

CAPÍTULO

4

MÉTODO MÍNIMAMENTE INVASIVO

Definiremos como métodos mínimamente invasivos, aquellos cuyo principal objetivo es analizar el tejido de interés, en nuestro caso el miocardio, preservando la integridad del tejido a estudiar así como del resto de tejidos sanos. Los métodos mínimamente invasivos emplean herramientas de cirugía que son conducidas por el cirujano a los órganos a ser estudiados, usando orificios naturales del cuerpo humano o pequeñas incisiones. Esto representa grandes avances tanto para el paciente como para el sistema de salud al disminuir considerablemente los días de estancia en el hospital.

En este apartado, utilizaremos la espectroscopia de impedancia eléctrica para la monitorización on line e in situ del estado del tejido de miocardio utilizando el método transmural empleando un catéter intracavitario. También, se evalúa el método a 3 electrodos (3EM) en comparación con el método a 2 electrodos (2EM), la monitorización de la posición del catéter y la mejor posición del electrodo de referencia en medidas de impedancia eléctrica mínimamente invasivas. Para ello, se construirán modelos de elementos finitos en 3D que nos permitirán caracterizar el efecto del movimiento del catéter y el efecto de la respiración sobre la impedancia medida, situaciones que se presentan en experimentos prácticos tanto in vitro como in vivo.

4.1. Introducción

A continuación se hace una breve introducción a las dos principales áreas de cardiología en las que creemos que los métodos de impedancia podrían ser de mayor interés: la ablación cardíaca y la detección de rechazo cardíaco.

En el procedimiento de ablación por radiofrecuencia con catéter (RFCA, del inglés Radiofrequency Catheter Ablation), existen muchos factores que determinan el éxito de la ablación. Los principales factores son la identificación exacta de la posición de origen de la arritmia y el tamaño de la lesión producida (Morady, 1999). Además, la eficacia de la ablación con catéter depende de la longitud del electrodo de ablación, su orientación, su presión de contacto contra el endocardio, el flujo sanguíneo alrededor del electrodo, etc. (Petersen et al., 1999). La principal desventaja es el riesgo de complicaciones, lo cual varía dependiendo del tipo de procedimiento de ablación y la experiencia y habilidades del operador (Esberg and Greenspon, 2001; Morady, 1999). Algunas posibles complicaciones son: la perforación del corazón con goteo de sangre en el saco que rodea al corazón, la perforación de vasos sanguíneos con goteo al exterior, interrupción de la condición normal, ataque de corazón e incluso la muerte (Miller, 2002).

La impedancia del electrodo ha sido propuesta como un indicador de la presión de contacto electrodo-endocardio, en la dimensión y profundidad de la lesión creada en el tejido (Zheng et al., 2000) y como un parámetro clínicamente útil monitorizado durante la ablación para determinar el calentamiento efectivo del tejido, (Lundmark et al., 1997; Nsah et al., 1998; Remp et al., 1997; Zheng et al., 2000). Hasta el momento la técnica más utilizada es la basada en la morfología del electrocardiograma conjuntamente con los sistemas de rayos X para localizar el catéter. La correcta interpretación de esta morfología es un parámetro que influye directamente para limitar las complicaciones y mejorar el éxito de la ablación. Sin embargo es un parámetro que requiere de una inspección visual en la amplitud de la señal teniendo cuidado de detener la aplicación de radiofrecuencia con el mínimo movimiento del catéter (Esberg and Greenspon, 2001). El uso de sistemas avanzados de mapeo cardíaco como el mapeo electromagnético (Carto™) y el mapeo sin contacto (Ensite™) permitirían un mapeo mas preciso de los circuitos reentrantes antes de realizar la ablación, sin embargo estos sistemas aun no son de un uso extenso (Esberg and Greenspon, 2001; Morady, 1999). Existen otras alternativas que se están evaluando como son la fluoroscopia o la ecocardiografía intracardiaca (Chu et al., 1994; Olgin et al., 1997), pero cada una de estas técnicas

tiene sus limitaciones y aún no hay un claro favorito para su uso rutinario en los procedimientos de ablación.

En los infartos de miocardio, tanto el diagnóstico como la prognosis, se realizan con métodos indirectos, como son la monitorización Holter y la prueba de esfuerzo (Jereczek et al., 1993). Otros procedimientos diagnósticos y terapéuticos, como la coronariografía y las técnicas isotópicas, dependen de si el hospital cuenta con laboratorios de hemodinámica o cardiología nuclear (Morillas et al., 2002). En el proceso post-infarto existen métodos propuestos como el magneto-cardiograma (Endt et al., 2000) o el procedimiento de mapeo electromecánico del endocardio (Kornowski et al., 1998), para diferenciar el miocardio sano del infarto de miocardio. Sin embargo, la evaluación de estos métodos se ha realizado únicamente en modelos animales.

En la monitorización de la evolución de los trasplantes de corazón, imprescindible para detectar posibles episodios de rechazo, el procedimiento por excelencia son las biopsias endomiocárdicas. Algunos problemas que presentan las biopsias son: la evaluación del edema en una pequeña biopsia no es fiable, la confusión en la morfología del miocito para un observador ocasional (Rodríguez, 2003), que no es una técnica de practica diaria (practical screening tool) y que requiere de centros y personal especializados (Everett et al., 1996). Por lo tanto se requiere de una técnica más moderna para el análisis patológico de las muestras o, más deseable, una prueba no invasiva que permita la monitorización continua con la misma exactitud que las biopsias endomiocárdicas (Gradek et al., 2001). Entre los métodos en desarrollo se citan la detección de rechazo de trasplante por ultrasonido realizado en animales (ratas) (Weller et al., 2003), y las imágenes con Galio-67 (Bocchi et al., 1997).

No hay referencias del uso de la impedancia eléctrica de forma mínimamente invasiva para la monitorización del daño que se produce en el tejido durante el procedimiento de ablación o la medida de la evolución de los infartos de miocardio. Tampoco hemos encontrado referencias del uso de un método de impedancias mínimamente invasivo para evaluar el proceso post-trasplante de corazón.

Partiendo de que conocemos que es posible diferenciar el tejido de miocardio sano, la isquemia aguda y la cicatriz utilizando la técnica de impedancia eléctrica por métodos invasivos (Salazar et al., 2004), proponemos el uso de la espectroscopia de impedancia eléctrica para monitorizar el estado del tejido de miocardio durante los procesos de ablación y post-trasplante de corazón. Una primera ventaja que puede aportar el uso de la medida de impedancia es la posibilidad de reducir la exposición a la radiación ya que permitiría identificar de una forma más precisa y rápida el estado del miocardio en la zona de contacto de la punta del catéter.

4.2. Estado del arte

La bioimpedancia ha sido propuesta recientemente como una herramienta para predecir la eficiencia del calentamiento durante la RFCA (Ko et al., 2001). La medida de bioimpedancia en este trabajo fue realizada entre el par de electrodos distales de un catéter quadripolar en pacientes con taquicardias supraventriculares.

Cao et al., (2002), emplearon la técnica de impedancia eléctrica para predecir el contacto electrodo-tejido. En este caso, la medida de impedancia se realizó entre la punta del catéter y un electrodo de dispersión, en corazones de bovinos *in vitro*.

Estos dos grupos, han utilizado el método de impedancia a 2EM. Este método es altamente sensible a la impedancia de ambos electrodos, como se describió en el capítulo 2, ya que los electrodos se encuentran en serie con la impedancia medida. En el caso de medir entre la punta del catéter y un electrodo cutáneo de gran superficie, como son los electrodos de dispersión utilizados en ablación, la impedancia de la punta del catéter será dominante.

También se han realizado estudios acerca del efecto del tamaño y orientación del catéter y cual es el efecto que se produce durante los procesos de ablación. Por ejemplo, Nakagawa et al., (1998) utilizaron la medida de impedancia en la interfase electrodo-tejido para determinar el efecto del tamaño del electrodo. En este trabajo se examina el efecto de la longitud del electrodo sobre el músculo femoral (7 perros) y el tamaño de la lesión utilizando irrigación con solución salina para provocar un enfriamiento controlable. Para ello se utilizó un catéter de ablación 7Fr con electrodo de punta de 2 a 5 mm con irrigación posicionado perpendicularmente o paralelamente al muslo. La conclusión fue que el electrodo pequeño producía un calentamiento mayor en el tejido y por lo tanto lesiones mayores. Además, el tamaño de la lesión depende menos de la orientación del electrodo.

Petersen et al., (1999) evaluaron el impacto de la orientación del electrodo, la presión de contacto tejido-electrodo y el flujo alrededor del electrodo sobre tiras de miocardio porcino del ventrículo izquierdo durante la ablación por radiofrecuencia con temperatura controlada. La ablación se realizó a 80°C, durante 60 s, utilizando un electrodo (7Fr/4mm) en ambas posiciones paralelo o perpendicular con una presión de contacto con el endocardio de 10 o 20 g. La conclusión fue que el tamaño de la lesión era significativamente mayor para una orientación del electrodo perpendicular para los dos grupos de presión y dos niveles distintos de flujo alrededor del electrodo. Además, la presión de contacto electrodo-tejido no tenía un impacto significativo en el tamaño de la lesión.

Otro posible campo de aplicación para una medida mínimamente invasiva de impedancia eléctrica es la detección del rechazo de trasplante. En la bibliografía previa tan solo se encuentran las investigaciones realizadas por (Grauhan et al., 1996; Pfitzmann et al., 2000) quienes emplearon la medida de impedancia eléctrica (con el método a 4 electrodos de aguja) para detectar rechazo de trasplante de corazón. El experimento lo realizaron en 15 perros con trasplante hetero-tópico de corazón. La conclusión es que la impedancia del miocardio está relacionada con el nivel de rechazo, siendo mayor la variación al ser mayor el grado de rechazo. La hipótesis es que los cambios en la impedancia provienen de las alteraciones de la membrana celular y del espacio intercelular producidas por el rechazo.

En cuanto al modelado en elementos finitos, las principales referencias de modelos del tórax en 2D o 3D tienen como principal objetivo obtener mapas eléctricos para la actividad propia del corazón y en las aplicaciones de desfibriladores.

Al crear un modelo de una cavidad tan compleja como es el tórax la primera decisión a tomar es el número de detalles anatómicos que se puedan incluir en el modelo y sus dimensiones. En el caso de la impedancia otro problema añadido es obtener el valor de la conductividad de los tejidos empleados en el modelo (Hyttinen et al., 1997). La falta de datos para muchos tejidos, o la dispersión de valores hallados en las referencias bibliográficas para un mismo tejido, hacen muchas veces innecesario el aumento del detalle anatómico ya que no aportaría ningún aumento de la exactitud.

Un ejemplo de modelo de tórax y cuello en 3D de elementos finitos es el creado por Kim et al., (1989) para analizar la distribución de corrientes en el tórax en TIE con 658 elementos. Otro modelo 3D de elementos finitos del tórax humano es el de Jorgenson et al., (1995) aplicado a la desfibrilación interna y externa para mejorar el proceso de desfibrilación.

4.3. Construcción de modelos en elementos finitos

El análisis a través del método de elementos finitos nos permite resolver el problema de contorno, es decir, nos permite conocer la distribución de corriente en una geometría determinada de acuerdo con las características de conductividad y permitividad relativa de la misma, dada una tensión fija en los electrodos a utilizar.

El objetivo de nuestro modelo es tener una aproximación de los valores de impedancia que podemos obtener al realizar medidas mínimamente invasivas y poder reproducir y entender, de una forma más controlada que en la situación experimental, algunos de los fenómenos que se presentan en las medidas.

Se construyen principalmente dos modelos tridimensionales en elementos finitos:

8. Un modelo cilíndrico bicapa, donde se analiza el efecto del desplazamiento del catéter y los métodos de medida de impedancia eléctrica (2EM y 3EM).
9. Un modelo del tórax en el cual se analizan las variaciones de impedancia debidos a los cambios en el tejido de miocardio y a la respiración. Al igual que en el modelo cilíndrico, se evalúa el efecto del desplazamiento y orientación del catéter dentro del ventrículo izquierdo, para los métodos de medida de impedancia (2EM y 3EM).

A continuación se describen estos modelos detallando su geometría y sus características eléctricas.

4.3.1. Modelo de elementos finitos cilíndrico bicapa

Para realizar la estimación de la medida de impedancia se construyó un modelo cilíndrico en 3 dimensiones con: 2 capas o medios, un catéter y un electrodo de referencia, Figura 4-1. Uno de los medios corresponde al tejido de miocardio y el otro a un volumen de sangre determinado. El electrodo de referencia es un cilindro (diámetro 24 mm) que se localiza bajo el tejido de miocardio. El catéter se diseñó por un cilindro de metal de 2.3 mm de diámetro con punta semiesférica. El electrodo distal ocupa la punta del catéter con una longitud de 4 mm. El electrodo proximal (longitud 2 mm) está separado del electrodo distal por un material aislante. Las dimensiones del modelo completo se especifican en la Figura 4-2. El número de elementos en los que se ha discretizado el modelo se muestran en la Tabla 4-1, especificando el número de elementos y nodos para cada uno de los materiales empleados en el modelo.

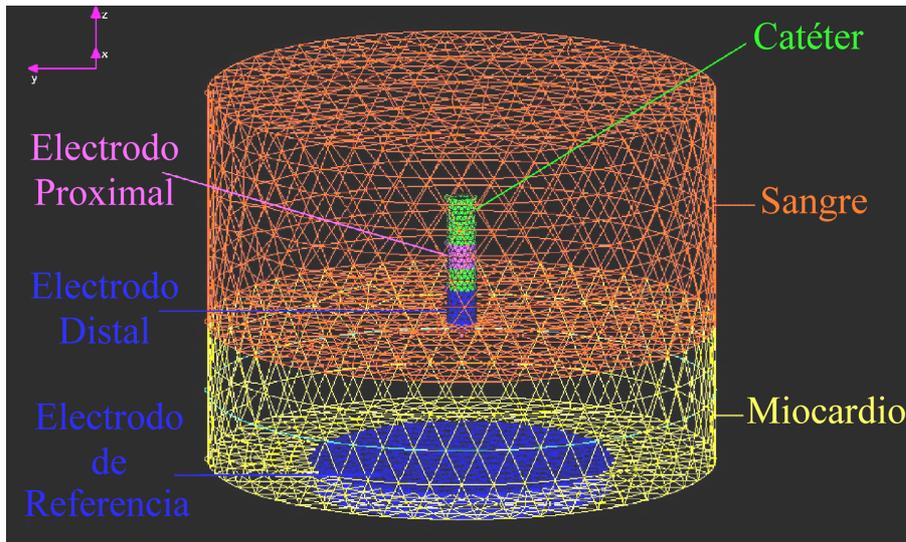


Figura 4-1. Modelo de elementos finitos cilíndrico bicapa.

Se construyeron 5 diferentes modelos para simular el desplazamiento lineal del catéter desde -1.25 mm a 3.75 mm [-1.25, 0, 1.25, 2.5 y 3.75 mm]. Para cada desplazamiento del catéter se definieron dos orientaciones: perpendicular al tejido o con una inclinación de 45°. El signo menos en las distancias indica que la punta del catéter penetra en el miocardio. Los desplazamientos son de 1.25 mm dada la geometría de la punta del catéter y su intersección con la superficie que la rodea, de esta forma se evitó que el número de elementos se incrementará y con ello el tiempo de procesado.

Se definió una tensión de 1 V en el electrodo distal y 0 V en el electrodo de referencia. La corriente total inyectada es calculada integrando la corriente sobre la superficie del electrodo de referencia. La impedancia es calculada como el voltaje aplicado (V) dividido por la corriente total calculada, tanto para el método a 2 electrodos (2EM) como para el método a 3 electrodos (3EM).

La impedancia fue simulada para dos casos: mono-frecuencia y multifrecuencia, los cuales se explican a continuación.

Tabla 4-1. Número de elementos y nodos de los materiales utilizados en el modelo cilíndrico in vitro.

MATERIAL	# de Elementos	# de Nodos
Sangre	18438	25606
Miocardio	10166	13597
Electrodo Proximal	490	614
Electrodo Distal	3685	4534
Electrodo de Referencia	496	1043
Aislante	1331	1805

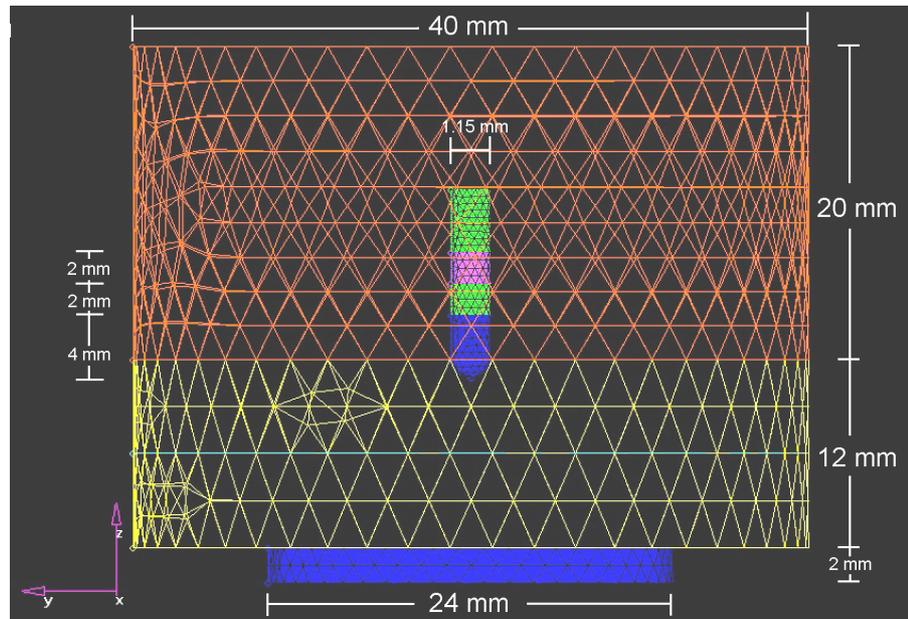


Figura 4-2. Dimensiones del modelo

4.3.1.1 Análisis monofrecuencia del modelo de elementos cilíndrico bicapa

El modelo se analizó a una frecuencia de 100 kHz. En esta apartado asumimos que la conductividad del miocardio (σ_m) es puramente resistiva, al igual que la conductividad de la sangre (σ_b). El análisis se ha realizado simulando 4 diferentes contrastes ($C_i = \sigma_b/\sigma_m$) entre las conductividades del miocardio y la sangre, Tabla 4-2. Las propiedades eléctricas del miocardio se calcularon a partir de las medidas transmurales de impedancia específica de (Salazar et al., 2004) y los valores

de conductividad de la sangre de (Faes et al., 1999) para el límite inferior y el valor medio de resistividad reportado por ellos. Con esta variación del contraste se pretende simular desde un valor de bajo contraste (C1) hasta un tejido con isquemia aguda (C3) pasando por un tejido sano (C2). El contraste C4 nos proporcionaría información acerca de un tejido con una isquemia posterior a 1 hora.

Tabla 4-2. Conductividades utilizadas a 100 kHz para distintos valores de contraste (Ci)

Contraste	C	Tejido	Conductividad (S/m)
C1	1.08	Miocardio	0.49
		Sangre	0.53
C2	1.36	Miocardio	0.49
		Sangre	0.66
C3	2.56	Miocardio	0.26
		Sangre	0.66
C4	5.80	Miocardio	0.11
		Sangre	0.66

4.3.1.2 Análisis multifrecuencia del modelo cilíndrico bicapa

En el análisis multifrecuencia, la impedancia simulada se calcula sobre el rango de frecuencia entre 1 kHz y 1 MHz. Para ello se utilizan 25 frecuencias equiespaciadas logarítmicamente. El análisis fue realizado utilizando la impedancia compleja para obtener el espectro (magnitud y fase) de la medida de impedancia esperada con ambos métodos de medida (2EM y 3EM) y el efecto de la posición del catéter. En este apartado solamente hemos simulado dos distintos estados del miocardio sano y otro miocardio con isquemia aguda para tener dos niveles de contraste que coincidan con los contrastes C2 y C3 del análisis monofrecuencia. Las propiedades eléctricas (conductividad y permitividad relativa) del miocardio fueron tomadas de las medidas transmuralas realizadas en los experimentos in vivo en animales citados en el capítulo 3 (Salazar et al., 2004) y la sangre de (Gabriel and Gabriel, 1996), ya que en esta compilación se tienen los valores tanto de conductividad como de permitividad de la sangre para las 25 frecuencias utilizadas. Estos valores provienen de los datos publicados en la serie de artículos publicados en 1996 acerca de las propiedad dieléctricas de los tejidos (Gabriel et al., 1996a; Gabriel et al., 1996b; Gabriel et al., 1996c).

4.3.2. Modelo de elementos finitos del tórax

El principal objetivo al construir este modelo es obtener una geometría que contenga los principales órganos y tejidos del tórax que puedan influir en nuestras medidas manteniendo la mayor simplicidad posible. El modelo se ha construido basándose en dimensiones proporcionales de acuerdo con imágenes de las secciones transversales del Visible Human Project, entre el 4° y 5° espacio intercostal, para tener las proporciones que guardan los principales órganos en la base de nuestro modelo. El modelo abarca toda la sección del cuerpo del esternón, del 2° espacio intercostal hasta el xifoides. Esta sección del tórax nos permite incluir los órganos y huesos principales de la cavidad torácica. Las estructuras incluidas han sido los pulmones, el corazón delimitando las aurículas y ventrículos, el esternón y la columna vertebral.

4.3.2.1 Descripción de la geometría del modelo del tórax

A continuación se describirá como se construyeron cada uno de los órganos y huesos principales y como se dio forma al modelo completo del tórax.

Corazón

Se ha utilizado la geometría definida del corazón que se construyó para el cálculo del factor de celda del capítulo 3. Se ha utilizado el modelo del corazón con el grosor del tejido normal de 12 mm y se ha excluido el electrodo de referencia sobre el epicardio, Figura 4-3.

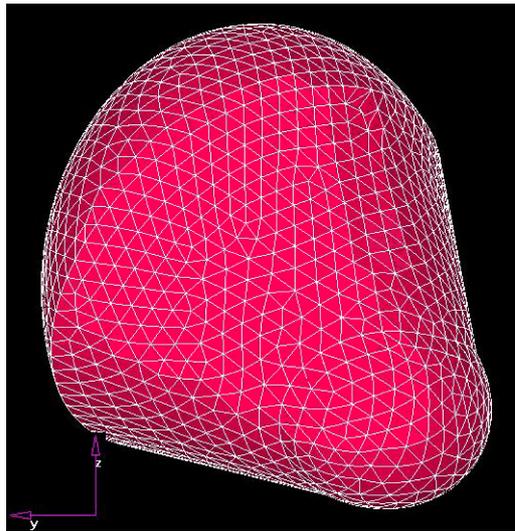


Figura 4-3. Vista frontal del Modelo 3D del corazón, utilizado para generar el modelo del tórax.

Como el corazón formará parte de una estructura más compleja, entonces se intenta discretizar esta geometría para que las superficies coincidan con el resto de superficies con las que se intercepta, esta situación provoca que el número de elementos se incremente.

También se debe considerar que es la estructura donde, dependiendo de las variaciones que se realizan en el modelo, se llevan a cabo más cambios en su geometría debido a la definición de zonas que permitan simular una zona de isquemia o cicatriz.

Pulmones

Los pulmones forman un par de cilindros de base elipsoidal. El área de la base inferior es mayor en un 20% a la base superior. El volumen del pulmón derecho es mayor en 10% al volumen del pulmón izquierdo. Debido a la ubicación del corazón, el cual no está centrado entre ambos pulmones y al encontrarse ligeramente desplazado hacia la izquierda la intersección con el pulmón izquierdo reduce su volumen con respecto del pulmón derecho, Figura 4-4.

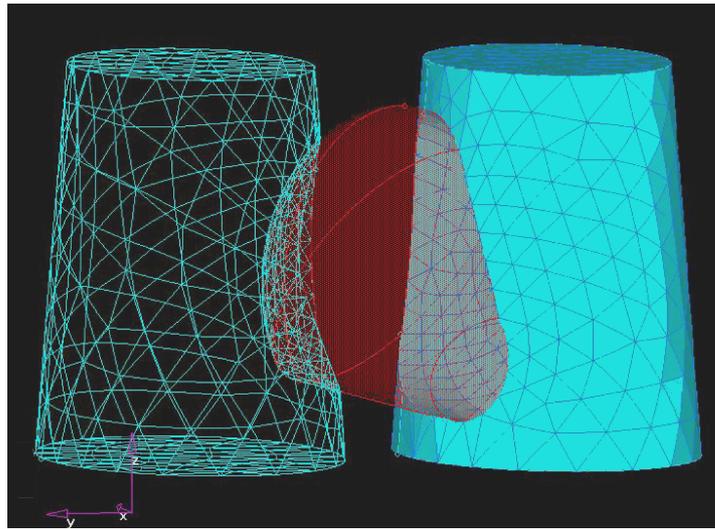


Figura 4-4. Vista isométrica de los pulmones interceptados por el corazón.

Esternón y Columna vertebral

Tanto el esternón como la columna se han considerado como los huesos más importantes del tórax. Por lo tanto, el esternón forma un cilindro de base elipsoidal cuyo grosor es 25% del ancho. Mientras que la base de la columna vertebral es triangular con vértices curvos. Ambos tienen una altura desde el xifoides hasta el segundo espacio intercostal, Figura 4-5.

Tórax

Por último el tórax, es un cilindro cuyo contorno es semejante a la imagen utilizada. La cual envuelve a los pulmones, corazón, esternón y columna vertebral, Figura 4-6. La altura del tórax es de 23 cm. Es mayor que la altura de los huesos principales, para evitar las intersecciones entre las superficies y que por este motivo se incrementara el número de elementos utilizados.

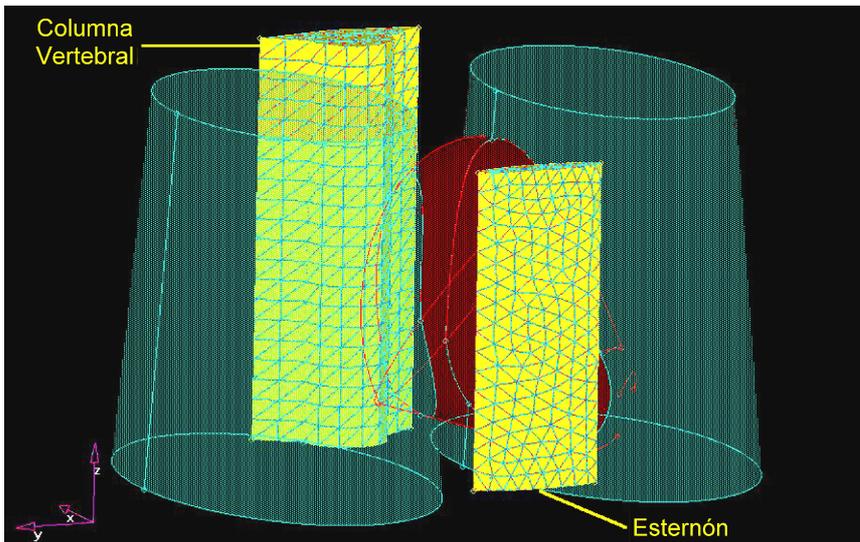


Figura 4-5. Vista isométrica del esternón y la columna vertebral, la separación entre éstas dos estructuras esta dada por el corazón y los pulmones.

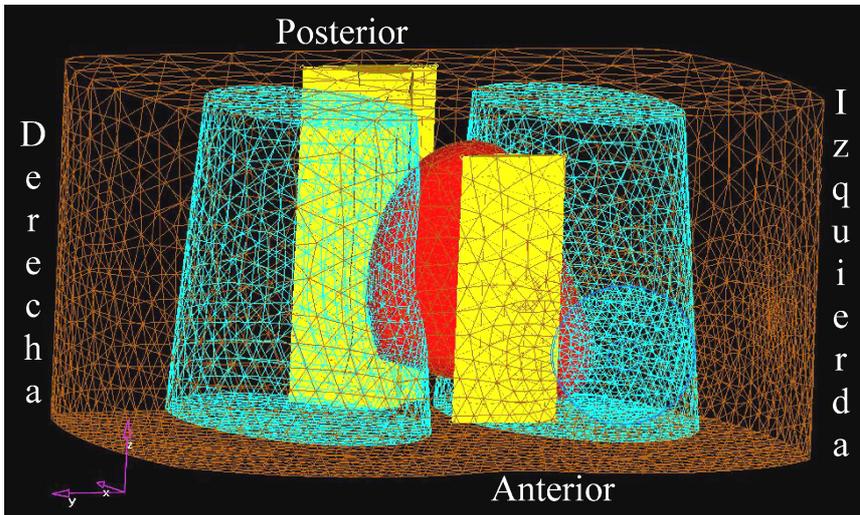


Figura 4-6. Modelo 3D del tórax, se puede observar todas las estructuras que forman el modelo del tórax: pulmones, esternón, columna vertebral y corazón.

4.3.2.2 Discretización del modelo del tórax

Una vez construidas las superficies de los distintos órganos, se realiza la discretización de cada una de ellas en elementos finitos definidos por elementos triangulares. Las dimensiones de los elementos finitos cambian de acuerdo a la superficie y siguen un orden creciente conforme se avanza a superficies externas. Posteriormente se realizan la discretización en 3D en elementos tetraédricos de segundo orden. Todo el proceso de construcción y discretización del modelo se ha realizado en el software Hypermesh. El número de elementos y nodos utilizados se especifican en la Tabla 4-3.

El procesamiento de las simulaciones se lleva a cabo de la misma forma citada en el capítulo 3 (sección 3.3.2.3).

Tabla 4-3. Número de nodos y elementos por cada tejido del modelo del tórax.

Tejido	Nodos	Elementos
Sangre	21371	16167
Miocardio	21574	15209
Pulmones	38922	28686
Esternón	748	602
Columna	1658	1329
Tórax	75914	52990

4.3.2.3 Variaciones del modelo del tórax

A partir de este modelo del tórax se realizaron los cambios pertinentes para incluir un catéter en el ventrículo izquierdo (con la misma geometría que el utilizado en el modelo del corazón y el modelo cilíndrico) y para definir un electrodo de referencia superficial. Se han evaluado diversas posiciones para el catéter y para el electrodo superficial, lo que ha obligado a la realización de nuevos modelos derivados del anterior. El número de modelos se incrementa aún más debido a la inclusión de los tres distintos estados del tejido de miocardio.

A continuación describiremos los distintos modelos construidos para distintas posiciones del electrodo de referencia y diversas posiciones y desplazamientos del catéter.

Distintas posiciones del electrodo de referencia

Se han construido distintos modelos del tórax, cada uno con una posición del electrodo de referencia fija, con la siguiente ubicación:

- Electrodo de Referencia Anterior, ERA, situado en la parte anterior izquierda al lado del esternón.
- Electrodo de Referencia Lateral, ERL, localizado sobre la línea media axilar izquierda.
- Electrodo de Referencia Posterior, ERP, localizado en la parte posterior izquierda al lado de la columna vertebral.

En todos los modelos el electrodo de referencia se encuentra entre el 4° y 5° espacio intercostal. El electrodo de referencia esta representado por un cilindro de alta conductividad, electrodo ideal, cuyo radio equivale a 3 cm, Figura 4-7. La tensión definida en la superficie del electrodo de referencia es de 0 V.

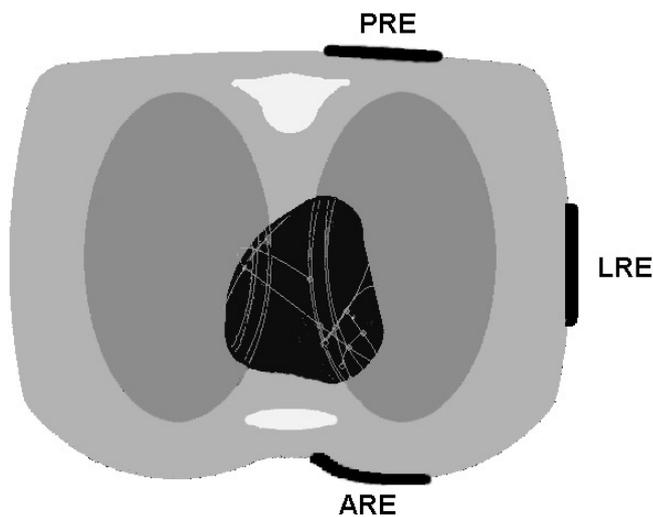


Figura 4-7. Sección transversal del modelo 3D del tórax, donde se muestran las posiciones del electrodo de referencia: ERA, electrodo de referencia anterior, ERL, electrodo de referencia lateral y ERP electrodo de referencia posterior

Se han elegido estas tres posiciones en el lado izquierdo ya que por la posición del corazón este lado parece más apropiado. No se ha creído conveniente aumentar el número de posiciones ya que en medidas reales la ubicación de los electrodos tampoco tendrá gran exactitud.

Distintas posiciones del catéter dentro del ventrículo izquierdo

En cada uno de los modelos, el catéter se localiza en una posición determinada en el ventrículo izquierdo. Las dimensiones del catéter son las mismas antes citadas en el modelo cilíndrico in vitro, con las mismas características de alta conductividad y la punta del catéter con una tensión de 1 V. Para todas las posiciones la punta del catéter se encuentra en contacto con la pared del ventrículo, excepto cuando se encuentra flotando en la cavidad, Figura 4-8.

Las posiciones se denominan de la siguiente manera:

- (0), Pared Lateral izquierda
- (1), Ápex
- (2), Pared interventricular
- (3), Flotando
- (4), Pared anterior. En esta posición el catéter tiene los siguientes desplazamientos:
 - (4a) Catéter perpendicular a la pared,
 - (4b) Catéter paralelo a la pared,
 - (4c) Catéter perpendicular a la pared desplazado aproximadamente 1 cm de la posición (4a),
 - (4d) Catéter se desplaza 1 cm de la posición (4c).

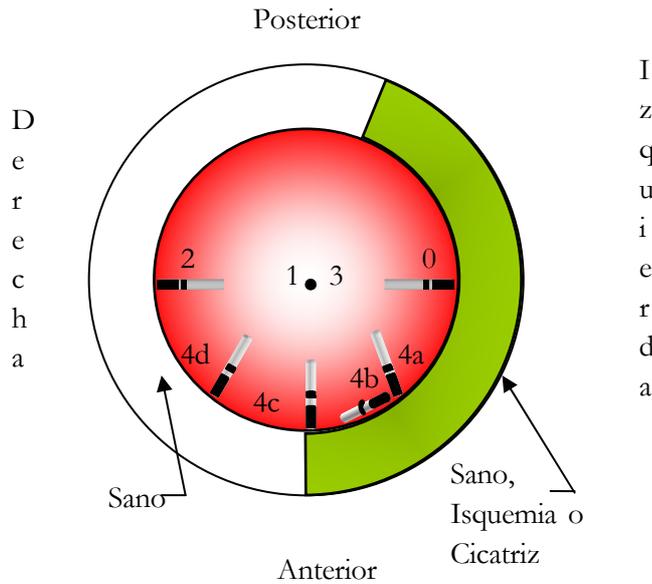


Figura 4-8. Esquema de las posiciones del catéter en el ventrículo izquierdo, Pared Lateral izquierda (0), Ápex (1), Pared interventricular (2), Flotando (3), Pared anterior Catéter perpendicular a la pared (4a), Catéter paralelo a la pared (4b), Catéter perpendicular a la pared desplazado aproximadamente 1 cm de la posición (4c), y Catéter se desplaza 1 cm de la posición (4d).

Desplazamiento lineal del catéter dentro del ventrículo izquierdo

Para obtener un desplazamiento lineal del catéter se construyeron cuatro distintos modelos del tórax. El catéter de cada uno de los modelos se localiza desde 0 mm, que equivale a la posición del catéter tocando la pared del miocardio hasta alcanzar una distancia de 3.75 mm con desplazamientos de 1.25 mm. El desplazamiento del catéter se realiza en posición perpendicular a la pared del miocardio.

Los desplazamientos se realizan en pasos de 1.25 mm para tener las mismas distancias que se simularon con el modelo cilíndrico in vitro. Con el objetivo de tener el mismo comportamiento simulado en el modelo cilíndrico in vitro. Estos modelos se simularon únicamente teniendo en cuenta la conductividad de los tejidos. Los contrastes simulados son los mismos utilizados en el modelo cilíndrico, ver método del modelo de elementos finitos cilíndrico bicapa (sección 4.3.1.1).

4.3.2.4 Características eléctricas de los modelos

Para cada uno de los modelos del tórax, si no se especifica lo contrario, se simulan los tres estados del tejido de miocardio: sano, isquemia aguda y cicatriz. La distribución de las áreas para obtener cada uno de los casos, se definen de la siguiente forma:

- *Sano*, se considera todo el volumen correspondiente al tejido de miocardio.
- *Isquemia anterior*, en este caso la zona de isquemia aguda equivale a un 20% del volumen correspondiente al tejido de miocardio. Ocupa la pared lateral-anterior izquierda del miocardio, extendiéndose desde la parte media del corazón hasta el ápex. El resto del volumen del miocardio se considera tejido sano.
- *Cicatriz*, ocupa un 5% dentro de la zona definida para la isquemia aguda. Y al igual que en el caso de isquemia aguda, el resto del volumen del miocardio es tejido sano.

Las características eléctricas, conductividad (σ) y permitividad relativa (ϵ_r) para tejido sano e isquemia aguda se han calculado a partir de la impedancia específica transmural (capítulo 3). Para el caso de cicatriz, la conductividad ha sido calculada a partir del valor medio de todas las medidas realizadas y le asignamos una permitividad relativa nula. Partimos de la hipótesis que la cicatriz debe ser un tejido puramente resistivo con una magnitud de impedancia sin relajaciones y una fase cero. En el Anexo II se encuentran los valores específicos de σ y ϵ_r para las 25 frecuencias que han sido utilizadas en las simulaciones.

Para el tórax se utiliza la impedancia del tejido muscular estriado. No se ha hecho distinción de la orientación del tejido en longitudinal o transversal ya que la musculatura del tórax presenta orientaciones diversas. En el caso de los pulmones, se utilizan los datos de inspiración (lung inflated) y los de espiración (lung deflated) en aquellos casos en los que sea necesario simular el efecto de la respiración. En el esternón y la columna vertebral utilizamos las características del hueso tipo cortical. Esta selección se ha hecho por que es el tipo de hueso menos conductor y, como nuestro modelo no contiene el resto de huesos del tórax, es importante tener los huesos principales con una característica poco conductora para simular el caso más desfavorable.

4.4. Métodos experimentales

Se realizaron las siguientes medidas experimentales:

1. Medidas in vitro. Se realizaron medidas experimentales in vitro para evaluar, al igual que en los modelos en elementos finitos, el efecto del desplazamiento y orientación del catéter. Se realizaron dos medidas experimentales en:
2. Preparaciones de agar y solución salina a distintas concentraciones
3. Medidas en tejido de miocardio in vitro
4. Medidas in vivo in situ preliminares en animales
5. Medidas en pacientes

Cada uno de los procedimientos y metodología seguida en cada uno de los experimentos antes mencionados se describirán a continuación.

4.4.1. Medidas in vitro

Las medidas in vitro se realizaron tanto en preparaciones de solución salina, a distintas concentraciones, como en tejido de miocardio de cerdo in vitro. En ambos experimentos se evaluó el efecto del desplazamiento del catéter y los cambios de concentración.

4.4.1.1 Preparación de la solución salina

La preparación de las soluciones para los experimentos in vitro con agar, se realizaron con los siguientes materiales:

1. Agua destilada.
2. Agar bacteriológico.
3. Un Catéter. El catéter utilizado fue construido por C. R. BARD Inc. El catéter tiene las siguientes características: diámetro de 2.3 mm, longitud del electrodo distal de 4 mm, con electrodo proximal de 2 mm con una distancia interelectrodo de 2 mm, Figura 3-7.
4. Medidor de Impedancias HP4912a.

5. Front-end (amplificador de instrumentación) diseñado en el propio Laboratorio de Instrumentación y Bioingeniería y utilizado en las medidas invasivas.
6. Electrodo de referencia de platino, con un diámetro de 1.2 cm.

El experimento fue realizado siguiendo el siguiente procedimiento:

1. Se prepararon soluciones salinas a distintas concentraciones tales que simularan el tejido de miocardio y la sangre para obtener los contrastes (C1, C2, C3).
2. La conductividad de las soluciones se verificó con un conductímetro (GLP 32).
3. Con las soluciones correspondientes a simular el tejido de miocardio se preparó el agar, siguiendo las indicaciones del fabricante.
4. Una vez preparado el agar, se colocó en un recipiente cilíndrico (diámetro 8 cm) para que formara una capa con un grosor aproximado de 1.2 cm. Fijando un electrodo de referencia en el fondo del recipiente.
5. Una vez frío el agar, se añadió la solución salina correspondiente a simular la sangre, aproximadamente 100 ml, para tener los dos medios: tejido y sangre.
6. Se colocó la punta del catéter en posición vertical, asegurándose de que estuviese en contacto con el agar.
7. Se realizó la medida de impedancia a 100 kHz.
8. Se desplazó el catéter 1 mm y se registró la medida de impedancia.
9. Repetir el desplazamiento del catéter en pasos de 1 mm hasta alcanzar una separación de 5 mm entre la punta del catéter y el agar, realizando la medida de impedancia en cada paso.
10. Para verificar la repetibilidad de las medidas realizadas, se repitieron las medidas en el sentido inverso, hasta alcanzar la posición inicial.
11. Se cambió la posición del catéter con un ángulo de 45° con respecto a la vertical, asegurando que el catéter estuviese en contacto con el agar.
12. Y se repitieron los pasos 7 - 10.

4.4.1.2 Miocardio in vitro

Se obtuvieron 2 corazones de cerdos de experimentación del laboratorio del CSIC. Los corazones de cerdo se mantuvieron en recipientes isotérmicos con hielo para ser transportados desde el CSIC al Laboratorio de Instrumentación y Bioingeniería (DIB), durante 15 min. Los corazones tenían aproximadamente 1 hora de cese sanguíneo y el tiempo del experimento fue de 2 horas.

Los corazones se cortaron dejando el tejido del ventrículo izquierdo totalmente separado del resto. Esta superficie se colocó sobre un recipiente plástico con solución salina fisiológica, con la superficie rugosa (endocardio) hacia arriba y se sujetó con soportes laterales para que no se moviera. Debido a que la superficie del endocardio presenta irregularidades se procuró colocar el catéter sobre una zona plana durante el experimento.

La conductividad de la solución fisiológica es de 16 S/m y durante el experimento se mantuvo a temperatura ambiente (25°C). El electrodo de referencia (el mismo utilizado en las medidas de agar) se mantuvo al fondo del recipiente de manera que el catéter estuviera en el centro del electrodo. La distancia entre el electrodo de referencia y la punta del catéter para la distancia 0 equivale únicamente al grosor del tejido, ya que de esta forma nos aseguramos que las líneas de corriente atraviesen el tejido. El catéter utilizado fue el mismo que en las medidas del agar.

Para realizar el desplazamiento del catéter, éste se fijó sobre un soporte mecánico que realizaba desplazamientos de 1 mm. Las medidas se realizaron a partir del contacto entre la superficie del miocardio y el electrodo distal (punto 0), desplazando el catéter hacia arriba y retornando a la posición original para después penetrar en el tejido y regresar a la posición de partida.

Las medidas se realizaron con dos métodos de medida el 2EM y el 3EM. Estas medidas se llevaron a cabo con el equipo, en sus primeras versiones, que se utilizará posteriormente en las medidas in vivo. El rango de frecuencias medido fue entre 10 kHz y 1 MHz. Las calibraciones del sistema se realizaron con medidas en solución salina.

Tanto al inicio como al final del experimento se realizaron medidas con electrodo de agujas (método a 4 electrodos) con distintas orientaciones sobre el tejido. Obteniendo medidas en 4 sentidos, longitudinal a las fibras, transversal a las fibras, longitudinal al corte y transversal al corte. Empleando el front-end empleado en las medidas del agar. La Figura 4-9 muestra la mesa de trabajo para la adquisición de las medidas.

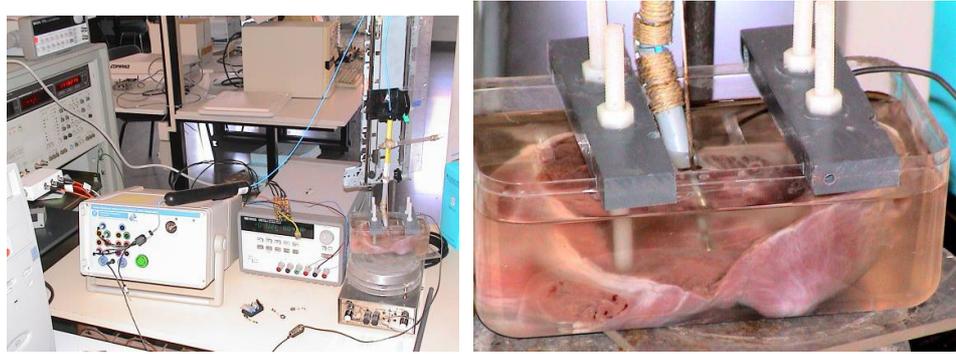


Figura 4-9. Diseño del experimento del miocardio in vitro. Izquierda: mesa de trabajo, Derecha: acercamiento del catéter en posición inclinada 45° tocando el tejido de miocardio.

4.4.2. Medidas preliminares en animales in vivo e in situ

En esta etapa de medidas experimentales en animales, el principal objetivo era poner en marcha el *equipo multiparamétrico* de experimentación y realizar las modificaciones pertinentes hasta que el equipo estuviera totalmente preparado para utilizarlo en las medidas en humanos. Este estudio fue aprobado por el comité de ética del hospital y se llevó a cabo siguiendo las normas internacionales de cuidado de animales.

En este apartado se detalla el protocolo médico empleado en cada uno de los animales de experimentación de acuerdo con la fecha del experimento. Como esta fase corresponde al perfeccionamiento del equipo de medida ninguno de los tres experimentos contiene una información homogénea ya que los cambios en el equipo y en el formato de las medidas fueron evolucionando conforme se fueron realizando algunas mejoras.

El primer experimento fue realizado en fecha 16/07/2002, en un laboratorio de experimentación animal. El cerdo pesaba 35 kg. El laboratorio no contaba con sistema de Rayos X ni ventilador artificial, por lo que la ventilación fue asistida por un ventilador mecánico y el posicionamiento del catéter fue guiado por la forma de onda del ECG intracavitario. Se utilizó un electrodo de referencia de ablación (18 x 7.5 cm) colocado sobre la parte anterior izquierda del tórax del animal. La piel del animal no fue preparada para colocar el electrodo. El *Protocolo* consistió en introducir un catéter (Blazer II, 7-Fr/4mm) a través de la vena yugular para realizar medidas tanto en aurícula derecha (AD) como en ventrículo derecho (VD). A continuación, se extrajo el catéter y se introdujo por la arteria carótida hasta la aorta para medir el ventrículo izquierdo (VI).

El prototipo del *equipo multiparamétrico* de experimentación estaba programado para realizar 20 medidas por frecuencia. Las frecuencias eran 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500 y 1000 kHz. Las señales de ECG se adquirían a una frecuencia de muestreo de 1 kHz. El registro de las medidas se realizaba guardando dos archivos: 1) Registro de impedancia donde la información se guardaba en cuatro columnas correspondientes a: frecuencia, magnitud, fase y número de trama. Esta última esta codificada en milisegundos y relacionaba la medida de impedancia con la adquisición del ECG de tal manera que se pudiese realizar una sincronización de ambas medidas, y 2) Registro de ECG, contenía la información del ECG intracavitario, superficial, la temperatura diferencial y absoluta.

Al revisar los datos se realizaron algunas modificaciones en el software y en el hardware. La principal fue la supresión de un efecto de diafonía entre canales de medida en un multiplexor. Para ello se intercaló una conmutación a un canal a tierra entre cada canal de medida para que, de esta forma, se descargue la capacidad parásita almacenada antes de direccionar el siguiente canal de datos.

El segundo experimento animal se realizó con fecha 28/04/2003. El experimento se realizó en un laboratorio de experimentación animal del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Peso del animal: 35 kg. El animal fue anestesiado y ventilado artificialmente a volumen y frecuencia constante (650 ml) (12 resp/min). Se introdujeron 2 catéteres (Blazer II, 7-Fr/4mm) a través de la vena yugular hacia las distintas cavidades del corazón derecho. La posición de los catéteres se visualizó por medio de un equipo de rayos X. Para comparar el efecto de la posición del electrodo de referencia se emplean dos electrodos superficiales de los usados en ablación. Se coloca uno rectangular (15 x 23 cm) en posición frontal al costado izquierdo del esternón (ERA) y el segundo circular (diámetro 18 cm) con la misma posición sólo que en la espalda del animal (ERP).

El *Protocolo* realizado es similar al anterior, pero en esta ocasión se realizó con mayor precisión en la localización de los puntos de medida. Primero, se realizaron medidas de calibración de temperatura de ambos catéteres en la vena cava superior (VCS). A continuación, uno de los catéteres se desplazó por las diferentes cámaras del corazón derecho hasta llegar a la arteria pulmonar (AP) realizando medidas de impedancia y temperatura. De allí, se retrocedió repitiendo las mismas medidas en zonas similares a las del camino de ida. Las medidas, tanto en aurícula como en ventrículo derecho, se realizaron con el catéter flotando o tocando la pared miocárdica. Al volver el catéter a la VCS se realizó una nueva medida de calibración para observar cualquier deriva con el tiempo. A continuación se extrajo el catéter y se introdujo por la arteria carótida hasta la aorta. De esta forma se midió también el

VI. Aparte de las medidas en las diferentes cámaras cardíacas, también se realizaron medidas en: vena cava superior (VCS), vena cava inferior (VCI), arteria pulmonar (AP), aorta (A) y seno coronario (SC).

En este experimento el *equipo multiparamétrico* estaba programado para adquirir 50 medidas a cada frecuencia. Se midieron 5 frecuencias: 10, 30, 100, 300 y 1000 kHz. La frecuencia de muestreo del ECG se midió con más precisión resultando ser de 945.326 Hz. Los registros adquiridos se guardan en el mismo formato que en el experimento anterior.

El último experimento con fecha *21/05/2003*, también se realizó en el CSIC bajo las mismas condiciones que el experimento anterior. El peso del animal era 50 kg. Por lo tanto, la frecuencia de respiración era mayor (18 resp/min). También se emplearon dos electrodos de referencia en las mismas posiciones que en el experimento anterior. Esta vez los electrodos utilizados eran rectangulares y de la misma dimensión (17.5 x 8 cm).

El *Protocolo* que se siguió fue el mismo que en el experimento (*28/04/2003*). Al final de todas las medidas se colocó el catéter de referencia en la AD y el catéter de impedancia en el VI. Adicionalmente se realizaron tres experimentos para comprobar la seguridad eléctrica del equipo frente a posibles fallos del hardware o del software: 1) se aplicó una tensión 10 veces mayor que la especificada a los circuitos de inyección de corriente a las frecuencias de trabajo entre 10 kHz y 1 MHz, 2) se aplicó la misma tensión pero a una frecuencia de 1 kHz, y 3) a una frecuencia de 100 Hz.

A partir de este experimento se ajustó la ganancia de las fibras ópticas para que la medida del analizador de impedancias fuera más precisa. Asimismo, se modificó el método de sincronización entre las señales de impedancia y la señal de ECG. En lugar de utilizar las tramas de la medida del ECG se utilizó el tiempo del ordenador. Por lo que también se guarda el tiempo de inicio de la medida y en lugar de cada trama se guarda el contador (“tick counter”) en cada medida de impedancia realizada.

4.4.2.1 Calibración de las medidas experimentales en animales

Los registros de impedancia se calibraron con la medida de impedancia de referencia en la aorta (Z_r) ya que es el registro con menos influencia del tejido cardíaco, por lo que se consigue una corrección de los errores sistemáticos del sistema de medida.

La calibración de la impedancia compleja (Z_c) se realiza haciendo la relación entre la impedancia medida (Z_m) y la impedancia de referencia (Z_r), multiplicado por un factor teórico de baja frecuencia:

$$Z_c = \frac{Z_m}{Z_r} * Z_t$$

esto equivale a realizar el cociente entre la magnitud de la impedancia medida y la impedancia de referencia y el factor teórico sería el valor de resistividad a baja frecuencia (R_t):

$$|Z_c| = \frac{|Z_m|}{|Z_r|} * R_t$$

Mientras que la fase calibrada (ϕ_c) equivale a la diferencia de fases entre la fase medida (ϕ_m) y la fase de la medida de referencia (ϕ_r),

$$\phi_c = \phi_m - \phi_r$$

El procesado de las señales de impedancia para obtener los incrementos de impedancia debidos a la respiración se basa en la utilización de un filtro paso banda de 2do orden (0.1 Hz – 0.5 Hz). Mientras que el efecto de la actividad cardíaca se obtiene con la cancelación del efecto de la respiración por filtrado y la sincronización de la adquisición del ECG y la medida de impedancia para un ciclo cardíaco a cada una de las distintas frecuencias. El punto de sincronismo utilizado es el QRS del ECG superficial.

4.4.3. Aplicación de medidas mínimamente invasivas en la detección de rechazo post-transplante de corazón: medidas experimentales en humanos

A pesar de que no se conocen las características eléctricas del miocardio transplantado en humanos, basándonos en los resultados obtenidos por (Grauhan et al., 1996) y (Pfitzmann et al., 2000) en animales, podemos hacer la hipótesis de que el espectro de impedancia se modificará debido a la presencia de un edema intersticial como ellos conjeturan.

Antes de iniciar las medidas en humanos se verificó que el *equipo multiparamétrico* cumpliera con las normativas de seguridad de equipos hospitalarios aplicables (UNE-EN 60601-1; 1993, UNE-EN 60601-1-1; 1996 + A1; 1997 y UNE-EN 60601-2-27; 1997).

El protocolo seguido fue aceptado por el comité de ética del hospital.

La población de estudio a analizar se compone de dos grupos de enfermos:

- *Grupo control.* Pacientes a los que se les realizará un estudio electrofisiológico por diagnóstico y/o tratamiento de arritmias supraventriculares. Estos pacientes no presentan ninguna cardiopatía estructural.
- *Grupo transplantado.* Pacientes sometidos a transplante de corazón durante los últimos dos años. A los cuales se les realiza biopsias endomiocárdicas periódicamente de acuerdo con el protocolo clínico del Hospital de Sant Pau.

El procedimiento se llevará a cabo en pacientes despiertos sedados ligeramente. El procedimiento se realizará en una de las salas de hemodinámica o electrofisiología. El catéter se introducirá por vía percutánea con anestesia local. En los pacientes del grupo control se utilizará la vena femoral, mientras que en los transplantados puede ser por yugular o femoral, Figura 4-10.

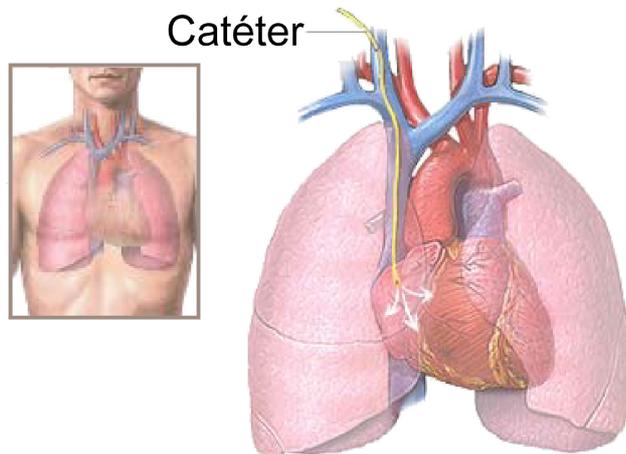
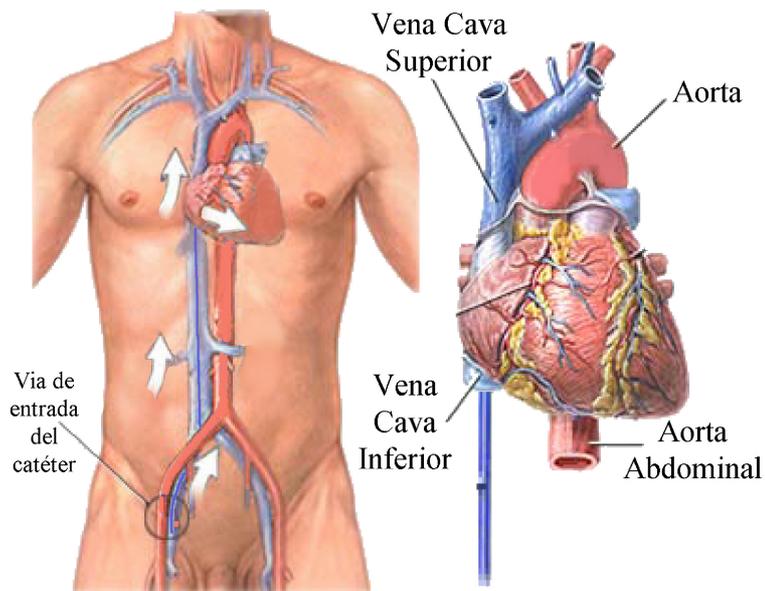


Figura 4-10. Formas de cateterización utilizada en los pacientes. Izquierda: Catéter introducido por vena femoral. Derecha: Catéter introducido por vena yugular.

Para la medida de impedancia y de temperatura se emplearán catéteres convencionales de ablación (Thermistor Large Curve Blazer II, punta = 7Fr/4mm, longitud = 110 cm, fabricante: Boston Scientific), Figura 4-11.

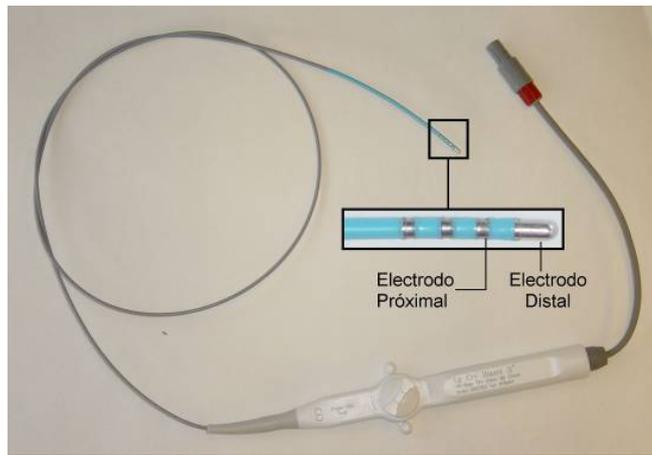


Figura 4-11. Catéter de ablación 7Fr/4mm.

Los puntos a medir en ambos grupos son: vena cava superior (VCS), vena cava inferior (VCI), aurícula derecha (AD), ventrículo derecho (VD), ápex y septum del ventrículo derecho. En el grupo control, además de las medidas anteriores, se realizarán medidas suplementarias dentro de la aurícula derecha (lateral (ADLA), posterior (ADP), orejuela (ADorej) y his (ADhis)), en el seno coronario (SC) y en la arteria pulmonar (AP), Figura 4-12 . Las medidas en la aurícula derecha y ventrículo derecho se realizaron en contacto con el tejido y flotando en la cavidad.

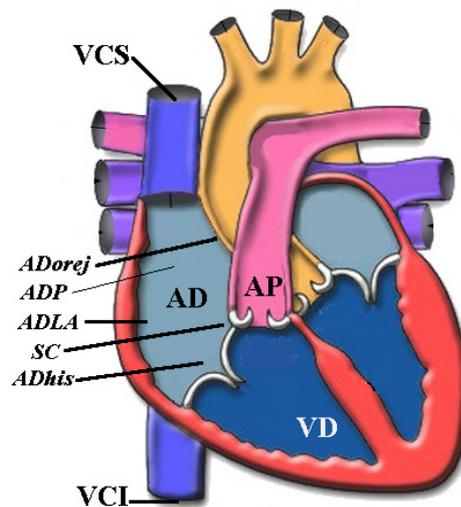


Figura 4-12. Esquema de las diferentes posiciones del catéter en las medidas realizadas en el grupo control y pacientes.

4.4.4. Método de calibración de las medidas con el equipo multiparamétrico en humanos

Las medidas en humanos requieren de un método de calibración adecuado debido a que no se tendrá una medida de referencia de baja variabilidad y que no este influenciada por el tejido de miocardio como era el caso de la medida en la aorta realizada con los experimentos de los animales. La primera hipótesis era que las medidas en la VCS estarían poco influenciadas por el miocardio, como era el caso de la aorta, sin embargo los resultados experimentales han demostrado que la variabilidad en las medidas de la VCS es mayor que en la aorta y que el espectro de impedancias en este lugar tiene una contribución significativa del tejido del miocardio. Este hecho ha imposibilitado realizar la calibración antes descrita y se ha tenido que desarrollar un método nuevo de calibración.

El nuevo protocolo de calibración se basa en la obtención de las funciones de transferencia del sistema de medida (HP + front-end), del sistema de conexionado y de los electrodos utilizados en la medida. A partir de estas funciones de transferencia, obtenidas por modelado del sistema de medida o por métodos experimentales, se realiza la corrección matemática del espectro de impedancia medido. El procedimiento de calibración se detalla en el Anexo III.

4.5. Resultados

Los resultados se describirán de acuerdo con cada uno de los métodos empleados. Primero se describirán los resultados de las simulaciones del modelo de elementos finitos cilíndrico y los resultados de las medidas experimentales in vitro: en solución salina y agar y tejido de miocardio in vitro. Posteriormente, se describirán los resultados del modelo de elementos finitos del tórax y los resultados de las medidas experimentales in vivo en animales. Y por último los resultados de las medidas experimentales en humanos.

4.5.1. Resultados del modelo de elementos finitos cilíndrico bicapa

A continuación se muestran los resultados obtenidos de las simulaciones utilizando el modelo cilíndrico in vitro de acuerdo con los dos análisis realizados: monofrecuencia y multifrecuencia. Se ha analizado los cambios relativos de impedancia debido al desplazamiento y orientación del catéter con respecto al cambio de las características eléctricas del medio que representa el tejido de miocardio.

4.5.1.1 Monofrecuencia

El incremento relativo de impedancia ($\Delta|Z|/|Z|$), para el 3EM, con respecto del punto más alejado (3.75 mm) para las dos posiciones del catéter se muestra en la Figura 4-13. La pendiente disminuye al aumentar el contraste con el catéter perpendicular al medio. El cambio de orientación del catéter para el contraste C1 y C2 no presenta cambio alguno. En cambio el contraste C3 presenta un incremento menor cuando el catéter esta inclinado que en posición perpendicular ($\Delta|Z|/|Z| = -6.3\%$ perpendicular; -3.8% inclinado, en el punto de contacto 0 mm). El contraste C4 presenta un cambio de pendiente, pero la variación de la impedancia es mínima con el desplazamiento del catéter.

3EM

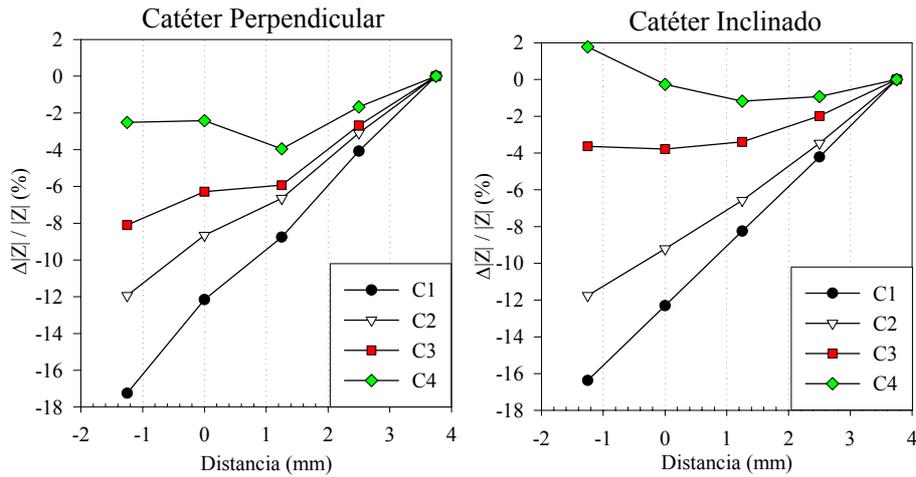


Figura 4-13. Resultado de las simulaciones con el método a 3 electrodos (3EM) para las dos posiciones del catéter: perpendicular e inclinado.

2EM

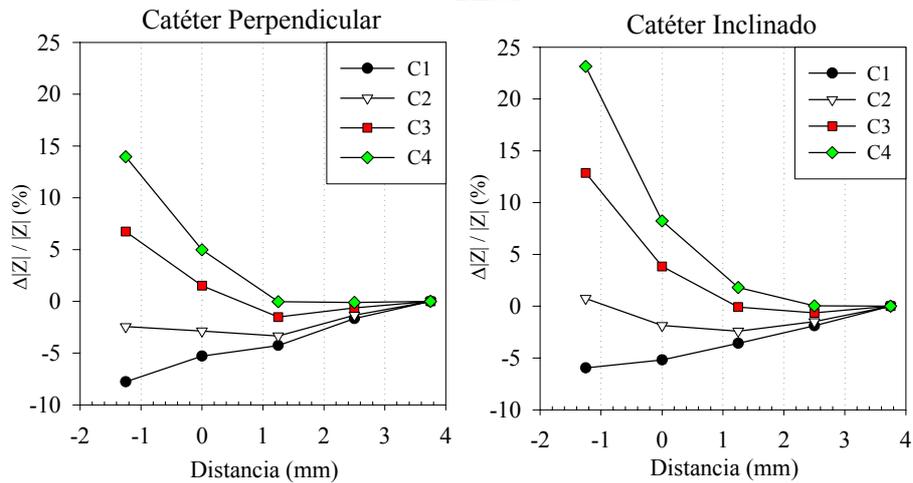


Figura 4-14. Resultado de las simulaciones con el método a 2 electrodos (2EM) para las dos posiciones del catéter: perpendicular e inclinado.

En el método a 2 electrodos, se presenta un cambio de pendiente debido al aumento del contraste y el cambio de orientación del catéter presenta la misma tendencia. Sin embargo, el incremento relativo de impedancia al punto de contacto (0 mm) es

mayor para los contrastes C3 y C4 cuando el catéter se encuentra inclinado 45°, Figura 4-14.

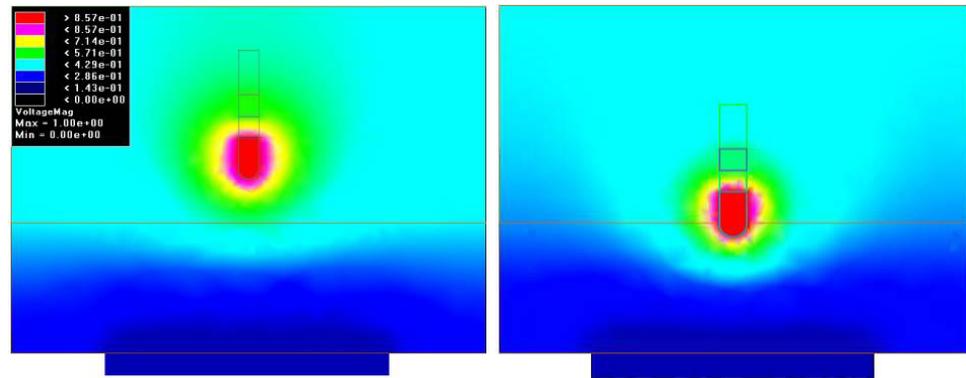


Figura 4-15. Líneas equipotenciales para un desplazamiento lineal del catéter en posición perpendicular. Se distingue el electrodo proximal

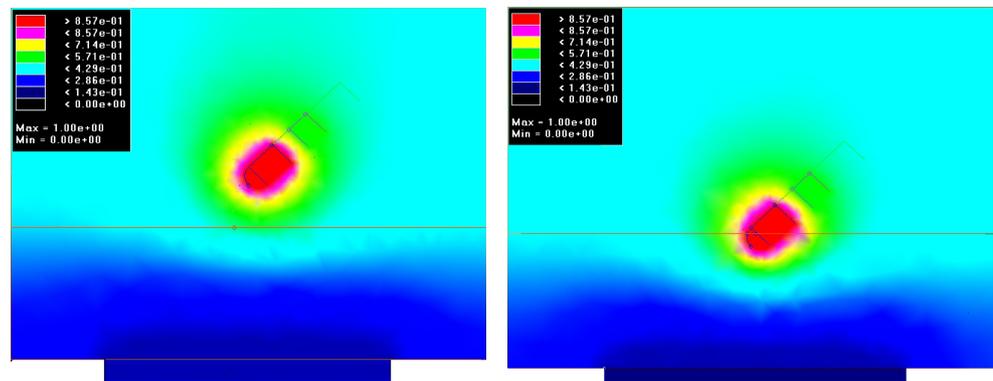


Figura 4-16. Líneas equipotenciales, catéter en posición inclinada. Izquierda, Vista frontal. Derecha, Vista 3D de las superficies equipotenciales.

En la Figura 4-15, se observan las líneas equipotenciales para un desplazamiento lineal del catéter. La línea equipotencial que se detecta en el electrodo proximal tiene un radio mayor que las líneas equipotenciales del electrodo distal, penetrando en el interior de la pared del ventrículo. Esto nos demuestra que el método a 3EM tiene un área de sensibilidad que empieza dentro de la pared del ventrículo o muy próximo a ella, lo que da una mayor sensibilidad en la región transmural. En cambio, gran parte de la caída de tensión (por tanto impedancia) en el 2EM cae en la zona

muy próxima al electrodo distal siendo esta zona la que predominará sobre la impedancia medida. Las líneas equipotenciales para el catéter en posición inclinada se observan en la Figura 4-16.

4.5.1.2 Multifrecuencia

Los cambios, en la magnitud de impedancia, debidos al cambio del tejido de miocardio de sano a una isquemia aguda tiene un incremento relativo de impedancia ($\Delta|Z|/|Z|$) del 42% y 23% a 1 kHz para el método a 3 electrodos (Figura 4-17) y 2 electrodos (Figura 4-18), respectivamente. Estos datos son para una posición del catéter perpendicular y en contacto con el tejido (0 mm). Este incremento disminuye al aumentar la frecuencia en ambos métodos (3EM y 2EM). La diferencia del ángulo de fase es de 7° entre 42 kHz y 133 kHz para 3EM y de 4° entre 20 y 133 kHz para el 2EM.

Si el catéter se desplaza 3.75 mm, la magnitud del espectro se incrementa en todo el rango de frecuencias para ambos tejidos (tejido sano 8% e isquemia 4% a 1 kHz). El espectro del ángulo de fase presenta diferencias de fase mayor a 1° entre 75 y 500 kHz para el tejido sano. La isquemia presenta diferencias de fase mayor a 2° entre 130 kHz y 560 kHz para un desplazamiento lineal del catéter perpendicular.

En este modelo del cilindro bicapa se observa que cuando el catéter se aproxima al tejido la impedancia disminuye, al igual que cuando se simularon los tejidos puramente resistivos a 100 kHz. Sin embargo, utilizando la impedancia compleja, con características de conductividad y permitividad relativa, la fase decrece al alejarse del tejido.

El cambio de orientación en el catéter no presenta cambios significativos en el incremento de impedancia debido al cambio de tejido y tampoco si el catéter se acerca al tejido.

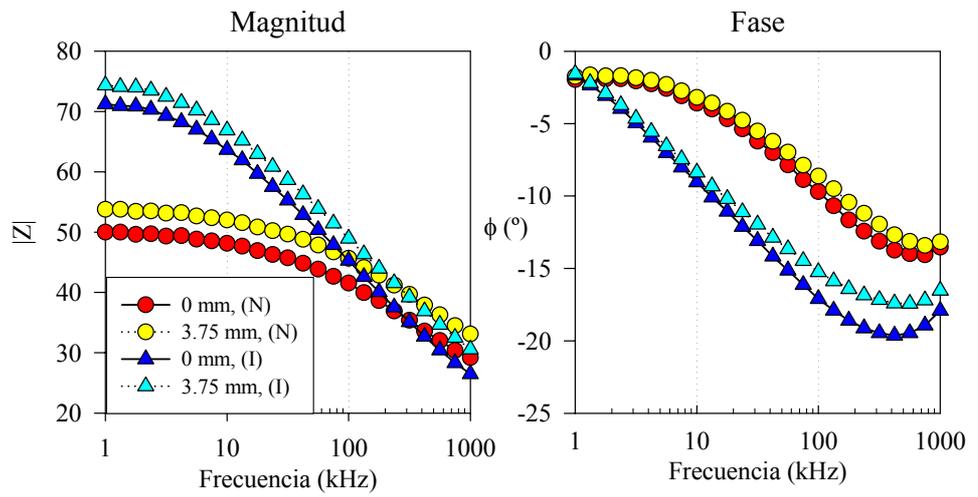


Figura 4-17. Resultados de las simulaciones multifrecuencia. Tejido normal (N) y tejido isquémico (I). Para dos desplazamientos del catéter, 0 mm y 3.75 mm. Catéter Perpendicular, 3EM.

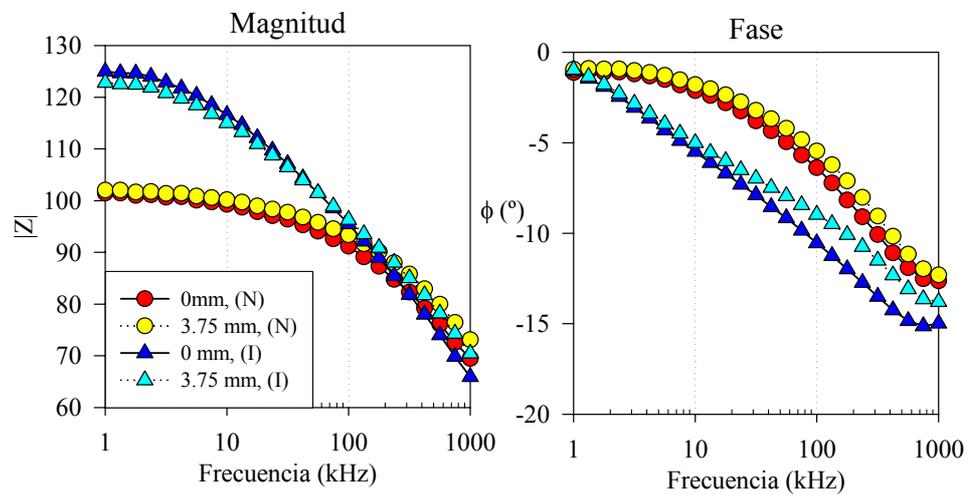


Figura 4-18. Resultados de las simulaciones a multifrecuencia, para tejido normal (N) y tejido isquémico (I). Catéter Perpendicular, método a 2EM.

4.5.2. Resultados de las medidas experimentales in vitro: solución salina-agar y tejido de miocardio

Los experimentos realizados in vitro nos permiten controlar de forma más precisa el cambio de orientación del catéter y el desplazamiento del mismo. Los resultados in vitro de los experimentos realizados se describirán en dos secciones. La primera presenta las medidas de impedancia en el agar, con el efecto del desplazamiento del catéter y el cambio de los contrastes, tanto en medidas monofrecuencia como multifrecuencia. La segunda sección presenta las medidas de impedancia con el tejido de miocardio in vitro, describiendo la evolución temporal de las medidas in vitro y el efecto del desplazamiento.

4.5.2.1 Medidas experimentales en solución salina y agar

Uno de los parámetros que se consideró antes de realizar las medidas, fue la homogeneidad del agar. Para ello, se realizaron medidas a 4 electrodos con el arreglo de electrodos de aguja. Las medidas se llevaron a cabo clavando los electrodos en distintas posiciones del agar: la parte superior, intermedia, inferior y sobre el borde. El resultado obtenido mostraba que el agar era homogéneo, la desviación estándar que se registro fue de 1Ω .

Los resultados de las medidas con el arreglo de 4 electrodos realizadas antes y después de llevar a cabo el experimento sobre las preparaciones de agar (con las concentraciones: C1, C2 y C3) mostraron un cambio en la concentración en un 11, 16 y 20%. Estos valores reflejan que durante el experimento hay un intercambio de sales entre la solución salina y el agar.

Por este motivo se intento buscar otras formas de realizar un modelo que no implicase el uso de dos soluciones con distintas concentraciones para evitar la difusión de las sales. Se realizaron experimentos utilizando únicamente una solución salina y una esponja sintética para disminuir la conductividad en una zona. Con este método no se consiguieron cambios de contraste suficientes para nuestros objetivos.

Posteriormente, se mezcló plástico pulverizado con agar preparado con solución salina fisiológica. La mezcla resultante no era del todo homogénea, ya que el plástico tendía a separarse del agar. Al aumentar la cantidad de plástico, para aumentar el contraste, el plástico de la capa superior se desprendía, dejando una mezcla turbia en el vaso de precipitado.

Por lo tanto, optamos por realizar las medidas con agar a los contrastes (C1, C2, C3) con la mejor precisión en cuanto a la preparación del agar y reduciendo el tiempo de medida, tal y como se describe en el apartado (4.4. Métodos experimentales). Sin embargo, el fenómeno de difusión es inevitable, especialmente a contrastes altos. Por este motivo se optó por no realizar el contraste C4.

A pesar de los problemas citados anteriormente, los resultados obtenidos presentan un comportamiento similar al obtenido en las simulaciones. Los cambios debidos al desplazamiento del catéter y los cambios de contraste tanto para las medidas con el 3EM y el 2EM pueden verse en la Figura 4-19.

En el método a tres electrodos la pendiente disminuye conforme el contraste aumenta,

(C1 = -15.6%, C2 = -12.4%, C3 = -2.5%). Mientras en las medidas a 2E hay un cambio en la pendiente debido al aumento del contraste, (C1 = -8.7%, C2 = -7%, C3 = -6.7%).

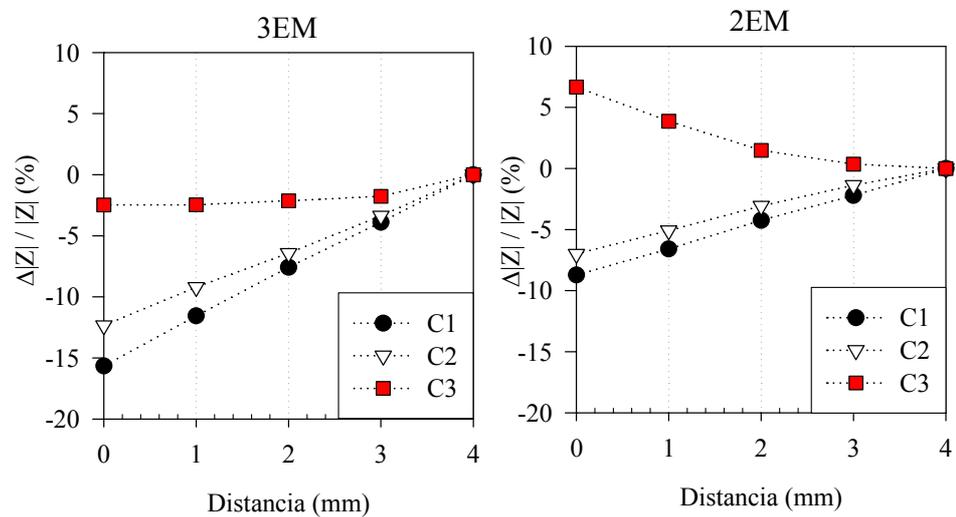


Figura 4-19. Resultados del experimento de agar a 100 kHz. Para tres contrastes C1 (1.08), C2 (1.36) y C3 (2.56). Realizados con el catéter perpendicular.

4.5.2.2 Medidas en tejido de miocardio in vitro

Únicamente se tuvo oportunidad de realizar dos medidas en tejido de miocardio in vitro, y por lo tanto no se puede realizar ningún análisis estadístico. A continuación se presentan los resultados del primer experimento (10 de abril del 2003) a modo de ejemplo ya que los resultados fueron similares en los dos casos.

Los resultados los dividiremos en dos apartados:

- Se presentan las medidas a 4 electrodos en las diferentes orientaciones y la evolución temporal de las medidas de impedancia entre el inicio y final del experimento.
- El efecto del desplazamiento del catéter en las medidas con el método a 3 y 2 electrodos.

Evolución temporal de las medidas de impedancia a 4 electrodos en diversas orientaciones.

Las medidas se realizaron en 4 orientaciones principales con respecto a las fibras del epicardio: longitudinal, transversal, longitudinal al corte y transversal al corte. Cada una de las medidas realizadas presenta un comportamiento distinto debido a la orientación del arreglo de electrodos.

Los cambio en magnitud y fase de la impedancia medida entre el inicio (grupo A, en la Figura 4-20) y el final del experimento (grupo B) indican la evolución de la isquemia, y por lo tanto el cambio de las características del tejido durante las medidas con el catéter a 3EM.

La orientación del arreglo de electrodos que muestra un incremento relativo de impedancia mayor con respecto al inicio del experimento es la medida transversal ($\Delta|Z|/|Z|$) 152% (Longitudinal = 29%, Corte Longitudinal = 59% y Corte Transversal 50%). La diferencia de fase mayor es de 15° tanto en la dirección longitudinal como transversal a las fibras a baja frecuencia (10 kHz), Figura 4-20. Las fases de los cortes transversal y longitudinal al final del experimento presentan un comportamiento peculiar a alta frecuencia (Figura 4-20, grupo B). Lógicamente, los valores de fase positiva son debidos a errores de medida, pero es innegable una reducción significativa de la fase a alta frecuencia en comparación con las medidas que no están realizadas en el corte. La evolución de la impedancia durante la

isquemia puede producir cambios en las estimaciones de distancia efectuadas con el catéter debido al cambio de contraste si éste no se tiene en cuenta en la estimación.

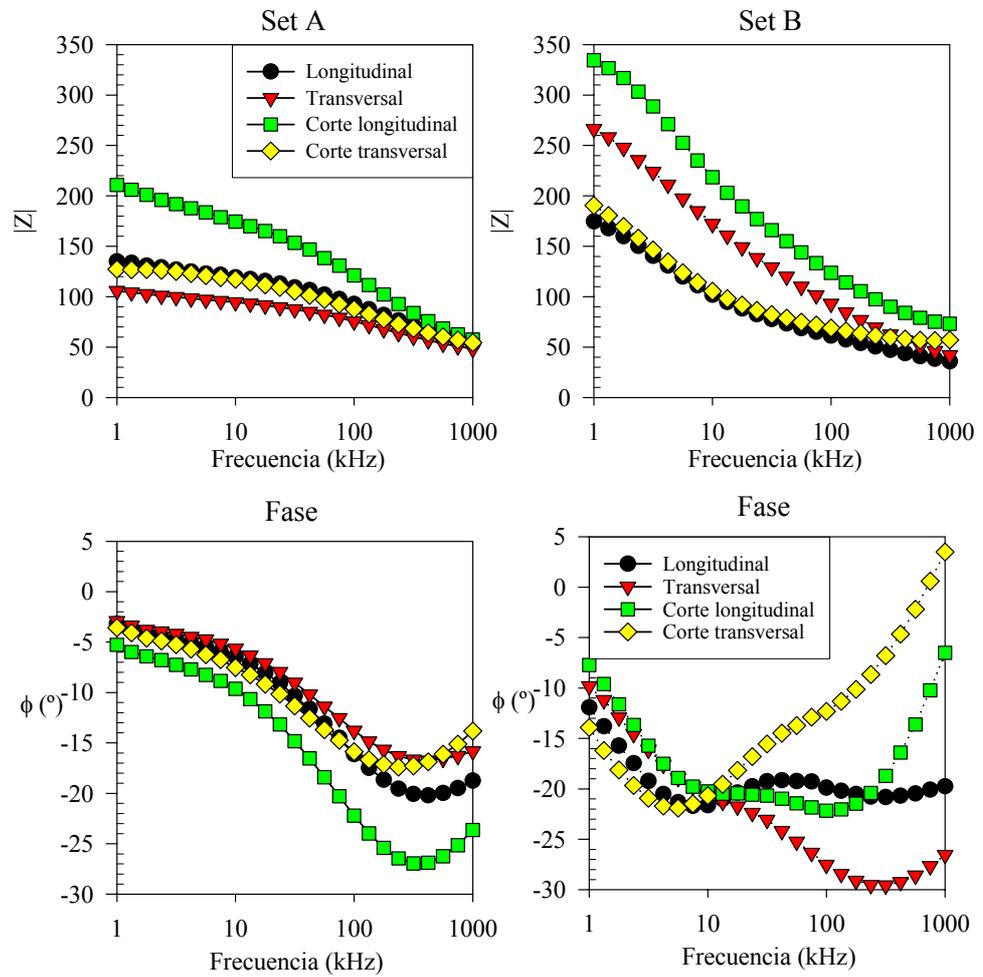


Figura 4-20. Magnitud y fase de las medidas invasivas con el arreglo de 4 electrodos de aguja sobre tejido de miocardio in vitro. Grupo A: medidas al inicio del experimento, Grupo B: medidas al final del experimento.

Efecto del desplazamiento del catéter

Los resultados de este experimento pueden verse en las Figura 4-21 y Figura 4-22. El desplazamiento del catéter desde una distancia de 4 mm hasta tocar el tejido (0 mm) provoca un incremento relativo de impedancia ($\Delta|Z|/|Z|$) del 4% a

10 kHz. La fase también se incrementa, presentando una diferencia de fase mayor a 0.5° después de 200 kHz, con el método a 3 electrodos, Figura 4-21.

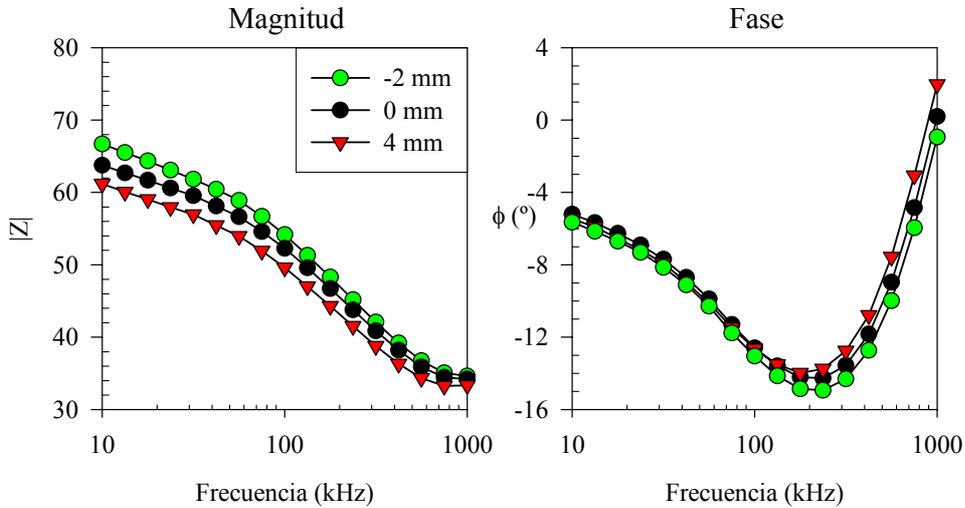


Figura 4-21. Experimento miocardio in vitro, espectro de impedancias a distintas distancias entre el catéter y la pared. Método a 3 electrodos, catéter perpendicular.

En el método a 2 electrodos, la impedancia presenta un $\Delta|Z|/|Z|$ del 12% a 10 kHz, este incremento es similar en todo el espectro y la fase al alejarse del tejido aumenta hasta en 0.8° (50 kHz) y después de 230 kHz disminuye en más de 1° , Figura 4-22.

Tanto en la Figura 4-21 y en la Figura 4-22 se muestra el espectro medido a una distancia de -2 mm. Esto nos indica que el catéter se encontraba en contacto con el tejido y se ejercía presión sobre él deformando su superficie. En ambos métodos se observa un incremento en magnitud y en fase. Lo más significativo es el aumento de fase a alta frecuencia, los que nos indica que las medidas con un catéter intracavitario serán sensibles a la presión ejercida. Es imprescindible tener en cuenta este hecho para evaluar la viabilidad de diferenciar distintos estados del tejido de miocardio.

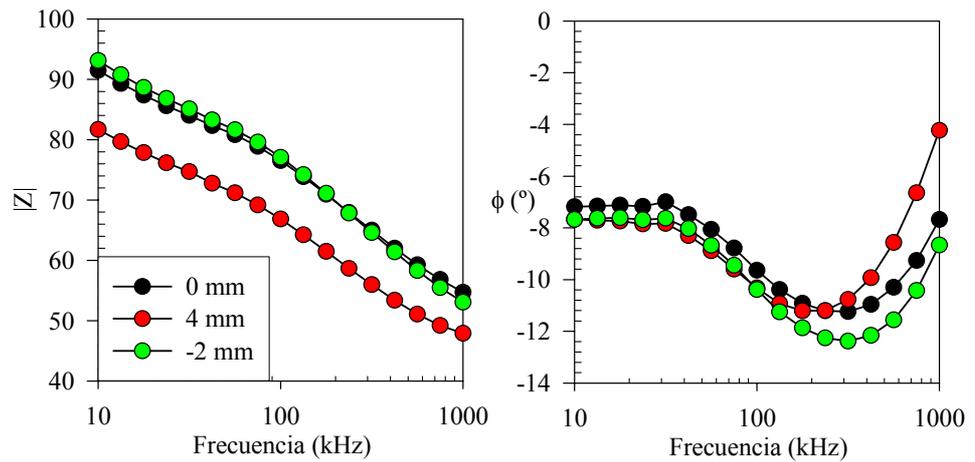


Figura 4-22. Experimento miocardio in vitro, espectro de impedancias a distintas distancias entre el catéter y la pared. Método a 2 electrodos, catéter perpendicular.

Otro efecto a considerar es la dependencia de la impedancia con la frecuencia. Este efecto representa un cambio de contraste en el tejido, ya que las características del medio cambian en función de la frecuencia. Para ilustrar este efecto, se muestra el desplazamiento del catéter en función de distintas frecuencias, Figura 4-23. Tanto con el 2EM como con el 3EM se obtienen pendientes positivas en los cambios de magnitud. La fase presenta una pendiente negativa únicamente a frecuencias altas (> 200 kHz). Mientras que las bajas frecuencias presentan una pendiente plana.

Por lo tanto, cuando el catéter se aproxima al tejido la magnitud de impedancia aumenta en todo el espectro de medida mientras la fase disminuye a altas frecuencias con ambos métodos (3EM y 2EM). El comportamiento de la fase en el tejido de miocardio in vitro es igual que en las simulaciones multifrecuencia pero el comportamiento del $|Z|$ es contrario a los resultados de las simulaciones in vitro multifrecuencia y de las medidas en el agar. Algunas causas de esta discrepancia pueden ser la geometría irregular que presentan las muestras de miocardio, la impedancia del electrodo de referencia, que no se ha incluido en los modelos, y su tamaño, la variación frecuencial de la impedancia del miocardio (a diferencia del agar), la anisotropía del tejido de miocardio y también su posible no heterogeneidad.

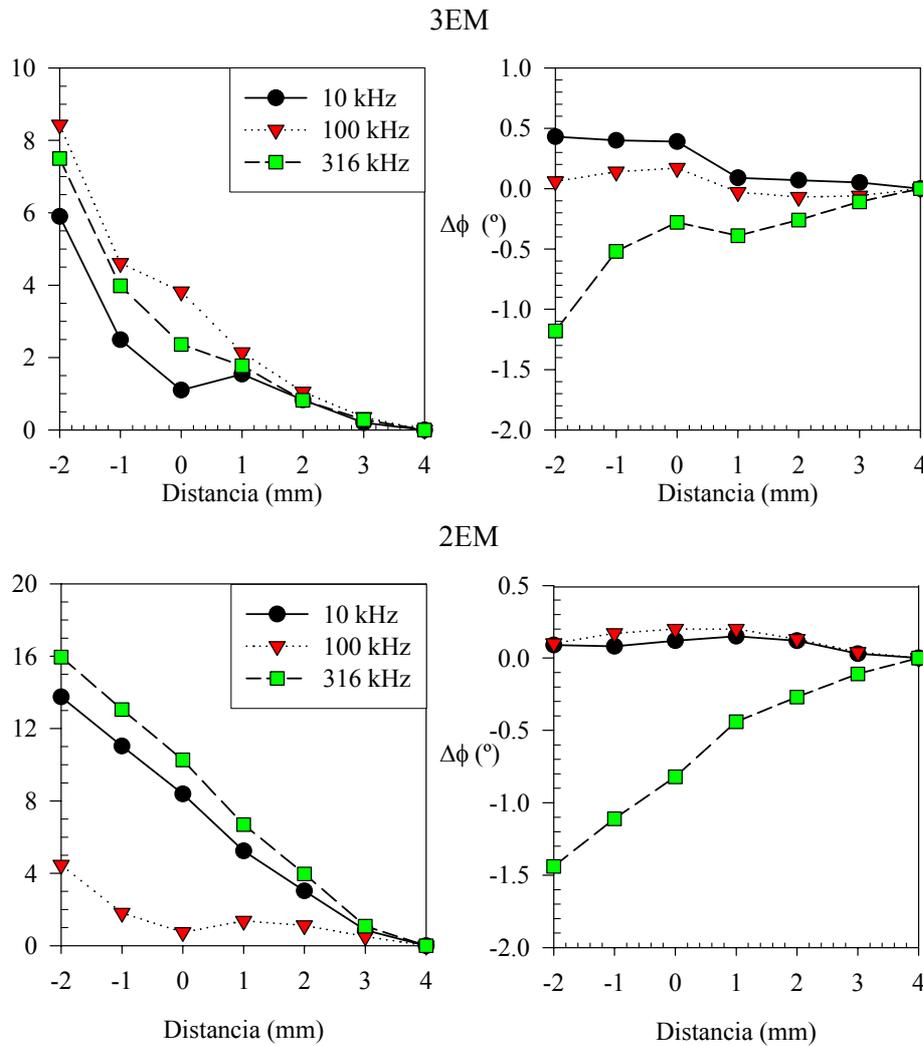


Figura 4-23. Cambio de impedancia con respecto a la distancia entre el catéter y el tejido a distintas frecuencias. Las gráficas superiores son para 3EM y las inferiores para 2EM.

Para esclarecer el comportamiento de la impedancia con la distancia del catéter al tejido, se procedió a simular el desplazamiento del catéter en el modelo completo del tórax, donde la geometría es irregular, el electrodo de referencia está más separado del catéter y, además, podíamos simular el comportamiento de un tejido considerando únicamente la conductividad o bien la conductividad y la permitividad relativa. Esta simulación más realista de las medidas mínimamente invasivas permitirá, posteriormente, su comparación con los resultados experimentales in vivo.

Sin embargo, una conclusión que ya es evidente es que para establecer una estimación de la distancia entre el catéter y el tejido es imprescindible conocer el contraste de los medios (sangre-miocardio). En las cavidades del corazón resulta difícil de establecer esta característica, ya que desconocemos la conductividad exacta de la sangre y del tejido de miocardio. Además, si se utiliza durante el proceso de ablación el tejido cambiará sus características a lo largo del procedimiento, por tanto el contraste cambiará y la estimación de distancia será incorrecta si no se tiene en cuenta este efecto.

4.5.3. Resultados del modelo de elementos finitos del tórax

Los resultados obtenidos, a partir de las simulaciones con el modelo del tórax, se describen dependiendo de los siguientes parámetros analizados y de la importancia de cada uno de ellos: el desplazamiento del catéter, el método de medida, la posición del electrodo de referencia, la detección de una zona de isquemia o cicatriz y el efecto de la respiración.

4.5.3.1 *Desplazamiento lineal del catéter*

Para esclarecer cual es el efecto de la distancia entre el catéter y el endocardio, se realizaron desplazamientos lineales del catéter en pasos de 1.25 mm alejándose de la pared anterior en posición perpendicular a la pared (posición 4a, ver Figura 4-8). Estos modelos se simularon para obtener los contrastes (C1, C2, C3, C4) utilizados en el modelo 3D cilíndrico del apartado 4.3.1, teniendo en cuenta únicamente la conductividad de los tejidos (sangre y miocardio) para calcular el contraste. Las simulaciones se realizan a 100 kHz al igual que el modelo cilíndrico monofrecuencia. Los resultados, que se pueden ver en la Figura 4-24, muestran que la impedancia aumenta si el catéter se aproxima al tejido, donde el incremento relativo de Z para un tejido sano (C2) es de 1.3% y para una isquemia aguda (C3) es del 4.5% con el 3EM. Mientras que el 2EM presenta cambios mayores (sano = 1.2%, isquemia = 6.5%).

Así, vemos que estos resultados están más en concordancia con los obtenidos en las muestras *in vitro* de miocardio (Figura 4-23) que con los resultados de las simulaciones utilizando una geometría cilíndrica o el agar. Posteriormente, se verá que las medidas en humanos también presentan el mismo comportamiento. Por tanto, podemos deducir que los resultados obtenidos en el modelo cilíndrico y en las

medidas en el agar están fuertemente condicionados por la geometría utilizada y que el uso de un modelo más completo es imprescindible.

En los apartados siguientes se utilizará el mismo modelo con los valores de impedancia compleja y se obtendrán los resultados para diversas posiciones del catéter tanto en magnitud como en fase en posición flotando en la cavidad o en contacto con el tejido.

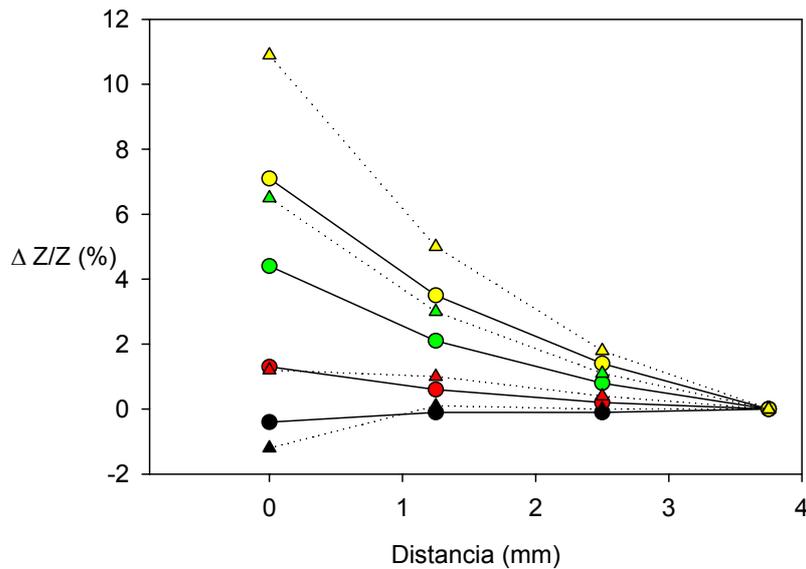


Figura 4-24. Incremento relativo de Z con respecto al punto más alejado en el modelo de tórax. Método a 3 electrodos: círculos, línea sólida. Método a 2 electrodos: triángulos, línea punteada. Contrastes: C1 (negro), C2 (rojo), C3 (verde) y C4 (amarillo).

4.5.3.2 Método de Medida, 2 o 3 electrodos

Tanto el incremento relativo de Z a bajas frecuencias como las diferencias de fase después de 100 kHz, debido a la presencia de una isquemia aguda o cicatriz en el miocardio, son muy parecidos para ambos métodos de medida (2EM y 3EM). Estas variaciones se mantienen a pesar de la posición del electrodo de referencia y del catéter. Por ejemplo, para el caso de miocardio con isquemia aguda si el catéter se localiza tocando el ápex (posición 1) con el electrodo de referencia en el pecho

(ERA) el $\Delta|Z|/|Z|$ es de un 5% para ambos métodos (3EM y 2EM). Y la diferencia de fase, a 316 kHz, es 1.2° y 1.3° para el 3EM y el 2EM respectivamente.

A pesar de esta similitud en las simulaciones, en las medidas reales con el método a 2 electrodos la impedancia del electrodo de la punta del catéter se suma a la medida. Como en este caso se trata de un electrodo de pequeñas dimensiones la impedancia puede ser elevada. La impedancia del electrodo depende del material de construcción del mismo, en el caso de acero inoxidable (que es el típico en los catéteres de electrofisiología) esta impedancia puede ser elevada (ver Anexo III). Por este motivo, en lo que sigue se tratarán únicamente los resultados obtenidos con el método a 3 electrodos (3EM). En el caso de poder fabricar catéteres especiales con un electrodo cuyo material sea de baja impedancia podría utilizarse el método a 2 electrodos y también serían válidos los comportamientos estudiados a continuación.

4.5.3.3 Posición del electrodo de referencia para detección de isquemia aguda o cicatriz

Considerando todas las combinaciones posibles entre las distintas posiciones del electrodo de referencia y del catéter, el electrodo de referencia en el pecho (ERA) es la mejor posición para la detección de la isquemia aguda o cicatriz, para las posiciones del electrodo de referencia definidas en el apartado de métodos (4.3.2.3 Variaciones del modelo del tórax). Debido a que el incremento relativo de impedancia, así como la diferencia de fase, son mayores independientemente de la posición del catéter en el ventrículo izquierdo.

La mejor posición del catéter para la detección de isquemia aguda o cicatriz, con el electrodo de referencia ERA, es la posición (4a), Figura 4-25. La isquemia aguda presenta un incremento relativo de impedancia ($\Delta|Z|/|Z|$) del 5% a 1 kHz, y diferencia de fase ($\Delta\Phi$) de 1.2° a 316 kHz. No importa la dirección del catéter, si es perpendicular a la pared (posición 4a) o paralelo a la pared (4b), ya que los cambios son de la misma magnitud.

Para el caso de cicatriz, si el catéter se localiza sobre la pared anterior (posición 4a), se presenta un decremento en la magnitud de impedancia a bajas frecuencias, del 10% a 1 kHz y una diferencia de fase mayor a 1.5° después de 170 kHz.

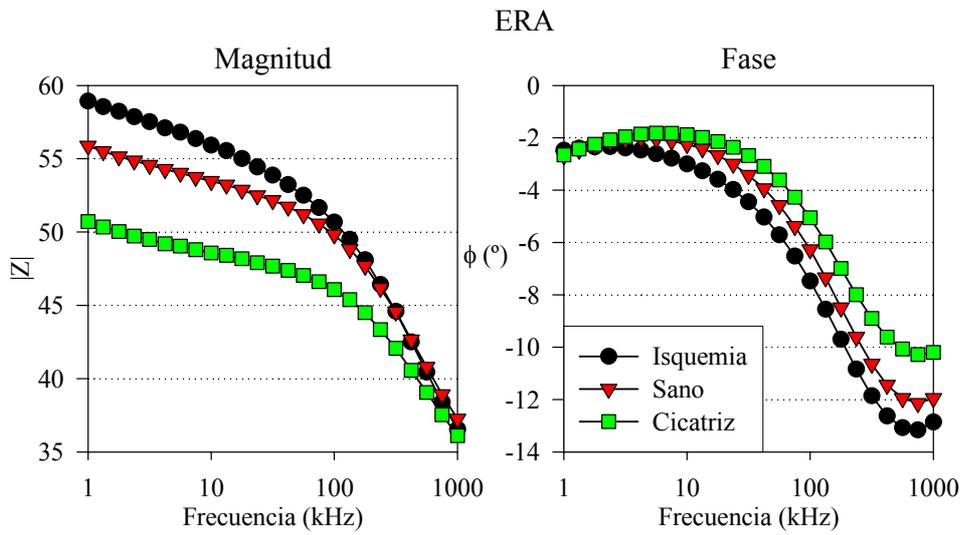


Figura 4-25. Magnitud y Fase de impedancia para tejido sano, isquemia y cicatriz. Posición del catéter 4a. Electrodo de referencia anterior (ERA).

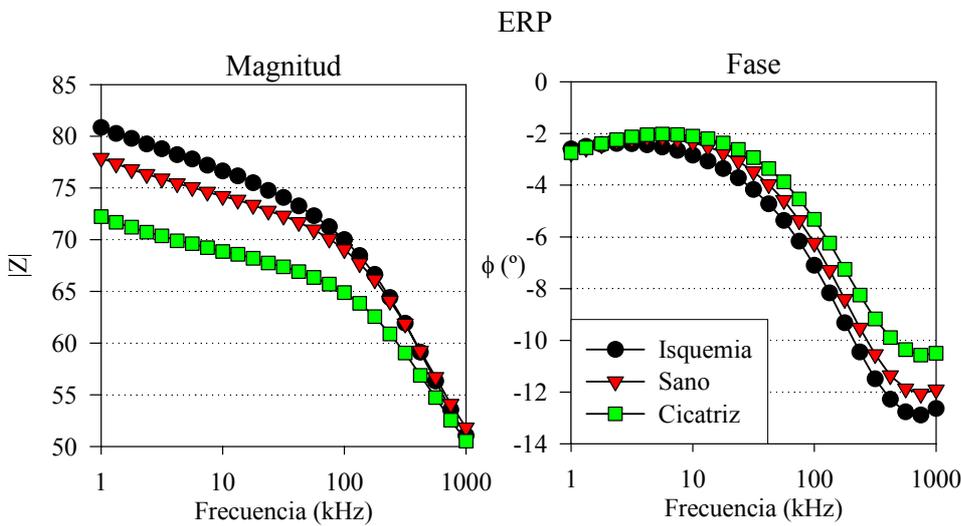


Figura 4-26. Magnitud y Fase de impedancia para tejido sano, isquemia y cicatriz. Posición del catéter 4a. Electrodo de referencia Posterior (ERP).

Estos cambios se modifican ligeramente si el electrodo de referencia cambia de posición. En el caso de isquemia aguda, si éste se localiza en la espalda (ERP) el $\Delta|Z|/|Z|$ decrece en 1% y la diferencia de fase en menos de 0.3° con respecto a los

cambios obtenidos con el ERA cuando el catéter se localiza sobre el ápex (posición 1) o la pared anterior (posición 4a y 4b). Para el caso de cicatriz, con el ERP, el $\Delta|Z|/|Z|$ decrece en un 2% mientras que el cambio de fase es menor en 0.5° , Figura 4-26. Si el electrodo de referencia se coloca en el costado izquierdo (ERL) los cambios de magnitud y fase presentan variaciones similares a las que se dan con el ERP.

Por lo tanto, para facilitar la práctica clínica, por ejemplo en el procedimiento de ablación, se puede utilizar el mismo electrodo de referencia de ablación que se sitúa en la espalda, sin que esto represente una pérdida de sensibilidad en la detección del cambio del estado del tejido de miocardio (comparar Figura 4-25 con la Figura 4-26).

4.5.3.4 Efecto de la posición del catéter en relación con la zona de isquemia o cicatriz al recorrer la pared del ventrículo izquierdo.

Para evaluar la detección de una zona de isquemia o cicatriz, se han simulado diversas posiciones del catéter sobre la pared del ventrículo izquierdo al pasar de una zona dañada a una zona sana. En nuestro estudio equivale al cambio de posición del catéter, desde la posición (4a) zona de isquemia o cicatriz, a la posición (4d) zona sana, pasando por la posición 4c que es el límite entre las dos zonas definidas, con desplazamientos aproximados de 1 cm.

Al pasar el catéter de la zona isquémica (4a) a la sana (4d) con el catéter en posición perpendicular y en contacto con el tejido el $\Delta|Z|/|Z|$ tan solo presenta un cambio del 2% a 1 kHz, y se tiene una diferencia de fase de 0.9° entre 56 y 560 kHz, Figura 4-27.

Mientras que el cambio debido a la presencia de una cicatriz presenta variación en magnitud a baja frecuencia del 10% al pasar de una zona de cicatriz a una zona sana, y la diferencia de fase máxima obtenida es de 1.7° a 560 kHz.

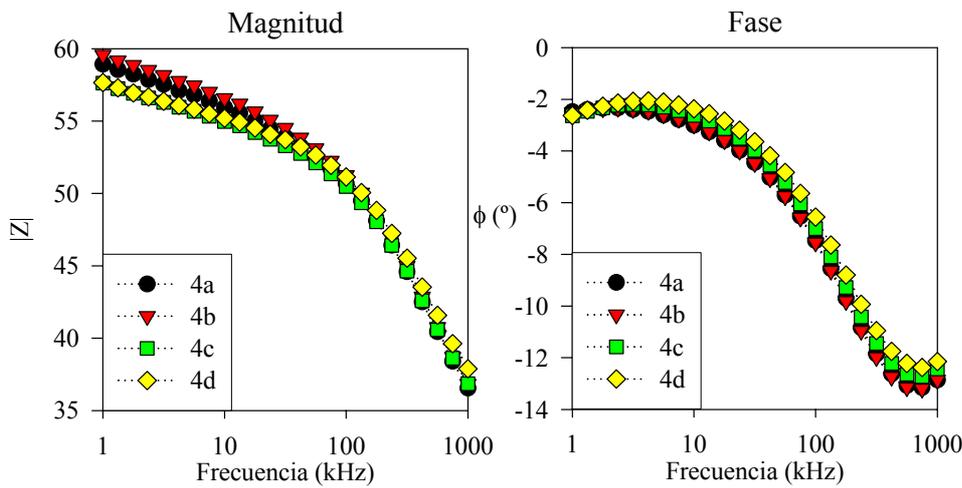


Figura 4-27. Magnitud y fase de la impedancia para la simulación de una isquemia aguda con distintas posiciones del catéter en la región anterior del ventrículo (4a, 4b, 4c, 4d) utilizando el Electrodo de Referencia Anterior (ERA)

Por lo tanto, de todas las posiciones que puede ocupar el catéter dentro del ventrículo (definidas en el apartado 4.3.2.3) y el cambio en las características del tejido, podemos analizar los cambios en el espectro de impedancia y seleccionar las frecuencias óptimas para el incremento relativo de impedancia y para la diferencia de fase. De los espectros mostrados anteriormente, tanto para medidas invasivas como mínimamente invasivas, se deduce que la frecuencia óptima para la fase está alrededor de 300 kHz y para el módulo es a baja frecuencia (1 kHz a 10 kHz). Para una mayor concisión, en los siguientes apartados sólo se tendrán en cuenta estas frecuencias.

En la Figura 4-28, se muestra un resumen de los resultados obtenidos para la magnitud de la impedancia a 1 kHz. Si comparamos las posiciones en zona sana (3, 2, 4d) y en la zona alterada (0, 1, 4a, 4b) tenemos que la separación de grupos en miocardio normal, isquemia aguda o cicatriz no es posible ya que hay solapamiento de los valores. Aún más, si a esos cambios se añade la variación de la respiración, de espiración a inspiración máxima, tan solo podrían distinguirse la isquemia aguda de la cicatriz en las posiciones óptimas del catéter (4a, 4b, 1), Figura 4-30.

Sin embargo, la fase a 316 kHz (Figura 4-29) muestra una diferencia de fase máxima para el electrodo de referencia anterior, mayor a 1°, entre las posiciones donde el catéter se localiza sobre la zona de isquemia, estas posiciones son 0, 1, 4a y 4b.

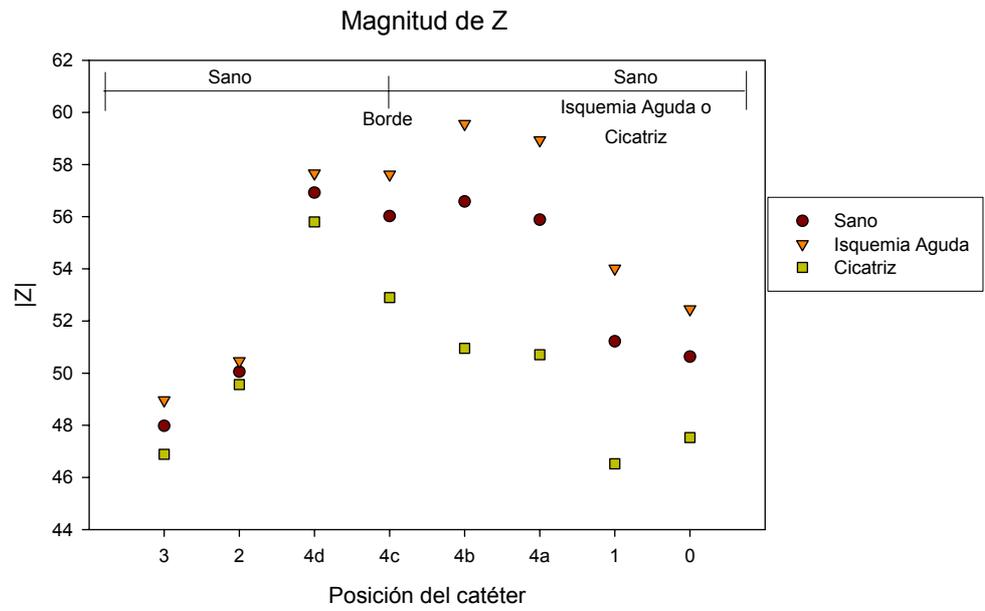


Figura 4-28. Magnitud de impedancia a 1 kHz en espiración máxima. La gráfica separa las posiciones localizadas sobre el tejido sano, borde o isquemia.

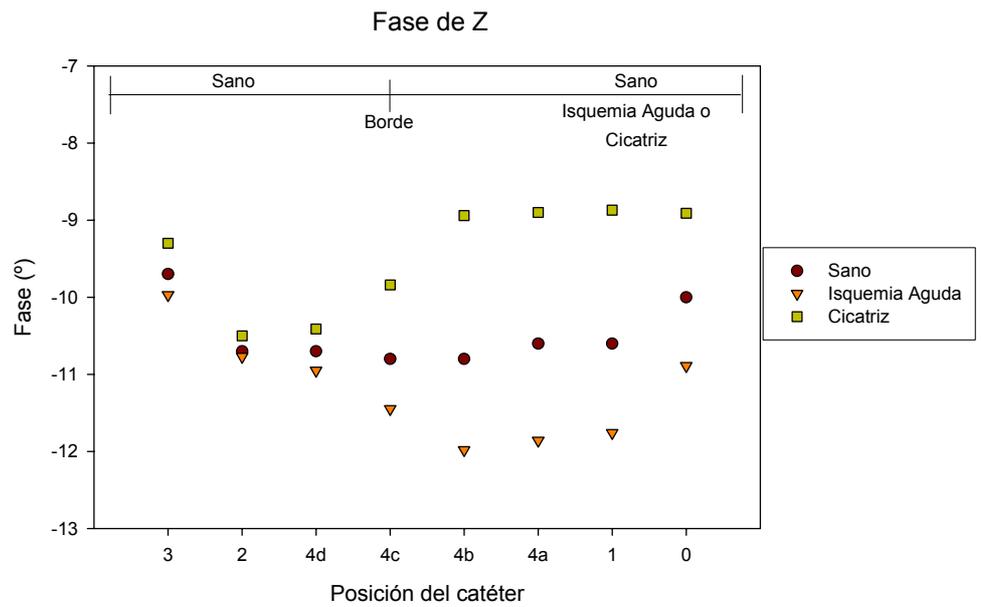


Figura 4-29. Fase de impedancia a 316 kHz, en estado de máxima espiración.

Esto permite distinguir si el catéter se encuentra sobre una zona con isquemia aguda, cicatriz o sana. Incluso si el catéter toca la zona con isquemia, posición 4a, y se desplaza sobre el borde (4c) para después colocarse sobre la zona sana 4d como la fase decrece a valores de tejido sano, permite reconocer sobre que tipo de tejido se encuentra. Suponiendo que el catéter siguiese un recorrido sobre tejido sano, la fase no presenta variaciones mayores a 0.2° , excepto en la posición (1). Incluso existe una diferencia de fase de 1° entre si el catéter esta flotando o tocando la pared del miocardio sano, y de 1.9° si la pared presenta una isquemia aguda. Esta diferencia para la cicatriz es de 0.4° únicamente. Estas diferencias de fase se conservan a pesar del efecto de la respiración, Figura 4-31.

La posición 0, a pesar de que a 316 kHz alcanza la diferencia de fase máxima debido al cambio de tejido de sano a isquémico, no se obtienen valores de fase más negativos debido a que la posición del electrodo de referencia no es la mejor para esta posición del catéter. Por lo tanto, siempre se detectarán cambios mayores si el tejido de miocardio con isquemia aguda o cicatriz se localiza entre la punta del catéter y el electrodo de referencia.

4.5.3.5 Efecto de la respiración

No debemos olvidarnos del efecto que puede producir la respiración. Los cambios en el tejido para una isquemia aguda o cicatriz no presentan un cambio significativo en la modulación de impedancia producida por la respiración, debido a un cambio de mínima a máxima espiración.

Por ejemplo, para el caso de miocardio con isquemia aguda, la modulación de la impedancia debida a una máxima inspiración, provoca un cambio del 10% a 1 kHz y una diferencia de fase de 0.6° a 1 MHz con el catéter sobre el ápex con el ERA. Incrementándose hasta un 14% y 16% en el electrodo de referencia posterior (ERP) y lateral (ERL) respectivamente. Mientras que la fase no sufre un cambio significativo, (diferencia de fase, ERP = 0.7° , y ERL = 0.8° a 1 MHz). El efecto de la respiración se ha representado como el cambio de máxima espiración (símbolos: cuadros, círculos ó triángulos) a máxima inspiración (líneas horizontales) para los distintos tejidos y posiciones del catéter representadas en la Figura 4-30 y Figura 4-31.

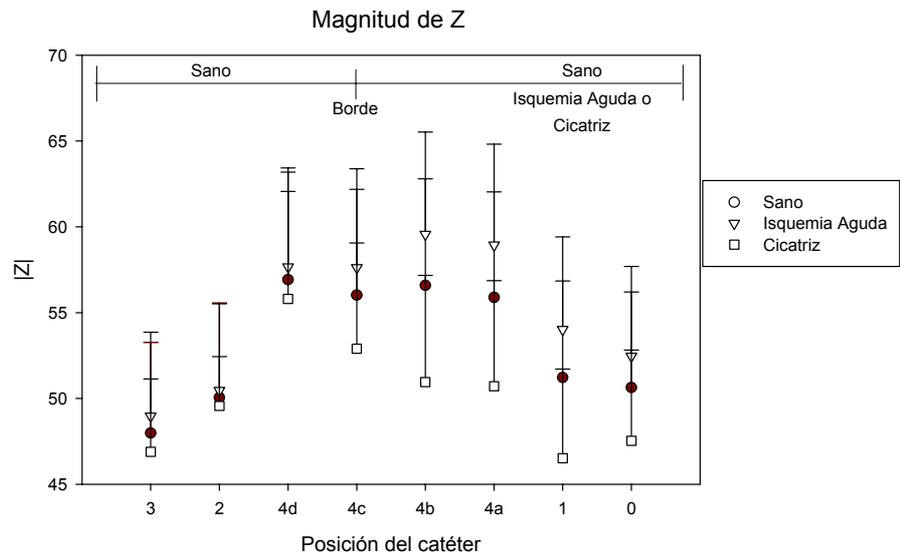


Figura 4-30. Magnitud de impedancia a 1 kHz para espiración máxima, las marcas horizontales indican los valores alcanzados para una máxima inspiración. La gráfica separa las posiciones localizadas sobre el tejido sano, borde o isquemia.

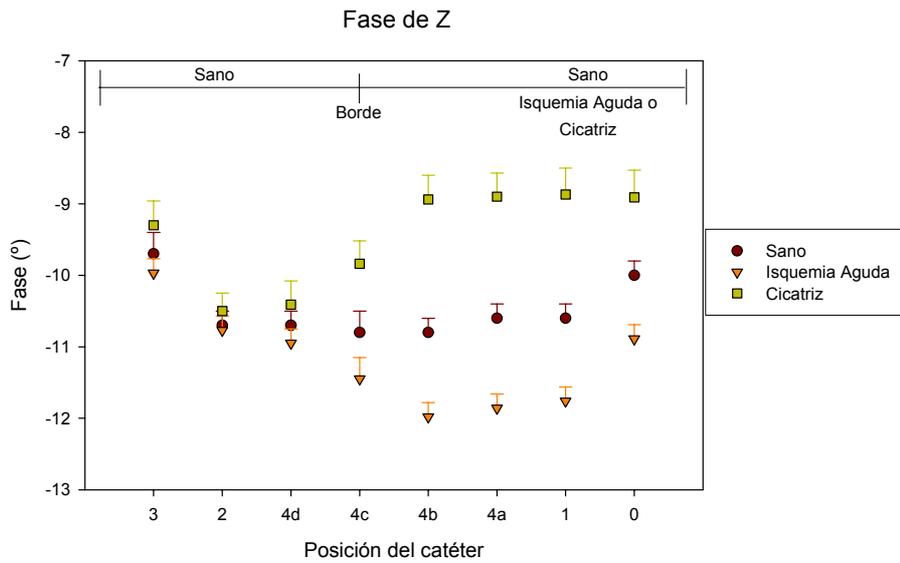


Figura 4-31. Fase de impedancia a 316 kHz para máxima espiración, las marcas horizontales indican los valores alcanzados para una máxima inspiración.

La magnitud a baja frecuencia (1 kHz) presenta una modulación mayor debida a la respiración mientras que en la fase se presenta a alta frecuencia (1 MHz). El conjunto de $\Delta|Z|/|Z|$ (%) a 1 kHz y la $\Delta\phi$ a 1 MHz se muestran en el Anexo IV. Donde se muestran los resultados de estos cambios debidos a la respiración para los dos métodos de medida (3EM y 2EM) y algunas de las posiciones del catéter (0, 1, 2, 3). En los tres tipos de tejido simulado: sano, isquemia aguda y cicatriz.

4.5.4. Resultados de las medidas experimentales en modelos animales in vivo

Los resultados de las medidas en los 3 animales (cerdos) in vivo se explicarán por separado. Estos experimentos fueron planteados como un proceso de validación y perfeccionamiento del prototipo de experimentación antes de realizar las medidas en pacientes. Por lo tanto, describiremos los resultados y los problemas detectados en cada uno de ellos. Todo este proceso fue necesario para llegar a la certificación del equipo para realizar posteriormente medidas en humanos.

Durante el desarrollo del primer experimento (16/07/03), se detectaron fallos en el equipo, tales como:

- algunos registros no tenían las medidas de impedancia antes de 10 kHz,
- no se registraba la medida de temperatura o no se registraba de la forma adecuada,
- en este experimento, dada la longitud de los registros de impedancia, y el hecho de que la respiración no fuera periódica ni a un volumen constante, impedía la supresión del artefacto producido por la ventilación pulmonar,
- problemas de diafonía, debidos tal vez a que el convertidor A/D conmutaba secuencialmente en cada uno de los canales del equipo,
- el conector correspondiente al catéter de referencia de temperatura fallaba,
- excesiva ganancia del ECG superficial,
- exceso de ruido en el ECG interno.

Al final del experimento, cuando se procesaron los datos obtenidos, los espectros de impedancia temporal mostraban una gran influencia de la impedancia del electrodo de referencia. A baja frecuencia (1 kHz) se tenían valores de fase inferiores a 30° en todos los registros, además de artefactos de alta frecuencia, Figura 4-32.

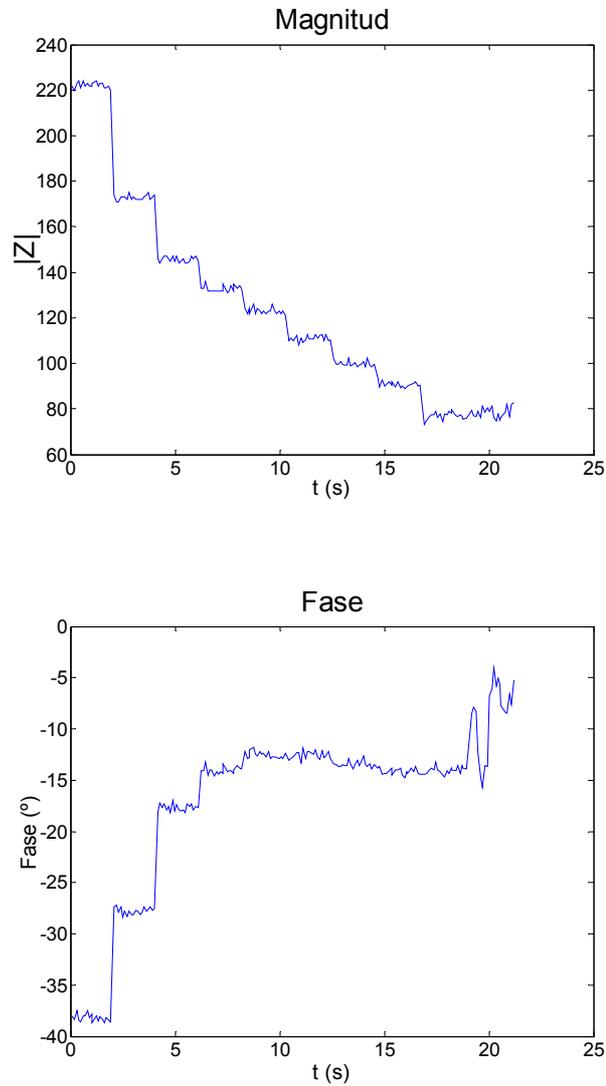


Figura 4-32. Registro temporal de impedancia, correspondiente a una medida en el ventrículo izquierdo. Los escalones responden a cambios de frecuencia, desde 1 kHz a 1 MHz a tres puntos por década.

La calibración con la medida en la aorta no corrigió los artefactos debido a que ese archivo no era constante. Además el número de puntos medidos por frecuencia son insuficientes para realizar la sincronización con el electrocardiograma. Por lo tanto, se realizaron cambios en el equipo y software para no registrar las frecuencias inferiores a 10 kHz y aumentar el número de puntos por frecuencia.

En el experimento *28/04/2003*, la evolución temporal de las medidas registradas presentan tanto la modulación por la respiración como por la actividad propia del corazón y la influencia de la impedancia del electrodo a baja frecuencia se hace notar en la fase, Figura 4-33. Por lo tanto, después de la calibración con la medida en la aorta, y el filtrado de la respiración, únicamente tenemos el efecto de la actividad cardiaca.

El efecto de la actividad cardiaca no se pudo sincronizar con la medida de ECG, ya que la trama correspondiente con el ECG intracavitario no corresponde con la trama que se guardó en el fichero de impedancia. Por lo tanto, el espectro de cada una de las cavidades medidas, corresponde al valor medio de las medidas registradas a cada frecuencia.

Los espectros presentan el mismo comportamiento si el electrodo de referencia se encuentra en la espalda (ERP) o en el pecho (ERA). Los cambios de impedancia en magnitud y fase son debidos a la posición del catéter y del electrodo de referencia, Figura 4-34. El efecto del electrodo de referencia a baja frecuencia se reduce significativamente, sin embargo en magnitud la vena cava superior (VCS) y las aurículas (derecha e izquierda) presentan un artefacto a alta frecuencia. Sin embargo, la medida en los ventrículos presenta una calibración adecuada con la medida en la aorta.

A continuación describiremos el efecto de la respiración en magnitud y fase, así como las variaciones de impedancia debidas a la posición del electrodo de referencia y del catéter.

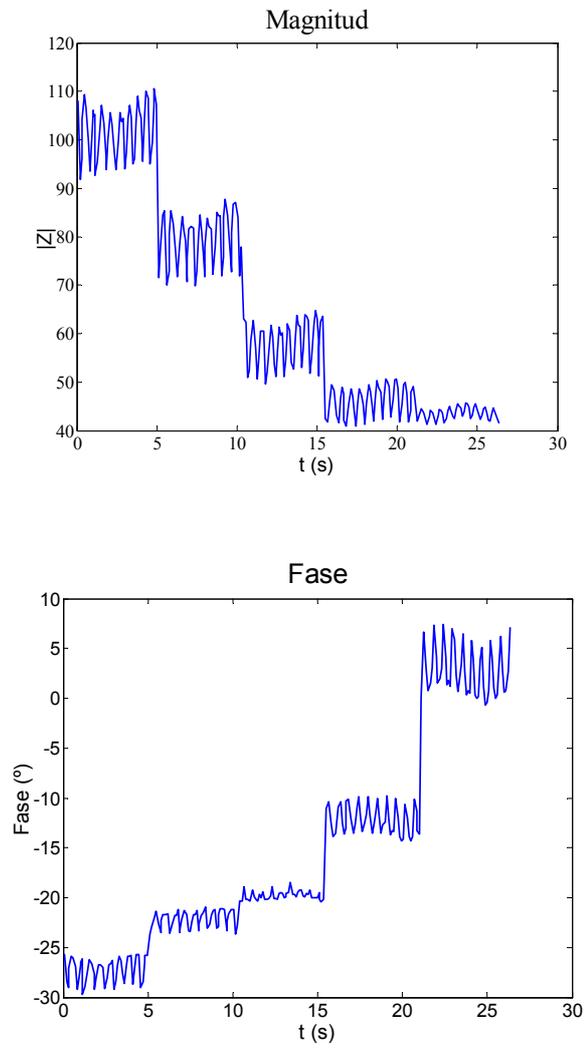


Figura 4-33. Evolución temporal de la magnitud y de la fase de la impedancia de un registro medido en el ventrículo izquierdo. Pueden observarse los cambios al cambiar de frecuencia y la modulación provocada por la contracción cardiaca.

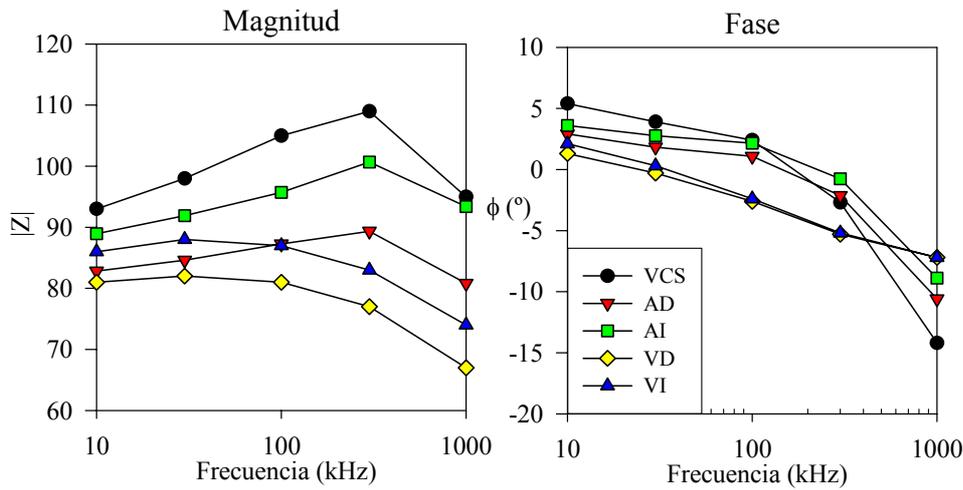


Figura 4-34. Magnitud y fase para las siguientes cavidades del corazón: (AD) aurícula derecha, (AI) aurícula izquierda, (VD) ventrículo derecho, (VI) ventrículo izquierdo. (VCS) vena cava superior. Electrodo de Referencia Anterior. Medidas calibradas con la medida en la aorta.

4.5.4.1 Efecto de la respiración

En este análisis tenemos que a excepción del ventrículo izquierdo (VI) y la vena cava superior (VCS), la respiración presenta una modulación mayor con el electrodo de referencia anterior (ERA) que en posición posterior (ERP).

La modulación debida a la respiración en las medidas en el ventrículo izquierdo, provoca un incremento de magnitud del 5% a 10 kHz si el catéter se encuentra sobre el endocardio, este porcentaje se reduce al 4% si el catéter se localiza flotando en esta misma cavidad, con el electrodo de referencia anterior (ERA). Sin embargo, con el electrodo de referencia posterior, la modulación es del 7% independientemente de la posición del catéter en el ventrículo izquierdo.

Entre el resto de cavidades medidas las que mayor influencia por la respiración presentan son la vena cava inferior (16%) para las dos posiciones del electrodo de referencia (ERA y ERP). Las aurículas con el electrodo de referencia anterior presenta una modulación superior a los ventrículos cuando el catéter toca la pared del endocardio (11% y 13% aurícula derecha e izquierda respectivamente), Figura 4-35.

Para poder comparar los resultados obtenidos en estas medidas experimentales con los valores de impedancia obtenidos por las simulaciones del modelo de elementos

finitos del tórax se normalizaron para que el volumen de respiración fuera 650 ml al igual que en las medidas experimentales.

Por lo tanto, la modulación debida a la respiración, en las medidas en el ventrículo izquierdo, provoca un incremento de magnitud del 5% a 10 kHz si el catéter se encuentra sobre el endocardio, este porcentaje se reduce al 4% si el catéter se localiza flotando en esta misma cavidad, con el electrodo de referencia anterior (ERA). Por otra parte, con el electrodo de referencia posterior, si el catéter esta flotando la modulación aumenta (VIF = 7%). En cambio, las simulaciones muestran un cambio del 4% si el catéter tocaba la pared y 3% si flotaba en la cavidad para el ERA lo cual aumentaba con el ERP (VIF = 5%). Esta variación de impedancia debida a la respiración se representa en la Figura 4-37 como la desviación estándar de $|Z|$.

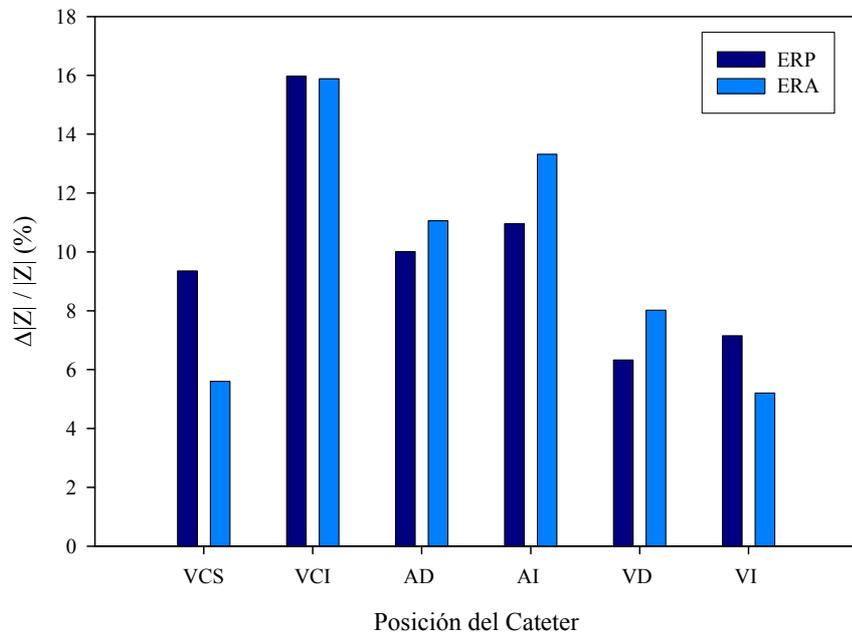


Figura 4-35. Modulación de la magnitud de impedancia a 10 kHz debido a la respiración, catéter tocando la pared del endocardio. Diferentes posiciones del catéter en el corazón: Vena Cava Superior (VCS), Vena Cava Inferior (VCI), Aurícula Derecha (AD), Aurícula Izquierda (AI), Ventrículo Derecho (VD), Ventrículo Izquierdo (VI).

La modulación producida por la respiración, de mínima espiración a máxima inspiración, provocan siempre un incremento mayor si el catéter se localiza sobre la pared del miocardio a pesar de la posición del electrodo de referencia.

Los cambios obtenidos en el experimento no son exactamente de la misma magnitud que lo esperado en las simulaciones, pero la diferencia es pequeña (alrededor del 1%).

4.5.4.2 Efecto del cambio de posición del catéter y del electrodo de referencia

Los resultados muestran que el $|Z|$ aumenta si el catéter se aproxima a la pared del miocardio. Los experimentos presentan un incremento relativo de impedancia con respecto a la posición del catéter flotando ($\Delta|Z|/|Z|$ (%)) en todas las cavidades. Esta variación de impedancia es mayor en los ventrículos cuando la medida se realiza con el electrodo de referencia anterior (VI = 9%, VD = 8%, ERA) que si el electrodo de referencia esta en la espalda (VI = 6%, VD = 3%, ERP), Figura 4-36. Mientras que en la aurícula derecha el incremento es de la misma magnitud para las dos posiciones del electrodo de referencia.

Por otra parte, la fase es más negativa cuando el catéter toca la pared del miocardio. Las diferencias de fase entre la posición del catéter tocando y flotando, a 300 kHz, en los ventrículos pueden alcanzar valores igual o mayor a 1° , Figura 4-36. Pero en el ventrículo izquierdo se tiene la diferencia mayor con el electrodo de referencia anterior (ERA = -3.1° , ERP = -1.8°). Mientras que en la aurícula derecha el cambio de posición del catéter es inferior a 1° (ERA = 0.6° , ERP = 0.1°).

La magnitud de Z aumenta si el catéter se aproxima a la pared del miocardio, situación anteriormente mostrada en las simulaciones del modelo de elementos finitos del tórax, (ver sección 4.5.3.4 Efecto de la posición del catéter en relación con la zona de isquemia o cicatriz al recorrer la pared del ventrículo izquierdo, Figura 4-28 y Figura 4-29, posición 1 y 3). Incluso, cuando se realizan las simulaciones donde el desplazamiento del catéter es en pasos de 1.2 mm, el incremento que se tiene para una distancia de 3.75 mm es de 1.3%. Por lo tanto, al igual que los resultados obtenidos con las medidas en tejido de miocardio in vitro, es de esperar que a una distancia mayor este valor aumente.

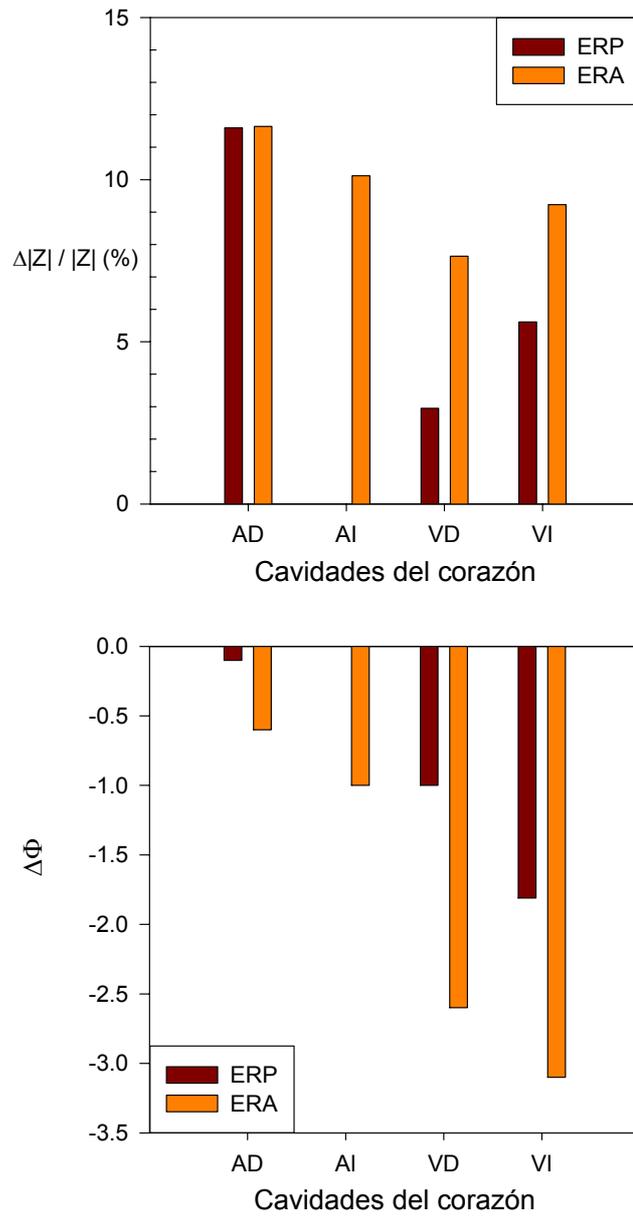


Figura 4-36. Derecha: Incremento relativo de $|Z|$ a 10 kHz, con respecto a la posición del catéter flotando en cada una de las cavidades del corazón. Izquierda: Diferencia de fase a 300 kHz, con respecto a la posición del catéter flotando en cada una de las cavidades del corazón. Dos posiciones del electrodo de referencia: anterior (ERA) y posterior (ERP).

En el experimento animal (280403) tenemos que el incremento relativo de la magnitud de impedancia con respecto a la posición del catéter flotando ($\Delta|Z|/|Z|$ (%)) es mayor en los ventrículos cuando la medida se realiza con el electrodo de referencia anterior (VI = 9%, VD = 8%, ERA) que si el electrodo de referencia esta en la espalda (VI = 6%, VD = 3%, ERP). Para un corazón sano, como es el caso del experimento 280403, la simulación a 10 kHz estimaba un incremento mayor en el ERA ($\Delta|Z|/|Z| = 10\%$ ERA y 7% ERP) entre el ápex (Posición 1) y flotando (Posición 3), Figura 4-37.

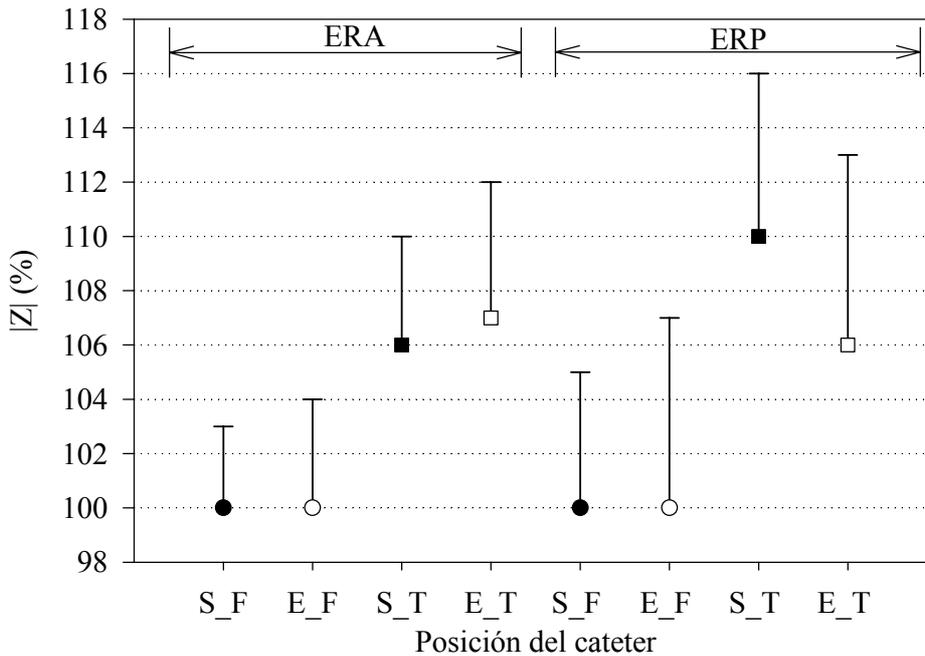


Figura 4-37. Incremento relativo de Z a 10 kHz, con respecto a la posición del catéter flotando en el ventrículo izquierdo. Experimento animal 280403 vs. Simulaciones del modelo de elementos finitos del tórax. Para las posiciones del electrodo de referencia: anterior (ERA) y posterior (ERP). La desviación estándar es el incremento de impedancia debida a la respiración. S = Simulación (negro), E = Experimento (blanco), F = Flotando (círculos), T = Tocando (cuadrados).

Por otra parte, la fase es más negativa cuando el catéter toca la pared del miocardio. Las diferencias de fase a 300 kHz, en el ventrículo izquierdo alcanza valores mayores a 1.5° . Pero siempre la diferencia es mayor con el electrodo de referencia anterior

(ERA = -3.1° , ERP = -1.8°). Esta situación tiene la misma tendencia en las simulaciones pero la diferencia de fase es menor, (0.9° ERA, 0.7° ERP). La fase medida en la vena cava superior, presenta una diferencia de fase de 3.2° con respecto a la fase medida en el ventrículo izquierdo entre 100 kHz y 300 kHz con el ERA lo cual disminuye con el ERP a 2.8° de diferencia para el mismo rango de frecuencias. Esta situación también es igual tanto en las simulaciones del modelo de elementos finitos cilíndrico en el análisis multifrecuencia y en las medidas del tejido de miocardio in vitro. Por lo tanto, la fase parece no depender tanto del cambio de geometría como depende de la magnitud de impedancia.

4.5.4.3 Evolución temporal de la medida de impedancia

En el último experimento (21/05/2003), después de procesar los registros, el efecto de artefactos continuaba presente. Estos artefactos se debían al mal contacto de los electrodos de referencia y por lo tanto los espectros de impedancia, a pesar de la calibración con la aorta, no se corrigieron. Por lo tanto, este experimento nos sirvió para comprobar únicamente si el proceso de sincronización con el ECG superficial era el correcto y si la velocidad de adquisición del equipo era adecuada para ver algún cambio por el efecto de contracción del corazón. A pesar de que los espectros de impedancia como tal no eran adecuados, se realizó la sincronización con el QRS del ECG superficial en registros y frecuencias definidos.

La evolución temporal de esta sincronización presenta una modulación tanto en magnitud como en fase, por ejemplo, en el registro del ventrículo izquierdo con el catéter tocando la pared se tiene un $\Delta|Z|/|Z|$ del 27% y una $\Delta\phi$ de 8° a 300 kHz, Figura 4-38. Sin embargo, en la vena cava superior no se observa una modulación como la del ventrículo, ya que las variaciones son sólo del orden de 2Ω en magnitud y 0.3° en fase, Figura 4-39.

Los registros tomados para probar la seguridad del equipo muestran un ECG intracavitario saturado a las frecuencias 10 y 100 kHz, y extrasístoles para las frecuencias de 30, 300 y 1000 kHz, cuando se aplica una tensión de 1.1 V. Cuando la frecuencia de la señal aplicada es de 1 kHz, el ECG intracavitario esta saturado para todas las frecuencias. Este efecto se representa en las medidas de impedancia a baja frecuencia donde la magnitud presenta un $\Delta|Z|/|Z|$ del 18% y una $\Delta\phi$ de 2.3° a 10 kHz, Figura 4-40.

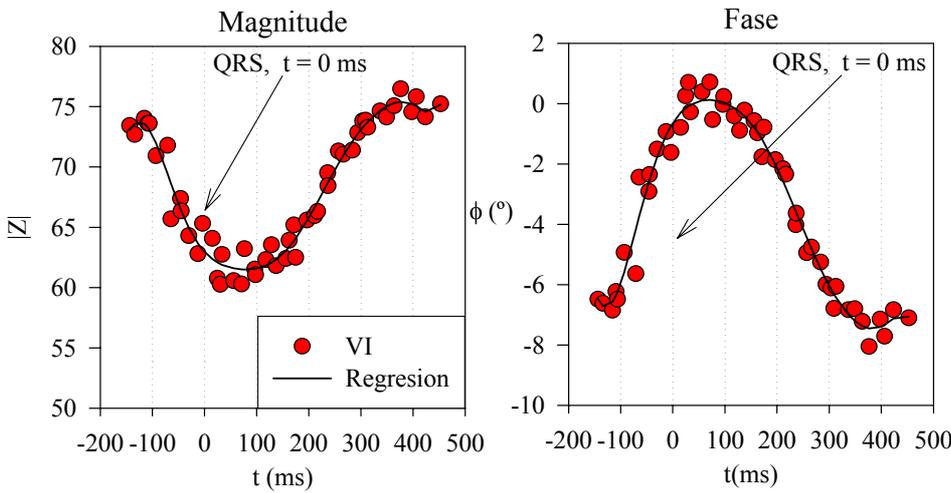


Figura 4-38. Evolución temporal con la sincronización con el QRS superficial. Registro Ventrículo Izquierdo (VI), electrodo de referencia anterior (ERA). Frecuencia 300 kHz.

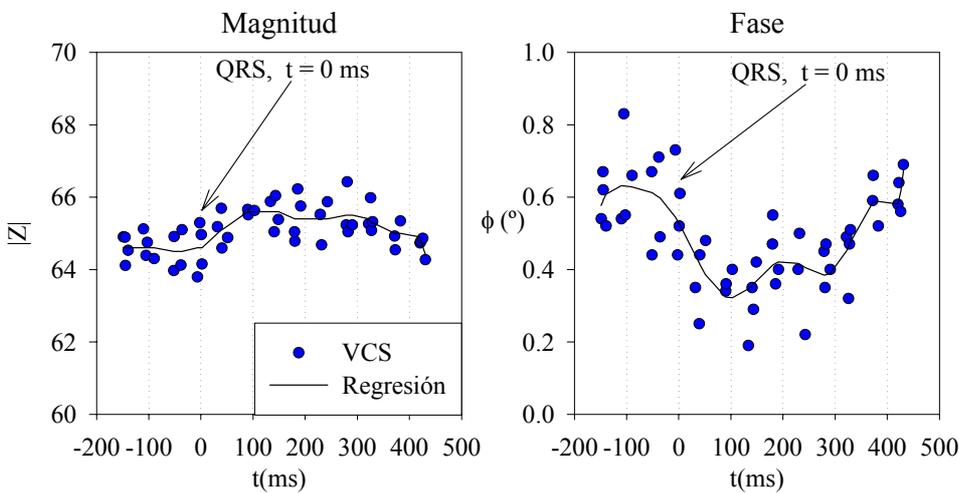


Figura 4-39. Evolución temporal con la sincronización con el QRS superficial. Registro: Vena Cava Superior (VCS), y la regresión de 4° orden. Electrodo de Referencia Anterior. Frecuencia 300 kHz.

Después de este experimento, se limitó la corriente del equipo a baja frecuencia para no provocar fibrilaciones y de esta forma cumplir con las normas de seguridad eléctrica para equipos médicos. Por lo tanto, se realizaron los cambios requeridos en el hardware y posteriormente se realizó la certificación del equipo.

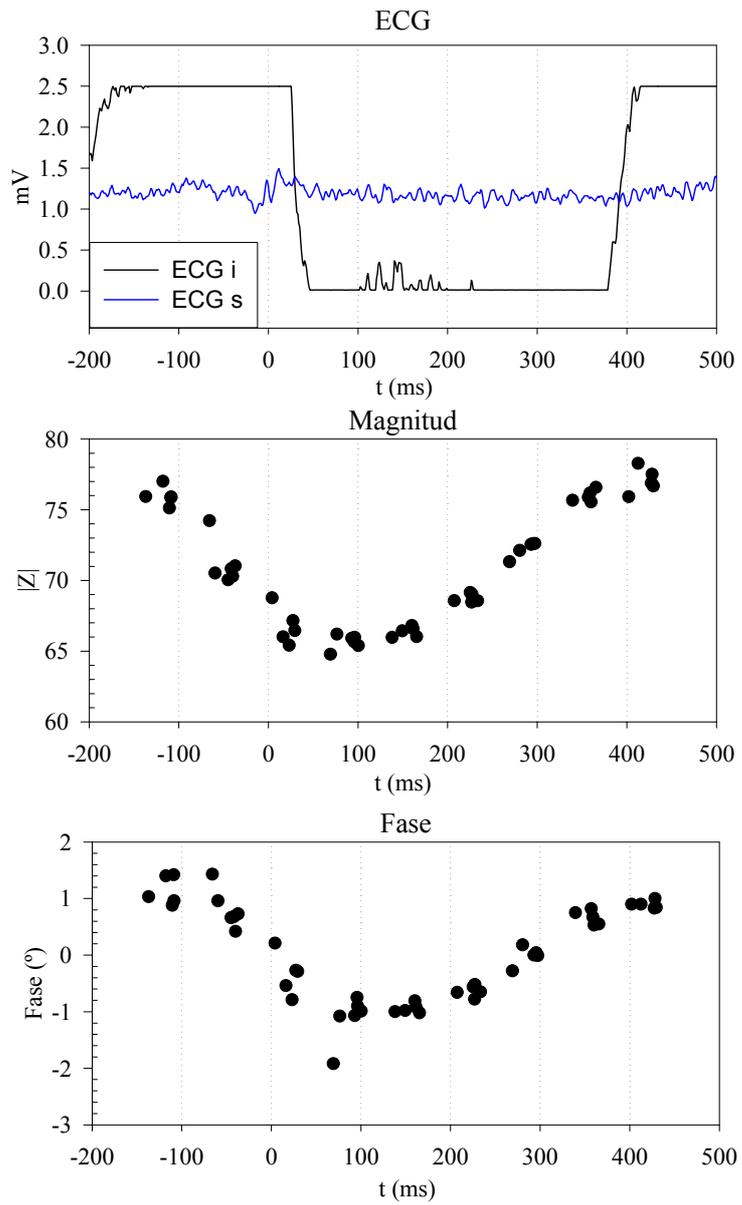


Figura 4-40. Evolución temporal de la magnitud y fase del registro de seguridad, con la sincronización con el QRS del ECG superficial.

4.5.5. Resultado de las medidas experimentales en humanos

En las medidas experimentales existen parámetros que no han sido considerados en las simulaciones del modelo de elementos finitos del tórax, como por ejemplo, la variabilidad intersujeto y la contracción ventricular y que su evaluación es de gran interés. Por otro lado, hay resultados de simulación que podrán contrastarse, como por ejemplo, el efecto de la respiración o de la posición del catéter de estar flotando en la cavidad a estar en contacto con la pared del ventrículo. Este desplazamiento se estimó (debido a la dificultad de determinar la posición del catéter sobre las imágenes de rayos X) de acuerdo con la amplitud del ECG intracavitario, considerándose tocando si el ECG intracavitario era mayor a 1 mV y flotando si era menor a este valor. Estos artefactos se muestran en la Tabla 4-4 para las medidas experimentales en comparación con los incrementos de impedancia esperados por un cambio de tejido normal a isquemia o de tejido normal a cicatriz obtenidos de las simulaciones del modelo en elementos finitos del tórax con ERP.

Tabla 4-4. Artefactos medidos en el VD del grupo control, pacientes y el resultado de las simulaciones en el modelo de elementos finitos del tórax con ERP. Valores expresados en valor medio \pm SD. $\Delta|Z|/|Z|$ (%) a 10 kHz

Artefactos	Simulaciones		Grupo Control	
	$\Delta Z / Z $ (%)	$\Delta\Phi$ (°)	$\Delta Z / Z $ (%)	$\Delta\Phi$ (°)
Contracción Ventricular	--		4.6 ± 1.7	0.8 ± 0.3
Respiración	5	0.5	8.9 ± 3.8	0.8 ± 0.3
Separación entre el Catéter y el endocardio	10	0.7	6.3 ± 5.1	3.7 ± 2.2
Variabilidad Intersujeto	--	--	25*	4.1*
Cicatriz	10	1.5		
Isquemia Aguda	5	1.2		

*dispersión entre sujetos para el ventrículo derecho, sin distinción de la posición del catéter.

El cambio de impedancia debido a la respiración en el ventrículo derecho presenta una tendencia similar a la esperada por las simulaciones para un volumen de aire de 650 ml. Una vez filtrada la respiración de las medidas en el VD, tenemos los cambios debidos a la contracción ventricular. Los cambio se impedancia en el VD son mayores que los que se presentan en el resto de cavidades principalmente en las venas (VCS, $\Delta|Z|/|Z|$ (%) = 2.7 ± 0.7 ; $\Delta\phi$ (°) = 0.5 ± 0.4).

Una vez eliminada la respiración y la contracción ventricular, tenemos que la variabilidad intersujeto es mayor que los cambios esperados por las simulaciones del modelo del tórax debido a un cambio del estado del tejido. Además, el cambio de posición del catéter de tocar o flotar en la cavidad del ventrículo derecho presenta una dispersión alta en los experimentos debido a que no siempre esta el catéter a la misma distancia del tejido y tampoco se ejerce la misma presión de contacto entre el catéter y el endocardio. Sin embargo, la tendencia es la misma que en las simulaciones, la impedancia aumenta al acercarse al tejido y la fase es más negativa.

La diferenciación entre los diversos puntos de medida en las medidas control no es significativa ($p > 0.05$). La mayor diferencia de fase en valor medio es la diferencia entre el VD y la VCI que es 3.7° a 300 kHz ($p = 0.06$), Figura 4-41.

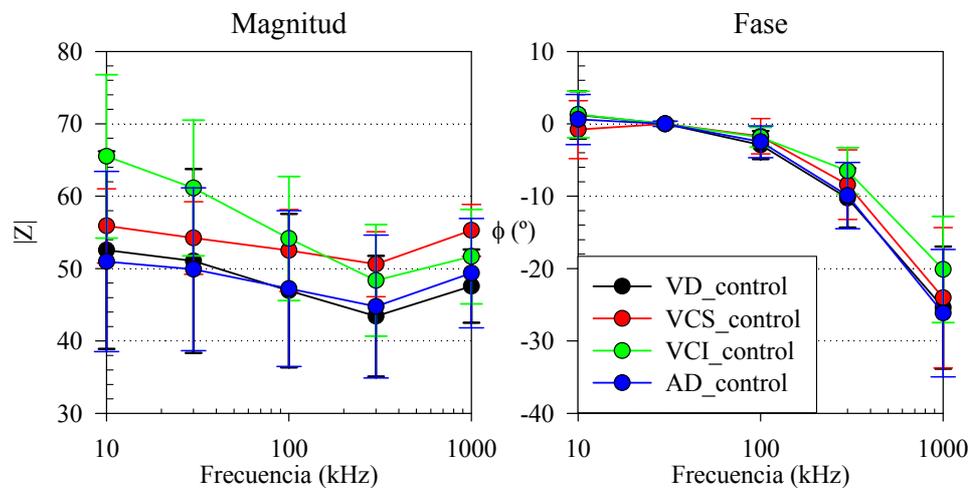


Figura 4-41. Magnitud y Fase para el grupo control en los siguientes puntos de medida: Ventrículo Derecho (VD), Aurícula Derecha (AD), Vena Cava Superior (VCS) y Vena Cava Inferior (VCI). Media \pm SD.

El análisis de los datos, para comparar si existe alguna diferencia entre el grupo de pacientes control y el de biopsias en pacientes transplantados, se realizará analizando cada una de las medidas por puntos específicos sin distinción de la posición del catéter ni del resultado de las biopsias. De esta forma, obtendremos si existe una diferenciación entre los dos estados del tejido de miocardio: normal o transplantado. Posteriormente, se analizarán las diferencias de impedancia de acuerdo con la clasificación de las biopsias, para cada uno de los puntos medidos. De esta forma

encontraremos si es posible detectar un posible rechazo de miocardio de acuerdo con la evolución de la medida de impedancia.

4.5.5.1 Comparación grupo control vs grupo pacientes transplantados

Se realizaron 13 medidas en pacientes transplantados, que corresponden a un total de 8 personas. Se ha considerado para el análisis de datos que cada medida es independiente ($n = 13$) debido a que los pacientes podían mostrar distintos grados de rechazo de un experimento a otro.

Sin hacer una distinción previa de la posición del catéter en ambos grupos ni de la clasificación de las biopsias, los resultados muestran que la magnitud de impedancia no presenta una diferencia significativa entre el grupo control y el grupo de pacientes transplantados. En cambio la fase presenta cambios significativos.

Al realizar la diferencia de medias entre los dos grupos para los principales puntos de medida, VCS, VCI, AD, y VD, tenemos diferencias de fase mayores a 1° (Tabla 4-5 y Figura 4-42) para cada uno de los puntos ($p < 0.0001$). El grupo control presenta una magnitud y fase menor que el grupo pacientes. Este comportamiento no es el de un tejido isquémico como se había considerado a priori. Sin embargo, las características de un tejido transplantado pueden mostrar un edema intersticial que provoque un aumento en magnitud a baja frecuencia y una fase mayor (más próxima a cero) en alta frecuencia.

Tabla 4-5. Diferencia de fase a 300 kHz entre el grupo de transplantados y el grupo control. Valores expresados en valor medio \pm SD.

Punto de medida	$\Delta\phi$ ($^\circ$)
VCS	2.9 ± 2.2
VCI	1.3 ± 1.6
AD	4.2 ± 1.0
VD	4.0 ± 1.1

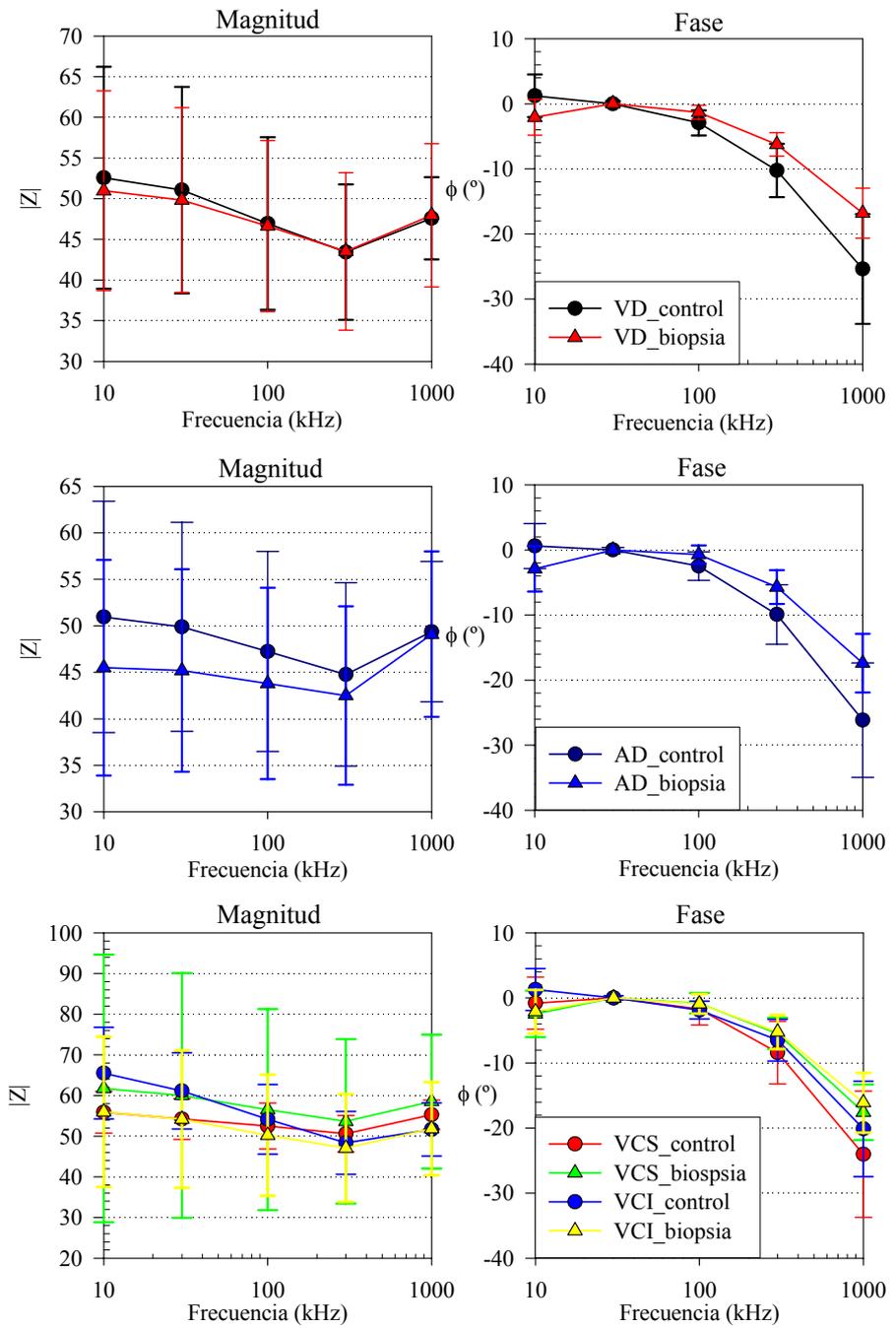


Figura 4-42. Magnitud y Fase para los distintos puntos de medida para grupo el Control y el de Transplantados (biopsia).

4.5.5.2 Clasificación de las biopsias

Agrupando los experimentos de acuerdo con el resultado del análisis patológico de las biopsias endomiocárdicas, tenemos 6 experimentos con Biopsia 0, 6 experimentos con biopsia 1A y 1 experimento biopsia 3A. El número de medidas realizadas por punto de medida en VCS y VCI son 13 medidas, en AD 28 medidas y en VD 33 medidas.

Dado que solo tenemos 1 experimento con biopsia 3A, se ha analizado únicamente si se puede diferenciar la biopsia 1A de la biopsia 0. El primer paso es analizar si es posible realizar esta diferencia del grado de rechazo de trasplante con todos los puntos medidos sin hacer ninguna clasificación debida a la posición del catéter. De esta manera tenemos que la Aurícula Derecha presenta una diferencia de fase de $2.8 \pm 0.8^\circ$ a 300 kHz ($p < 0.005$), Figura 4-43, mientras que en el Ventrículo Derecho esta diferencia no es significativa ($0.8 \pm 0.6^\circ$ $p > 0.05$). Las medidas en VCS y VCI no presentan una diferencia significativa.

Si clasificamos los resultados de acuerdo con la posición del catéter, tenemos un total de 17 puntos medidos para AD tocando la pared del endocardio y 11 puntos con el catéter flotando en la AD. Para VD, 22 puntos tocando la pared del endocardio y 11 puntos flotando en la cavidad. Con esta separación tanto en el VD tocando como la AD tocando hay una diferencia de fase significativa a 300 kHz entre la Biopsia 0 y la 1A (AD = $3.7 \pm 0.6^\circ$, VD = $0.8 \pm 0.4^\circ$, $p < 0.005$), Figura 4-44. En magnitud la AD tocando presenta un incremento de Z en valor medio del 30% a baja frecuencia ($p < 0.005$).

Con el único dato que disponemos de Biopsia 3A, solo podemos hacer notar que la diferencia en valor medio con respecto la Biopsia 0 tiene una diferencia de 3.0° y 4.6° a 300 kHz en el VD y AD, respectivamente. Esta diferencia se reduce con respecto a la Biopsia 1A (VD = 2.2° , AD = 1.8° a 300 kHz). Por lo tanto, este resultado apoya los anteriores en que la fase se acerca a cero al aumentar el grado de rechazo.

Otro aspecto interesante a analizar es si es posible monitorizar la evolución de rechazo en un paciente. Para ello hemos analizado a un paciente al cual se le ha realizado el experimento 2 veces y que han tenido un cambio en el resultado de la Biopsia.

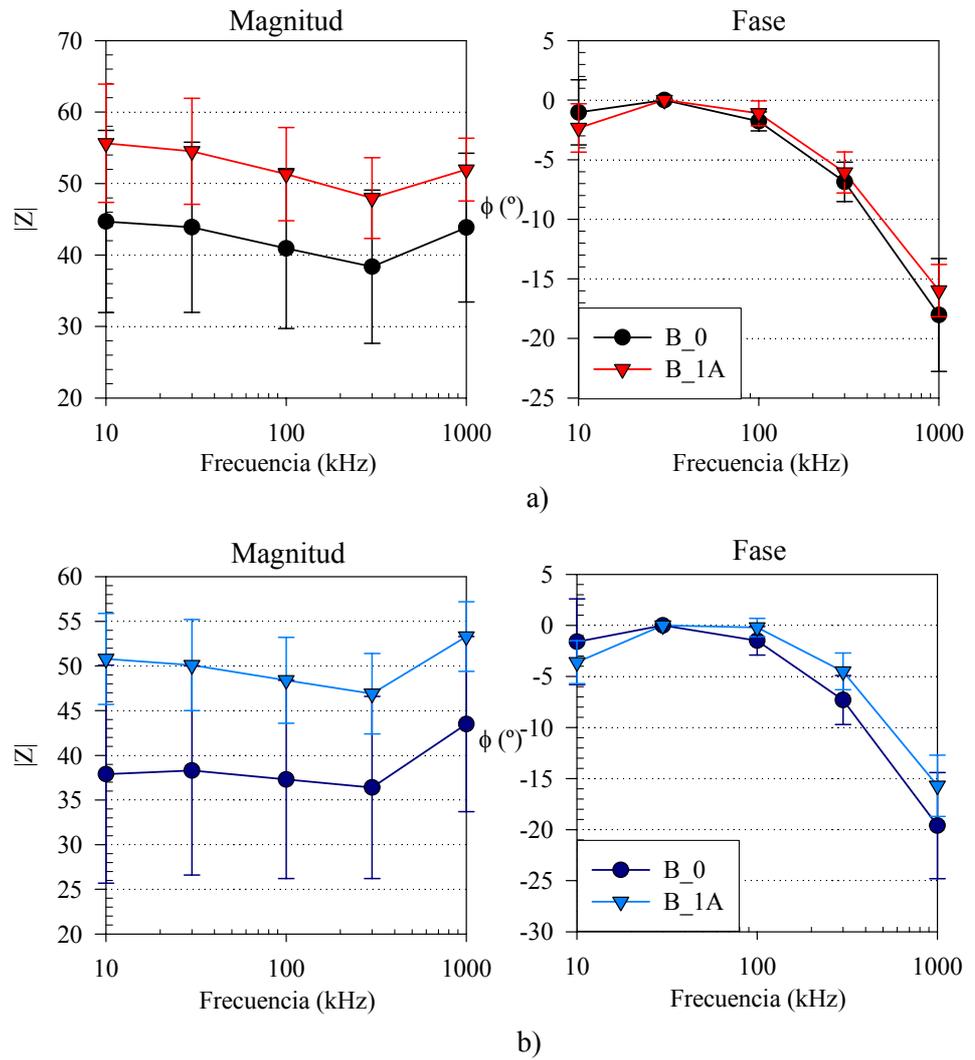


Figura 4-43. Magnitud y Fase para a) Ventrículo Derecho, b) Aurícula Derecha sin clasificar la posición del catéter, para las biopsias 0 y 1A.

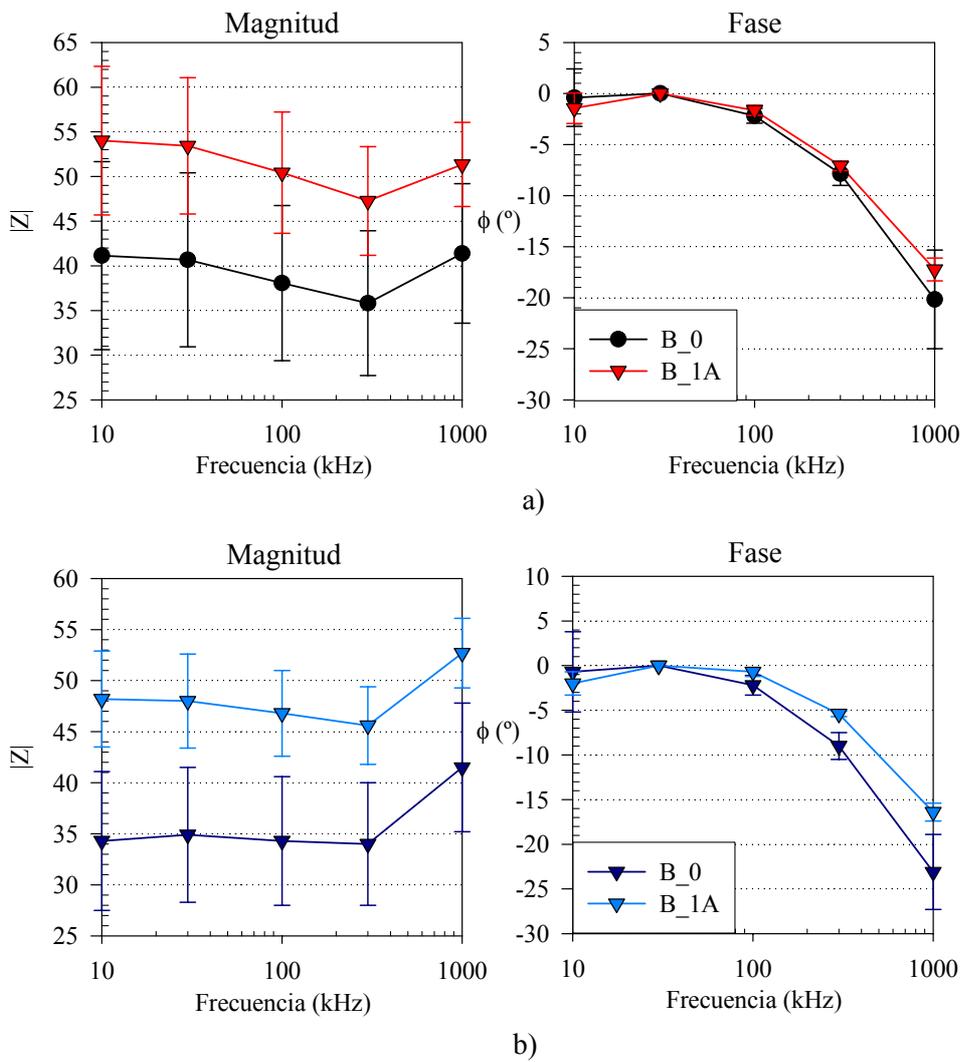


Figura 4-44. Magnitud y Fase para a) Ventriculo Derecho y b) Auricula Derecha con el catéter tocando la pared del endocardio, para rechazo con grado 0 (B_0) y 1A (B_1A).

El paciente A en el 1er experimento tuvo un resultado de biopsia 3A y 7 días después el resultado de la biopsia fue 1A. La magnitud de la impedancia decreció un 13% en AD y 27% en el VD (con el catéter tocando la pared) y la fase a 300 kHz decrece en 2°, tal como se muestra en la Figura 4-45.

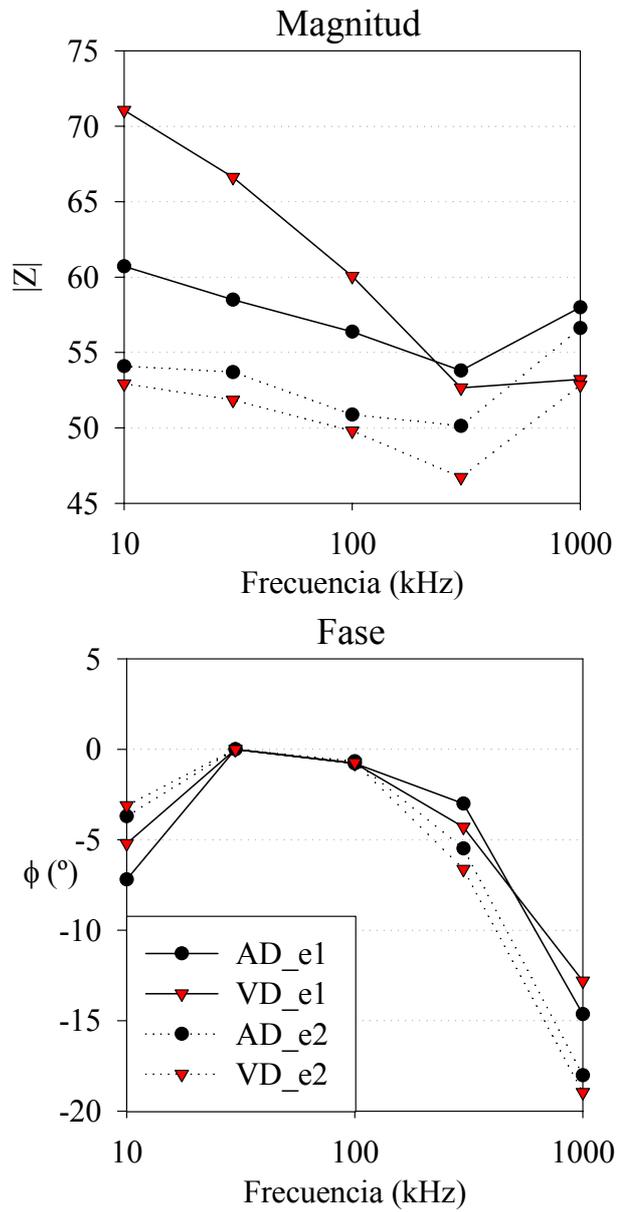


Figura 4-45. Evolución del rechazo de transplante en un paciente. Línea continua 1er experimento con resultado 3A (e1) y línea punteada 2do experimento con resultado 1A (e2). Para los puntos medidos en Ventrículo Derecho (VD) y Aurícula Derecha (AD) con el catéter tocando la pared del endocardio.

4.5.5.3 Sincronización temporal de las medidas de impedancia

La sincronización temporal de las medidas de impedancia se ha realizado con el QRS del ECG superficial. Por lo tanto, el tiempo igual a cero equivale al punto de inicio de la sístole. Los datos se presentan como la evolución temporal normalizados con respecto al valor medio de la medida de impedancia ($|\bar{Z}|$).

La modulación que presenta la medida de impedancia para el VD tocando en el grupo control presenta una $|Z|$ a 30 kHz menor en el tiempo alrededor del QRS que pasados unos 300 ms. El incremento de $|Z|$ a 30 kHz entre 0 y 300 ms es mayor que el $\Delta|Z|$ a 300 kHz, pero este cambio no es significativo en ninguna de las dos frecuencias (30 kHz $p = 0.19$, 300 kHz $p = 0.74$). La evolución temporal de la fase presenta un comportamiento temporal inverso a la magnitud. Es mayor en el tiempo del QRS que después de transcurridos 300 ms. El cambio temporal entre $t = 0$ ms y $t = 300$ ms a 30 kHz es más significativo que a 300 kHz (30 kHz $p = 0.03$, 300 kHz $p = 0.1$). Esta modulación tiene la misma tendencia que la del experimento animal del día 21/05/03.

Los grupos de biopsias 0 y 1A también presentan una modulación temporal. Pero no es comparable con el grupo control, porque pareciera que presentan un desfase. Mientras que la magnitud en el grupo control presenta un mínimo alrededor del QRS, en las biopsias 0 y 1A están alrededor de un máximo. En estos grupos la modulación entre el QRS y un tiempo después no son significativos ($p > 0.15$).

Estos resultados hay que tomarlos con cautela por varios motivos: el número reducido de casos estudiados, la baja resolución temporal del sistema utilizado (unas 7 medidas por segundo) que hace necesario el promediado sincrónico y los artefactos debidos a respiración. Otro problema es la carencia de información suficiente para justificar los mecanismos fisiológicos que pueden provocar esta modulación temporal. Sorprendentemente, no se han localizado referencias bibliográficas sobre este tema.

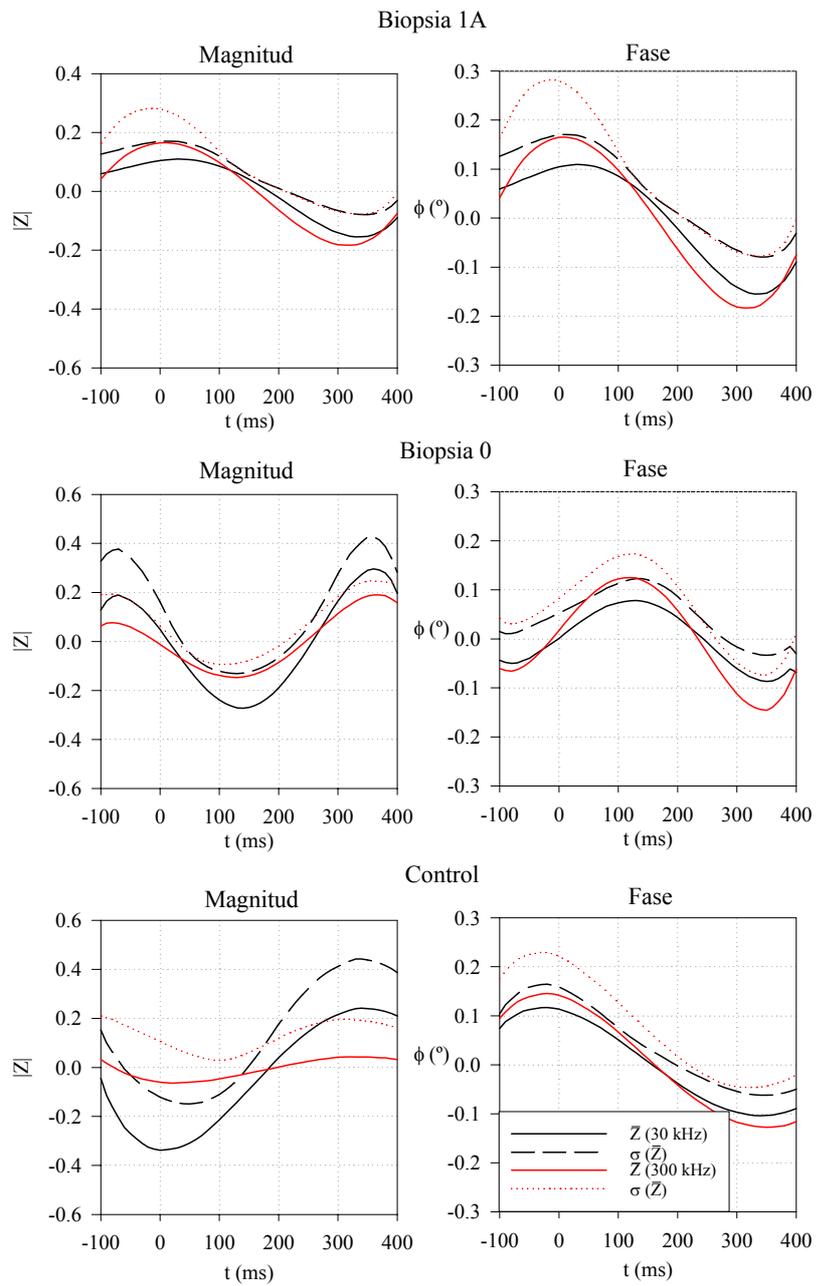


Figura 4-46. Evolución temporal de las medidas en el ventrículo derecho tocando para el grupo Control, el grupo de pacientes con Biopsia 0 y Biopsia 1A. El $t = 0$ ms es el punto de sincronización con el QRS. La línea continua es el valor medio de las muestras (Z) y la línea discontinua es la dispersión de la media ($\sigma(\bar{Z})$).

4.6. Resumen y discusión

En el presente capítulo se han construido modelos de elementos finitos para conocer los efectos de diversos artefactos en las medidas reales así como plantear si era posible distinguir, con una medida mínimamente invasiva, la presencia de un tejido isquémico o de una cicatriz. Algunos de los resultados de los modelos han podido ser contrastados con medidas *in vitro* e *in vivo* en animales y en humanos. Una aplicación alternativa de este tipo de medidas es la detección del rechazo de trasplante de corazón donde ha sido posible realizar una serie de medidas en humanos.

13. *Modelo de elementos finitos cilíndrico*

En el modelo de elementos finitos cilíndrico bicapa, la dependencia que presentan las medidas de impedancia debido al desplazamiento del catéter es más sensible al contraste entre el miocardio y la sangre para el método a 2 electrodos que en el métodos a 3 electrodos. Por lo tanto, el contraste debe ser considerado para una estimación de la distancia basada en medidas de impedancia, especialmente si se utiliza el método a 2 electrodos. Un cambio en el estado del tejido de miocardio (de miocardio normal a isquemia aguda, o bien si sufre alguna alteración durante el proceso de ablación) produce un cambio en el contraste y por lo tanto se modifica la relación entre la distancia del catéter y la impedancia medida. Sin embargo, con el 3EM y una técnica multifrecuencia, principalmente utilizando el espectro de la fase, se puede distinguir tanto el efecto de la distancia del catéter al tejido como el estado fisiológico del tejido.

14. *Modelo de elementos finitos del tórax*

Un modelo en elementos finitos de una estructura tan compleja como es la cavidad torácica siempre tendrá una exactitud limitada. En nuestro caso la exactitud en los valores estimados de impedancia no es un parámetro crítico ya que el objetivo era evaluar cuales eran las variaciones de la impedancia respecto a los parámetros analizados y no su valor absoluto. Por ello se ha optado por un modelo con una anatomía muy simplificada. La inclusión de más detalles anatómicos requeriría a la vez disponer de datos fiables sobre el espectro de impedancia de estas estructuras y actualmente no se dispone, en muchos casos, de esta información. Si que se ha tenido especial cuidado en discretizar adecuadamente la zona del catéter que es donde la densidad de corriente es mayor y los cambios de posición respecto al endocardio podrían provocar resultados incorrectos.

Las dos limitaciones más importantes del modelo son que la respiración se ha simulado como un cambio de conductividad y no de geometría y que las impedancias eléctricas empleadas en el modelo no contemplan la anisotropía del tejido. Para intentar superar esta última limitación, se han utilizado para el miocardio datos de impedancia procedentes de medidas experimentales realizadas con catéteres intracavitarios (Salazar et al., 2004) y no con agujas clavadas en el epicardio.

Otros aspectos que hay que considerar en las medidas experimentales son la variabilidad en los valores absolutos de la impedancia medida por las diferencias en tamaño y anatomía de cada sujeto y la impedancia del conjunto piel-electrodo de referencia que queda en serie con la impedancia simulada por el modelo.

A pesar de las limitaciones comentadas, los cambios predichos por el modelo en elementos finitos debido a los parámetros analizados son consistentes con las medidas invasivas a tórax cerrado realizadas por (Warren et al., 2000) donde la diferencia media entre las medidas en la zona de cicatriz y la zona normal es de 3.4° con una desviación estándar de 0.3° . En las simulaciones, utilizando el electrodo de referencia anterior y midiendo en el centro de la cicatriz (posición 4b) para máxima espiración, la diferencia es de 1.9° . Hay que tener en cuenta que la anatomía de los animales (cerdos) utilizados en las medidas invasivas es muy distinta a la del modelo en elementos finitos.

A continuación se comentan los resultados obtenidos y se extraen las principales conclusiones de cada uno de los factores estudiados.

15. *Efecto de la posición del catéter en relación con la zona de isquemia o cicatriz al recorrer la pared del ventrículo izquierdo*

La magnitud presenta siempre cambios mayores a baja frecuencia, por lo tanto si comparamos todas las posiciones del catéter (0-4d) a 1 kHz tenemos que la separación de grupos en sanos, isquemia aguda y cicatriz no es posible. Aún más, si a esos cambios se añade la variación de la respiración, de espiración a inspiración máxima (Figura 4-28), tan solo podrían distinguirse la isquemia aguda de la cicatriz en las posiciones óptimas del catéter (4a, 4b y 1).

Sin embargo, la fase a 316 kHz muestra una diferencia de fase máxima para el electrodo de referencia anterior, mayor a 1° , entre las posiciones donde el catéter se localiza sobre la zona de isquemia, estas posiciones son 0, 1, 4a y 4b. Esto permite distinguir si el catéter se encuentra sobre una zona con isquemia aguda, cicatriz o sana. Incluso, si el catéter toca la zona con isquemia, posición 4a y se desplaza sobre el borde (4c) para después colocarse sobre la zona sana 4d como la fase decrece a valores de tejido sano, permitiendo reconocer sobre que tipo de tejido se encuentra

el catéter. Suponiendo que el catéter siguiese un recorrido sobre tejido sano, la fase no presenta variaciones mayores a 0.2° , excepto en la posición (1).

En la posición 0, a pesar de que a 316 kHz alcanza la diferencia de fase máxima debido al cambio de tejido de sano a isquémico, no se obtienen valores de fase más negativos debido a que la posición del electrodo de referencia no es la mejor para esta posición del catéter. Por lo tanto, siempre se detectarán cambios mayores si el tejido de miocardio con isquemia aguda o cicatriz se localiza entre la punta del catéter y el electrodo de referencia.

No importa la orientación del catéter, si es perpendicular a la pared (posición 4a) o paralelo a la pared (4b), ya que los cambios son de la misma magnitud.

Por otra parte, en las posiciones en que el electrodo distal no toca el endocardio (flotando) se observa que la magnitud de impedancia aumenta si el catéter se aproxima a la pared del miocardio, situación anteriormente mostrada en las simulaciones para tejido sano desde la posición 3 a cualquier otra posición (Figura 4-28). Para la fase, existe una diferencia de 1° entre si el catéter esta flotando o tocando la pared de miocardio sano, y de 1.9° si la pared presenta una isquemia aguda. Esta diferencia para la cicatriz es de 0.4° únicamente. Estas diferencias de fase se conservan a pesar del efecto de la respiración (Figura 4-29).

Posición del electrodo de referencia

El incremento relativo de impedancia, así como la diferencia de fase, provocados por los cambios en el tejido son mayores independientemente de la posición del catéter en el ventrículo izquierdo cuando el electrodo de referencia se sitúa en el pecho (ERA).

En estudios sobre la eficacia de la ablación, algunos investigadores (Nath et al., 1996) demostraron que la posición del electrodo de referencia (posición interscapular o en el muslo) no tenía un efecto significativo sobre la impedancia, voltaje, corriente inyectada y la temperatura de la punta del catéter durante el proceso de ablación. Sin embargo, Jain et al., (1998), demostró que la posición de este electrodo tenía un efecto en la dimensión de las lesiones durante los procesos de ablación y que debería considerarse cuando se deseara maximizar la dimensión de la lesión. En este caso, se lograba obtener una lesión mayor cuando el tejido se encontraba entre la punta del catéter y el electrodo de referencia. En nuestro caso, obtenemos diferencias máximas entre los estados del tejido para esta misma posición del electrodo de referencia. Tanto si el catéter se encuentra flotando como sobre la zona de isquemia o cicatriz, o bien, si el catéter pasa de una zona sana a una

de isquemia aguda. Además ERA, presenta los cambios más significativos para un cambio de posición del catéter entre flotar o tocar la pared del ventrículo.

Estos cambios se modifican ligeramente si el electrodo de referencia cambia de posición. Si éste se localiza en la espalda (ERP), el $\Delta|Z|/|Z|$ decrece en 1% y la diferencia de fase en menos de 0.3° , cuando el catéter se localiza sobre el ápex (posición 1) o la pared anterior (posición 4a y 4b) en caso de isquemia aguda. Para el caso de cicatriz, con el ERP, el $\Delta|Z|/|Z|$ decrece en un 2% mientras que el cambio de fase es menor en 0.5° . Si el electrodo de referencia se coloca en el costado izquierdo (ERL) los cambios de magnitud y fase presentan variaciones similares a las que se dan con el ERP.

Por lo tanto, para facilitar la práctica clínica, por ejemplo en el procedimiento de ablación, se puede utilizar el mismo electrodo de referencia en la espalda sin que esto represente una pérdida de sensibilidad en la detección del cambio del estado del tejido de miocardio.

Efecto de la respiración

Como se observa en las Figura 4-28 y Figura 4-29, el cambio que introduce la respiración provoca que no se puedan diferenciar los diferentes tejidos a 1 kHz siendo esta frecuencia la que mayor separación de grupos presenta. Sin embargo, la variación que presenta la fase debida a la respiración no tiene variaciones significativas con la frecuencia ni con el cambio de posición del catéter. Este hecho convierte a la fase en un parámetro más estable frente a la magnitud de impedancia que varía de acuerdo con la frecuencia. La modulación producida por la respiración, de mínima espiración a máxima inspiración, provocan siempre un incremento mayor si el catéter se localiza sobre la pared del miocardio a pesar de la posición del electrodo de referencia.

16. Medidas experimentales in vivo

En las medidas in vivo existen otros artefactos que en las simulaciones de modelos de elementos finitos no han sido considerados, como la variabilidad intersujeto, la impedancia de contacto electrodo-piel, la contracción del corazón y los cambios de forma del tórax debidos a la respiración. Para reducir la influencia de estos factores ha sido necesario realizar una calibración para reducir la variabilidad intersujeto, los artefactos de medida debido al contacto electro-piel y al ruido propio del sistema. Además ha sido necesario realizar un filtrado temporal para reducir el efecto de la respiración.

En las medidas in vivo realizadas en el grupo control se reflejan los cambios de impedancia previstos por las simulaciones en cuanto a la respiración y al

desplazamiento del catéter teniendo en cuenta que en las medidas realizadas no se tienen un control exacto del desplazamiento del catéter.

Además, se ha podido comprobar que los cambios de impedancia debidos a la presencia de rechazo del tejido transplantados presentan un comportamiento distinto al tejido isquémico, con un aumento de la magnitud a baja frecuencia y una menor fase a alta frecuencia. Por lo que la medida de impedancia y, como principal parámetro, la fase a una frecuencia alrededor de 300 kHz permite diferenciar el tejido sano del transplantado. Este cambio podría ser debido a un edema intersticial, de acuerdo con lo expresado en (Rodríguez, 2003). Donde se asegura que la presencia de edema intersticial en el rechazo de trasplante suele presentarse, pero que su evaluación es difícil y poco fiable utilizando biopsias (por ejemplo el que la muestra esté congelada puede provocar artefactos que simulen un edema).

Rodríguez (2003) señala la necesidad de técnicas modernas en la práctica patológica debido a otros problemas en las biopsias. Por ejemplo, debido a que el espectro morfológico de un miocito dañado visto en el miocardio es muy amplio, la examinación bajo la luz de un microscopio presenta cambios sutiles que son difíciles de ver por un observador poco experimentado.

Si en la práctica clínica se asegura que el catéter esta en contacto con la pared del miocardio, tanto en ventrículo derecho como en aurícula derecha, se puede llegar a estimar el grado de rechazo en el trasplante de corazón y, también, monitorizar la evolución del trasplante en un mismo paciente.

En cuanto a la evolución temporal de las medidas de impedancia, carecemos de la información suficiente para justificar los mecanismos fisiológicos que provocan esta modulación temporal. Este problema podría solucionarse con un equipo de medida de mayor resolución y una frecuencia de adquisición mayor. Faltaría realizar un estudio con un mayor número de pacientes que nos permita comprobar que la tendencia de los cambios de impedancia sea la misma. Y de esta forma evaluar otros estimadores de rechazo basados en estos cambios temporales.

4.7. Conclusiones

El modelo de elementos finitos muestra que la fase de la impedancia a alta frecuencia (alrededor de 300 kHz) nos permite realizar la caracterización de los diferentes estados del tejido de miocardio y la localización de una zona isquémica o con cicatriz al recorrer el endocardio con un catéter. La fase es menos sensible al efecto de la respiración y a la localización o inclinación de la punta del catéter que la magnitud.

Las diferencias entre utilizar un método a dos o tres electrodos no son grandes en lo que respecta a los efectos estudiados en los modelos (sensibilidad a cambios del tejido, posición del catéter y respiración). La diferencia fundamental es que incluye la impedancia de la punta del catéter y ésta puede ser elevada.

Considerando las distintas posiciones del electrodo de referencia utilizadas en nuestro modelo, la mejor posición del electrodo de referencia es la anterior. Esta es la posición menos influenciada por la respiración y donde los cambios de tejido (isquemia aguda o cicatriz) producen mayores variaciones en magnitud y fase obtenidas en las simulaciones. Si por motivos prácticos, se coloca el electrodo de referencia en la espalda, la influencia de la respiración es algo mayor y se debe tener un filtrado óptimo de la respiración para poder detectar los cambios debidos a las características del tejido sobre el que se apoya el catéter.

El tejido de miocardio transplantado tiene unas características eléctricas pasivas distintas al normal. Presenta un incremento de la magnitud a baja frecuencia y un decremento de la fase a alta frecuencia. Este comportamiento puede deberse a la creación de un edema intersticial que aumenta con el aumento del rechazo cardíaco. La diferenciación entre grupos control y transplantados se puede realizar utilizando la fase a frecuencias alrededor de 300 kHz.

Se ha encontrado una diferencia significativa entre el grado de rechazo 0 y 1A utilizando la fase a 300 kHz. La ausencia de un número mayor de casos con rechazo 3A o superiores no hace posible realizar hipótesis sobre la potencia diagnóstica del método. Para evaluar la diferenciación del grado de rechazo hace falta extender el estudio a modelos animales donde se pueda controlar el proceso de rechazo para obtener niveles superiores.

Además de las conclusiones anteriores, las medidas realizadas en pacientes, tanto controles como transplantados, nos han permitido validar los resultados de los

modelos y, lo que es más importante, evaluar todos los artefactos y problemas que se presentan en la práctica clínica diaria.

REFERENCIAS

- Bocchi, E.A., Mocelin, A.O., deMoraes, A.V., Menegheti, C., Higuchi, M.D., Bacal, F., Stolf, N., Bellotti, G. and Pileggi, F. (1997) Comparison between two strategies for rejection detection after heart transplantation: Routine endomyocardial biopsy versus gallium-67 cardiac imaging. *Transplantation Proceedings*, **29**, 586-588.
- Cao, H., Tungjitkusolmun, S., Choy, Y.B., Tsai, J.Z., Vorperian, V.R. and Webster, J.G. (2002) Using electrical impedance to predict catheter-endocardial contact during RF cardiac ablation. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, **49**, 247-253.
- Chu, E., Fitzpatrick, A., Chin, M., Sudhir, K., Yock, P. and Lesh, M. (1994) Radiofrequency catheter ablation guided by intracardiac echocardiography. *Circulation*, **89**, 1301-1305.
- Endt, P., Montonen, J., Makijarvi, M., Nenonen, J., Steinhoff, U., Trahms, L. and Katila, T. (2000) Identification of post-myocardial infarction patients with ventricular tachycardia by time-domain intra-QRS analysis of signal-averaged electrocardiogram and magnetocardiogram. *Medical & Biological Engineering & Computing*, **38**, 659-665.
- Esberg, D. and Greenspon, A.J. (2001) Avoiding complications of catheter ablation: a review of the current state of the art. *J Invasive Cardiol*, **13**, 323-327.
- Everett, J.E., Palmer, M.N., Jessurun, J. and Shumway, S.J. (1996) Noninvasive diagnosis of cardiac allograft rejection in an orthotopic canine model. *Annals of Thoracic Surgery*, **62**, 1337-1340.
- Faes, T.J.C., van der Meij, H.A., de Munck, J.C. and Heethaar, R.M. (1999) The electric resistivity of human tissues (100 Hz-10 MHz): a meta-analysis of review studies. *Physiological Measurement*, **20**, R1-R10.
- Gabriel, C. and Gabriel, S. (1996) Compilation of the Dielectric Properties of Body Tissues at RF and Microwave Frequencies. Armstrong Laboratory (AFMC); Occupational and Environmental Health Directorate Radiofrequency Radiation Division, Texas, USA.
- Gabriel, C., Gabriel, S. and Corthout, E. (1996a) The dielectric properties of biological tissues .1. Literature survey. *Physics in Medicine and Biology*, **41**, 2231-2249.

- Gabriel, S., Lau, R.W. and Gabriel, C. (1996b) The dielectric properties of biological tissues .2. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz. *Physics in Medicine and Biology*, **41**, 2251-2269.
- Gabriel, S., Lau, R.W. and Gabriel, C. (1996c) The dielectric properties of biological tissues .3. Parametric models for the dielectric spectrum of tissues. *Physics in Medicine and Biology*, **41**, 2271-2293.
- Gradek, W.Q., D'Amico, C., Smith, A.L., Vega, D. and Book, W.M. (2001) Routine surveillance endomyocardial biopsy continues to detect significant rejection late after heart transplantation. *Journal of Heart and Lung Transplantation*, **20**, 497-502.
- Grauhan, O., Muller, J., Knosalla, C., Cohnert, T., Siniawski, H., Volk, H.D., Fietze, E., Kupetz, W. and Hetzer, R. (1996) Electric myocardial impedance registration in humoral rejection after heart transplantation. *Journal of Heart and Lung Transplantation*, **15**, 136-143.
- Hyttinen, J., Kauppinen, P., Koobi, T. and Malmivuo, J. (1997) Importance of the tissue conductivity values in modelling the thorax as a volume conductor. In *Proceedings of the 19th Annual International Conference of the Ieee Engineering in Medicine and Biology Society, Vol 19, Pts 1-6 - Magnificent Milestones and Emerging Opportunities in Medical Engineering*. I E E E, New York, Vol. 19, pp. 2082-2085.
- Jain, M.K., Tomassoni, G., Riley, R.E. and Wolf, P.D. (1998) Effect of skin electrode location on radiofrequency ablation lesions: An in vivo and a three-dimensional finite element study. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, **9**, 1325-1335.
- Jereczek, M., Andresen, D., Schroder, J., Voller, H., Bruggemann, T., Deutschmann, C. and Schroder, R. (1993) Prognostic Value of Ischemia During Holter Monitoring and Exercise Testing after Acute Myocardial-Infarction. *American Journal of Cardiology*, **72**, 8-13.
- Jorgenson, D.B., Haynor, D.R., Bardy, G.H. and Kim, Y.M. (1995) Computational Studies of Transthoracic and Transvenous Defibrillation in a Detailed 3-D Human Thorax Model. *Ieee Transactions on Biomedical Engineering*, **42**, 172-184.

- Kim, D.W., Kim, N.H., Kim, W.K. and Park, S.H. (1989) Current Distribution in a 3-D Thorax Model for Impedance Cardiography. In *Images of the Twenty-First Century, Pts 1-6*. I E E E, New York, Vol. 11, pp. 1235-1236.
- Ko, W.C., Huang, S.K.S., Lin, J.L., Shau, W.Y., Lai, L.P. and Chen, P.H. (2001) New method for predicting efficiency of heating by measuring bioimpedance during radiofrequency catheter ablation in humans. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, **12**, 819-823.
- Kornowski, R., Hong, M.K., Gepstein, L., Goldstein, S., Ellahham, S., Ben-Haim, S.A. and Leon, M.B. (1998) Preliminary animal and clinical experiences using an electromechanical endocardial mapping procedure to distinguish infarcted from healthy myocardium. *Circulation*, **98**, 1116-1124.
- Lundmark, E.V., Oldenburg, J.T. and Sharma, A.D. (1997) New method for assessing tissue contact before and during radiofrequency catheter ablation. *Circulation*, **96**, 794-794.
- Miller, J.M. (2002) Catheter ablation of arrhythmias. *Circulation*, **106**, E203-E205.
- Morady, F. (1999) Drug therapy - Radio-frequency ablation as treatment for cardiac arrhythmias. *New England Journal of Medicine*, **340**, 534-544.
- Morillas, P.J., Cabades, A., Bertomeu, V., Echanove, I., Colomina, F., Cebrian, J., Perez, G., Mota, A., Sanchez, F.J. and Sanz, J.C. (2002) Acute myocardial infarction in patients under 45 years. *Revista Española de Cardiología*, **55**, 1124-1131.
- Nakagawa, H., Wittkampf, F.H.M., Yamanashi, W.S., Pitha, J.V., Imai, S., Campbell, B., Arruda, M., Lazzara, R. and Jackman, W.M. (1998) Inverse Relationship Between Electrode Size and Lesion Size During Radiofrequency Ablation With Active Electrode Cooling. *Circulation*, **98**, 458-465.
- Nath, S., DiMarco, J.P., Gallop, R.G., McRury, I.D. and Haines, D.E. (1996) Effects of dispersive electrode position and surface area on electrical parameters and temperature during radiofrequency catheter ablation. *American Journal of Cardiology*, **77**, 765-&.
- Nsah, E., Berger, R.D., Rosenthal, L.S., Hui, R., Ramza, B., Jumrussirikul, P., Lawrence, J.H., Tomaselli, G.F., Kass, D. and Calkins, H. (1998) Initial impedance predicts temperature during radiofrequency catheter ablation. *Journal of the American College of Cardiology*, **31**, 254A-254A.

- Olgin, J.E., Kalman, J.M., Chin, M., Stillson, C., Maguire, M., Ursel, P. and Lesh, M.D. (1997) Electrophysiological Effects of Long, Linear Atrial Lesions Placed Under Intracardiac Ultrasound Guidance. *Circulation*, **96**, 2715-2721.
- Petersen, H.H., Chen, X., Pietersen, A., Svendsen, J.H. and Haunso, S. (1999) Temperature-controlled radiofrequency ablation of cardiac tissue: An in vitro study of the impact of electrode orientation, electrode tissue contact pressure and external convective cooling. *Journal of Interventional Cardiac Electrophysiology*, **3**, 257-262.
- Pfitzmann, R., Muller, J., Grauhan, O. and Hetzer, R. (2000) Intramyocardial impedance measurements for diagnosis of acute cardiac allograft rejection. *Annals of Thoracic Surgery*, **70**, 527-532.
- Remp, T., Hoffmann, E., Dorwarth, U., Mueller, D., Fiek, M., Gruenewald, A. and Steinbeck, G. (1997) A new catheter design for validation of preablation impedance as a marker for myocardial wall contact before catheter ablation. *Journal of the American College of Cardiology*, **29**, 2168-2168.
- Rodriguez, E.R. (2003) The pathology of heart transplant biopsy specimens: Revisiting the 1990 ISHLT working formulation. *Journal of Heart and Lung Transplantation*, **22**, 3-15.
- Salazar, Y., Bragos, R., Cinca, J. and Rosell, J. (2004) Transmural versus Non-Transmural In situ Electrical Impedance Spectrum for Healthy, Ischemic and Healed Myocardium. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, Accepted.
- Warren, M., Bragos, R., Casas, O., Rodriguez-Sinovas, A., Rosell, J., Anivarro, I. and Cinca, J. (2000) Percutaneous electrocatheter technique for on-line detection of healed transmural myocardial infarction. *Pace-Pacing and Clinical Electrophysiology*, **23**, 1283-1287.
- Weller, G.E.R., Lu, E., Csikari, M.M., Klibanov, A.L., Fischer, D., Wagner, W.R. and Villanueva, F.S. (2003) Ultrasound Imaging of Acute Cardiac Transplant Rejection With Microbubbles Targeted to Intercellular Adhesion Molecule-1. *Circulation*, **108**, 218-224.
- Zheng, X.S., Walcott, G.P., Hall, J.A., Rollins, D.L., Smith, W.M., Kay, G.N. and Ideker, R.E. (2000) Electrode impedance: An indicator of electrode-tissue

contact and lesion dimensions during linear ablation. *Journal of Interventional Cardiac Electrophysiology*, **4**, 645-654.

