota y no invasiva.

## **6. Comentarios Finales**

Hay pruebas suficientes para sugerir que las grandes arterias están claramente involucrados en el diagnóstico y evaluación de las complicaciones de las enfermedades cardiometabólicas [72]. El desarrollo de nuestras herramientas asociadas a la epidemiología cardiovascular mediante mediciones no invasivas permiten evaluar (y también reducir) el riesgo de enfermedad cardiovascular (o eventos) y mejorar la prevención primaria. Los mecanismos de las complicaciones circulatorias deben concebirse dentro de su naturaleza constante y pulsátil. La presión pulsátil desempeña un papel importante en la patogénesis de la enfermedad, sobre todo después de la mediana edad; una mayor pulsatilidad se relaciona con eventos clínicos significativos [73, 74]. Debe tenerse en cuenta que si estamos frente a un conducto rígido (por ejemplo la aorta) se aumenta el suministro de energía pulsátil a la circulación, transfiriendo así esta naturaleza pulsátil hemodinámica a la microvasculatura vulnerable de los tejidos periféricos que conduce a un inexorable daño estructural. A la luz de halagos recientes, la velocidad de la onda del pulso carotídeo-femoral (un método estándar de oro para la evaluación de la rigidez arterial y un predictor independiente de la mortalidad por cardiovascular), el AIX (información sobre la amplitud y posicionamiento de la onda retrógrada de presión y flujo) y las evaluaciones de la presión pulsátil en la aorta ascendente pueden utilizarse como biomarcadores de daño vascular [72].

La calcificación aórtica abdominal (AAC) y la rigidez arterial central son predictores inde-

pendientes de mortalidad y eventos cardiovasculares no fatales en pacientes en diálisis. La evaluación de AAC y la rigidez arterial es factible en un entorno clínico y ambos se pueden utilizar para la estimación exacta del riesgo CV en una población heterogénea [61, 75]. Las estrategias de tratamiento deben centrarse en suprimir o inhibir las calcificaciones de la formación vascular, manteniendo la función arterial. La reducción de la rigidez arterial y el amortiguamiento de la presión arterial podrían mejorar aún más el enfoque actual para el tratamiento de la enfermedad arterial, reduciendo el riesgo de infarto o accidente cerebrovascular.

Es bien sabido que la disfunción endotelial es un factor fisiopatológico importante en la enfermedad cardiometabólica y precede a las alteraciones morfológicas en la pared arterial, desempeñando así un papel crítico en el contexto de la aterogénesis. Dado que la medición de la función endotelial es la técnica más utilizada, y como esta requiere un especialista altamente cualificado para la adquisición y el post-procesamiento de las imágenes obtenidas de ecografía utilizando criterios unificados relacionados con el sitio específico de las mediciones, esto se transforma en el principal obstáculo en la práctica clínica [76]. En contraste, la tonometría arterial periférica se desarrolló como una técnica relativamente novedosa, reproducible y simple, donde se analizan los cambios en las formas de onda del pulso de volumen, adquiridas en la zona de microvasculatura de las arterias periféricas del dedo. Sin embargo en esta nueva técnica, las señales adquiridas pueden verse afectadas por variables que no están relacionados con los factores endoteliales y, debido a que estas medidas están realizadas en la microvasculatura, este enfoque podría ser inútil en pacientes con enfermedades vasculares periféricas [77]. Nuestra propuesta es realizar la evaluación simultánea de ambas técnicas para ayudar a mejorar la evaluación de la reactividad vascular [77].

## **Conclusiones**

La prevención médica tiene como objetivo identificar los individuos aparentemente sanos de aquellos que desarrollan una enfermedad y así iniciar el tratamiento preventivo de estos últimos. Esta identificación de los pacientes en riesgo asintomáticos es parte de una medicina preventiva que según se preconiza tendrá que tomar una relevancia cada vez mayor en el correr de los próximos años. Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte de ambos sexos en el mundo occidental, una muerte cada tres minutos es de origen vascular, cardíaca o cerebral. Los factores regionales, especialmente los psicosociales, han contribuido a una epidemia de diabetes tipo II así como al síndrome metabólico, las cuales involucran factores de riesgo cardiovasculares tales como la resistencia a la insulina, la obesidad visceral, la hipertensión y la dislipemia aterogénica. Gracias a los avances tecnológicos en la exploración no invasiva de los vasos humanos, ahora es posible detectar alteraciones preclínicas y así seleccionar entre los grupos de riesgo, las personas con alteraciones silentes de los que están libres de la misma. Aquellos modelos físico-matemáticos que integren todos los factores hemodinámicos cardiovasculares, podrían ser de un notable interés en la práctica clínica diaria para predecir la ocurrencia de eventos cardíacos en mayor detalle que con el uso de los factores de riesgo tradicionales. Con este nuevo enfoque se reducirían los

costos, se podría optimizar el manejo terapéutico, y mejorar los resultados en el seguimiento y tratamiento del paciente. El enfoque cardiometabólico se concentró en la ingeniería del sistema arterial, en el marco conceptual de la aplicación de la física a las ciencias de la vida en un entorno realista tendiente a los dominios de la Fisiología Integrativa. Este desafío viene a llenar un vacío en la literatura especializada que se podría atribuir al hecho de que los organismos vivos son sistemas dinámicos altamente complejos: multirealimentados, no lineales y con cierta organización jerárquica. Estas condiciones que se refieren al estudio de las propiedades reológicas de los materiales vivos plantean una serie de problemas específicos, y requieren a menudo, un enfoque diferente que se utiliza las ciencias exactas. Las relaciones entre cantidades mensurables y los parámetros que describen las propiedades mecánicas de los materiales son extremadamente complejas e imponen en consecuencia modelos matemáticos más o menos complicados, basado en aproximaciones que tienden a ser más realista a medida que las técnicas de medición se hacen más precisas. Por esta razón el planteamiento teórico articulado con el abordaje experimental debe ser considerado como un todo, una sola unidad conceptual. En esta idea la gran ventaja son los estudios in vivo en la experimentación animal puesto que constituye la aproximación más cercana al ser humano para probar nuevos medicamentos, para mejorar los enfoques terapéuticos y diagnósticos no-ortodoxos sin someter al paciente a procedimientos de riesgo.

Es mediante el trabajo en la experimentación científica y la colaboración con grupos internacionales interdisciplinarios que el autor descubrió la inmensa riqueza de esta investigación no convencional. Este artículo está destinado a posicionarse dentro de un contexto más amplio, más fundamental que el de la aplicación inmediata habida cuenta de su carácter formal contribuyendo a su manera, a responder a esa pregunta constantemente renovada sobre las particularidades de los mecanismos puestos de la naturaleza al servicio del hombre, pero que el hombre todavía no ha puesto a su servicio.

## **Agradecimientos**

El autor quisiera agradecer a los Dres. Rene Favaloro, Jaime Levenson, Alain Simon, Ricardo Pichel y al Dr. Ing Leandro Cymberknop, así como a todos los colegas de la Universidad Favaloro (Argentina), de la Universidad de la República (Uruguay), de la Universidad Mar del Plata (Argentina), de la Universidad Tecnológica Nacional (Argentina), de la Universidad Pierre et Marie Curie (Francia), de la Universidad Paris Descartes (Francia) por sus valiosos aportes a esta trayectoria.

## **REFERENCIAS**

- [1] E. Cabrera, *et al.*, *Hypertension* **11**, I (1988).

## REFERENCIAS

- [2] R. Armentano, *et al.*, *American Journal of Hypertension* **3**, 476 (1990).
- [3] R. Bianco, *et al.*, *Large Animal Models in Cardiac and Vascular Biomaterials Research and Assessment* (Elsevier Inc., 2013), pp. 653–676.
- [4] R. Armentano, *et al.*, *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* **260**, H1870 (1991).
- [5] E. Cabrera Fischer, *et al.*, *Circulation Research* **68**, 1549 (1991).
- [6] E. Fischer, *et al.*, *Cardiovascular Research* **27**, 1039 (1993).
- [7] J. Barra, *et al.*, *Circulation Research* **73**, 1040 (1993).
- [8] R. Armentano, J. Barra, J. Levenson, A. Simon, R. Pichel, *Circulation Research* **76**, 468 (1995).
- [9] E. Cabrera Fischer, *et al.*, *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* **282**, H389 (2002).
- [10] D. Bia, E. Cabrera-Fischer, Y. Zócalo, R. Armentano, *Artificial Organs* **35**, 883 (2011).
- [11] F. Pessana, D. Bia, Y. Zocalo, L. Cymberknop, R. Armentano, *IFMBE Proceedings* (2013), vol. 39 IFMBE, pp. 383–386.
- [12] E. Cabrera Fischer, *et al.*, *Acta Physiologica* **188**, 103 (2006).
- [13] E. Fischer, *et al.*, *Circulation Journal* **74**, 1014 (2010).
- [14] E. Cabrera-Fischer, D. Bia, Y. Zócalo, S. Wray, R. Armentano, *Artificial Organs* **37**, 1041 (2013).
- [15] D. Bia, Y. Zócalo, R. Armentano, E. De Forteza, E. Cabrera-Fischer, *Artificial Organs* **33**, 266 (2009).
- [16] L. Gamero, R. Armentano, J. Barra, A. Simon, J. Levenson, *Experimental Physiology* **86**, 519 (2001).
- [17] L. Gamero, R. Armentano, J. Levenson, *Computers in Cardiology* **29**, 513 (2002).
- [18] R. Armentano, *et al.*, *Hypertension* **47**, 384 (2006).
- [19] R. Armentano, *et al.*, *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine* **26**, 62 (2007).
- [20] D. Craiem, R. Armentano, *Biorheology* **44**, 251 (2007).
- [21] L. Cymberknop, *et al.*, *Journal of Physics: Conference Series* **477** (2013).
- [22] NRC, Guide for the care and use of laboratory animals, *Tech. Rep.* 85-23, The NATIONAL ACADEMIES Press (1985).



- [23] D. Bia, *et al.*, *Latin American Applied Research* **35**, 217 (2005).
- [24] D. Suarez-Bagnasco, R. Armentano, G. Balay, C. Negreira, *Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBS* (2013), pp. 735–738.
- [25] B. Valerie, L. E., S.-C. C., M. Peter, P. Abhay, *Annals of biomedical engineering* **31**, 1017 (2003).
- [26] S. Dermenoudis, Y. Missirlis, *Journal of Biomechanics* **43**, 1426–1431 (2010).
- [27] W. Milnor, *Hemodynamics* (Williams & Wilkins, 1989).
- [28] Y. Zócalo, F. Pessana, D. Santana, R. Armentano, *Artificial Organs* **30**, 265 (2006).
- [29] Y. Zócalo, D. Bia, F. Pessana, R. Armentano, *Artificial Organs* **31**, 575 (2007).
- [30] Y. Zócalo, D. Santana, S. Lluberas, R. Armentano, *Biological Research* **41**, 227 (2008).
- [31] D. Valdez-Jasso, *et al.*, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* **56**, 210 (2009).
- [32] D. Valdez-Jasso, *et al.*, *Annals of Biomedical Engineering* **39**, 1438 (2011).
- [33] C. Battista, *et al.*, *Journal of Mechanics in Medicine and Biology* **16** (2016).
- [34] A. Ghigo, X.-F. Wang, R. Armentano, J.-M. Fullana, P.-Y. Lagrée, *Journal of Biomechanical Engineering* **139** (2017).
- [35] M. Casciaro, *et al.*, *Health and Technology* **6**, 173 (2016).
- [36] D. Santana, *et al.*, *Cell and Tissue Banking* **8**, 43 (2007).
- [37] D. Bia, *et al.*, *Artificial Organs* **33**, 662 (2009).
- [38] D. Craiem, F. Rojo, J. Atienza, R. Armentano, G. Guinea, *Physics in Medicine and Biology* **53**, 4543 (2008).
- [39] J. Pérez Zerpa, A. Canelas, B. Sensale, D. Bia Santana, R. Armentano, *Applied Mathematical Modelling* **39**, 4767 (2015).
- [40] T. C. Doehring, A. D. Freed, E. O. Carew, I. Vesely, *J Biomech Eng* **127**, 700 (2005).
- [41] M. G. Taylor, *Physics in Medicine & Biology* **10**, 539 (1965).
- [42] J. B. Bassingthwaighe, R. B. King, R. Sa., *Circ Res* **65**, 578 (1989).
- [43] M. Politi, *et al.*, *Health and Technology* **6**, 229 (2016).
- [44] M. Alfonso, *et al.*, *Journal of Physics: Conference Series* **705** (2016).
- [45] N. W., *Am J Hypertens* **18** (2005).

## REFERENCIAS

- [46] A. Simon, J. Levenson, *Int J Cardiol* **16**, 1 (1987).
- [47] C. J. B. pressure and, *Am J Med* **55**, 351 (1973).
- [48] O. Baskurt, M. Hardeman, R. M.W., H. Meiselman, *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics* (IOS Press, 2007).
- [49] D. Suarez Bagnasco, *et al.*, *Materials Science and Engineering C* **45**, 446 (2014).
- [50] M. Alfonso, L. Cymberknop, D. Suárez, F. Castillo, R. Armentano, *Health and Technology* **6**, 181 (2016).
- [51] R. Armentano, *et al.*, *Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBS* (2015), vol. 2015-November, pp. 3533–3536.
- [52] M. Naghavi, E. Falk, H. S. Hecht, P. K. Shah, S. T. Force, *Crit Pathw Cardiol* **5**, 187 (2006).
- [53] D. Bia, *et al.*, *International Journal of Hypertension* **2011** (2011).
- [54] D. Santana, *et al.*, *IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine* **16**, 943 (2012).
- [55] R. Armentano, *et al.*, *Hypertension* **18**, 657 (1991).
- [56] R. Armentano, *et al.*, *Hypertension* **26**, 48 (1995).
- [57] A. Christen, *et al.*, *Medical Progress through Technology* **21**, 5 (1997).
- [58] R. Armentano, *et al.*, *Hypertension* **31**, 534 (1998).
- [59] S. Graf, *et al.*, *Ultrasound in Medicine and Biology* **25**, 1353 (1999).
- [60] J. Megnien, *et al.*, *Journal of Cardiovascular Pharmacology* **38**, 520 (2001).
- [61] L. Gamero, *et al.*, *Journal of Hypertension* **17**, 1825 (1999).
- [62] J. Levenson, F. Pessana, J. Garipey, R. Armentano, A. Simon, *Journal of the American College of Cardiology* **38**, 1668 (2001).
- [63] R. Armentano, *et al.*, *Medicina* **61**, 535 (2001).
- [64] A. Christen, *et al.*, *Current diabetes reviews* **6**, 367 (2010).
- [65] G. Chironi, *et al.*, *International Journal of Cardiology* **151**, 200 (2011).
- [66] C. Bucci, W. Legnani, R. Armentano, *Health and Technology* **6**, 159 (2016).
- [67] D. Bia, *et al.*, *Transplant International* **18**, 1346 (2005).

- [68] D. Bia, *et al.*, *Annals of Biomedical Engineering* **37**, 1273 (2009).
- [69] D. Bia, *et al.*, *Cryobiology* **64**, 50 (2012).
- [70] D. Santana, Y. Zócalo, R. Armentano, *IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine* **16**, 287 (2012).
- [71] R. Armentano, L. Kun, *Health and Technology* **4**, 95 (2014).
- [72] M. E. Safar, M. F. O'Rourke, E. D. Frohlich, *editors. Blood Pressure and Arterial Wall Mechanics in Cardiovascular Diseases. 2014 edition* (Springer, New York, 2014).
- [73] J. Blacher, R. Asmar, S. Djane, G. M. London, S. Me., *Hypertension* **33**, 1111 (1999).
- [74] S. P. Glasser, *et al.*, *Am J Hypertension* **27**, 555 (2014).
- [75] F. Verbeke, *et al.*, *Clin J Am Soc Nephrol* **6**, 153 (2011).
- [76] T. Dhj, *et al.*, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **300**, H2 (2011).
- [77] C. Arbeitman, L. Cymberknop, I. Farro, J. Cardelino, R. Armentano, *Health and Technology* **6**, 189 (2016).

## Autor

**Ricardo L. Armentano.** Tiene una destacada trayectoria en el campo de la hemodinámica vascular –tanto en sus fundamentos teóricos como en su aplicación clínica–, justipreciada a través de sus dos doctorados, uno en Ciencias Fisiológicas, en la Universidad de Buenos Aires (1994), y otro en Ciencias Físicas (Biomecánica), en la Universidad de París, Diderot (1999), así como en dos posdoctorados, uno en el Departamento de Fisiología de la Universidad de la República en Uruguay (Fisiología Cuantitativa, 2002) y otro en el Hôpital Européen Georges Pompidou, Universidad Paris V, Descartes (Modelos predictivos de riesgo cardiovascular, 2008). El Dr. Armentano ha adquirido reconocimiento internacional en el campo de la investigación vascular traslacional con más de 300 publicaciones, incluyendo libros, capítulos de libros y artículos in extenso.



# La Bioingeniería en la Argentina



**ANCEFN**

Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

ISBN 978-987-4111-13-5



9 789874 111135