



**Propiedades eléctricas pasivas, de tejido de colon distal y recto porcino (*Sus scrofa domesticus*) *ex vivo*, basadas en la espectroscopia de bioimpedancia eléctrica (EBIE)**

**Victoria Eugenia Aguirre Cardona**

Médica

Universidad de Caldas  
Facultad de Ciencias para la Salud  
Manizales, Colombia

2023



**Propiedades eléctricas pasivas, de tejido de colon distal y recto porcino (*Sus scrofa domesticus*) ex vivo, basadas en la espectroscopia de bioimpedancia eléctrica (EBIE)**

**Victoria Eugenia Aguirre Cardona**

Médica

Tesis de Maestría presentada como requisito parcial para optar al título de:

**Magister en Ciencias Biomédicas**

Director:

Ph.D. Carlos Augusto González Correa, Médico

Codirector:

M.Eng. Samuel Alberto Jaimes Morales

Grupo de Investigación:

Grupo de investigación en bioimpedancia eléctrica (GruBIE)

Universidad de Caldas

Facultad de Ciencias para la Salud

Manizales, Colombia

2023

## Agradecimientos

Me gustaría expresar mi sincero agradecimiento a todas las personas que contribuyeron de manera significativa en la realización de esta tesis de maestría. Su apoyo, orientación y aliento fueron fundamentales en todo el proceso. A continuación, me gustaría reconocer y agradecer a las siguientes personas:

Agradezco sinceramente a mis asesores académicos, Ph.D. Carlos González y al M.Eng. Samuel Jaimes, por su guía experta, paciencia y dedicación a lo largo de esta investigación. Su experiencia y conocimientos fueron invaluable para la culminación exitosa de este trabajo.

Quiero agradecer a mi familia por su constante apoyo, comprensión y paciencia durante este período de estudio. Sus palabras de aliento y sacrificio incondicional fueron un gran impulso para mí.

A la Central de Sacrificio de Manizales/Caldas por proveer las muestras de tejido utilizadas en este estudio.

Por último, me gustaría agradecer a todas las personas que, de una forma u otra, contribuyeron a este proyecto y cuyos nombres no aparecen mencionados aquí. Sus aportes, conversaciones y motivación ayudaron a dar forma a esta tesis de maestría.

## Resumen ejecutivo

Se llevó a cabo el estudio de las propiedades eléctricas pasivas de tejido de colon distal y recto porcino, mediante la medición de la Espectroscopia de Bioimpedancia Eléctrica EBIE, haciendo uso tanto de la parte real como de la imaginaria de los espectros de resistividad eléctrica compleja. A partir de allí, se realizó un análisis estadístico y un modelado matemático mediante el método geométrico propuesto por González Correa (C. A. Gonzalez-Correa, 2019; González-Correa *et al.*, 2022) y mediante el modelo de Cole, con el objetivo de determinar el comportamiento eléctrico del tejido a distintas distancias desde el esfínter anal. La importancia de este estudio es la de aportar información relevante de estas propiedades, para futuras aplicaciones relacionadas con el desarrollo de herramientas para la detección de enfermedades del colon en humanos, teniendo en cuenta la escasa literatura disponible en la actualidad y a que el colon y recto porcino son un modelo válido para su contraparte humano.

**Palabras clave:** Bioimpedancia eléctrica, porcino, colon y recto

## Métodos

Calibración de la sonda: se realizó la calibración de la sonda, mediante soluciones electrolíticas de conductividad conocida, para corregir las desviaciones de la medición y posteriormente llevar a cabo la conversión a resistividad eléctrica.

### Pruebas con especímenes:

- Se realizaron pruebas de EBIE con 3 especímenes, para el desarrollo del protocolo de medición.
- Una vez desarrollado el protocolo, se llevaron a cabo pruebas de EBIE en 6 especímenes de recto y colon distal porcino a 5 distancias desde el esfínter anal externo, en sentido aboral, en el lado luminal de la pared de la muestra, tomando 3 puntos de medición en cada distancia y realizando 3 lecturas en cada punto. Las mediciones fueron realizadas con una sonda tetrapolar, con una corriente de 100  $\mu\text{A}$ , a 8 frecuencias entre 1 kHz y 200 kHz. Adicionalmente, se realizó la medición del espesor del tejido para cada distancia.
- Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Ciencias para la Salud de la Universidad de Caldas.

## Resultados

A partir de los datos de resistividad eléctrica obtenidos y mediante un análisis estadístico, se pudo determinar que no hay diferencias significativas entre lecturas ni entre puntos, pero sí respecto a distancia, en donde se encontró que el colon presenta los niveles más altos de resistividad. Además, se observó que existen 2 dispersiones en todas las mediciones, por lo cual se realizó la parametrización en dos segmentos semicirculares de los espectros promedio de cada distancia, obteniendo un total de 14 parámetros: 3 geométricos y 4 del modelo de Cole por cada dispersión. A partir de allí, se observó una correlación lineal entre el espesor del tejido y los parámetros de resistividad eléctrica del promedio de cada distancia.

## Conclusiones

- Se desarrolló un protocolo de medición para tejido colorrectal porcino *ex vivo*, que permite la toma de datos confiables, lo cual fue corroborado estadísticamente mediante la igualdad que se obtuvo entre las 3 lecturas.
- Los espectros presentaron 2 dispersiones, las cuales pueden estar asociadas con el comportamiento eléctrico de las capas de la pared del tejido intestinal. De esta manera, se plantea la hipótesis de que la primera dispersión, que se encuentra en la región  $\alpha$ , estaría relacionada con la capa de moco externa que contiene la microbiota intestinal, mientras que, la segunda dispersión se debería al comportamiento eléctrico de las distintas capas de tejido (epitelio, mucosa, submucosa, muscular propia, serosa), lo cual es propio de la región  $\beta$ . Por su parte, la capa de moco epitelial presentaría un comportamiento únicamente resistivo para el rango de frecuencia estudiado.
- Dada la igualdad entre puntos no habría ninguna influencia al realizar las mediciones de EBIE en cualquier ángulo, de los 360° de la cavidad colorrectal.
- Existe una correlación negativa entre los parámetros de la resistividad eléctrica del espectro promedio de cada distancia ( $h$ ,  $\rho_0$ ,  $\rho_\infty$ ) y el espesor del tejido.
- Se obtuvieron valores de resistividad de referencia los cuales se reportan en la sección de resultados de este documento, tanto de forma cruda como parametrizada.

## Executive summary

It was carried out the study of the passive electrical properties of porcine distal colon and rectum by the Electrical Bioimpedance Spectroscopy EBIS measurements considering the real and imaginary part of the electrical resistivity spectrum. Then, statistical analysis and mathematical modelling with a geometrical proposed by González Correa (C. A. Gonzalez-Correa, 2019; González-Correa *et al.*, 2022) and Cole model were made, in order to establish the electrical behavior of the tissue for different distances from the anal sphincter. The significance of this study is to bring relevant information about these properties for further developments in colorectal disease detection in humans, consider that the literature is scarce, and the porcine colorectal tissue is a valid model.

**Keywords:** Electrical bioimpedance, porcine, colon, rectum

## Methods

Calibration of the probe: this process was carried out using electrolytic solutions of known electrical conductivity, in order to correct measurements deviations and then calculate the electrical resistivity.

### Specimens measurements:

- EBIE tests on 3 specimens were carried out for the development of the measurement protocol.
- Based on developed protocol, EBIE tests on 6 specimens were made on rectal and distal colon porcine tissue at 5 distances from the border of the anus, taken 3 readings on 3 points for each distance. The measurements were carried out with a pencil like tetrapolar probe, a current of 100  $\mu$ A at 8 frequencies between 1 kHz and 200 kHz. Also, the thickness of the tissue for each distance was registered.
- This study was approved by the Bioethics Committee of the Faculty of Health Sciences at the University of Caldas.

## Results

From obtained electrical resistivity data and by statistical analyses, there is not a significant difference between readings and neither between points. With respect to distance, there are differences, where the higher values are in colon tissue. Also, there are 2 dispersions, which were parameterized obtaining 14 parameters: 3 geometrical and 4 from Cole model, for each dispersion, taking the mean spectrum for each distance. From them, a linear correlation between the thickness of the tissue and the mean electrical resistivity parameters, for each distance was shown.

## Conclusions

- A protocol for the EBIS measurements on *ex vivo* porcine colorectal tissue was developed, for a reliable taken of readings. This was proved by statistical equality between readings.
- The spectra showed 2 dispersions, which could be due to the layer structure of the wall of the tissue. We propose the hypothesis in which the first dispersion in the  $\alpha$  region, would relate to the mucus layer of the microbiota, whereas the second dispersion would relate to the electrical behavior of the tissue layers (epithelium, mucosa, submucosa, muscular propria, serosa) which is typical in the  $\beta$  region. Meanwhile, the epithelial mucus would show only resistivity behavior in the studied frequency range.
- Due to the equality between points, there would be no difference to take EBIE readings in any angle of the  $360^\circ$  of the colorectal cavities.
- There is a negative correlation between the electrical resistivity parameters of the mean spectrum for each distance ( $h$ ,  $\rho_0$ ,  $\rho_\infty$ ) and the thickness of the tissue.
- Electrical resistivity reference values were obtained, which are reported in the results section, both in the form of raw and parameterized data.

## ***Tabla de contenido***

<b>Agradecimientos .....</b>	<b>3</b>
<b>Resumen ejecutivo .....</b>	<b>4</b>
<b>Executive summary .....</b>	<b>6</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>14</b>
<b>Capítulo 1. Presentación general.....</b>	<b>15</b>
<b>1.1. Contextualización y justificación.....</b>	<b>15</b>
<b>1.2. Planteamiento del problema .....</b>	<b>16</b>
<b>1.3. Hipótesis de trabajo.....</b>	<b>17</b>
<b>1.4. Objetivos.....</b>	<b>18</b>
1.4.1. Objetivo general .....	18
1.4.2. Objetivos específicos.....	18
<b>Capítulo 2. Marco conceptual .....</b>	<b>19</b>
<b>2.1. Aspectos biológicos .....</b>	<b>19</b>
2.1.1. Colon distal y recto de cerdo y humano. ....	19
2.1.2. Estructura macroscópica del colon distal y recto de cerdo y humano. ...	20
2.1.3. Estructura microscópica del colon distal y recto de cerdo y humano. ....	22
2.1.4. Ultraestructura .....	26
2.1.5. Perspectivas a futuro de la investigación .....	27
<b>2.2. Aspectos físicos.....</b>	<b>29</b>
2.2.1. Electricidad y Bioelectricidad .....	29
2.2.2. Bioelectricidad .....	32
2.2.3. <i>Bioimpedancia eléctrica</i> .....	33
2.2.3.1. <i>Espectroscopia de bioimpedancia eléctrica y zonas de dispersión</i> . ....	35



2.2.3.2. Modelos de la bioimpedancia eléctrica.....	38
<b>Capítulo 3. Marco metodológico.....</b>	<b>41</b>
<b>3.1. Desarrollo del protocolo de medición.....</b>	<b>41</b>
3.1.1 Metodología de desarrollo.....	41
3.1.1.1 Primer espécimen de prueba.....	41
3.1.1.2 Segundo espécimen de prueba.....	42
3.1.1.3 Tercer espécimen de prueba.....	43
3.1.2. Protocolo para la recolección del espécimen y la toma de datos. ....	44
<b>3.2. Metodología para la medición de tejido colorrectal de cerdo ex vivo....</b>	<b>45</b>
<b>3.3. Calibración de la sonda de medición.....</b>	<b>47</b>
3.3.1. Preparación y medición de las soluciones.....	47
3.3.1.1. Calibración de la magnitud de la impedancia. ....	47
3.3.1.2. Calibración de la fase. ....	48
3.3.1.3. Cálculo de la parte real y la parte imaginaria de la resistividad eléctrica. .....	49
<b>3.4. Estrategia para el ajuste de datos al modelo de Cole de dos dispersiones.....</b>	<b>49</b>
<b>3.5. Descripción del planteamiento del análisis estadístico.....</b>	<b>51</b>
3.5.1. Igualdad entre lecturas.....	51
3.5.2. Igualdad entre puntos.....	52
3.5.3. Igualdad entre distancias.....	52
<b>Capítulo 4. Resultados y análisis.....</b>	<b>53</b>
<b>4.1. Calibración de la sonda.....</b>	<b>53</b>
4.1.1. Preparación y medición de soluciones.....	53
4.1.2. Calibración de la Magnitud de la impedancia eléctrica.....	54
4.1.3. Calibración de la fase de la impedancia eléctrica.....	56



<b>4.2. Análisis de tejido rectal y colon.....</b>	<b>59</b>
4.2.1. Comparación respecto a lecturas. ....	59
4.2.2. Comparación respecto a puntos. ....	60
4.2.3. Comparación respecto a distancia. ....	62
4.2.3.1. <i>Diferencias en la parte real e imaginaria.</i> ....	62
4.2.4. Promedio por distancia. ....	65
<b>Capítulo 5. Discusión General .....</b>	<b>67</b>
<b>5.1. Protocolo de medición .....</b>	<b>67</b>
<b>5.2. Calibración de la sonda de medición y conversión a resistividad eléctrica .....</b>	<b>67</b>
<b>5.3. Análisis de tejido colorrectal .....</b>	<b>68</b>
<b>5.4. Hipótesis sobre la estructura de capas .....</b>	<b>70</b>
<b>Capítulo 6. Conclusiones y recomendaciones generales .....</b>	<b>73</b>
<b>6.1. Conclusiones.....</b>	<b>73</b>
<b>6.2. Recomendaciones .....</b>	<b>75</b>
<b>Referencias.....</b>	<b>76</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>87</b>
<b>Apéndice .....</b>	<b>88</b>

# Lista de figuras

<i>Figura 1. Comparación entre colon distal y recto de cerdo y humano.</i>	21
<i>Figura 2. Capas de la pared intestinal.</i>	21
<i>Figura 3. Espesor de las capas de moco en ratas Wistar.</i>	22
<i>Figura 4. a. Mucosa del intestino grueso. Microfotografía de un corte. Figura b. Mucosa del intestino grueso. Microfotografía electrónica.</i>	23
<i>Figura 5. Espesor de las capas de tejido colorrectal de cerdo y humano.</i>	24
<i>Figura 6. Complejo de unión y uniones estrechas.</i>	27
<i>Figura 7. Expresión geométrica y trigonométrica.</i>	32
<i>Figura 8. Distribución de corriente y líneas equipotenciales.</i>	34
<i>Figura 9. Zonas de dispersión del tejido biológico, en términos de resistividad eléctrica.</i>	36
<i>Figura 10. Esquema de conducción simplificado.</i>	37
<i>Figura 11. Comparativa de los 4 modelos para la representación del comportamiento eléctrico pasivo.</i>	39
<i>Figura 12. Primer espécimen de prueba.</i>	41
<i>Figura 13. a. Central de sacrificio Manizales/Caldas. b. Segundo espécimen de prueba.</i>	42
<i>Figura 14. Tercer espécimen de prueba.</i>	43
<i>Figura 15. Sonda tetrapolar.</i>	45
<i>Figura 16. Detalle de la geometría de la sonda de medición.</i>	45
<i>Figura 17. Especimen de recto y colon distal de porcino adulto.</i>	46
<i>Figura 18. Modelado por segmentos.</i>	50
<i>Figura 19. Espectros de impedancia de las 7 soluciones, sin calibrar. a. Magnitud. b. Negativo del desfase.</i>	53
<i>Figura 20. Resistividad eléctrica vs magnitud a 2 kHz.</i>	54
<i>Figura 21. Función de ajuste de la magnitud para 200 kHz.</i>	55
<i>Figura 22. Funciones de ajuste para el cálculo de la resistividad eléctrica a 1 kHz y 200 kHz.</i>	56
<i>Figura 23. Función de ajuste para del desfase a 200 kHz.</i>	57
<i>Figura 24. Espectros calibrados en términos de magnitud y fase de impedancia eléctrica.</i>	57
<i>Figura 25. Magnitud de la resistividad eléctrica de las soluciones calibradas.</i>	58
<i>Figura 26. Espectro en crudo y su versión calibrada y convertida a resistividad eléctrica.</i>	58
<i>Figura 27. Diagramas de caja-bigotes de la parte real de la resistividad.</i>	63
<i>Figura 28. Diagramas de caja-bigotes de la parte imaginaria de la resistividad.</i>	63
<i>Figura 29. Diagrama de Wessel de los promedios de cada grupo.</i>	64
<i>Figura 30. Correlación entre los parámetros de resistividad y el espesor promedio.</i>	66
<i>Figura 31. Propuesta de modelo circuital para la estructura de capas.</i>	72

## Lista de tablas

Tabla 1. Comparación, colon del cerdo y del humano. ....	25
Tabla 2. Comparación, recto del cerdo y del humano. ....	25
Tabla 3. Conductividad, resistividad e impedancia eléctrica, de las 7 soluciones de calibración. ....	53
Tabla 4. Porcentajes de error de la magnitud de la impedancia a las distintas frecuencias vs. 2 kHz. ....	55
Tabla 5. Soluciones de prueba para la calibración. ....	58
Tabla 6. Resultados de las comparaciones entre lecturas, por cada distancia. ....	60
Tabla 7. Resultados de las comparaciones entre lecturas, por cada punto. ....	60
Tabla 8. Resultados de las comparaciones entre puntos, por cada distancia. ....	61
Tabla 9. Esquema de las diferencias estadísticas entre puntos para cada distancia. ....	61
Tabla 10. Diferencias estadísticas de la parte real de la resistividad, respecto a las distancias. ....	62
Tabla 11. Diferencias estadísticas de la parte imaginaria de la resistividad, respecto a distancias. ....	62
Tabla 12. Media y desviación estándar de la resistividad eléctrica para los grupos. ... <b>¡Error! Marcador no definido.</b>	
Tabla 13. Parámetros de ajuste (geométricos y Cole), junto al espesor del tejido. ....	65

## Lista de ecuaciones

Ecuación 1. Resistencia/Conductancia .....	30
Ecuación 2. Ley de Ohm. ....	30
Ecuación 3. Ley de Ohm para corriente alterna. ....	31
Ecuación 4. Impedancia expresada como magnitud y fase. ....	31
Ecuación 5. Impedancia expresada como un número complejo. ....	31
Ecuación 6. Resistividad eléctrica compleja. ....	33
Ecuación 7. Modelo de Cole de 2 dispersiones. ....	49
Ecuación 8. Resistividad a frecuencia 0. ....	50
Ecuación 9. Resistividad a frecuencia $\infty$ . ....	51
Ecuación 10. Parámetro $\alpha$ . ....	51

## Abreviaturas

*EBIE: Espectroscopia de bioimpedancia eléctrica*

*BIE: Bioimpedancia eléctrica*

*CCR: Cáncer colorrectal*

*GruBIE: Grupo de investigación en bioimpedancia eléctrica*

*CPE: Capacitancia imperfecta, elemento de fase constante*

*ELA: Esclerosis lateral amiotrófica*

## Símbolos

*$R_{\infty}$ : Resistencia a frecuencia infinita*

*$R_0$ : Resistencia a frecuencia cero*

*$R_{ex}$ : Resistencia del espacio extracelular*

*$R_{in}$ : Resistencia del espacio intracelular*

*$\alpha$ : Parámetro alfa del modelo de Cole*

*$\tau$ : Tiempo de relación*

*$\rho$ : resistividad eléctrica*

*$\rho_0$ : resistividad a frecuencia cero*

*$\rho_{\infty}$ : resistividad a frecuencia infinita*

*$\Delta\rho_n = \rho_{0n} - \rho_{\infty n}$ .*

*$\rho_{\infty T} = \rho_{\infty 1} + \rho_{\infty 2}$  es la resistividad a frecuencia infinita de todo el tejido.*

## Introducción

El nuevo paradigma del funcionamiento del colon como la clave para el bienestar, la salud y la enfermedad (C.-A. Gonzalez-Correa *et al.*, 2017), ha dejado en evidencia que muchas de las enfermedades crónicas no transmisibles, tienen como origen una cascada fisiopatológica que altera la homeostasis del colon. Esta última está determinada por la existencia y el funcionamiento de la microbiota intestinal, la cual vive en simbiosis con el huésped y permite el mantenimiento de la salud en general (Suriano *et al.*, 2022). Entre dichas enfermedades se encuentra el cáncer colorrectal CCR, el cual ocurre con una progresión lenta y mediante un mecanismo denominado cancerización de campo, también conocido como efecto de campo carcinogénico, el cual está relacionado con alteraciones ultraestructurales en células y tejidos, que no son detectables a nivel macroscópico ni por microscopia convencional, y que se presentan de manera extendida a través de tejidos, órganos, aparatos, sistemas o en todo el organismo, durante todo el proceso de desarrollo del cáncer (Braakhuis *et al.*, 2003). Todo este conjunto de enfermedades tiene graves consecuencias para la calidad de vida de las personas, por lo cual resulta de gran interés el estudio del comportamiento eléctrico del tejido colorrectal, para el desarrollo de herramientas que permitan hacer detección temprana, mejorando el pronóstico y el tratamiento, teniendo en cuenta que estas propiedades permiten inferir acerca del estado estructural del tejido, incluyendo cada una de las capas que lo conforman. Sin embargo, a la fecha, son escasos los estudios en este campo incluso en modelo animal. Por este motivo, en este trabajo de investigación se realizó el estudio de las propiedades eléctricas pasivas de tejido de recto y colon distal porcino, por medio de la Espectroscopia de Bioimpedancia Eléctrica EBIE, dada su similitud en estructura y función con su contraparte humano. Resaltando, además que antes de realizar pruebas en humanos, es importante pasar por la investigación en animales, con el fin de mejorar la técnica, establecer protocolos y estandarizar las pruebas.

# Capítulo 1. Presentación general

## 1.1. Contextualización y justificación

Desde hace algunos años el grupo de investigación en bioimpedancia eléctrica (GruBIE) de la Universidad de Caldas/Manizales, crearon una línea de investigación enfocada en mediciones de Bioimpedancia eléctrica (BIE) en tejido colorrectal, enfocándose en la detección precoz de cáncer colorrectal, mediante mediciones en el recto (González-Correa *et al.*, 2019; Mulett-Vásquez, Gonzalez-Correa, *et al.*, 2016), basados en el concepto de cancerización de campo. Recientemente, se ha estudiado la progresión de diferentes tumores, y se han observado cambios progresivos, con el proceso normal de envejecimiento y que, al parecer, se inician desde varias décadas antes del diagnóstico de dichos tumores, los cuales pueden ser de tipo genético (Gerstung *et al.*, 2020) y/o epigenético (Bardhan & Liu, 2013). Estos últimos están relacionados con procesos fisiopatológicos asociados con la interacción con el medio externo y mediados por el estilo y las condiciones de vida de la persona como el sedentarismo, las dietas poco saludables, el tabaquismo y la exposición a estímulos nocivos. Específicamente, a nivel de colon y recto, estos factores conducen a la disbiosis intestinal, entre los que se encuentran: desequilibrio en la composición de la microbiota bacteriana, alteración de la capa de moco intestinal, la inflamación, la alteración de las uniones estrechas endoteliales y las alteraciones del sistema nervioso entérico (C.-A. Gonzalez-Correa *et al.*, 2017).

Con base en lo anterior, si esta serie de cambios se extiende por todo el órgano, se podría postular la idea de que, mediante mediciones en el recto distal, sería posible la detección de cáncer en el colon y en el recto. De tal manera que, para el caso del colon, el recto haría las veces de un órgano espejo (Roy & Backman, 2012).

Por lo tanto, dado que las alteraciones que ocurren a nivel de toda la estructura del colon afectan las propiedades eléctricas pasivas del tejido colorrectal, las mediciones de EBIE podrían ser una herramienta para el monitoreo y detección no solo del CCR, sino también de distintas enfermedades, de manera temprana y poco invasiva. Dentro de las alteraciones que podrían ser detectadas mediante la EBIE se encuentran: los cambios en el espesor y la composición de la capa de moco luminal y epitelial, el aumento de la permeabilidad por alteraciones en las uniones estrechas, así como la inflamación.

Por todo ello, resulta de gran importancia el desarrollo de tecnología para el estudio de las

propiedades eléctricas pasivas del tejido colorrectal humano *in vivo* y *ex vivo*. En este sentido, uno de los integrantes del GruBIE se encuentra desarrollando un equipo de EBIE, específico para la realización de mediciones en este tipo de tejido, basado en un desarrollo ya publicado (Jaimes, 2019).

Sin embargo, previo al desarrollo tecnológico aplicado a seres humanos, se requiere de la experimentación en modelos animales válidos, por lo que este trabajo de investigación se enfoca en el estudio y parametrización de las propiedades eléctricas pasivas del tejido distal de colon y recto porcino (*sus scrofa domesticus*), dadas sus similitudes en función y estructura con el humano.

## 1.2. Planteamiento del problema

A la fecha, existe un número reducido de publicaciones relacionadas con el estudio de la BIE en tejido colorrectal, tanto en modelo animal como en humanos. En los primeros, se han llevado a cabo investigaciones en conejos para la medición y análisis de las propiedades del tejido (Mulett-Vásquez, Correa-Flórez, *et al.*, 2016), en ratones, para el estudio del cáncer (Davies *et al.*, 1987; Sabuncu *et al.*, 2018; Soler *et al.*, 1999), la inflamación intestinal (Payne *et al.*, 2018, 2020) y el desarrollo de algunas tecnologías para el estudio y tratamiento del cáncer colorrectal (Lee *et al.*, 2015; Nguyen *et al.*, 2022). Otros estudios han realizado pruebas en conejillos de indias para el desarrollo de un equipo de EBIE (Ruiz-Vargas *et al.*, 2018a) y de sondas de medición con sensor de presión (Ruiz-Vargas *et al.*, 2018b, 2018a). Por otra parte, en tejido colorrectal de cerdo, los estudios se han orientado hacia aplicaciones quirúrgicas. En uno de ellos, se llevó a cabo la medición de EBIE en diferentes órganos de cerdo *in vivo*, incluido el colon, con el objetivo de desarrollar un algoritmo de clasificación de los tejidos, el cual podría ser utilizado en distintos métodos de cirugía (Chiang *et al.*, 2021). Otros estudios en cerdo, han aplicado la EBIE para la evaluación de la anastomosis colorrectal (Zhao *et al.*, 2017) y el desarrollo de un sistema de control automático para una pinza de polipectomía (Thornton & Choi, 2019).

En cuanto a mediciones en humanos, (Pathiraja *et al.*, 2017) mostraron la factibilidad de la EBIE para la detección del cáncer colorrectal *ex vivo*, haciendo uso de un equipo Zedscan de Silico. Además, sugieren que es necesario el desarrollo de tecnologías que permitan la aplicación confiable de EBIE en tejido colorrectal humano. Por otra parte, en relación a mediciones *in vivo*, el grupo de investigación GruBIE llevó a cabo dos estudios que permitieron determinar

correlaciones entre las mediciones de EBIE en recto, con enfermedades del colon, tales como colitis, poliposis, diverticulitis y cáncer (Gonzalez-Correa *et al.*, 2016; Mulett-Vásquez, Gonzalez-Correa, *et al.*, 2016), bajo la lupa del concepto del campo de cancerización. Sin embargo, estos estudios tuvieron como limitante que sus análisis se basaron únicamente en la parte real del espectro de bioimpedancia, debido a que era el único parámetro que medía el equipo utilizado para las mediciones (Mark 3 - Sheffield). Finalmente, se reporta la aplicación de EBIE para la evaluación del estado del esfínter anal en mujeres con problemas de incontinencia fecal, posterior al parto natural (Borycka-Kiciak *et al.*, 2019; Młyńczak *et al.*, 2021).

Teniendo en cuenta lo anterior, existe la necesidad de realizar investigaciones para el desarrollo de tecnologías orientadas a la aplicación de EBIE en tejido colorrectal, que permitan llevar a cabo nuevos estudios de diferentes enfermedades del colon, incluyendo el cáncer, de una manera confiable y segura.

Es por ello que, en este estudio, se planteó el desarrollo de una serie de mediciones preliminares de EBIE en colon distal y recto de cerdo, como paso previo a la aplicación en humanos, teniendo en cuenta que este tejido es un modelo animal válido para este tipo de experimentos (Heinritz *et al.*, 2013). Además, se plantea el estudio y parametrización de las propiedades eléctricas pasivas del tejido colorrectal porcino, mediante un modelado matemático.

Con base en lo anterior, surge la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es el comportamiento de las propiedades eléctricas pasivas de tejido de colon distal y recto porcino (*sus scrofa domestica*), obtenidas a través de la EBIE?

### **1.3. Hipótesis de trabajo**

El comportamiento de las propiedades eléctricas pasivas del tejido colorrectal porcino *ex vivo*, evaluadas mediante EBIE, están relacionadas con los cambios estructurales que se presentan desde el recto hacia el colon distal.



## **1.4. Objetivos**

### **1.4.1. Objetivo general**

Estudiar y parametrizar las propiedades eléctricas pasivas de tejido de colon distal y recto porcino (*sus scrofa domestica*), mediante el uso de EBIE.

### **1.4.2. Objetivos específicos**

1. Desarrollar un protocolo para la aplicación de la EBIE en tejido de recto porcino.
2. Evaluar el comportamiento eléctrico de tejido de colon distal y recto porcino mediante mediciones de EBIE.
3. Seleccionar un modelo matemático que permita la parametrización de datos de EBIE de tejido de recto porcino.

## Capítulo 2. Marco conceptual

### 2.1. Aspectos biológicos

#### 2.1.1. Colon distal y recto de cerdo y humano.

Desde hace varios años, diversos estudios han reportado que el recto de cerdo y el de humano tienen similitud morfológica en su estructura y función (Kararli, 1995). El intestino porcino adulto mide unos 23 m, con unas variaciones según su peso, edad y sexo; está formado por: intestino delgado, que son 18 m aproximadamente e intestino grueso que son los 5 m restantes. Esta última parte está formada por el ciego, le sigue el colon, el cual se dispone enroscado sobre sí mismo en forma de espiral y es muy largo en comparación con el de humano, y acaba en el recto, donde se acumulan las heces. El recto del cerdo tiene una longitud que varía entre 12 a 22 cm mientras que el del humano femenino entre 10 y 16 cm y el masculino de 12 a 15 cm (Plakhotnyi *et al.*, 2021).

El recto de cerdo se puede utilizar como biomodelo dada la similitud estructural tanto macroscópica como microscópica con el tejido rectal humano (Plakhotnyi *et al.*, 2021).

A nivel macroscópico, en el recto del cerdo hay 2 a 3 pliegues semicirculares (pliegues transversales del recto), que corresponderían a los pliegues semicirculares de su contraparte humano.

La estructura microscópica de la mucosa del recto del cerdo y del recto humano también son similares, la mucosa de ambos está formada por epitelio intestinal, de tipo columnar simple, con enterocitos columnares y células caliciformes que yacen sobre la membrana basal (Plakhotnyi *et al.*, 2021).

En estudios previos, se encontró que el cerdo es un modelo animal válido para el desarrollo de investigaciones relacionadas con el estudio de patologías intestinales, tratamiento de enfermedades rectales y métodos de intervención quirúrgica (Heinritz *et al.*, 2013; Plakhotnyi *et al.*, 2020; Schaaf & Gonzalez, 2022)

### **2.1.2. Estructura macroscópica del colon distal y recto de cerdo y humano.**

En la parte distal del tubo digestivo humano se encuentra el intestino descendente y el sigmoideas, que se continúa con el recto y el conducto anal (Ross & Pawlina, 2007). El cual se presenta de manera ilustrativa en la Figura 1a. Tradicionalmente se ha considerado que su función es absorber el agua y los electrolitos de los residuos finales de la degradación de los alimentos y formar las heces semisólidas. En promedio se absorben de 1.3 a 1.8 L de fluidos ricos en electrolitos por día, lo que corresponde al 90% de la sal y el agua que entran al colon proximal (Kunzelmann & Mall, 2002). Su motilidad, secreción y la captación de nutrientes, es regulada por su abundante inervación que no depende del sistema nervioso central, al tener sus propios plexos submucoso y mientérico como se muestra en la Figura 2.

El colon se encuentra formado por 4 porciones: colon ascendente, colon transverso, colon descendente y colon sigmoide (Figura 1a). Una característica importante del colon son sus apéndices omentales y sus tenias (tenia mesocólica, tenia omental, tenia libre), las cuales son bandas longitudinales gruesas de músculo liso que se encuentran en la pared, excepto en el recto, el conducto anal y el apéndice vermiforme (Ross & Pawlina, 2007) y ayudan a dar la forma típica de haustras (formaciones saculares).

El recto es la parte terminal, está ubicado en la cavidad pélvica, carece de tenias, haustras y apéndices omentales; es la continuación del colon sigmoideo a nivel de la tercera vértebra sacra (unión rectosigmoidea) y termina con el conducto anal (Figura 1a).

Como se mencionó anteriormente, el intestino de un porcino adulto mide 23 m, distribuidos en 18 m de intestino delgado y 5 m de intestino grueso. El intestino grueso, está conformado por el ciego, colon ascendente, colon transverso, colon descendente, recto y ano (Sisson & Grossman, 2002). El colon ascendente se encuentra a la izquierda, tiene forma espiral con tres giros centrípetos y dos tenias cólicas en su inicio y tres giros centrífugos al final donde se continúa con colon transverso, el cual se encuentra entre las flexuras cólicas (Cano et al., 2008), (Figura 1b).

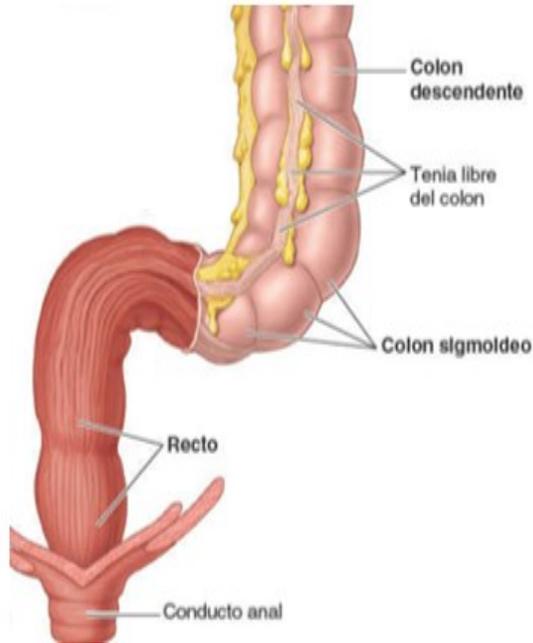


Figura 1a.

Fuente: Libro: Anatomía con orientación clínica. Moore. 8.ª edición. Pág. 597.

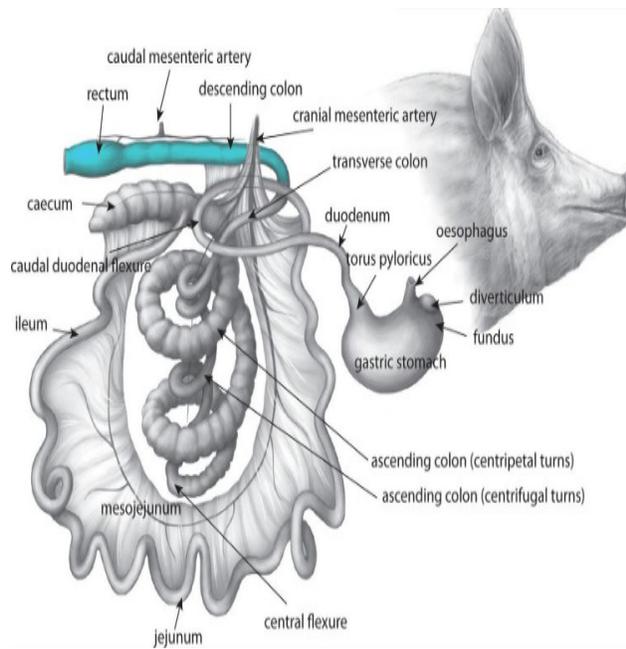


Figura 1b.

Fuente: Libro: CVM Large Animal Anatomy. Logo for University of Minnesota Libraries. Disponible en: <https://pressbooks.umn.edu/largeanimalanatomy/chapter/abdomen-1/>

Figura 1. Comparación entre colon distal y recto de cerdo y humano.

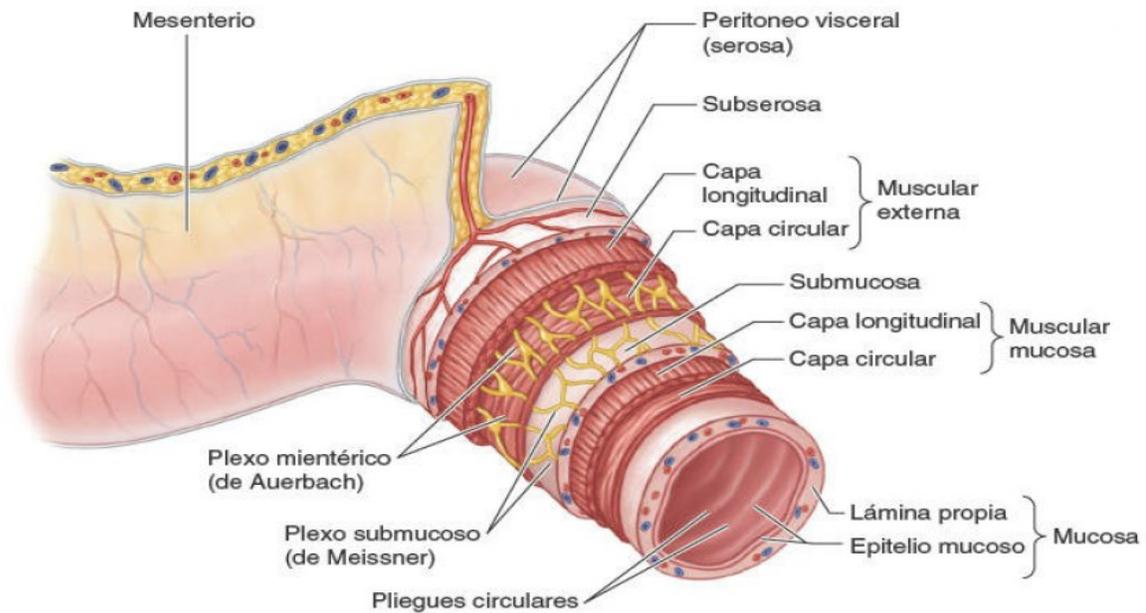


Figura 2. Capas de la pared intestinal.

Fuente: Libro: Histología. Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular. 5ª Edición. Pág. 595.

Fuente: Anatomía con orientación clínica. Moore. 8.ª edición. Pág. 466.

### 2.1.3. Estructura microscópica del colon distal y recto de cerdo y humano.

En relación con su parte histológica, el tubo digestivo humano está compuesto de una estructura tubular cubierta de células epiteliales que se encuentran sobre una membrana basal.

Las capas, desde la más externa, son: el epitelio, al cual lo cubre una capa de moco, la mucosa, la submucosa y la muscular propia (Figuras 3, 4, 5), (Ross & Pawlina, 2007). El epitelio tiene una estructura de tipo cilíndrico simple, con abundantes glándulas mucosas tubulares (criptas del colon) y células caliciformes, encargadas de producir mucina, las cuales se encargan de lubricar la mucosa intestinal. Además, se encuentra cubierto por una capa de moco que le brinda la primera línea de defensa, actúa como barrera protectora que forma un gel que brinda contención a agentes nocivos (Atuma *et al.*, 2001), formado por 2 capas, una laxa de moco (hábitat de la microbiota, del lado luminal) y una capa dura de moco adherida al epitelio (libre de bacterias). La capa de moco epitelial del colon en humano tiene un espesor entre 100 y 200  $\mu\text{m}$  (Fyderek *et al.*, 2009; Pullan *et al.*, 1994), mientras que, en el recto se reporta un promedio de 155  $\mu\text{m}$  (Pullan *et al.*, 1994). Por otra parte en el colon descendente del cerdo se reporta un espesor promedio de 76.3  $\mu\text{m}$ , y en el recto de 58.8  $\mu\text{m}$  (Varum *et al.*, 2012). En cuanto a la capa de moco luminal no hay reporte en la literatura para cerdo y humano; solo se tiene registro en ratas Wistar, con un espesor alrededor de los 700  $\mu\text{m}$  (Atuma *et al.*, 2001), (Figura 3).

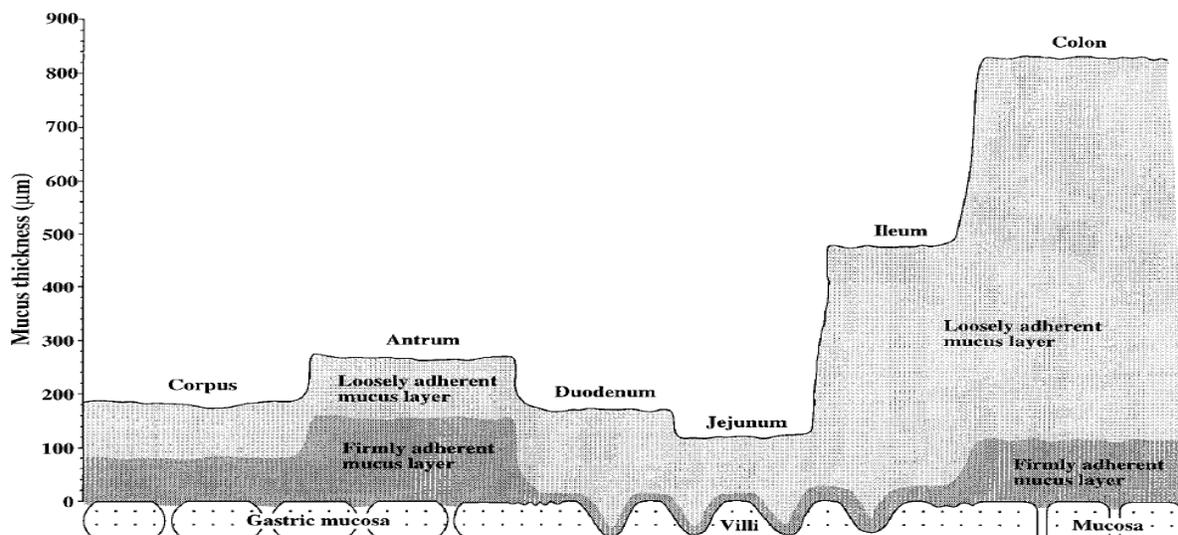


Figura 3. Espesor de las capas de moco en ratas Wistar.

Fuente: American Journal of Physiology. The adherent gastrointestinal mucus gel layer: Thickness and physical state in vivo.

Las glicoproteínas del moco epitelial (las mucinas), son los componentes macromoleculares mayores de esta capa (Aksoy & Akinci, 2004), siendo la principal en el colon la MUC2 (Johansson *et al.*, 2013). Estos componentes influyen la microbiota comensal y contribuyen sustancialmente a la capacidad del moco a retener y a eliminar potenciales patógenos (McGuckin *et al.*, 2011). Por otra parte, las membranas plasmáticas lipídicas, de las células altamente especializadas del tejido epitelial, constituyen un obstáculo al paso transepitelial de muchas moléculas (Mullin *et al.*, 2005). En cuanto a las demás capas que constituyen el tejido colorrectal, cabe destacar que la mucosa se encuentra dividida por unos surcos, con 25 a 100 orificios glandulares (Figura 4a), la lámina propia compuesta por un estroma de tejido conectivo y por la muscular de la mucosa que es una delgada lamina de musculo liso (Ross & Pawlina, 2007). Por debajo de la capa muscular de la mucosa está la submucosa, una estructura de tejido conectivo y colágeno que contiene vasos, linfáticos y el plexo de submucoso (Thomson *et al.*, 1986), (Figura 2).

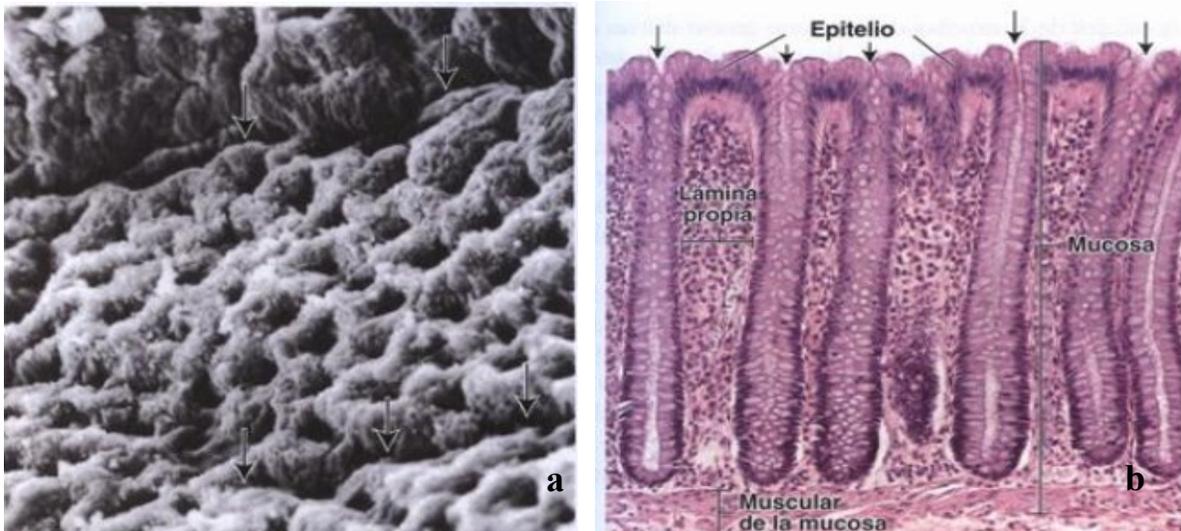


Figura 4a. Mucosa del intestino grueso. Microfotografía de un corte. Figura 4b. Mucosa del intestino grueso. Microfotografía electrónica.

Fuente: Libro: *Histología. Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular*. 5ª Edición. Pág. 595.

El colon distal y la pared de recto porcino está formada por 3 capas, las cuales actúan en conjunto para brindar protección y se conocen como capas interna, media y externa. En la capa interna, se encuentra la mucosa y la submucosa, en la media está la capa muscular y en la externa, la adventicia o peritoneo. La capa epitelial se encuentra en el tejido conectivo (lámina propia), es de tipo columnar simple, con vasos sanguíneos y linfáticos y una capa muscular (lámina muscular de la mucosa) (Sisson & Grossman, 2002), (Figura 4b). La submucosa contiene vasos

sanguíneos, folículos linfáticos y el plexo venoso rectal, Plexo de Meissner. La submucosa de la zona columnar contiene 6 a 8 glándulas tubulares ramificadas que dividen la capa circular de la capa muscular y terminan en el tejido conjuntivo intermuscular. En la capa media se encuentra la muscular, dividida en musculo liso circular interno y longitudinal externo (Plakhotnyi *et al.*, 2020). Por último, se encuentra la ampolla rectal y el canal anal; la unión anorrectal se encuentra 2 cm por encima del ano. Existe una zona de transición donde el epitelio se aplanan y se vuelve escamoso estratificado no queratinizado. Esta es la zona de transición que se encuentra de 0,8 a 1cm del esfínter externo y continua con la línea ano-cutánea que está conformado por epitelio de la piel, el cual es escamoso estratificado queratinizado. En el recto se encuentran de 2 a 3 pliegues semicirculares, y en el canal anal 7 a 9 pliegues longitudinales (columnas anales) (Sisson & Grossman, 2002). En la Figura 5, se presentan los espesores promedio de las capas del tejido colorrectal del cerdo y el humano.

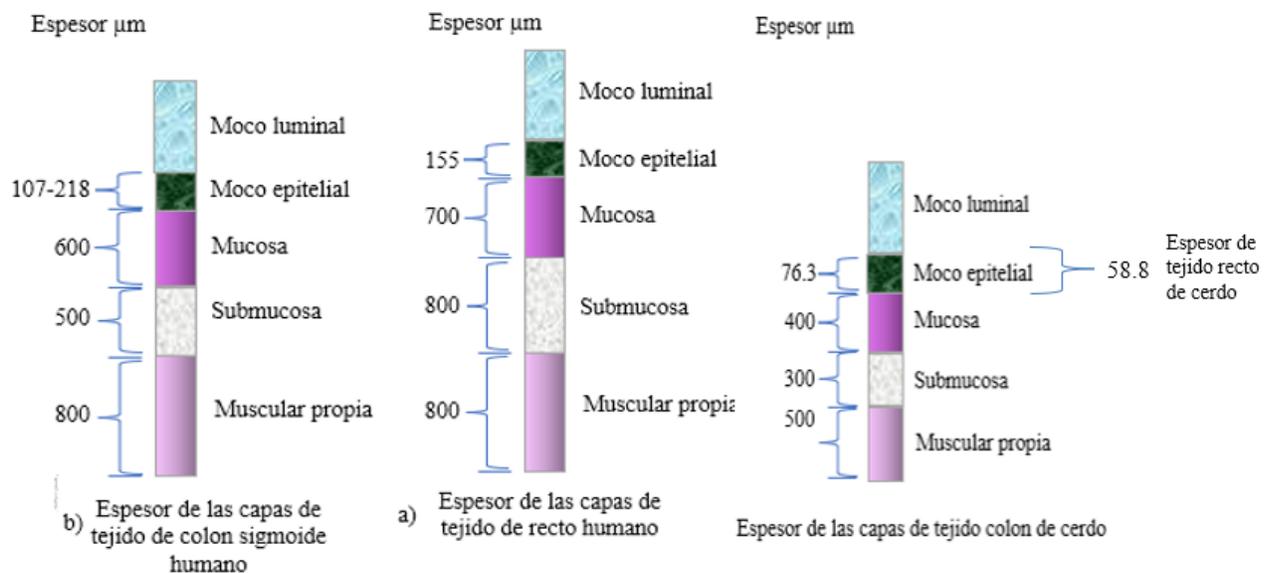


Figura 5. Espesor de las capas de tejido colorrectal de cerdo y humano.

Fuente: Adaptada a partir de (Castro-Poças *et al.*, 2015; Chandler *et al.*, 2017; Pullan *et al.*, 1994).

Nota: El espesor del moco luminal no ha sido reportado para cerdo y humano en la literatura.

En el siguiente cuadro comparativo se describen las principales características del colon y del recto del humano y del cerdo (*Sus scrofa domestica*).

Tabla 1. Comparación, colon del cerdo y del humano.

<b>Colon</b>			
	<b>Característica</b>	<b>El cerdo (<i>Sus scrofa domestica</i>)</b>	<b>Humano</b>
<b>Macroscópico</b>	Referencia de inicio	Unión ileocecal	Unión ileocecal
	Longitud	5 m (500 cm)	1,5 m (150 cm)
	Partes	Ciego, colon ascendente, colon transverso, colon descendente	Ciego, colon ascendente, colon transverso, colon descendente y colon sigmoides
	Forma	De espiral	Cuadrangular con porciones al lado derecho, arriba y a la izquierda
	Flexuras cólicas	Si	2 derecha e izquierda
	Tenias	3 tenias cólicas	3 (tenia mesocólica, omental y libre)
	<b>Microscópico</b>	Capas embrionarias	Ectodermo del intestino posterior
Tipo de epitelio		Epitelio columnar simple	Epitelio cilíndrico simple
Partes		Interna (mucosa y submucosa), media (capa muscular), externa (adventicia o peritoneo)	Moco, epitelio, mucosa, submucosa y la muscular propia

Tabla 2. Comparación, recto del cerdo y del humano.

<b>Recto</b>			
	<b>Característica</b>	<b>El cerdo (<i>Sus scrofa domestica</i>)</b>	<b>Humano</b>
<b>Macroscópico</b>	Referencia de inicio	Unión colorrectal	Unión colorrectal
	Longitud	12 a 22 cm	10 a 16 cm
	Partes	Parte pélvica y parte anal	Flexura sacra del recto y ampolla rectal
	Forma	Recta	De "S"
	Pliegues transversales	2 a 3	3
	Tenias	No	No

	Referencia de finalización	Unión colorrectal	La ampolla rectal
<b>Microscópico</b>	Capas embrionarias	Ectodermo del intestino posterior y del proctodeo	Ectodermo, mesodermo y endodermo
	Tipo de epitelio	Epitelio columnar simple	Epitelio cilíndrico simple
	Partes	Interna (mucosa y submucosa), media (capa muscular), externa (adventicia o peritoneo)	Moco, epitelio, mucosa, submucosa y la muscular propia

## 2.1.4. Ultraestructura

La ultraestructura, se refiere a la morfología tisular que se relaciona con la escala macromolecular y de las suborganelas, cuyo transporte de solutos ocurre por vía transcelular por medio de endocitosis, funcionamiento de canales o transporte pasivo a través de la membrana plasmática (Komin *et al.*, 2017). También se tiene una barrera semipermeable formada por las uniones estrechas que actúan como una compuerta que regula el movimiento pasivo de fluido luminal, proteínas, lípidos y solutos a través de la vía paracelular (Laukoetter *et al.*, 2006). Entonces, los organismos vivos contienen agua, distribuida en 2 espacios: intracelular y extracelular, los cuales están separados por una barrera semipermeable, la membrana celular, que controla el paso de iones. En esta estructura se encuentran aniones (con carga eléctrica negativa) y cationes (con carga eléctrica positiva). Dentro de la célula, los principales iones son el potasio  $K^+$  y las proteínas, y fuera de la célula cloro  $Cl^-$  y sodio  $Na^+$ .

Los medios de unión célula – célula se identifican como Tight junctions (unión estrecha o zónula occludens), Adherens junction (unión intermedia o zónula adhaerens), Gap junction (unión comunicante o unión Gap) y Desmosome (Desmosoma o mácula adhaerens) (Tsukita *et al.*, 2001), (Figura 6).

- **Uniones estrechas:** Son de gran importancia para establecer y mantener la polaridad epitelial celular, ayuda a diversos procesos como la morfogénesis, proliferación celular, diferenciación y actúa como barrera de difusión al movimiento de proteínas y lípidos dentro de la membrana plasmática (Steed *et al.*, 2010).
- **Uniones intermedias:** realizan uniones célula – célula en la membrana plasmática por medio de la cadherina e interacciones homofílicas. Además, se unen a componentes del

citoesqueleto, como los filamentos de actina y los microtúbulos. Son estructuras dinámicas y regulables fundamentales para la morfogénesis y remodelación de tejidos y órganos (Meng & Takeichi, 2009).

- **Uniones comunicantes:** Tienen funciones diversas como el intercambio de señales eléctricas y metabolitos entre las células, utilizando las conexinas que están reguladas por el control de la transcripción, traducción, tráfico y degradación; todos estos procesos están bajo estricto control. Puede ser regulada por activación química y de voltaje, así como por un gran número de modificaciones postraduccionales (Nielsen *et al.*, 2012).
- **Desmosomas:** Ayudan a la adhesión celular, uniéndose al citoesqueleto de filamentos intermedios. Forman enlaces adhesivos intracelularmente, lo que permite crear una red o andamiaje que mantiene la integridad de los tejidos (Garrod & Chidgey, 2008)

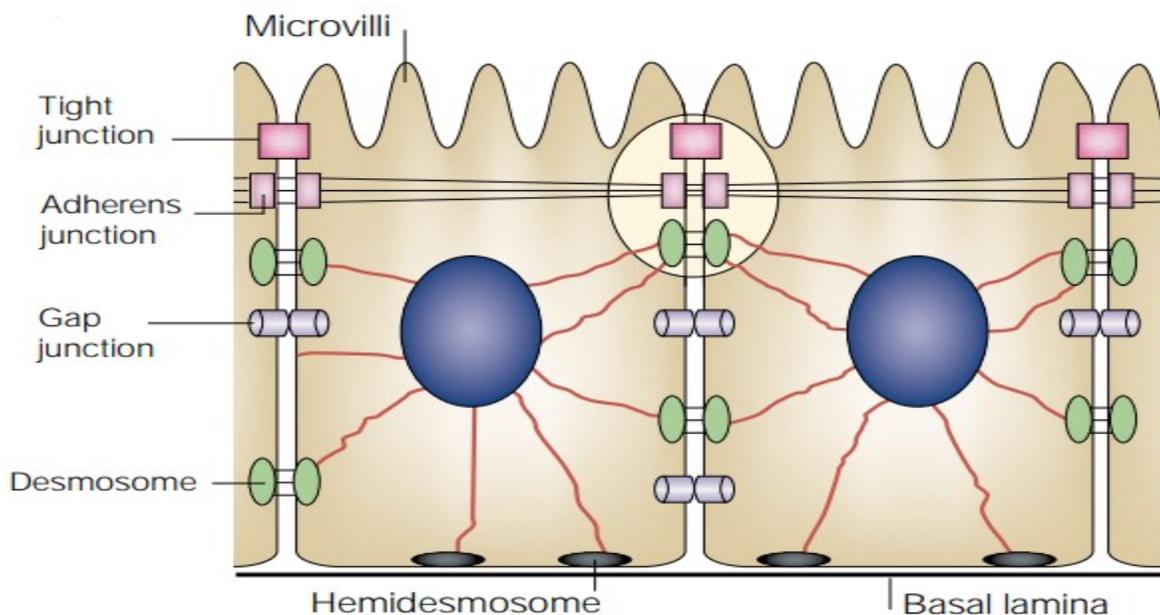


Figura 6. Complejo de unión y uniones estrechas.

Fuente: "Multifunctional strands in tight junctions" (Tsukita *et al.*, 2001). Pág.2

### 2.1.5. Perspectivas a futuro de la investigación

El intestino ha sido estudiado bajo un paradigma tradicional, el cual ha entendido su funcionamiento como un sistema que ayuda en el proceso de alimentación, al absorber el agua y los nutrientes y dejar los productos de desecho para su eliminación. Sin embargo, desde hace

algunos años, se ha logrado comprender que este sistema es una estructura más compleja, en la cual, juega un papel muy importante la microbiota intestinal para la homeostasis y la salud del cuerpo humano. (C.-A. Gonzalez-Correa *et al.*, 2017), han postulado al colon como la clave para el bienestar, la salud y la enfermedad, y han sugerido que existe un camino en común para la mayoría de las enfermedades crónicas no transmisibles, tales como la obesidad, la diabetes, la depresión e incluso varios tipos de cáncer incluyendo el CCR. Dicho camino comienza con la disbiosis debido a la exposición a factores de riesgo y hábitos de vida no saludables, que posteriormente ocasionan disrupción de la mucosa colónica, cambios en la microbiota intestinal, alteración en el epitelio y meta-inflamación.

En el CCR, ocurre esta secuencia de acontecimientos en una progresión lenta, que en sus primeras etapas se presenta con una disbiosis de la microbiota gastrointestinal (Bardhan & Liu, 2013). Gerstung M y colaboradores 2020, señalan que, en el desarrollo de tumores malignos, suceden cambios epigenéticos en el transcurso de la vida, en paralelo con los procesos normales de envejecimiento, los cuales inician hasta varias décadas antes de la formación de dichos tumores. De tal manera que, si se logra la detección de este proceso de disrupción progresiva en etapas tempranas, aumentarían las probabilidades para el éxito de los tratamientos contra este tipo de cáncer.

Además, uno de los conceptos que podría aportar nuevas alternativas para la detección del CCR, es la “cancerización de campo” (Park *et al.*, 2016), formulado por primera vez por Slaughter & Southwick (Slaughter *et al.*, 1953). Este concepto está relacionado con cambios de tipo genético y epigenético que se manifiestan a nivel estructural o ultraestructural (a escala molecular) en el tejido, a pesar de no mostrar manifestaciones a nivel fenotípico (Braakhuis *et al.*, 2003; Curtius *et al.*, 2018). De tal manera que, si dichos cambios estructurales pudieran ser detectados antes de que se produzca la formación de tumores, sería posible una detección precoz más efectiva.

Entre tanto, la bioimpedancia eléctrica es una técnica que, mediante la aplicación de una corriente eléctrica alterna y la medición de su respuesta en voltaje (a una o varias frecuencias), permite la determinación de las propiedades eléctricas pasivas de un tejido biológico, las cuales dependen de su estructura, composición, tipo y tamaño de las células. Dichas propiedades pueden ser utilizadas en distintas aplicaciones, entre las que se pueden mencionar la evaluación y análisis de la composición corporal, así como la detección de algunos tipos de cáncer, tales como el cáncer de cuello uterino, cáncer colorrectal y el cáncer de piel, entre otros (C.-A. Gonzalez-Correa, 2018)

Sin embargo, antes de llegar al diagnóstico o la utilización de la bioimpedancia eléctrica para el tamizaje del CCR y otras enfermedades del colon y del recto, es necesario realizar investigación en animales. Lo anterior, permitiendo estandarizar protocolos, unificar criterios, ajustar los equipos y las sondas de medición. Por tal razón se realiza esta tesis, cuyo objeto de estudio es el tejido de la parte distal de colon y recto del cerdo (*Sus Scrofa Domestica*).

## 2.2. Aspectos físicos

### 2.2.1. Electricidad y Bioelectricidad

**Electricidad:** La electricidad se puede definir como el conjunto de los fenómenos asociados con la interacción entre cargas eléctricas. La carga eléctrica, se puede considerar como la unidad básica de la electricidad, y se puede definir como una propiedad de la materia, relacionada con fuerzas de interacción entre las partículas, las cuales son descritas mediante la ley de Coulomb. Además, las cargas eléctricas son de dos signos: positivas y negativas, lo que hace que existan fuerzan de atracción y de repulsión. Por convención, los electrones poseen carga negativa, mientras que el protón tiene carga positiva.

Cuando se tiene una distribución de cargas eléctricas, cuya unidad es Coulomb (C), se produce lo que se conoce como campo eléctrico, que es un efecto a distancia entre las cargas. Además, se presenta una energía potencial o voltaje, el cual se define como el trabajo necesario para mover una carga de un punto a otro, dentro de un campo eléctrico. El voltaje también puede entenderse como la fuerza impulsora de las cargas, el cual además es denominado como fuerza electromotriz, cuya unidad es el Voltio (V). Por su parte, cuando hay movimiento de cargas, se produce la corriente eléctrica, que se puede expresar como carga sobre tiempo, cuya unidad es el Amperio (A). Para que este movimiento de cargas pueda ocurrir, se necesita de un medio, es decir de un material conductor de la electricidad. Estos materiales ejercen una oposición al paso de dicha corriente, lo cual se conoce como resistencia eléctrica  $R$ , cuya unidad es el Ohmio ( $\Omega$ ), o facilita el paso de esta corriente, que se conoce como conductancia eléctrica  $G$ , cuya unidad es el Siemens (S). Con lo anterior se puede deducir que la conductancia eléctrica es el inverso de la resistencia eléctrica y se puede expresar como:

$$R = \frac{1}{G} \quad \text{o} \quad G = \frac{1}{R}$$

*Ecuación 1. Resistencia/Conductancia*

La relación entre el voltaje, la corriente y la resistencia, están dadas por la ley de Ohm, la cual se expresa, como:

$$R = \frac{V}{I} \quad \text{o} \quad G = \frac{I}{V}$$

*Ecuación 2. Ley de Ohm.*

Además, la resistencia del material depende de su forma, es decir de su longitud y su área transversal, así como de la capacidad que tenga el material para oponerse al paso de la corriente eléctrica. Dicha capacidad o propiedad, que es inherente al tipo de material, se denomina resistividad eléctrica. La resistividad  $\rho$ , está directamente relacionada con el número de portadores de carga y su movilidad, así como de la estructura electrónica del material (Shackelford, 1995). Su unidad es el Ohmio-metro ( $\Omega\cdot\text{m}$ ).

La resistencia en términos de la resistividad y de su factor geométrico se puede expresar como:  $R = \rho \frac{L}{A}$ , donde  $\rho$  es la resistividad eléctrica,  $L$  es la longitud y  $A$  el área transversal que debe recorrer y atravesar la corriente, respectivamente.

Por otra parte, cuando hay dos materiales conductores separados por el vacío o por un material aislante, también conocido como material dieléctrico, se tiene una capacitancia ( $C$ ). Esta se puede definir como la capacidad para almacenar energía y es igual a la relación entre la carga y el voltaje que hay entre los dos conductores, donde  $Q$  es la carga eléctrica,  $V$  el voltaje y  $C$  la capacitancia en unidades de Faradio ( $F$ ). Un capacitor permite el almacenamiento de energía, mediante el almacenamiento de cargas, lo cual es posible gracias a que no existe una corriente de conducción a través de él, es decir, a que no hay movimiento de cargas, de una placa a la otra, en su interior. En sistemas electroquímicos y biológicos, no es posible el modelado de comportamientos de tipo capacitivo, mediante el uso del capacitor perfecto, debido a que la membrana celular tiene canales que permiten el paso de iones de afuera hacia adentro y viceversa, a mayor número de canales abiertos menor capacitancia y resistencia. Por este motivo, se utiliza un pseudo-capacitor, conocido como elemento de fase constante (CPE). La impedancia del elemento de fase constante es similar a la del capacitor, pero está modificado por un exponente, cuyo valor se encuentre entre 0 y 1. Cuando dicho exponente es igual a 0, el elemento de fase constante se

comporta como un resistor, es decir, como si no existieran membranas celulares. Mientras que, para un valor de 1, se comporta como un capacitor perfecto (como si no hubiera canales). Dicho exponente se simboliza con la letra alfa ( $\alpha$ ), y hace parte del modelo de Cole, el cual se presentará más adelante.

En materiales conductores, tales como los metales, los portadores de carga son los electrones, es decir que la conducción de la electricidad se produce a través del movimiento de ellos. En el caso de tejidos y materiales biológicos, no hay electrones libres para conducir la electricidad, sino que son los átomos ionizados los que tendrán movimiento ante estímulos eléctricos o gradientes de concentración químico. De tal manera, que el fenómeno de conducción eléctrica ocurrirá mediante el movimiento de aniones y cationes, tal como ocurre en una solución electrolítica. Los principales iones disponibles para la conducción eléctrica en un ser vivo son los átomos ionizados  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y los iones proteicos  $\text{A}^+$ .

En corriente alterna, debido a que se presentan fenómenos dependientes de la frecuencia, tales como la capacitancia y la inductancia, los cuales están relacionados con almacenamiento de energía, la oposición al paso de la corriente ya no será una resistencia sino una impedancia. De tal manera que la ley de Ohm se expresaría como:

$$Z = \frac{V}{I}$$

*Ecuación 3. Ley de Ohm para corriente alterna.*

Donde  $Z$  es la impedancia (en unidades de Ohm,  $\Omega$ ),  $V$  es el voltaje (en voltio, V) e  $I$  es la corriente (en Ampere, A) (Bounik *et al.*, 2022). La cual también se puede representar como:

$$Z = Z \angle \varphi$$

*Ecuación 4. Impedancia expresada como magnitud y fase.*

Siendo  $Z$  la magnitud de la impedancia, es decir, la medida de la oposición al paso de la corriente, y  $\varphi$  representa el ángulo de corrimiento de fase entre las señales de voltaje y de corriente.

O también como:

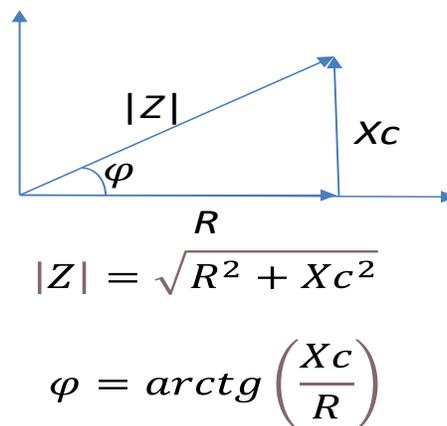
$$Z = R + jX$$

*Ecuación 5. Impedancia expresada como un número complejo.*

Donde  $R$  se denomina resistencia y  $X$  reactancia. La resistencia está asociada con el comportamiento resistivo del material y la reactancia con fenómenos capacitivos o inductivos.

En un tejido biológico, la resistencia  $R$  está asociada con el movimiento de los iones en los espacios intra y extracelulares, mientras que la reactancia  $X$  está asociada a la acumulación de las cargas eléctricas en la membrana celular, por lo tanto, es de naturaleza capacitiva, lo cual se expresa como  $X_c$ . Este tipo de notación matemática permite representar el comportamiento eléctrico mediante un plano complejo, en el cual el eje de las abscisas corresponde a la parte real y el eje de las ordenadas a la parte imaginaria.

También se puede utilizar la expresión geométrica y trigonométrica, donde, la magnitud se calcula a partir de la parte real e imaginaria de la impedancia, mediante el teorema de Pitágoras y la fase mediante la arcotangente de la relación entre la reactancia y la resistencia (Figura 7).



*Figura 7. Expresión geométrica y trigonométrica.*

### 2.2.2. Bioelectricidad

En los seres vivos, la electricidad es el medio fundamental para transportar información a través de todo el organismo. Esto es posible gracias a que existen células polarizables y excitables tales como las células musculares, nerviosas y glandulares. Este tipo de células tienen bombas de iones, las cuales son las responsables de la polarización de la célula, manteniendo un gradiente de concentración en contra del gradiente electroquímico mediante la hidrólisis de ATP. Este proceso permite que el interior de la célula esté polarizada alrededor de los -70 mV, respecto del exterior. En el ser humano el potencial se puede encontrar entre los -40 mV a los -90 mV (Martinsen & Grimnes, 2008, cap.5.1). Esta polarización ocurre, debido a que la membrana celular actúa como una barrera que separa los portadores de carga, es decir los iones, entre los espacios

intracelular y extracelular, actuando de manera similar a un capacitor, sin embargo, a diferencia de un capacitor, la célula controla el potencial mediante las bombas iónicas. Cuando la célula es excitada, se produce un potencial de acción, el cual es el principal mecanismo de la despolarización celular. El potencial de acción viaja a lo largo de la membrana celular modificando su distribución de cargas eléctricas; además, cuando suceden, siempre tienen la misma amplitud, independientemente de la magnitud o frecuencia del estímulo que los provoca.

### 2.2.3. Bioimpedancia eléctrica.

La bioimpedancia eléctrica (BIE) es la oposición que ejerce un tejido biológico al paso de corriente eléctrica, la cual está relacionada con sus propiedades eléctrica pasivas y se mide mediante una técnica mínimamente invasiva, de bajo riesgo y de un relativo bajo costo. Esta técnica se basa en la excitación del tejido con una señal eléctrica alterna, de baja intensidad (normalmente de corriente  $i(t)$ ) y la medición de su respuesta (normalmente de voltaje  $v(t)$ ), para luego, a partir de estas dos señales, mediante técnicas analógicas o digitales, calcular la impedancia eléctrica de transferencia o bioimpedancia eléctrica (Abasi *et al.*, 2022). A partir de la impedancia medida y teniendo en cuenta el factor de forma  $k$ , se puede obtener la resistividad eléctrica compleja, mediante la Ecuación 6, la cual, puede ser más conveniente para el estudio de las propiedades eléctricas de los tejidos, ya que es independiente de la geometría de la sonda.

$$\rho = Z \frac{A}{L} = Zk$$

*Ecuación 6. Resistividad eléctrica compleja.*

La corriente eléctrica aplicada se distribuye al interior del organismo formando unas líneas imaginarias que representan el movimiento de las cargas eléctricas. El paso de esta corriente produce distintos niveles de voltaje distribuidos a lo largo de la separación de los electrodos de corriente. Esta distribución de voltajes se representa como líneas perpendiculares a las líneas de corriente, a través de las cuales se tiene el mismo potencial (Figura 8).

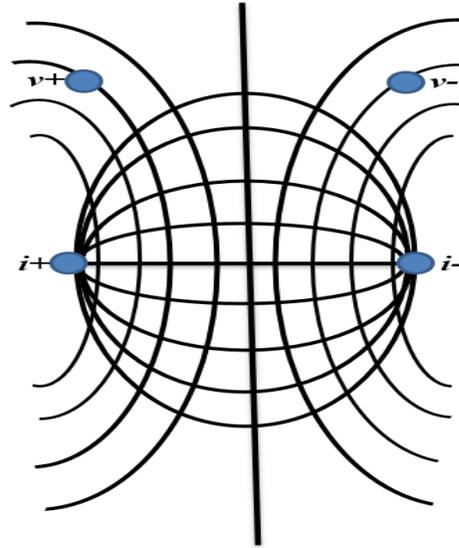


Figura 8. Distribución de corriente y líneas equipotenciales.

En tejidos biológicos la impedancia, así como la resistividad eléctrica, están relacionadas con los fenómenos físicos de conducción y polarización eléctrica. La conducción ocurre debido al movimiento de los iones que se encuentran libres, tanto en el espacio extracelular como en el intracelular, mientras que la polarización está relacionada con la acumulación de cargas en las interfaces de las membranas celulares, las cuales, debido a su composición de bicapa lipídica, presentan una alta resistividad eléctrica, comportándose como capacitancias imperfectas *CPE* (Abasi *et al.*, 2022; Martinsen & Grimnes, 2008, cap.8.2). Por otra parte, la estructura de los tejidos biológicos es altamente anisotrópica y compleja, dado que los órganos y los distintos tejidos, están conformados por diferentes capas de células especializadas, de distintos tamaños y organización. De tal manera que la bioimpedancia eléctrica de un tejido en estudio es una medida de las propiedades eléctricas de la suma de todas las capas o estructuras que lo conforman. Esto ha permitido que esta técnica sea utilizada en diferentes aplicaciones, tales como, el análisis de composición corporal, la evaluación del estado nutricional y la detección de algunas enfermedades, entre las cuales se encuentran distintos tipos de cáncer (C.-A. Gonzalez-Correa, 2018). A nivel del tracto gastrointestinal se han estudiado las propiedades eléctricas a través de esta técnica, para la detección de distintas enfermedades, tales como el cáncer de lengua (Ching *et al.*, 2010), la esclerosis lateral amiotrófica ELA (Shellikeri *et al.*, 2015). La evaluación de la integridad de la mucosa esofágica (Junko *et al.*, 2021), el cáncer de esófago (Blößer *et al.*, 2022), la evaluación de isquemia en tejido intestinal (Beltran & Sacristan, 2015), la evaluación de tejido duodenal en enfermedades como la dispepsia (Komori *et al.*, 2019) y el síndrome de colon irritable (Keshtkar *et al.*, 2012), la evaluación de tejido colorrectal y de tejido

rectal como posibles métodos para la detección del cáncer (C.-A. Gonzalez-Correa *et al.*, 2019; Mulett-Vásquez, Gonzalez-Correa, *et al.*, 2016) y la evaluación del daño del esfínter anal postparto (Borycka-Kiciak *et al.*, 2019). Aplicaciones que en su etapa de desarrollo han sido evaluadas en tejido de modelo animal.

### **2.2.3.1. Espectroscopia de bioimpedancia eléctrica y zonas de dispersión.**

Los tejidos biológicos son estructuras complejas con funciones electrofisiológicas, que contienen iones, membranas celulares, orgánulos, macromoléculas y moléculas, los cuales presentan distintos comportamientos ante un estímulo eléctrico en función de la frecuencia. La Espectroscopia de Bioimpedancia Eléctrica (EBIE), permite la caracterización de dicho comportamiento, mediante la aplicación de señales a distintas frecuencias dentro de un rango de interés. Todo el conjunto de mediciones de la bioimpedancia a las diferentes frecuencias es lo que se conoce como espectro de bioimpedancia eléctrica, el cual permite el estudio de distintos fenómenos de las propiedades eléctricas del tejido biológico, que pueden ser analizados mediante el concepto de dispersión, basado en la teoría de relajación de los materiales dieléctricos (Abasi *et al.*, 2022).

Esta teoría, se basa en el concepto de que las cargas que se encuentran asociadas a ciertas estructuras, tales como las membranas, las macromoléculas y las moléculas, no pueden moverse libremente por el tejido, pero sí pueden orientarse en dirección del voltaje o estímulo eléctrico aplicado. Tal orientación no ocurre instantáneamente, de manera que las cargas alcanzarán la nueva posición luego de un intervalo de tiempo, el cual está relacionado con el tamaño de la estructura cargada (Martinsen & Grimnes, 2008, cap.3.8). De tal manera que, a mayor tamaño, mayor tiempo de respuesta. Este intervalo de tiempo de respuesta se denomina tiempo de relajación.

A partir de estos fenómenos de relajación, las respuestas de los tejidos biológicos se clasificaron en 4 rangos de frecuencia, denominados zonas de dispersión  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  y  $\gamma$ , las cuales se describen a continuación:

- **Zona de dispersión  $\alpha$ :** Esta zona de dispersión se encuentra comprendida entre los 100 Hz y los 10 kHz (Markx & Davey, 1999), aunque otros autores la ubican en el rango de mHz a los kHz (Martinsen & Grimnes, 2008, cap.3.8). Allí se reflejan fenómenos

relacionados con la difusión de iones en la superficie de las membranas celulares (Bounik et al., 2022; Markx & Davey, 1999; Martinsen & Grimnes, 2008, cap.3.8) y en esta zona de dispersión se presentan “mecanismos de la membrana activa, canales cerrados, estructuras intracelulares, difusión iónica y pérdidas dieléctricas” (Martinsen & Grimnes, 2008, cap.3.8).

- **Zona de dispersión  $\beta$** : Se encuentra en el rango de 1 kHz a 100 MHz, en el cual, los mecanismos están relacionados con el comportamiento capacitivo de la membrana celular, debido a la acumulación de cargas en el interior y el exterior de la célula, y además con las membranas de los orgánulos intracelulares.
- **Zona de dispersión  $\delta$** : Su rango de frecuencia está por debajo de los GHz y está relacionado con la polarización, es decir, con la rotación de macromoléculas de cadena lateral (Bounik et al., 2022).
- **Zona de dispersión  $\gamma$** : Se encuentra en el rango de los GHz. Esta dispersión se produce por la orientación de las moléculas del agua en dirección del estímulo eléctrico aplicado (Bounik et al., 2022).

En la Figura 9, se muestra el esquema de las zonas de dispersión.

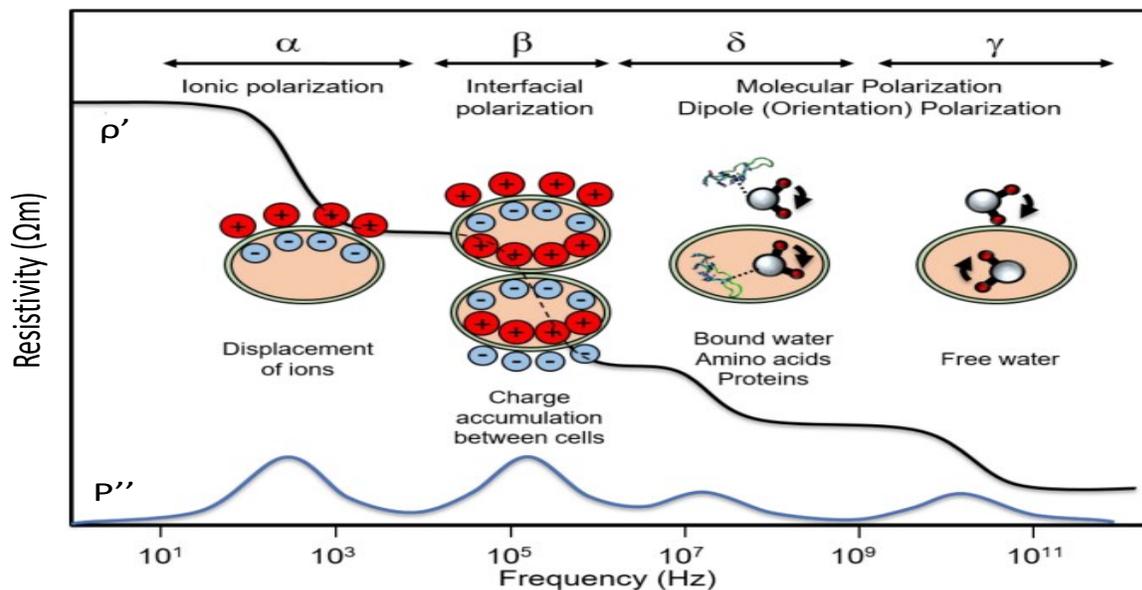


Figura 9. Zonas de dispersión del tejido biológico, en términos de resistividad eléctrica.

Fuente: Adaptado de “Bioelectrical Impedance Spectroscopy for Monitoring Mammalian Cells and Tissues under Different Frequency Domains: A Review” (p.D), por ACS Measurement Science Au, (Abasi et al., 2022).

De tal manera que, de acuerdo con el rango de frecuencia, se pueden evaluar distintas propiedades y mecanismos de los tejidos biológicos de diferente nivel de escala, teniendo en cuenta que, a mayor frecuencia, menor es la escala del fenómeno.

De acuerdo con lo anterior, las zonas de dispersión  $\alpha$  y  $\beta$ , son las que permiten la evaluación del espacio extracelular, del espacio intracelular y de las membranas, por lo cual pueden brindar información del estado estructural del tejido a escala celular y son las más utilizadas en la bioimpedancia eléctrica. Esto se debe a que a bajas frecuencias la corriente solo se produce en el espacio extracelular, y las membranas se cargarán eléctricamente, mientras que, a altas frecuencias, las membranas celulares no alcanzarán a cargarse, comportándose eléctricamente como una resistencia cero, y la impedancia del tejido será una combinación de las resistencias intra y extracelular (Martinsen & Grimnes, 2008, cap.4.2). Adicionalmente, hay que mencionar que, a bajas frecuencias, los portadores de carga deberán realizar recorridos más largos, encontrando la oposición de las membranas, mientras que, en altas frecuencias, a medida que los recorridos son más cortos, los portadores tendrán una menor oposición. En la Figura 10, se ilustra este esquema de conducción simplificado del tejido.

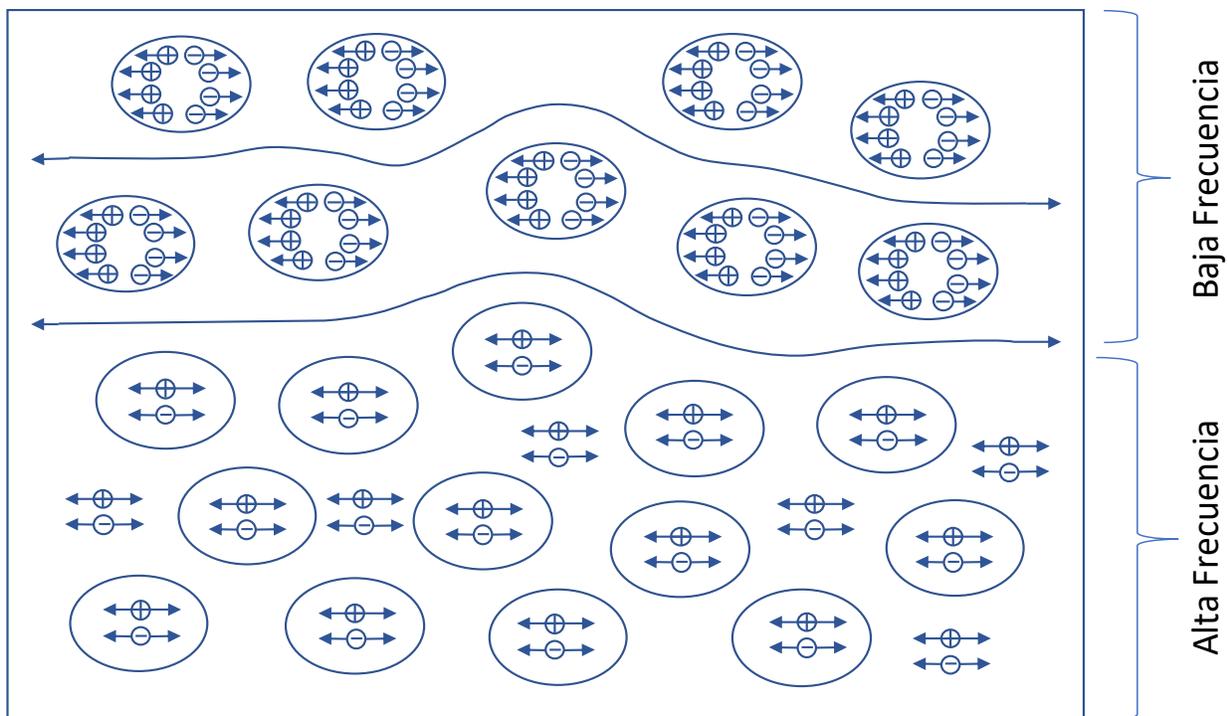


Figura 10. Esquema de conducción simplificado.

Por otra parte, las zonas de muy alta frecuencia ( $\delta$  y  $\gamma$ ) son difíciles de explorar, debido al propio comportamiento de los tejidos, así como de limitaciones tecnológicas para la aplicación de la bioimpedancia.

Por último, se debe tener en cuenta que la bioelectricidad se utiliza como estudio de los fenómenos asociados a la presencia, movimiento y almacenamiento de las cargas eléctricas propias de los portadores de cargas en los tejidos biológicos como son los iones atómicos ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ) y moléculas como las proteínas y el agua. Cuando se trata de tejidos biológicos, la electrofisiología trata las propiedades eléctricas propias de las células, de acuerdo a su funcionamiento en el organismo y su naturaleza electrogénica, tales como la polarización celular y el potencial de acción. Mientras que la espectroscopia de bioimpedancia eléctrica es una técnica que no modifica el funcionamiento celular ni de los tejidos, solo estudia el comportamiento de estos al paso de una corriente eléctrica alterna. En otras palabras, la BIE estudia las propiedades eléctricas pasivas porque no provoca un potencial de acción, ni ocasiona despolarización celular.

### **2.2.3.2. Modelos de la bioimpedancia eléctrica.**

Para el estudio de la bioimpedancia eléctrica, es posible el análisis de los datos crudos, es decir de los distintos componentes de la impedancia o de la resistividad eléctrica del material ( $Z$ ,  $\varphi$ ,  $R$ ,  $X$ , para cada frecuencia). Un ejemplo de ello es la estimación del agua extracelular, del agua corporal total y del ángulo de fase, para el análisis de la composición corporal, mediante las impedancias a 5, 50 y 200 kHz, asumiendo que estas frecuencias representan el comportamiento del tejido a frecuencia 0, a la frecuencia característica (frecuencia donde se presenta el mayor valor de  $X$ ) y a frecuencia infinita (Mulasi *et al.*, 2015). De tal manera que, este enfoque, se basa en una aproximación que no tiene en cuenta el comportamiento general del tejido en función de la frecuencia. Por otra parte, existe el modelado circuital, matemático y geométrico, que tienen asociación con el modelo biológico de la BIE, los cuales permiten obtener parámetros que pueden representar de una manera más completa el comportamiento eléctrico del tejido. En la Figura 11, se presentan los 4 tipos de modelos, con su asociación entre ellos.

A continuación, se definen los parámetros de los modelos:

-  $R_\infty$  es la resistencia a alta frecuencia, la cual está relacionada con la combinación de la

resistencia de los medios intra y extracelular. Su unidad de medida es el Ohm  $\Omega$ .

-  $R_0$  es la resistencia a frecuencia cero, es decir, que es una medida de la oposición al paso de la corriente del medio extracelular. Su unidad de medida es el Ohm  $\Omega$

-  $\tau$  es el tiempo de relajación (también denominado constante de tiempo) y está relacionado con el tiempo que requieren las cargas (que no se encuentran libres) en un material dieléctrico para orientarse con el estímulo eléctrico aplicado. Su unidad de medida es el segundo s.

-  $\alpha$  es un parámetro empírico que se utilizó para lograr el ajuste del modelo a los datos experimentales. Una de las interpretaciones que se le ha dado, es la de ser un indicador de la distribución de los tiempos de relajación. Según (Martinsen & Grimnes, 2008, cap.8.2.10), esta distribución se presenta a causa de distintos grados de interacción molecular, interacciones celulares, propiedades de las uniones gap, anisotropía, tamaño celular y dimensiones fractales.

-  $R_{ex}$  es la resistencia del espacio extracelular. Su unidad de medida es el Ohm  $\Omega$ .

-  $R_{in}$  es la resistencia del espacio intracelular. Su unidad de medida es el Ohm  $\Omega$

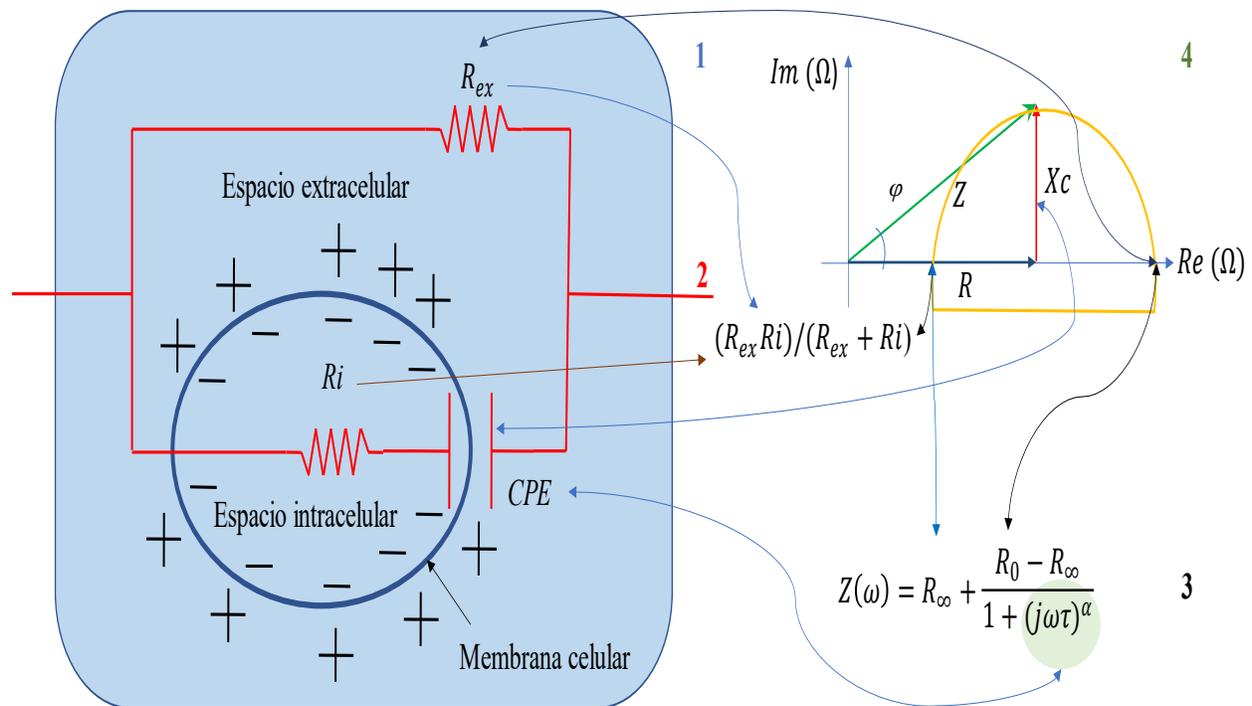


Figura 11. Comparativa de los 4 modelos para la representación del comportamiento eléctrico pasivo.

Las 4 representaciones anteriores, resultan de gran interés, ya que los elementos del modelo y su configuración pueden asociarse directamente con el tejido (Figura 11), en donde  $R_{ex}$  representa el espacio extracelular,  $R_{in}$  el espacio intracelular y  $CPE$  a la membrana celular.

Adicionalmente, cabe destacar que desde el punto de vista matemático y circuital, es posible obtener un modelo a partir del otro, y en algunos casos la información de los dos puede ser complementaria y de gran utilidad para el análisis.

El proceso para realizar el modelado matemático de los datos (también denominado ajuste de datos), consiste en el uso de algoritmos de minimización. Sin embargo, tienen como limitante que el número de parámetros debe ser mayor que el número de datos. Por este motivo, han surgido alternativas como la propuesta por González-Correa *et al.*, 2022, en la cual se puede realizar la parametrización del modelo de Cole, mediante solo 3 puntos de impedancia.

En el modelo geométrico mostrado en la Figura 11 (modelo 4), se indican las componentes de la impedancia eléctrica, correspondientes a sus dos formas de representación en el plano complejo. Este tipo de diagramas se conocen como diagramas de Wessel o de Nyquist.

## Capítulo 3. Marco metodológico

### 3.1. Desarrollo del protocolo de medición

Se desarrolló un protocolo de medición, con el objetivo de garantizar unas mediciones confiables de la EBIE en las muestras de tejido de recto y colon porcino, controlando algunas variables que pudieran sesgar los resultados. A continuación, se describe el proceso llevado a cabo para su desarrollo y ajuste, y se presenta el protocolo final. Este estudio fue avalado por el comité de ética de la Universidad de Caldas (Anexo).

#### 3.1.1 Metodología de desarrollo.

Antes de obtener el protocolo final se realizaron pruebas en 3 especímenes de recto de cerdo porcino, los cuales fueron solicitados y aprobados para su utilización por la central de sacrificio de Manizales/Caldas.

A continuación, se describen las dificultades encontradas y los avances en la toma de los datos.

##### 3.1.1.1 Primer espécimen de prueba.

La central de sacrificio entrega un espécimen de colon distal y recto porcino, el cual es trasladado al laboratorio de bioimpedancia eléctrica de la Universidad de Caldas/Manizales. Mientras se organiza el espacio, el equipo y las sondas para las mediciones, pasan 2 h.



Figura 12. Primer espécimen de prueba.

El tejido se coloca sobre un recipiente de plástico y se toman los datos sosteniendo la sonda con la mano (Figura 12).

**Dificultades:**

- Pasa más de 1 hora desde la entrega hasta el inicio de la toma de los datos.
- Los datos obtenidos no muestran lo esperado, no se observa repetibilidad y confiabilidad. Se evidencia que los datos no se ajustan al comportamiento de una sola dispersión.
- En el mismo espectro se evidencian valores inestables de impedancia.
- Los datos con buen comportamiento no presentan la curva típica de una dispersión.
- No se tiene claridad sobre qué nivel de corriente utilizar.

Se analizaron los datos y se planteó la hipótesis de que los datos están siendo afectados por la variable del tiempo y se decide realizar pruebas en un periodo de tiempo más corto.

**Soluciones:**

- Se solicita permiso para realizar mediciones en la central de sacrificio.
- Tomar varios datos con todas las corrientes.

**3.1.1.2 Segundo espécimen de prueba.**

Se acude a la central de sacrificio de Manizales/Caldas, donde se nos asigna un espacio al lado del lugar en donde se realiza el corte de los tejidos. Se nos entrega el espécimen de colon distal y recto, el cual es colocado sobre un recipiente de plástico y se realiza la toma de los datos sosteniendo la sonda con la mano (Figura 13).



*Figura 13. a. Central de sacrificio Manizales/Caldas. b. Segundo espécimen de prueba.*

**Dificultades:**

- Los datos tienen mejor comportamiento, pero se sigue evidenciando las dos dispersiones
- Se observa que los resultados tienen variación con el cambio de presión ejercida por la mano.
- Se evidencia que no existen cambios significativos en tomar datos en la central de sacrificios o antes de 1 hora y media.

Se analizaron los datos y se planteó la hipótesis de que los datos están siendo afectados por la presión ejercida con la mano (González-Correa *et al.*, 2000).

**Soluciones:**

- Se decide organizar todo en el laboratorio y hacer pruebas con los equipos un día antes para iniciar las mediciones en menos de media hora de la entrega del espécimen.
- Se crea un instrumento (soporte mecánico) que sostiene la sonda, la cual realiza una presión constante con su propio peso.
- Se consigue una base de vidrio para colocar el espécimen y hacer las pruebas.

**3.1.1.3 Tercer espécimen de prueba.**



*Figura 14. Tercer espécimen de prueba.*

La central de sacrificio entrega un espécimen de colon distal y recto porcino, el cual es trasladado al laboratorio de bioimpedancia eléctrica de la Universidad de Caldas/Manizales. Desde la entrega al inicio de la toma de los datos transcurren 30 min. El tejido se coloca sobre una base de vidrio y se toman los datos, sosteniendo la sonda con el soporte mecánico, con una presión constante (Figura 14). Se observa repetibilidad y confiabilidad de los datos. Se siguen evidenciando dos dispersiones por lo que se considera que esa es la respuesta del tejido. Se decide realizar las pruebas en 6 especímenes y analizar los resultados.

### **3.1.2. Protocolo para la recolección del espécimen y la toma de datos.**

Se obtuvieron 6 especímenes para el estudio, los cuales en cada prueba fueron transportados al laboratorio de bioimpedancia de la Universidad de Caldas. Los especímenes se colocaron sobre una base de vidrio y seccionados a lo largo de la muestra.

#### **Para realizar el protocolo se tiene en cuenta:**

- Transporte de los especímenes desde la central de sacrificio al laboratorio de la Universidad de Caldas (viaje en automóvil de unos 5 min), a temperatura ambiente en un recipiente.
- Inicio de las mediciones antes de los 30 minutos de la entrega en la central de sacrificios.
- Utilizar una superficie de vidrio previamente desinfectada y seca.
- Utilizar el soporte mecánico para la toma de los datos, donde la presión la ejerce el propio peso de la sonda.
- Toma de 3 lecturas de impedancia eléctrica en 3 puntos diferentes de cada distancia (P1, P2, P3).
- Tomar datos a 5 distancias diferentes (5cm, 10cm, 15cm, 30cm, 40cm) del esfínter anal externo, en sentido aboral, en el lado luminal de la pared de la muestra.
- Almacenamiento de los datos en un computador portátil de la Universidad de Caldas en una hoja de Excel.
- Retorno del espécimen a la central de sacrificio para su disposición final.

### 3.2. Metodología para la medición de tejido colorrectal de cerdo *ex vivo*

Se realizaron mediciones de EBIE en 6 especímenes de tejido colorrectal de cerdo adulto, *ex vivo*, obtenidos en la central de sacrificio local, con el objetivo de determinar sus propiedades eléctricas pasivas, es decir de su resistividad eléctrica compleja y su espesor. Para cada espécimen se llevó a cabo el protocolo de medición mencionado en la sección anterior.

Las mediciones se realizaron mediante un medidor de EBIE, BioZspectra v.1 modificado (DinTech) (Jaimes, 2019), y una sonda tetrapolar de 6.14 mm de diámetro externo, con forma de lápiz (Sheffield-UK) con 4 electrodos de oro de 1 mm de diámetro, ubicados en la punta, de forma rasante, y en una disposición rectangular, como se muestra en la Figura 15. La corriente aplicada fue de 100  $\mu\text{A}$ , en 8 frecuencias distribuidas en el rango de 1 kHz a 200 kHz. (1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 y 200 kHz).



Figura 15. Sonda tetrapolar.

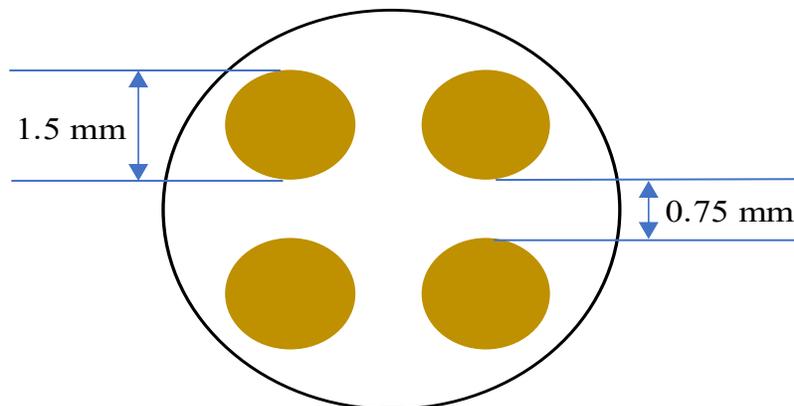


Figura 16. Detalle de la geometría de la sonda de medición.

Para estimar la presión ejercida por la sonda, se midió su masa con una balanza analítica marca Bel Engineering, obteniendo una lectura de 28.223 g. A partir de dicho valor y teniendo en cuenta que el diámetro de la sonda es de 6.14 mm, se realizó el cálculo mostrado en la ecuación eqX:

$$P \text{ (Pa)} = \frac{F}{A} = \frac{(28.223 \times 10^{-3} \text{ kg}) \left(9.81 \frac{\text{m}}{\text{s}^2}\right)}{\pi \left(\frac{6.14 \times 10^{-3}}{2}\right)^2} \text{ (eqX)}$$

De tal manera que la presión ejercida es de aproximadamente 9.35 kPa.

En cada espécimen se realizaron mediciones en tejido rectal a 5, 10, 15, 30 y 40 cm del esfínter anal. En cada distancia se seleccionaron 3 puntos de manera transversal, tal como se muestra en la Figura 17. En cada uno de los puntos se realizaron 3 lecturas de EBIE, de tal manera que se tienen 45 lecturas por cada espécimen, para un total de 270 lecturas. Cada lectura está comprendida por 8 datos de la parte real y 8 datos de la parte imaginaria de la bioimpedancia eléctrica, los cuales corresponden a cada una de las 8 frecuencias de medición.

Para medir el espesor se realizan cortes en cada punto y se colocan dentro de dos portaobjetos para posteriormente medir con un calibrador digital marca Truper.

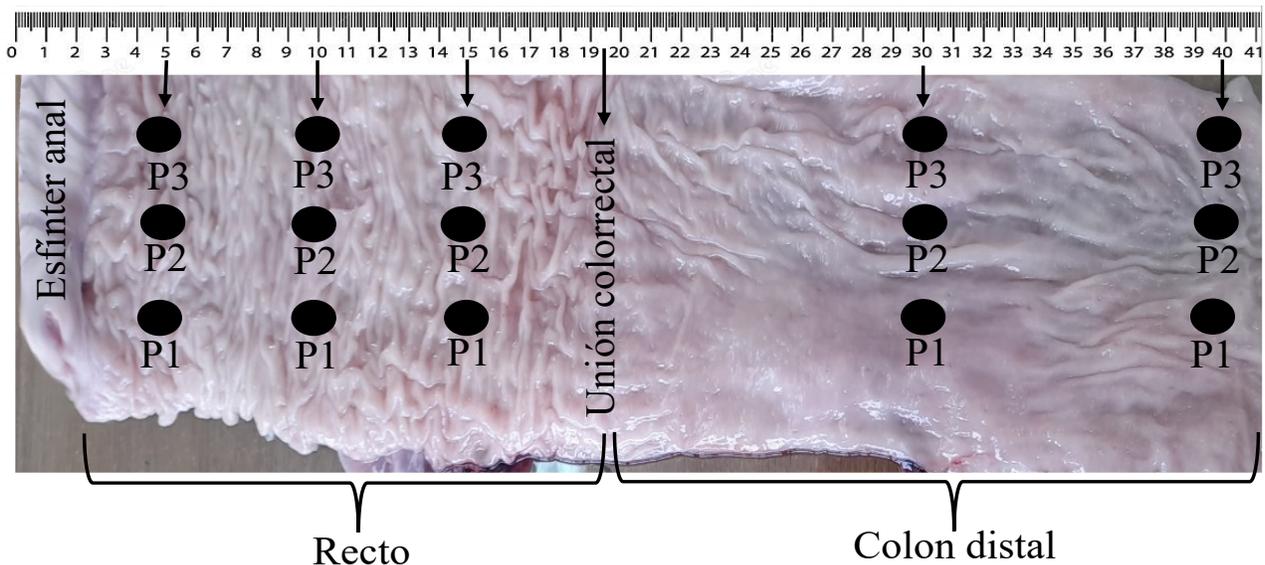


Figura 17. Espécimen de recto y colon distal de porcino adulto.

### 3.3. Calibración de la sonda de medición

Teniendo en cuenta que el equipo y la sonda de medición presentan efectos parásitos, debido a las limitaciones propias del hardware, a las capacitancias e inductancias de los cables (Abasi *et al.*, 2022), y a otros fenómenos inherentes a la medición con cuatro electrodos (Grimnes & Martinsen, 2006), los espectros de bioimpedancia eléctrica presentan desviaciones, respecto de los valores que verdaderamente representan las características eléctricas de la muestra del material o tejido biológico en estudio. Es por este motivo que es necesario llevar a cabo un proceso de calibración, el cual se realiza a partir de la medición de soluciones electrolíticas, las cuales son utilizadas como patrón de referencia, dado que su magnitud es constante y su fase es 0, en función de la frecuencia, debido a que presentan un comportamiento eléctrico de tipo resistivo.

**El procedimiento de calibración se describe a continuación:**

#### 3.3.1. Preparación y medición de las soluciones.

- Preparación y medición de la conductividad eléctrica de soluciones con distintas concentraciones, que permitan cubrir el rango de impedancia de los tejidos o muestras en estudio. Mínimo 5 soluciones en el rango de interés.
- Cálculo de la resistividad eléctrica a partir de la conductividad medida. Estos valores se utilizarán como referencia para la posterior conversión de impedancia a resistividad.
- Medición de la impedancia de las distintas soluciones.

##### 3.3.1.1. Calibración de la magnitud de la impedancia.

- Análisis del comportamiento de la magnitud de la impedancia de las soluciones medidas. Este análisis llevará a determinar cuáles frecuencias requieren del proceso de calibración.
- Tomar, como valores de referencia, las impedancias a baja frecuencia, ya que estas no se ven alterados por los fenómenos parásitos mencionados anteriormente (Para este estudio se seleccionaron los valores de impedancia de todas las soluciones a 2

kHz).

- Graficar las magnitudes de la impedancia a baja frecuencia, en función de las magnitudes para cada una de las frecuencias a calibrar. Es decir, que cada gráfica tendrá en el eje y a los valores de la magnitud de baja frecuencia (de todas las soluciones) y en el eje x los valores de la magnitud (de todas las soluciones) de la frecuencia respectiva.
- Obtener la curva de ajuste o curva de calibración de cada frecuencia. En este estudio se realizó el ajuste mediante la opción de línea de tendencia de Microsoft Office Excel. La curva de ajuste será una función del tipo  $Z_{calibrada} = f(Z_{cruda})$ , donde  $Z_{calibrada}$  es la magnitud calibrada y  $Z$  es la magnitud cruda.
- Utilizar las funciones de calibración de cada frecuencia, para obtener el nuevo conjunto de datos de la magnitud de la impedancia calibrados.
- Una vez los datos de impedancia han sido calibrados, se realizará la conversión a resistividad eléctrica. Para ello, se grafican los valores de impedancia en función de las resistividades de las soluciones, para cada una de las frecuencias.
- Cada gráfica obtenida, corresponde a la curva de calibración de la frecuencia respectiva. A partir de allí, con ayuda de la opción línea de tendencia de Excel, se procede a hallar las funciones de conversión a resistividad eléctrica.
- Utilizar las funciones en el conjunto de datos de impedancia que se desean convertir.

### **3.3.1.2. Calibración de la fase.**

- Análisis del comportamiento de la fase de la impedancia de las soluciones medidas. Este análisis llevará a determinar cuáles frecuencias requieren del proceso de calibración.
- Graficar los valores de las fases en función de las magnitudes, para cada una de las frecuencias. Es decir, que cada gráfico tendrá en el eje y los valores de las fases (de todas las soluciones) y en el eje x las magnitudes (de todas las soluciones), para la respectiva frecuencia.
- Obtener la curva de ajuste o curva de calibración de cada frecuencia mediante la opción de línea de tendencia de Microsoft Office Excel. La curva de ajuste será una función del tipo  $F_{corrimiento} = f(M_{cruda})$ , donde  $F_{corrimiento}$  es el corrimiento de fase y  $M_{cruda}$  es la magnitud cruda.
- El proceso de calibración de la fase se realiza restándole a la fase medida, el

corrimiento de fase obtenido mediante las funciones de calibración, las cuales dependen de la magnitud cruda.

### **3.3.1.3. Cálculo de la parte real y la parte imaginaria de la resistividad eléctrica.**

- Una vez que se han obtenido las magnitudes de la resistividad eléctrica de los datos y que se ha realizado el ajuste de fase, se procede a calcular la parte real  $\rho'$  mediante la expresión  $\rho' = \rho_{cal} \cos(\varphi_{cal})$ .
- Una que se han obtenido las magnitudes de la resistividad eléctrica de los datos y que se ha realizado el ajuste de fase, se procede a calcular la parte imaginaria  $\rho''$  mediante la expresión  $\rho'' = \rho_{cal} \sin(\varphi_{cal})$ .

**Donde:**  $\rho_{cal}$  es la magnitud y  $\varphi_{cal}$  es la fase de la resistividad eléctrica, ya calibradas.

## **3.4. Estrategia para el ajuste de datos al modelo de Cole de dos dispersiones**

Tal como se mencionó en el primer capítulo, uno de los enfoques para el análisis de datos de EBIE, es el del modelado mediante una función o expresión matemática, como lo es el modelo de Cole, a partir del cual es posible determinar 4 parámetros que representan las propiedades eléctricas del tejido, tanto a nivel de la conducción del espacio intracelular y extracelular, así como de la información del estado de la membrana, mediante el tiempo de relajación, que está relacionado con el comportamiento capacitivo.

Para el caso de los datos de tejido colorrectal medidos, los cuales fueron calibrados y convertidos a resistividad eléctrica, se pudo observar que se presentan dos dispersiones. Para este tipo de comportamiento, el modelo de Cole debe ser modificado para tener en cuenta esta situación, quedando como se muestra en la siguiente expresión:

$$\rho = \rho_{\infty 1} + \frac{\Delta\rho_1}{1 + (j\omega\tau_1)^{\alpha_1}} + \rho_{\infty 2} + \frac{\Delta\rho_2}{1 + (j\omega\tau_2)^{\alpha_2}}$$

*Ecuación 7. Modelo de Cole de 2 dispersiones.*

**Donde:**

$\rho$  es la resistividad eléctrica compleja.

$\rho_{0n}$  es la resistividad a baja frecuencia de la dispersión n.

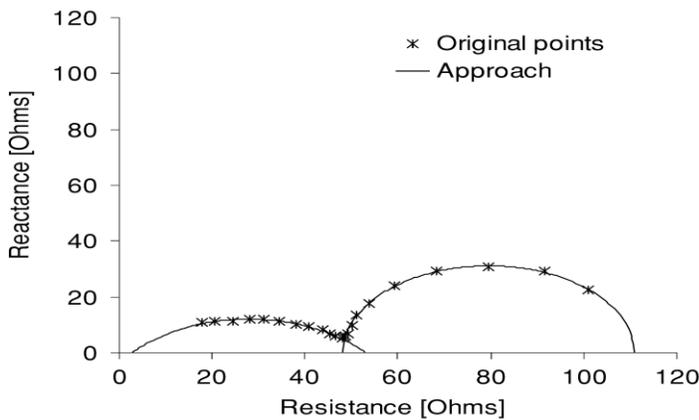
$\rho_{\infty n}$  es la resistividad a frecuencia infinita de la dispersión.

$$\Delta\rho_n = \rho_{0n} - \rho_{\infty n}.$$

$\rho_{\infty T} = \rho_{\infty 1} + \rho_{\infty 2}$  es la resistividad a frecuencia infinita de todo el tejido.

Nota: n representa el número de la dispersión, que para este caso tomará valores de 1 y 2.

Para llevar a cabo el proceso de parametrización, se utilizó el método de los 3 puntos propuesto por (González-Correa *et al.*, 2022), trabajando el ajuste para los dos segmentos correspondientes a cada dispersión, tal como lo reporta Beltrán *et al*, 2006, lo cual se muestra en la Figura 18.



**Figure 3.** Typical measured and modeled tissue impedance loci. Measured data (\*) and fitting tissue impedance model (—). Measurements were made at 23 frequencies ranging from 215 Hz to 1 MHz.

*Figura 18. Modelado por segmentos.*

Fuente: Extraída de: “Gastric impedance spectroscopy in elective cardiovascular surgery patients”  
(Beltran et al., 2006)

El ajuste 3P, consiste en el cálculo de las coordenadas del centro ( $h, k$ ) y el radio ( $r$ ) de la circunferencia que pasa por tres puntos de impedancia. A partir de estos parámetros geométricos se calculan  $\rho_0, \rho_\infty$  y  $\alpha$  como:

$$\rho_0 = h + \sqrt{r^2 - k^2}$$

*Ecuación 8. Resistividad a frecuencia 0.*

$$\rho_{\infty} = h - \sqrt{r^2 - k^2}$$

*Ecuación 9. Resistividad a frecuencia  $\infty$ .*

$$\alpha = 1 \pm \frac{2}{\pi} \operatorname{atan}\left(\frac{k}{\sqrt{r^2 - k^2}}\right)$$

*Ecuación 10. Parámetro  $\alpha$ .*

Por su parte, el parámetro  $\tau$ , se calcula a través de los tres parámetros anteriores, los datos de impedancia de los 3 puntos y la ecuación del modelo de Cole. El modelado fue realizado mediante la aplicación de Matlab reportada por (González-Correa *et al.*, 2022) en la información de soporte.

### 3.5. Descripción del planteamiento del análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico para determinar si existe repetibilidad en las mediciones y si se presentan diferencias entre los puntos y las distancias medidas.

Dichos análisis se llevaron a cabo con la parte real y la parte imaginaria de la resistividad eléctrica, haciendo uso del software SPSS versión 26.

**Para este análisis se plantearon las siguientes hipótesis nulas:**

#### ***3.5.1. Igualdad entre lecturas.***

- H0: La parte real de los espectros de impedancia, para las 3 lecturas son estadísticamente iguales
- H0: La parte imaginaria de los espectros de impedancia para las 3 lecturas son estadísticamente iguales

**Estas hipótesis se evaluaron para los siguientes escenarios:**

- Para todo el conjunto de datos
- Para cada distancia
- Para cada punto

### **3.5.2. Igualdad entre puntos.**

- H0: La parte real de los espectros de impedancia son estadísticamente iguales para los 3 puntos
- H0: La parte imaginaria de los espectros de impedancia son estadísticamente iguales para los 3 puntos
- 

**Estas hipótesis se evaluaron para los siguientes escenarios:**

- Para todo el conjunto de datos
- Para cada distancia

### **3.5.3. Igualdad entre distancias.**

- H0: La parte real de los espectros de impedancia son estadísticamente iguales para las 5 distancias
- H0: La parte imaginaria de los espectros de impedancia son estadísticamente iguales para las 5 distancias

Para llevar a cabo el análisis de comparación, se utilizaron las pruebas ANOVA (distribución normal y homocedasticidad), Kruskal Wallis (no distribución normal y homocedasticidad) y Brown Forsythe (no distribución normal y heterocedasticidad). Adicionalmente, en los casos en que se obtuvieron diferencias significativas, se utilizaron pruebas post hoc de Tukey (ANOVA), Bonferroni (Kruskal Wallis) y T2 de Tamhane (Brown Forsythe). La normalidad se obtuvo mediante la prueba de Kolmogorov -Smirnov y la homocedasticidad con la prueba de Levene.

### **Correlación con el espesor del tejido:**

Finalmente, se procedió a promediar los datos de cada distancia por espécimen, quedando un total de 6 espectros, uno por cada distancia, los cuales fueron parametrizados, y a partir de ellos se realizó un análisis de tendencia frente a los promedios de los espesores del espécimen para cada distancia.

En la sección de resultados se muestra en detalle la cantidad de espectros analizados en cada análisis, así como las pruebas estadísticas y los p-valores, teniendo en cuenta que se tomó el valor de 0.05 para el intervalo de confianza y la evaluación del nivel de significancia.

# Capítulo 4. Resultados y análisis

## 4.1. Calibración de la sonda

### 4.1.1. Preparación y medición de soluciones.

Se realizó la preparación de 7 soluciones con impedancias entre 55 Ω y 1.14 kΩ, el cual cubre el rango de 100 Ω a 1 kΩ, el cual fue estimado mediante las mediciones preliminares realizadas durante el desarrollo del protocolo de medición.

En la Figura 18, se presentan los resultados de las mediciones de impedancia eléctrica de las soluciones utilizadas, cuyos valores de conductividad, de resistividad y de impedancia eléctrica a 2 kHz se presentan en la Tabla 3. Como se puede observar allí, los valores de impedancia cubren el rango estimado.

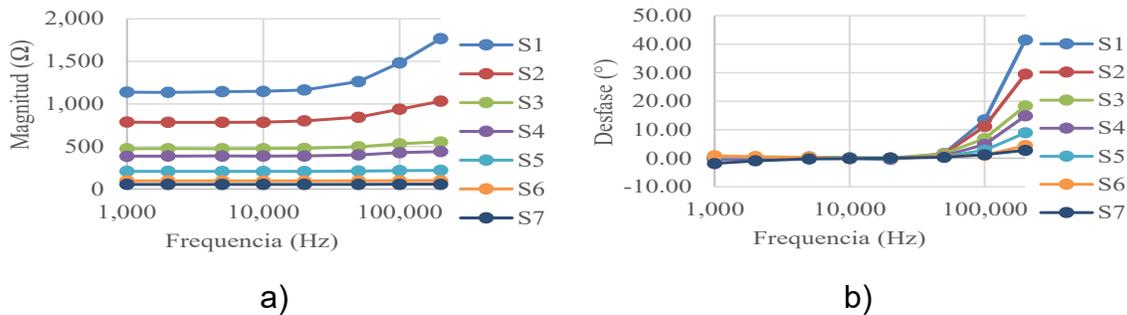


Figura 19. Espectros de impedancia de las 7 soluciones, sin calibrar. a) Magnitud. b) Negativo del desfase.

Tabla 3. Conductividad, resistividad e impedancia eléctrica, de las 7 soluciones de calibración.

Conductividad eléctrica (mS/cm)	Resistividad eléctrica (Ω-cm)	Impedancia eléctrica a 2 kHz (Ω)
0.377	2652.51	1136.01
0.560	1785.71	784.16
0.917	1090.51	475.61
1.166	857.63	387.53
2.090	478.47	208.49
4.300	232.56	96.03
7.780	128.53	55.37

### 4.1.2. Calibración de la Magnitud de la impedancia eléctrica.

En la Figura 19, se puede observar que a frecuencias mayores a 10 kHz y en las soluciones de menor conductividad hay un incremento en el valor de la magnitud de la impedancia, lo cual es una desviación del comportamiento esperado para las soluciones electrolíticas, que como ya se mencionó anteriormente, deben presentar magnitud constante en función de la frecuencia.

Por lo tanto, teniendo en cuenta que en la zona de baja frecuencia no se presenta desviación en la magnitud y considerando que, en mediciones de bioimpedancia, la primera frecuencia puede estar afectada por efectos transitorios de la medición, se seleccionaron las impedancias a 2 kHz, como valor de referencia para el cálculo de las funciones de calibración. Adicionalmente, hay que destacar que a esta frecuencia se presenta una relación lineal entre la impedancia y la resistividad eléctrica con un coeficiente de correlación de 0.9994 (Figura 20), lo cual corrobora su aplicabilidad para ser usado como parámetro de referencia en la calibración.

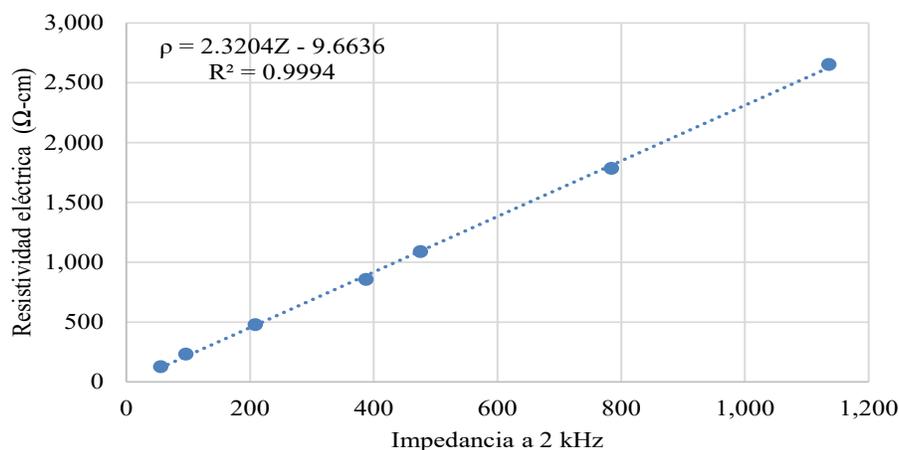


Figura 20. Resistividad eléctrica vs magnitud a 2 kHz.

Una vez seleccionadas las impedancias de 2 kHz como valor de referencia, se procedió a realizar el cálculo de los errores de los valores de la magnitud de la impedancia de las demás frecuencias, frente a los valores de 2 kHz, para determinar cuáles deberían ser corregidas, utilizando como parámetro de decisión un umbral del 1%. Los errores obtenidos se presentan en la Tabla 4. De esta manera, dado que las magnitudes a las frecuencias de 1, 5 y 10 kHz presentan errores menores al 1%, a excepción de la solución 1 para 10 kHz, estas frecuencias no fueron calibradas. Por su parte, las frecuencias de 20, 50, 100 y 200 kHz presentan errores mayores al 1% en más de una solución, por lo cual se realizó el proceso de calibración para estas últimas.

Tabla 4. Porcentajes de error de la magnitud de la impedancia a las distintas frecuencias vs. 2 kHz.

	1 (kHz)	5 (kHz)	10 (kHz)	20 (kHz)	50 (kHz)	100 (kHz)	200 (kHz)
S1	0.28	0.74	1.21	2.51	11.18	30.58	55.63
S2	0.45	0.01	0.24	2.10	7.77	19.69	31.83
S3	-0.46	-0.47	-0.07	0.69	4.28	11.81	16.38
S4	-0.42	0.39	-0.22	0.18	3.48	10.42	13.71
S5	0.24	-0.43	-0.56	-0.34	1.08	3.93	5.34
S6	0.13	-0.30	-0.49	-0.41	0.23	2.38	2.58
S7	0.00	-0.16	-0.28	-0.40	-0.10	0.39	0.54

A partir de allí, se procedió a hallar las funciones de calibración, graficando las impedancias de cada frecuencia, contra las impedancias a 2 kHz, haciendo uso de Excel y aplicando la opción de línea de tendencia que mejor se ajustara al comportamiento observado. En la Figura 21 se muestra de manera ilustrativa la gráfica para 200 kHz.

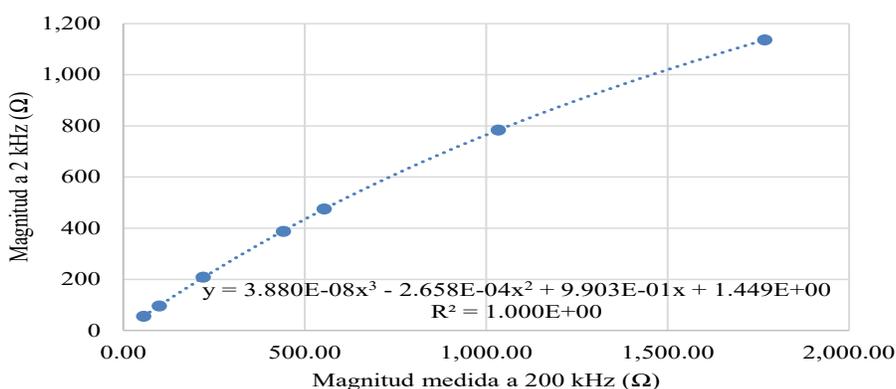


Figura 21. Función de ajuste de la magnitud para 200 kHz.

En el Apéndice A, se presentan las gráficas y las funciones obtenidas para las demás frecuencias que fueron calibradas. En cada función, y corresponde al valor calibrado de la magnitud, evaluado para el valor x, el cual corresponde a la magnitud medida por el equipo, es decir el valor crudo. Una vez realizada la calibración de la magnitud de la impedancia de las soluciones, se procedió con la conversión a resistividad eléctrica. Para ello, con base en los datos de resistividad de la Tabla 4 y con los espectros de las soluciones ya calibradas, se obtuvieron las funciones de cada frecuencia, por medio de graficación y ajuste de las líneas de tendencia. En la Figura 22, se presentan, a manera de ejemplo, las gráficas y funciones de ajuste para 1 kHz y 200 kHz. Las

demás gráficas y funciones de conversión se presentan en el Apéndice A.

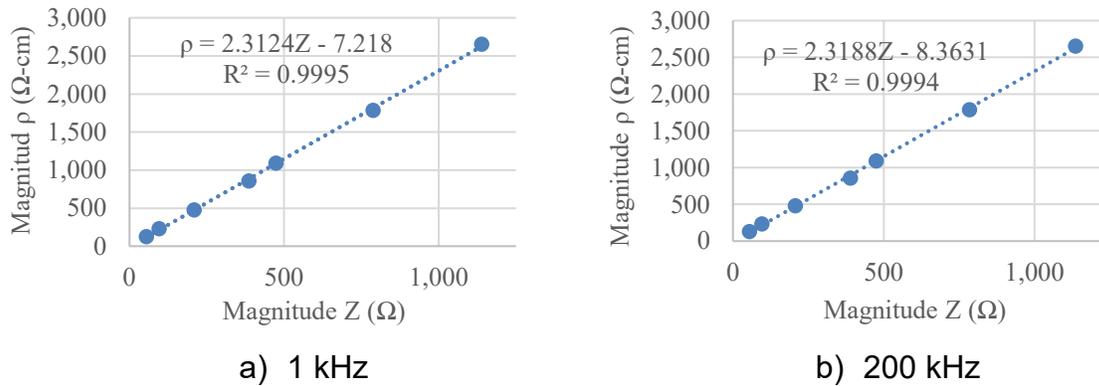


Figura 22. Funciones de ajuste para el cálculo de la resistividad eléctrica a 1 kHz y 200 kHz.

### 4.1.3. Calibración de la fase de la impedancia eléctrica.

Como se puede observar en la Figura 19b, hay una correlación positiva entre el desfase y la magnitud de la impedancia en altas frecuencias, para todo el rango de magnitudes, mientras que para impedancias menores a 100 Ω, se presenta un leve corrimiento a 1 y 2 kHz. De esta manera se procedió a realizar la calibración de la siguiente manera:

- Para todo el rango de impedancia se calibraron las fases a 50, 100 y 200 kHz.
- Para impedancias menores a 100 Ω, se calibraron las fases a 1 y 2 kHz, para lo cual se realizó la medición de 7 soluciones adicionales con una conductividad entre 4.11 y 15.6 mS/cm. Esto permitió tener una mejor caracterización del comportamiento de la fase en este rango. Sin embargo, hay que mencionar que, para los datos de medición en tejido, no se esperan valores tan bajos de impedancia, en estas frecuencias. En el Apéndice C, se presentan las soluciones utilizadas para este ajuste.
- Las demás frecuencias no fueron calibradas, ya que sus valores fueron menores a 1°.

Teniendo en cuenta que el desfase de las soluciones debe ser igual a 0°, se procedió a determinar las líneas de tendencia y las funciones del desfase en función de la magnitud, para luego hacer la resta del corrimiento y de esta manera obtener la fase calibrada. En la Figura 23, se muestra la función de ajuste del corrimiento de fase a 200 kHz, representada de manera negativa. Las demás gráficas y funciones se presentan en el Apéndice D.

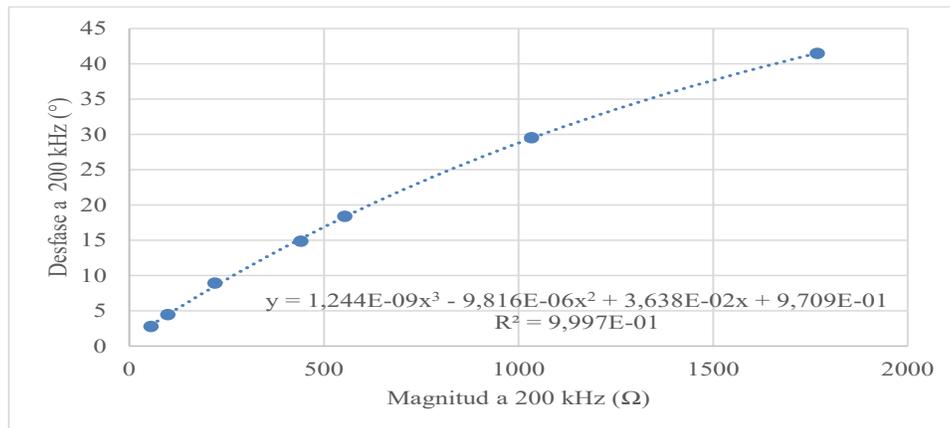


Figura 23. Función de ajuste para el desfase a 200 kHz.

En estas funciones,  $y$  corresponde al valor del corrimiento de fase, evaluado para el valor  $x$  que corresponde a la magnitud de la medición cruda.

En la Figura 24, se presentan las 7 soluciones calibradas mediante las funciones de ajuste, tanto para la magnitud, como para la fase de la impedancia. Como se puede observar, la calibración muestra un comportamiento horizontal en las magnitudes y desfases menores a  $1^\circ$ . Por su parte, en la Figura 25 se presenta la magnitud de la resistividad eléctrica de las soluciones, obtenida a partir de los espectros calibrados.

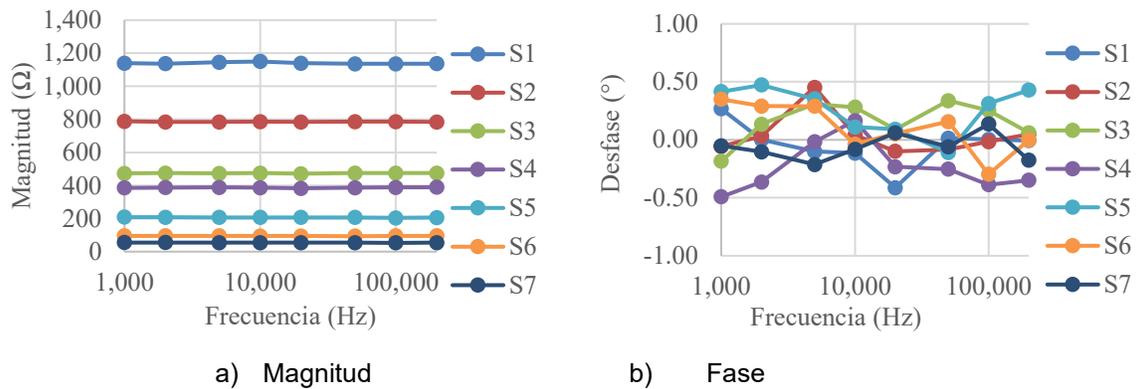


Figura 24. Espectros calibrados en términos de magnitud y fase de impedancia eléctrica.

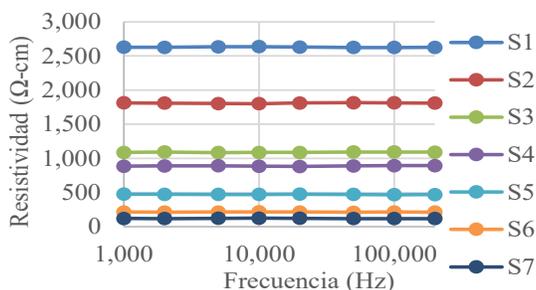


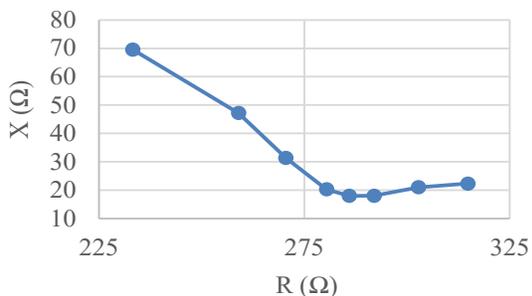
Figura 25. Magnitud de la resistividad eléctrica de las soluciones calibradas.

Para verificar el desempeño de la calibración y de la conversión a resistividad eléctrica, se midieron dos soluciones con conductividades de 1,956 y 515  $\mu\text{S}/\text{cm}$  y se compararon con el valor promedio de la resistividad de todas las frecuencias obteniendo errores menores al 1%, tal como se muestra en la Tabla 5.

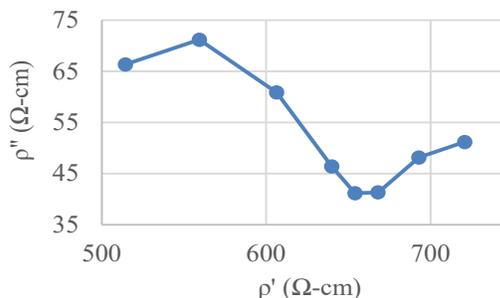
Tabla 5. Soluciones de prueba para la calibración.

	Conductividad eléctrica ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	Resistividad eléctrica ( $\Omega\text{-cm}$ )	Resistividad promedio calibrada	% de error
SA	515.00	1941.75	1942.60	-0.04
SB	1,956.00	511.25	515.33	-0.80

Una vez verificado que las funciones de calibración y conversión permiten un buen ajuste, se procedió a realizar este proceso para los datos de las mediciones en el tejido colorrectal. En la Figura 26, se presenta un ejemplo del efecto de la calibración y de la conversión a resistividad de uno de los espectros medidos. Finalmente, hay que anotar que los datos de tejido colorrectal tuvieron un valor mínimo de 169.2  $\Omega$  y un máximo de 732.4  $\Omega$ , los cuales se encuentran dentro del rango de calibración que había sido estimado.



a) Espectro de impedancia eléctrica en crudo



b) Espectro calibrado y convertido a resistividad eléctrica

Figura 26. Espectro en crudo y su versión calibrada y convertida a resistividad eléctrica.

## 4.2. Análisis de tejido rectal y colon

Se realizó el análisis de las mediciones de bioimpedancia eléctrica (calibradas en términos de resistividad eléctrica), tomadas en tejido rectal y en la parte distal del colon, con base en el protocolo mencionado en las secciones 3.1 y 3.2, para determinar la repetibilidad en las lecturas y si existen diferencias estadísticamente significativas en las propiedades eléctricas pasivas de los diferentes puntos y las distancias medidas.

A continuación, se utilizará la siguiente nomenclatura: L1, L2 y L3 corresponden a las 3 lecturas, P1, P2 y P3, los 3 puntos y D1 a D5 las 5 distancias (comenzando con D1=5 cm y terminando con D5=40cm). A continuación, se presentan los resultados obtenidos y en el Apéndice E se presentan los niveles de significancia de las pruebas de normalidad y homocedasticidad, los cuales permitieron determinar la prueba a utilizar como se describió en la sección 3.5.

### 4.2.1. Comparación respecto a lecturas.

En este análisis se tiene un total de 270 lecturas (6 especímenes, 5 distancias por espécimen, 3 puntos por distancia, 3 lecturas por punto), las cuales fueron analizadas estadísticamente para determinar la repetibilidad de los datos, bajo los siguientes escenarios:

- a) Para todo el conjunto de datos
- b) Para cada distancia
- c) Para cada punto

**Resultados escenario a:** Aplicando la prueba de Kruskal Wallis, se obtuvo igualdad estadística entre lecturas, con una significancia de 0.902 para la parte real y 0.940 para la parte imaginaria.

**Resultados escenario b:** Para la parte real de las distancias D1, D2, D3, D4 y D5, así como para la parte imaginaria de D2, y D3, se llevó a cabo la prueba ANOVA de un factor, mientras que, para los casos restantes, se utilizó la prueba de Kruskal Wallis.

En la Tabla 6, se presentan los resultados de las comparaciones entre lecturas, para cada una de las distancias, en los cuales se puede observar que hay igualdad estadísticamente significativa, en todos los casos.

Tabla 6. Resultados de las comparaciones entre lecturas, por cada distancia.

	D1	D2	D3	D4	D5
Real	0.954	0.955	0.957	0.958	0.902
Imaginario	0.918	0.959	0.987	0.984	0.977

**Resultados escenario c:** Para este caso, se aplicó la prueba ANOVA de un factor para la parte imaginaria de P3, mientras que en el resto de los casos se utilizó la prueba de Kruskal Wallis.

En la Tabla 7, se presentan los niveles de significancia obtenidos de las comparaciones, los cuales son mayores a 0.05, indicando igualdad estadística entre lecturas para cada uno de los puntos.

Tabla 7. Resultados de las comparaciones entre lecturas, por cada punto.

	P1	P2	P3
Real	0.946	0.964	0.962
Imaginario	0.988	0.964	0.968

De tal manera que, para los 3 escenarios, se presenta igualdad estadísticamente significativa entre las 3 lecturas, lo cual indica la repetibilidad en las mediciones. Por este motivo, se tomó la decisión de realizar un promediado de las 3 lecturas de cada uno de los puntos de medición, quedando de esta manera un total de 90 espectros de resistividad eléctrica (15 por cada uno de los 6 especímenes).

#### 4.2.2. Comparación respecto a puntos.

A partir de los 90 espectros promediados, se procedió a realizar un análisis comparativo entre puntos. En este caso se analizaron dos escenarios:

- a) Para todo el conjunto de datos
- b) Para cada distancia

**Resultados escenario a:** Mediante la prueba de Brown Forsythe, se encontró que no existen

diferencias estadísticamente significativas entre los puntos, con un nivel de significancia de 0.055 para la parte real y de 0.131 para la imaginaria.

**Resultados escenario b:** Haciendo uso de la prueba de Brown Forsythe para real e imaginario de la distancia D1, Kruskal Wallis para imaginario de D2 y D5 y ANOVA de un factor para los demás casos se obtuvieron los resultados de la Tabla 8. Allí se puede observar que 4 de los 10 grupos presentan igualdad estadística entre puntos.

*Tabla 8. Resultados de las comparaciones entre puntos, por cada distancia.*

	D1	D2	D3	D4	D5
Real	0.003	0.838	0.000	0.051	0.000
Imaginario	0.233	0.163	0.001	0.007	0.003

Dadas las diferencias, se realizaron pruebas post hoc, las cuales se presentan en la Tabla 9.

*Tabla 9. Esquema de las diferencias estadísticas entre puntos para cada distancia.*

	D1	D2	D3	D4	D5
Real	P1	P1	P1	P1	P1
	P2	P2	P2	P2	P2
	P3	P3	P3	P3	P3
Imaginario	P1	P1	P1	P1	P1
	P2	P2	P2	P2	P2
	P3	P3	P3	P3	P3

Con base en los resultados de la Tabla 9 se tiene que:

- P2 y P3 son estadísticamente iguales para todos los casos
- P1 es diferente a P2 y P3 para las distancias D1 y D3 para la parte real.
- P1 es diferente a P2 y P3 para la distancia D5 para la parte imaginaria.
- En 3 casos de 10 posibles, P1 es estadísticamente diferente a P2 y P3 al mismo tiempo.

Teniendo en cuenta la igualdad estadística entre los puntos bajo el escenario a, la igualdad estadística entre P2 y P3 para el escenario b, y a que P1 solo es diferente a P2 y P3 simultáneamente, en 3 de 10 casos, se tomó la decisión de promediar los puntos P1, P2 y P3 de cada distancia, para cada espécimen, quedando un total de 30 espectros promediados.

### 4.2.3. Comparación respecto a distancia.

Con base en los 30 espectros promediados, obtenidos del análisis de puntos, se procedió a realizar la comparación de la parte real y la imaginaria, respecto a las distancias. Para ello se realizó la comparación mediante la prueba de Brown Forsythe, mostrando que hay diferencias significativas con un nivel de significancia de 0.000 tanto para la parte real como la imaginaria de la resistividad eléctrica.

#### 4.2.3.1. Diferencias en la parte real e imaginaria.

En las Tablas 10 y 11, se presentan las diferencias entre los grupos, en donde se puede notar que, tanto para la parte real como para la imaginaria, las resistividades del colon (D4 y D5) son estadísticamente diferentes a las de recto (D1, D2 y D3).

*Tabla 10. Diferencias estadísticas de la parte real de la resistividad, respecto a las distancias.*

D1		
	D2	
	D3	
		D4
		D5

*Tabla 11. Diferencias estadísticas de la parte imaginaria de la resistividad, respecto a distancias.*

D1	
D2	
D3	
	D4
	D5

En las Figuras 27 y 28, se presentan los diagramas de cajas y bigotes de la parte real e imaginaria de la resistividad eléctrica, respecto de las distancias, en donde se puede notar de manera ilustrativa, que las resistividades de 30 y 40 cm correspondientes al colon son mayores a las presentadas en el recto, tanto para la parte real como la imaginaria de la resistividad eléctrica. La Figura 28 presenta de manera ilustrativa los resultados comparativos de las Tablas 10 y 11,

mediante un diagrama de Wessel. Finalmente, en la Tabla 12 se presenta los valores medios de la resistividad eléctrica con su desviación estándar para los 3 grupos conformados por las distancias que son estadísticamente iguales. En el Apéndice F, se presenta la potencia de la prueba post hoc, de este análisis.

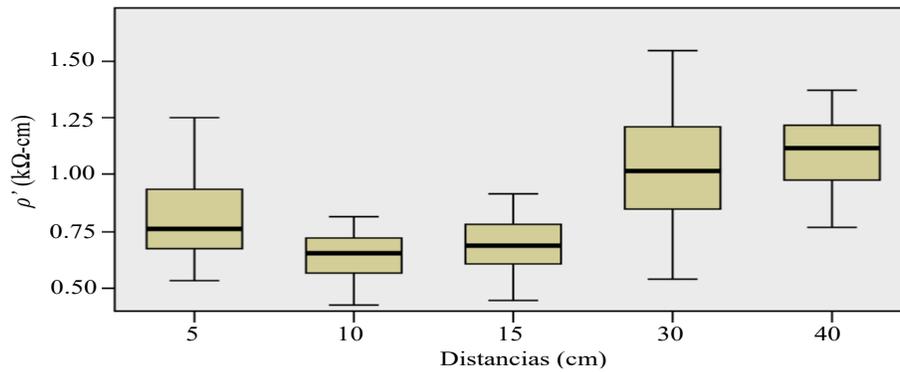


Figura 27. Diagramas de caja-bigotes de la parte real de la resistividad.

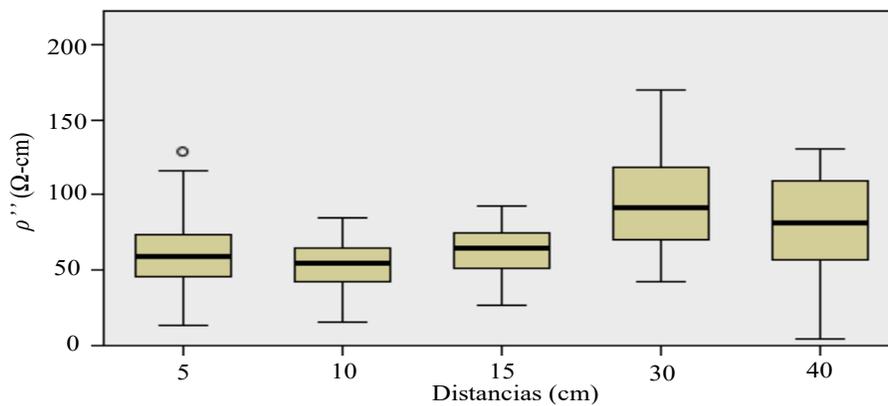


Figura 28. Diagramas de caja-bigotes de la parte imaginaria de la resistividad.

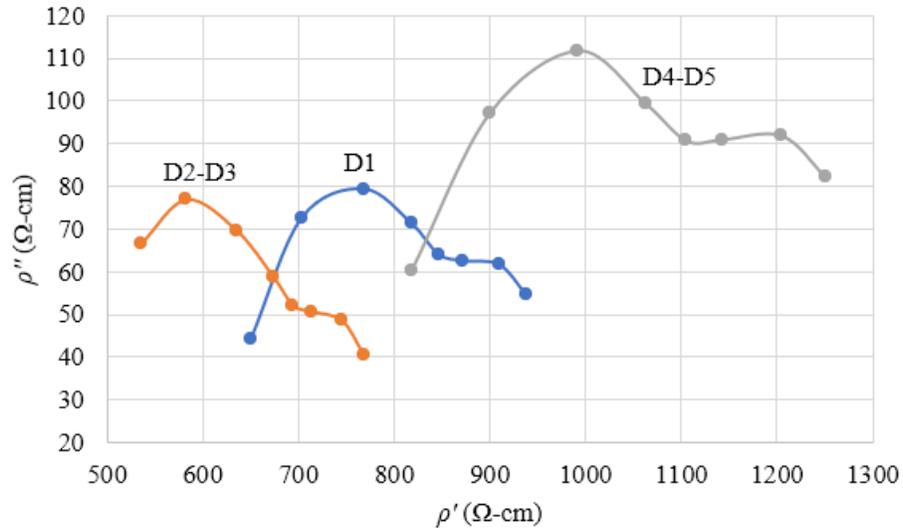


Figura 29. Diagrama de Wessel de los promedios de cada grupo.

Tabla 12. Media y desviación estándar de la resistividad eléctrica para los grupos.

Frecuencia a (kHz)	D1				D2 y D3				D4 y D5				
	Real		Imaginario		Real		Imaginario		Real		Imaginario		
	$\mu$ ( $\Omega$ -cm)	$\sigma$ ( $\Omega$ -cm)	$\mu$ ( $\Omega$ -cm)	$\sigma$ ( $\Omega$ -cm)	$\mu$ ( $\Omega$ -cm)	$\sigma$ ( $\Omega$ -cm)	$\mu$ ( $\Omega$ -cm)	$\sigma$ ( $\Omega$ -cm)	$\mu$ ( $\Omega$ -cm)	$\sigma$ ( $\Omega$ -cm)	$\mu$ ( $\Omega$ -cm)	$\sigma$ ( $\Omega$ -cm)	
1	937.37	221.47	54.65	21.99	767.95	97.52	40.58	14.62	1250.8	5	184.69	82.26	35.91
2	909.22	212.54	61.75	22.97	745.20	91.52	48.61	14.46	1205.0	2	175.93	91.95	39.01
5	871.44	199.58	62.65	23.53	714.23	83.37	50.73	12.30	1142.3	1	165.17	91.03	32.26
10	845.97	190.41	64.15	25.15	694.11	78.80	52.16	10.85	1105.2	8	159.61	90.77	26.33
20	817.99	177.17	71.30	28.62	673.73	74.23	58.77	11.21	1062.6	9	151.54	99.46	25.17
50	768.14	156.44	79.39	32.04	634.86	67.44	69.79	11.49	992.09	138.94	111.89	26.71	
100	703.72	134.05	72.67	23.18	582.32	59.89	77.06	10.30	899.80	124.31	97.34	22.29	
200	650.86	116.83	44.40	19.45	534.80	56.17	66.61	12.80	817.70	113.99	60.37	29.36	

#### 4.2.4. Promedio por distancia.

A partir de los espectros promediados, tanto por lectura como por punto, se procedió realizar el promediado por espécimen, obteniendo un total de 5 espectros, cada uno correspondiente a cada una de las distancias. Estos espectros se parametrizaron como se mencionó en la sección 3.4, obteniendo los resultados mostrados en la tabla 13. Los ajustes se presentan en el Apéndice G.

*Tabla 13. Parámetros de ajuste (geométricos y Cole), junto al espesor del tejido.*

Distancia (cm)	5	10	15	30	40
Espesor (mm)	3.97	5.31	4.85	3.28	3.22
$h_1$ ( $\Omega$ -cm)	886.44	695.35	750.65	1152.67	1212.38
$k_1$ ( $\Omega$ -cm)	-88.03	-34.13	-69.08	-127.07	-84.47
$r_1$ ( $\Omega$ -cm)	151.42	80.56	124.88	225.94	180.80
$\rho_{01}$ ( $\Omega$ -cm)	1009.64	768.33	854.68	1339.49	1372.23
$\rho_{\infty 1}$ ( $\Omega$ -cm)	763.24	622.37	646.62	965.85	1052.53
$\alpha_1$	0.61	0.72	0.63	0.62	0.69
$\tau_1$ (s)	4.79E-05	4.43E-05	4.15E-05	6.04E-05	5.49E-05
$h_2$ ( $\Omega$ -cm)	758.42	568.52	610.42	941.49	1025.15
$k_2$ ( $\Omega$ -cm)	-138.11	-57.81	-76.45	-123.12	-124.31
$r_2$ ( $\Omega$ -cm)	217.72	130.66	158.16	242.83	238.37
$\rho_{02}$ ( $\Omega$ -cm)	926.73	685.69	748.88	1150.79	1228.54
$\rho_{\infty 2}$ ( $\Omega$ -cm)	590.11	451.35	471.96	732.19	821.77
$\alpha_2$	0.56	0.71	0.68	0.66	0.65
$\tau_2$ (s)	3.21E-06	1.65E-06	1.90E-06	3.05E-06	3.90E-06

Al analizar el comportamiento de los parámetros, se encontró una correlación negativa entre  $h_1$ ,  $\rho_{01}$ ,  $\rho_{\infty 1}$ ,  $h_2$ ,  $\rho_{02}$  y  $\rho_{\infty 2}$  y el espesor promedio para cada distancia. Esta correlación se presenta en la Figura 30, junto con sus respectivas líneas de ajuste.

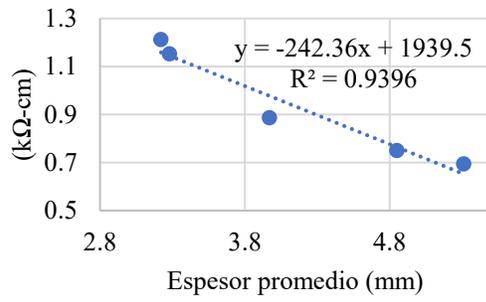
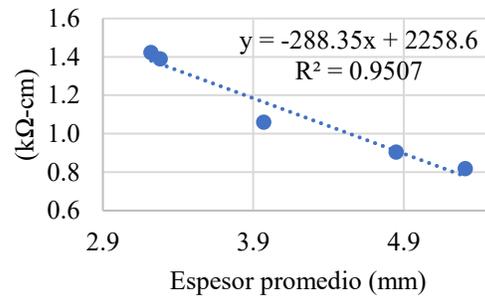
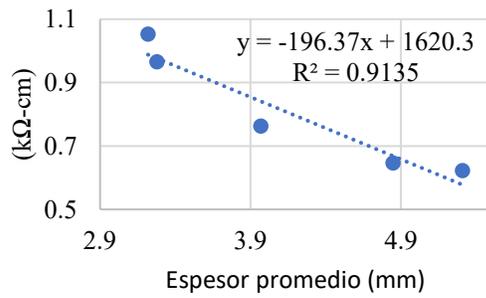
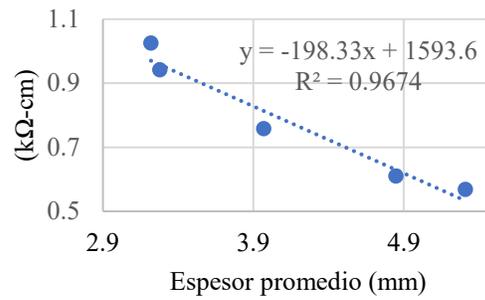
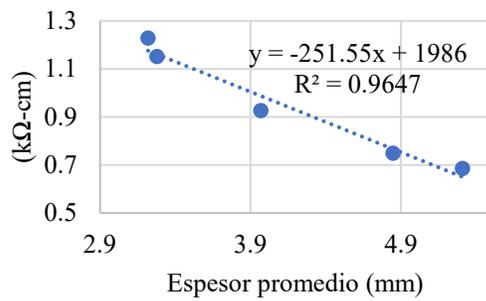
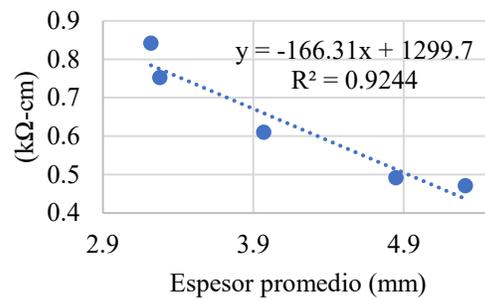
a)  $h_1$ b)  $\rho_{01}$ c)  $\rho_{\infty 1}$ d)  $h_2$ e)  $\rho_{02}$ f)  $\rho_{\infty 2}$ 

Figura 30. Correlación entre los parámetros de resistividad y el espesor promedio.

## Capítulo 5. Discusión General

### 5.1. Protocolo de medición

Para realizar un adecuado protocolo, en busca de obtener unos resultados consistentes y confiables, fue necesario realizar varias mediciones preliminares que permitieran actuar sobre distintos errores de procedimiento y de esta manera mejorar la técnica. Uno de los factores que influyó en la falta de confiabilidad fue la presión ejercida, ya que en algunos casos se producía una gran deformación en el tejido y en otros casos un falso contacto. Esto se debe a que el tejido es muy delgado y se encuentra sobre una placa rígida de vidrio, lo que hace difícil controlar una presión adecuada para la toma de lecturas de manera manual. Por este motivo se implementó un soporte mecánico, dejando que la sonda actuara sobre el tejido con su propio peso, produciendo una presión de 9.35 kPa. Esta presión es mayor a los 2.7 kPa que es la presión mínima requerida para asegurar mediciones confiables, y se encuentra muy cerca de los 11.3 kPa que producen una depresión en el tejido (González-Correa *et al.*, 2000).

Adicionalmente, mediante las mediciones en los 3 especímenes iniciales se definió el nivel de la corriente y se realizó el diseño del experimento para realizar un mapeo completo de las propiedades eléctricas pasivas de la muestra.

De tal manera que en este trabajo se establece un protocolo de medición bioimpedancia eléctrica para tejido colorrectal *ex vivo*, que permite llevar a cabo el estudio de sus propiedades eléctricas pasivas.

### 5.2. Calibración de la sonda de medición y conversión a resistividad eléctrica

El sistema de medición conformado por el equipo BioZspectra (Dintech) y la sonda tipo lápiz (Sheffield), presenta desviaciones en la magnitud y la fase de la impedancia al medir soluciones electrolíticas. En cuanto a la magnitud se presentan incrementos en altas frecuencias a medida que aumenta la resistividad de la solución. Por su parte, la fase aumenta negativamente en altas frecuencia, en función del nivel de resistividad. Estos comportamientos pueden estar asociados a efectos parásitos, tales como la capacitancia y la inductancia de los cables, así como con fenómenos en la superficie de los electrodos (Grimnes & Martinsen, 2006; Kadir & Rabbani,

2018). Para este caso, dado el comportamiento de la fase, se puede inferir que el principal aporte a las desviaciones se debe a la capacitancia de los cables. Estos efectos parásitos deben ser calibrados para poder obtener una medición precisa de la muestra bajo estudio (Bounik *et al.*, 2022), por lo cual se procedió a realizar la calibración de la impedancia y además su conversión a resistividad eléctrica.

Este proceso mostró unos buenos resultados, lo cual fue corroborado mediante el comportamiento plano de la magnitud de la resistividad eléctrica y un nivel de desfase menor a  $\pm 0.5^\circ$ , en función de la frecuencia, para las soluciones electrolíticas calibradas. Adicionalmente, al realizar la calibración de dos soluciones de prueba, se obtuvieron errores menores al 1% en el valor de la resistividad eléctrica promedio, frente al valor obtenido a partir de la medición con el conductímetro (0.04% para la solución A y 0.80% para la solución B). Por otra parte, es importante resaltar que la conversión a resistividad es de gran importancia para análisis de las propiedades eléctricas del tejido, ya que es independiente del factor geométrico de la sonda de medición, lo cual permitiría establecer comparaciones con resultados de otros estudios que reporten esta misma propiedad eléctrica.

### 5.3. Análisis de tejido colorrectal

Se logró determinar la repetibilidad de las mediciones, mediante la comparación de las 3 lecturas realizadas en el mismo punto de manera consecutiva. Para ello se realizó una comparación para todo el conjunto de datos y para cada distancia, mostrando que, para todos los casos hay igualdad estadística con valores de significancia mayores a 0.05, tanto para la parte real como para la imaginaria, lo cual demuestra que el protocolo desarrollado permite una toma confiable de datos.

Por su parte, en el análisis respecto a puntos, se encontró que para todo el conjunto de datos hay igualdad estadística entre ellos, con niveles de significancia mayores a 0.05. Sin embargo, al comparar los datos segmentando por cada distancia, se obtuvieron algunas diferencias significativas, tal como se presenta en la Tabla 9. No obstante, teniendo en cuenta que hay igualdad entre P2 y P3 para todas las distancias y a que P1 solo es diferente a P2 y P3 en 3 de 10 casos, se tomó la decisión de realizar un promediado de los espectros de los 3 puntos.

El análisis de los 30 espectros resultantes, respecto a las distancias, arrojó diferencias significativas de D4 y D5 respecto de las demás (Ver Tablas 10 y 11). Esto resulta de gran

importancia, ya que estas dos distancias corresponden al colon, por lo cual se podría inferir que mediante la técnica de bioimpedancia es posible detectar diferencias entre las resistividades del colon distal y del recto porcino. Esto podría estar relacionado con la estructura del tejido. Adicionalmente, las diferencias entre los dos tejidos se vieron reflejadas tanto en la parte real como en la imaginaria de la impedancia.

Con base en estos resultados, se realizó un promedio de los espectros de cada distancia para obtener un espectro por cada una de ellas. Todos los espectros medidos, así como los 5 espectros finales, presentan 2 dispersiones, los cuales reflejan la presencia de al menos dos capas con propiedades eléctricas distintas. Estos espectros fueron ajustados tomando cada dispersión por separado, tal como lo reporta (Beltran *et al.*, 2006), pero en este caso se utilizó el método de los 3 puntos (González-Correa *et al.*, 2022), ya que por el número tan bajo de puntos por dispersión no era posible utilizar otras técnicas de modelado. De esta manera se obtuvieron los 14 parámetros mencionados en la sección 4.2.4, y a partir de allí se pudo determinar que existen correlaciones negativas entre la resistividad eléctrica y el espesor del tejido (Ver Figura 30), mostrando coeficientes de correlación mayores a 0.9 (0.9135 a 0.9674). Esta tendencia puede estar relacionada con la estructura del tejido, más que con el espesor en sí mismo, teniendo en cuenta que al hacer la conversión a resistividad eléctrica, se eliminó el factor geométrico de la sonda de medición.

Por otra parte, con base en los parámetros del modelo de Cole de la Tabla 19, el valor medio de la parte real se encuentra entre los 732.19 a 1372.23  $\Omega$ -cm para el colon y de 451.35 a 1009.64  $\Omega$ -cm para el recto. Este rango es similar a los presentados en estudios de mediciones *ex vivo*, tales como el reportado en tejido de colon en conejos, el cual se encuentra entre los 600 a 900  $\Omega$ -cm (Mulett-Vásquez, Correa-Florez, *et al.*, 2016) y a los reportados en tejido ovino por Gabriel (500 a 770  $\Omega$ -cm) (*Appendix B: part 1*, s. f.). Entre tanto, The Foundation for Research on Information Technologies in Society (IT'IS) (*Dielectric Properties* » *IT'IS Foundation*, s. f.), reporta valores entre los 392 a 430  $\Omega$ -cm, mostrando niveles más bajos, pero no se reportan las condiciones de medición ni el modelo animal estudiado. Por otra parte, en tejido humano *in vivo* se presentan valores entre 310 a 420  $\Omega$ -cm (Mulett-Vásquez, Gonzalez-Correa, *et al.*, 2016) y los 120 a 520  $\Omega$ -cm (González-Correa *et al.*, 2019). Estos valores más bajos pueden ser debidos a que el tejido *in vivo* tiene perfusión sanguínea y está rodeado por otras estructuras tales como la musculatura, la fascia y el peritoneo visceral.

## 5.4. Hipótesis sobre la estructura de capas

Los espectros calibrados y convertidos a resistividad eléctrica presentan un comportamiento de dos dispersiones, lo cual, en el plano complejo, se puede apreciar como dos semicircunferencias superpuestas (Ver Figura 17). Este comportamiento ha sido reportado en investigaciones de tejido colorrectal *ex vivo* (Pathiraja *et al.*, 2017), *in vivo* (González-Correa *et al.*, 2019; Mulett-Vásquez, Gonzalez-Correa, *et al.*, 2016), así como en la base de datos de propiedades dieléctricas de varios tejidos de *The Foundation for Research on Information Technologies in Society (IT'IS) (Dielectric Properties » IT'IS Foundation, s. f.)* en donde el comportamiento de la magnitud (o la parte real) de la resistividad eléctrica del colon en función de la frecuencia presenta dos curvaturas, una cóncava hacia arriba a bajas frecuencias y una cóncava hacia abajo en altas frecuencias. Sin embargo, hasta la fecha, los estudios en tejido colorrectal no han reportado ninguna hipótesis acerca de este fenómeno. No obstante, (Beltran *et al.*, 2006) reportaron dos dispersiones en tejido gástrico, tanto en tejido sano como en tejido isquémico, atribuyéndolo a la complejidad del tejido y asociándolo con la evolución del proceso de isquemia ya que durante el mismo, se hacen más evidentes las dos dispersiones.

En este sentido, se propone la siguiente hipótesis, basada en la estructura de capas de este tejido y en su comportamiento eléctrico. La capa más interna (del lado luminal) está conformada por un gel de baja adhesión en el cual se encuentra la microbiota, con alrededor de  $10^{13}$  bacterias de una gran diversidad de especies. Esta capa se forma a partir del moco interno mediante un proceso de proteólisis endógeno (Suriano *et al.*, 2022). De tal manera que, esta estructura podría asemejarse a una gran cantidad de esferas suspendidas en una sustancia, las cuales presentarían un fenómeno de dispersión en la región  $\alpha$ , debido a efectos del contraión, el cual se presenta por el desplazamiento lateral de las cargas sobre la superficie de las bacterias (Kuang & Nelson, 1998, 1997). Esto se vería reflejado en los resultados obtenidos a baja frecuencia, en donde, además, se presentan unos tiempos de relajación entre 14.07 y 26.81 veces mayores que los de la segunda dispersión (Ver Tabla 13), lo cual es coherente con el hecho de que, a mayores tiempos de relajación, mayores las capacitancias y menor la frecuencia en que se presenta la dispersión. Además, es importante mencionar que el tejido fue sometido a un lavado moderado, mediante el uso de agua para la remoción de residuos de materia fecal, pero no se utilizaron sustancias de remoción o de fijación como las reportadas por (Johansson *et al.*, 2011), que pudieran causar alguna reacción con la capa de moco luminal. De tal manera que se esperaría que el efecto de la limpieza no tuviera un gran impacto sobre esta capa. Por otra parte, este

proceso de limpieza podría tener un efecto similar al que se realiza una persona antes de tomar una colonoscopia.

Por su parte, la capa interna de moco, la cual se encuentra firmemente adherida al epitelio y está conformada por glicoproteínas (Suriano *et al.*, 2022), tiene un número muy bajo de microorganismos, por lo cual la dispersión que podría presentar, debido a la polarización de las proteínas, debería estar en frecuencias mucho mayores al rango investigado en este estudio (Martinsen & Grimnes, 2008, cap.3.8). Por este motivo, el efecto de esta capa sobre el comportamiento eléctrico sería únicamente de tipo resistivo. Esta capa no debió haberse removido durante la limpieza, teniendo en cuenta que incluso es difícil de remover por succión (Atuma *et al.*, 2001).

Debajo de la bicapa de moco, se encuentra el epitelio que hace parte de la mucosa y por debajo de ella las demás estructuras del tejido, tales como la submucosa y la muscular propia (Chandler *et al.*, 2017; Gonzalez-Correa *et al.*, 2016).

El comportamiento eléctrico de este conjunto de capas correspondería a la segunda dispersión, en la cual cada una de las capas presentaría dispersión en la región  $\beta$ , teniendo en cuenta que son estructuras celulares organizadas, en donde predominaría el efecto de las membranas celulares y de los espacios intra y extracelulares (Abasi *et al.*, 2022; Martinsen & Grimnes, 2008, cap.3.8)

Sin embargo, es probable que el efecto predominante sea el del epitelio, debido a que las uniones estrechas hacen compacta a esta estructura, dándole un mayor nivel de resistividad que a las demás componentes de esta zona del tejido. De hecho, se ha reportado como el aumento de la permeabilidad del tejido por alteraciones en las uniones estrechas, debido a la presencia de enfermedad, es detectable mediante la bioimpedancia eléctrica (C.-A. Gonzalez-Correa *et al.*, 2017; Soler *et al.*, 1999). Además, se ha reportado mediante simulación, que la mucosa representa el mayor aporte a la impedancia con un nivel del 70%, seguida del moco con un 10% para profundidades menores a 0.75 mm (Kassanos *et al.*, 2015). Esta profundidad es cubierta con la sonda de medición utilizada, ya que cuenta con una sensibilidad cercana al 20% a 1.36 mm, mostrando el 90% de la información a esta profundidad (González-Correa *et al.*, 2000).

En la Figura 31, se presenta una propuesta de modelo circuital para la estructura de capas basado

en la hipótesis planteada. Dicho modelo, presenta como limitantes la falta de certeza en la integridad de la capa de moco luminal, así como el nivel de aporte de cada capa al total de la impedancia. Por ello, para corroborar su validez, se requeriría del empleo de sondas que permitan evaluar el tejido de una manera más superficial (disminuyendo la distancia entre los electrodos (González-Correa *et al.*, 2000)) y evaluar la posibilidad de visualizar las capas de tejido, mediante técnicas histológicas de tinción, como la reportada por (Johansson *et al.*, 2011).

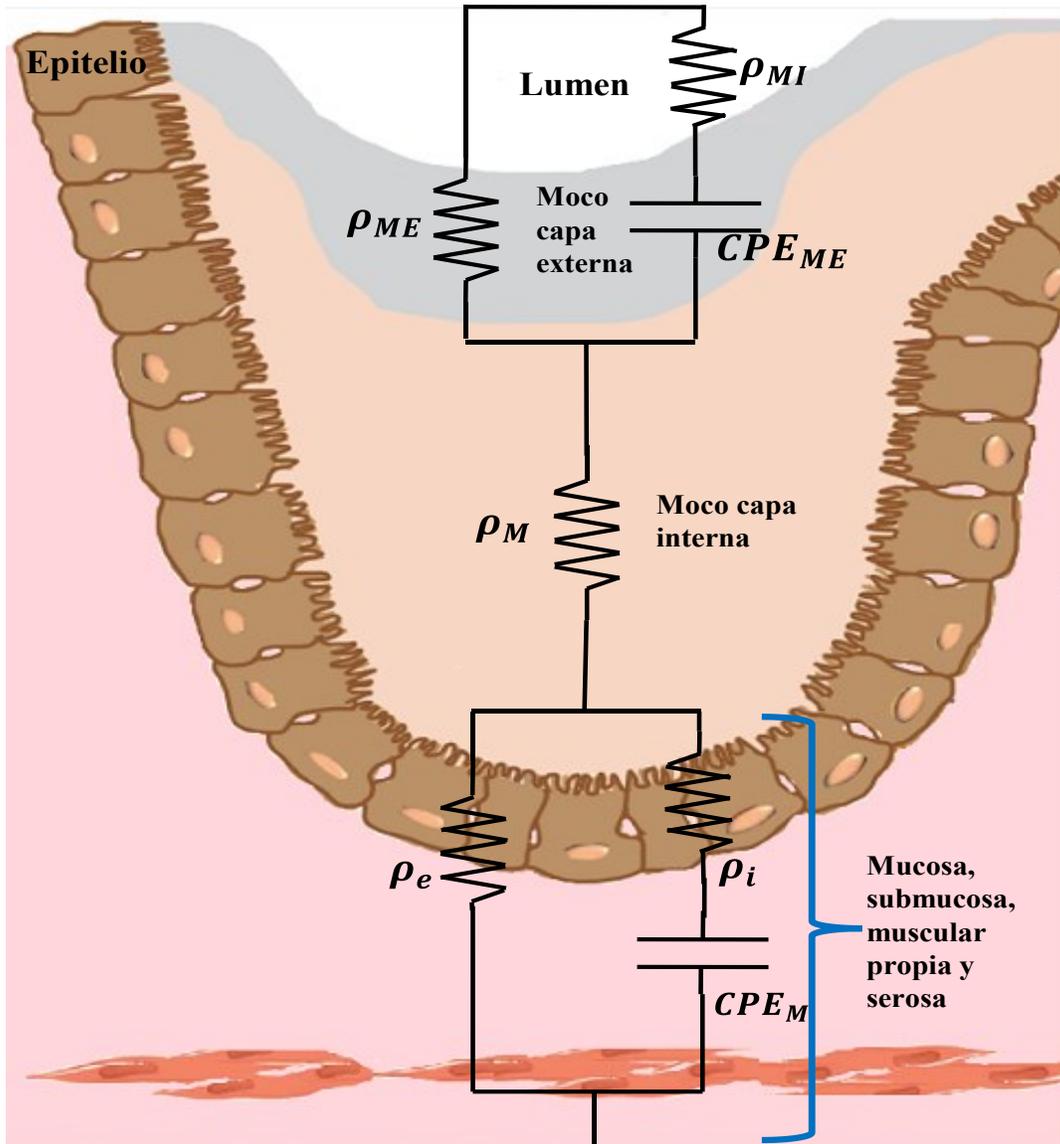


Figura 31. Propuesta de modelo circuital para la estructura de capas.

# Capítulo 6. Conclusiones y recomendaciones generales

## 6.1. Conclusiones

- El protocolo desarrollado para la medición de bioimpedancia eléctrica en tejido porcino *ex vivo* permite el estudio de sus propiedades eléctricas pasivas de una manera confiable, lo cual fue corroborado mediante análisis estadístico. Esto se pudo lograr mediante la implementación de estrategias para la mitigación de posibles fuentes de error e inestabilidad en la medición, tales como el uso de un mecanismo de soporte para la sonda, el cual permite ejercer una presión constante durante la medición de la muestra.
- La sonda de medición y el equipo sobreestiman los valores tanto de la magnitud como de la fase de la impedancia en altas frecuencias y bajas concentraciones de solución (altas resistividades). Dicho comportamiento es inherente a efectos parásitos de la sonda y del equipo, los cuáles fueron predominantemente capacitivos (dado que los desfases son negativos), así como de errores que se producen en las configuraciones de 4 electrodos (ej. el paso de corriente a través de la superficie de los electrodos de medición de voltaje). Por este motivo se implementó la calibración de los datos crudos, así como su conversión a resistividad eléctrica, obteniendo un error menor al 1% en la magnitud y unos desfases menores a  $\pm 0.5^\circ$ .
- Las mediciones de tejido colorrectal presentan dos dispersiones, las cuales se hacen evidentes en el plano complejo, con la forma de dos circunferencias superpuestas. Este comportamiento puede asociarse a la estructura de capas de este tejido, por lo cual en este trabajo se planteó lo siguiente:
  - o La dispersión de baja frecuencia está relacionada con los efectos del contra ión, propios de la zona de dispersión  $\alpha$ , las cuales ocurren en la capa de moco externa (hacia el lumen) que es donde habita la microbiota.
  - o La capa de moco interna se comporta de manera resistiva en el rango de frecuencias estudiado, dado que está conformada por glicoproteínas, las cuales presentan dispersión a partir de la parte superior de frecuencia de la

- región  $\beta$  (cientos de MHz).
- La segunda dispersión, está relacionada con el tejido propiamente dicho, conformado por la mucosa, submucosa, muscular propia y serosa. Sin embargo, en esta dispersión el principal aporte a la resistividad eléctrica del tejido puede ser debido a la estructura del epitelio que es altamente compacta, debido a las uniones estrechas y además a que esta estructura se encuentra más cerca de la zona de influencia de la sonda de medición.
- Se obtuvieron los parámetros del modelo de Cole y los geométricos de las dos dispersiones del espectro de bioimpedancia eléctrica, incluso con el bajo número de puntos de las mediciones realizadas, las cuales estuvieron limitadas por las especificaciones del equipo de medición. A partir de allí, fue posible obtener 7 parámetros por dispersión, los cuales están relacionados con los fenómenos de conducción eléctrica (resistividades de baja  $\rho_0$  alta frecuencia  $\rho_\infty$ , resistividades del centro de la semicircunferencia  $h, k$  y el radio  $r$ ) y de polarización (tiempo de relajación  $\tau$  y dispersión de los mismos  $\alpha$ ).
  - Las mediciones fueron repetibles, tal como lo respaldan los análisis estadísticos de la comparación de lecturas. Esto se pudo lograr, gracias al refinamiento del protocolo de medición.
  - Existe igualdad significativa entre puntos al tomar todo el conjunto de datos. Sin embargo, al analizar por cada distancia, se encontraron algunas diferencias, siendo más importantes en las distancias D1 y D3 para la parte real del espectro y para D5 en su parte imaginaria, en donde P1 es diferente a P2 y P3 simultáneamente. Adicionalmente, es importante mencionar que P2 y P3 son estadísticamente iguales. Es posible que las diferencias presentadas, puedan ser debidas al bajo número de datos analizados por cada distancia (6 datos por punto). Sin embargo, teniendo en cuenta lo anterior, podría decirse que los 360° de la pared interna del colon y del recto podrían utilizarse para toma de las lecturas. De tal manera que por cada distancia se podrían tomar 3 lecturas para luego ser promediadas.
  - El nivel de resistividad eléctrica es menor en el tejido rectal que en el colon, lo cual se pudo establecer estadísticamente mediante las diferencias entre las distancias D4 y D5, respecto de D1, D2 y D3, tanto para la parte real como para la imaginaria de la resistividad. De tal manera que las propiedades eléctricas son distintas entre los dos tejidos y pueden detectarse y estudiarse mediante la espectroscopia de bioimpedancia

eléctrica.

- Existe una correlación negativa entre la resistividad eléctrica y el espesor del tejido, lo cual fue comprobado mediante el cálculo de las líneas de tendencia, entre los parámetros de resistividad eléctrica y el espesor, obteniendo unos coeficientes de correlación entre 0.9135 y 0.9674. Esta correlación puede ser debida al cambio de estructura en función del espesor, más que por el espesor en sí mismo.
- Este trabajo presenta valores de referencia de la resistividad eléctrica del colon distal y recto porcino, tanto en crudo como parametrizados, los cuales son un insumo para el posterior desarrollo de tecnología para la medición de estos tejidos, suministrando información de los niveles de resistividad, el rango de frecuencia y el nivel de corriente a utilizar.

## 6.2. Recomendaciones

- Realizar estudios a todo lo largo del colon, para determinar si existen diferencias entre la parte distal ya estudiada y el resto del tejido.
- Realizar investigaciones con sondas de medición de distintos tamaños tanto de diámetro de los electrodos, como de distancias entre ellos, con el fin de explorar distintas profundidades, que permitan evaluar de una mejor manera las distintas capas del tejido.
- Extender el rango de frecuencia de estudio, así como aumentar el número de puntos, lo cual permitiría hacer uso de otros tipos de técnicas para el ajuste de los datos del modelo de Cole, lo cual sería de gran utilidad para establecer de mejor manera el comportamiento de las capas del tejido.
- Llevar a cabo mediciones de tejido *in vivo* con el fin de determinar su comportamiento bajo irrigación sanguínea y en su entorno dentro del organismo.
- Realizar mediciones tanto *ex vivo* como *in vivo* en tejido normal y patológico, para determinar los cambios en las propiedades eléctricas, bajo estos dos escenarios.

## Referencias

- Abasi, S., Aggas, J. R., Garayar-Leyva, G. G., Walther, B. K., & Guiseppi-Elie, A. (2022). Bioelectrical Impedance Spectroscopy for Monitoring Mammalian Cells and Tissues under Different Frequency Domains: A Review. *ACS Measurement Science Au*, *acsmeasuresciau.2c00033*. <https://doi.org/10.1021/acsmeasuresciau.2c00033>
- Aksoy, N., & Akinci, O. F. (2004). Mucin macromolecules in normal, adenomatous, and carcinomatous colon: Evidence for the neotransformation. *Macromolecular Bioscience*, *4*(5), 483-496. <https://doi.org/10.1002/mabi.200300099>
- Appendix B: part 1.* (s. f.). Recuperado 29 de junio de 2023, de <http://niremf.ifac.cnr.it/docs/DIELECTRIC/AppendixB1.html#B06>
- Atuma, C., Strugala, V., Allen, A., & Holm, L. (2001). The adherent gastrointestinal mucus gel layer: Thickness and physical state in vivo. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, *280*(5), G922-929. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.2001.280.5.G922>
- Bardhan, K., & Liu, K. (2013). Epigenetics and colorectal cancer pathogenesis. *Cancers*, *5*(2), 676-713. <https://doi.org/10.3390/cancers5020676>
- Beltran, N. E., & Sacristan, E. (2015). Gastrointestinal ischemia monitoring through impedance spectroscopy as a tool for the management of the critically ill. *Experimental Biology and Medicine*, *240*(7), 835-845. <https://doi.org/10.1177/1535370215571876>
- Beltran, N. E., Sanchez-Miranda, G., Godinez, M., Diaz, U., & Sacristan, E. (2006). Gastric impedance spectroscopy in elective cardiovascular surgery patients. *Physiological Measurement*, *27*(3), 265-277. <https://doi.org/10.1088/0967-3334/27/3/005>
- Blößer, S., May, A., Welsch, L., Ast, M., Braun, S., Velten, T., Biehl, M., Tschammer, J., Roeb, E., & Knabe, M. (2022). Virtual Biopsy by Electrical Impedance Spectroscopy in Barrett's Carcinoma. *Journal of Gastrointestinal Cancer*, *53*(4), 948-957.

<https://doi.org/10.1007/s12029-021-00703-0>

- Borycka-Kiciak, K., Młyńczak, M., Kiciak, A., Pietrzak, P., & Dziki, A. (2019). Non-invasive obstetric anal sphincter injury diagnostics using impedance spectroscopy. *Scientific Reports*, 9(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43637-1>
- Bounik, R., Cardes, F., Ulsan, H., Modena, M. M., & Hierlemann, A. (2022). Impedance Imaging of Cells and Tissues: Design and Applications. *BME Frontiers*, 2022. <https://doi.org/10.34133/2022/9857485>
- Braakhuis, B. J. M., Tabor, M. P., Kummer, J. A., Leemans, C. R., & Brakenhoff, R. H. (2003). A Genetic Explanation of Slaughter's Concept of Field Cancerization: Evidence and Clinical Implications1. *Cancer Research*, 63(8), 1727-1730.
- Cano, F. G., Zarzosa, G. R., Florenciano, M. D. A., Albors, O. L., Reviriego, R. L., Gomariz, F. M., Collado, C. S., Espinosa, A. A., Hernández, M. O., & Autón, J. M. V. (2008). Anatomía interactiva del cerdo. *Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Universidad de Murcia*, 30.
- Castro-Poças, F. M., Dinis-Ribeiro, M., Araújo, T. P., & Pedroto, I. (2015). Echoendoscopic characterization of the human colon. *Revista Espanola De Enfermedades Digestivas: Organo Oficial De La Sociedad Espanola De Patologia Digestiva*, 107(8), 469-475. <https://doi.org/10.17235/reed.2015.3721/2015>
- Chandler, J. H., Mushtaq, F., Moxley-Wyles, B., West, N. P., Taylor, G. W., & Culmer, P. R. (2017). Real-Time Assessment of Mechanical Tissue Trauma in Surgery. *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering*, 64(10), 2384-2393. <https://doi.org/10.1109/TBME.2017.2664668>
- Chiang, S., Eschbach, M., Knapp, R., Holden, B., Miesse, A., Schwaitzberg, S., & Titus, A. (2021). Electrical Impedance Characterization of in Vivo Porcine Tissue Using Machine Learning. *Journal of Electrical Bioimpedance*, 12(1), 26-33. <https://doi.org/10.2478/joeb-2021-0005>

- Ching, C. T.-S., Sun, T.-P., Huang, S.-H., Hsiao, C.-S., Chang, C.-H., Huang, S.-Y., Chen, Y.-J., Cheng, C.-S., Shieh, H.-L., & Chen, C.-Y. (2010). A preliminary study of the use of bioimpedance in the screening of squamous tongue cancer. *International Journal of Nanomedicine*, 5, 213-220. <https://doi.org/10.2147/ijn.s8611>
- Curtius, K., Wright, N. A., & Graham, T. A. (2018). An evolutionary perspective on field cancerization. *Nature Reviews Cancer*, 18(1), 19-33.
- Davies, R. J., Joseph, R., Kaplan, D., Juncosa, R. D., Pempinello, C., Asbun, H., & Sedwitz, M. M. (1987). Epithelial impedance analysis in experimentally induced colon cancer. *Biophysical Journal*, 52(5), 783-790. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(87\)83272-1](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(87)83272-1)
- Dielectric Properties » IT'IS Foundation*. (s. f.). Recuperado 4 de noviembre de 2022, de <https://itis.swiss/virtual-population/tissue-properties/database/dielectric-properties/>
- Fyderek, K., Strus, M., Kowalska-Duplaga, K., Gosiewski, T., Wędrychowicz, A., Jedynek-Wąsowicz, U., Śladek, M., Pieczarkowski, S., Adamski, P., Kochan, P., & Heczko, P. B. (2009). Mucosal bacterial microflora and mucus layer thickness in adolescents with inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology : WJG*, 15(42), 5287-5294. <https://doi.org/10.3748/wjg.15.5287>
- Garrod, D., & Chidgey, M. (2008). Desmosome structure, composition and function. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1778(3), 572-587. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2007.07.014>
- Genetic and Epigenetic Characterisation of Breast Tumours*. (2016). Division of Oncology, Department of Clinical Sciences, Lund.
- Gerstung, M., Jolly, C., Leshchiner, I., Dentre, S., Gonzalez, S., Rosebrock, D., Mitchell, T., Rubanova, Y., Anur, P., Yu, K., Tarabichi, M., Deshwar, A., Wintersinger, J., Kleinheinz, K., Vázquez-García, I., Haase, K., Jerman, L., Sengupta, S., Macintyre, G., & Loo, P. (2020). The evolutionary history of 2,658 cancers. *Nature*, 578, 122-128. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1907-7>

- Gonzalez-Correa, C. A. (2019). Simplified geometrical adjustment of bioimpedance measured data to the complex plane with just three parameters. *Journal of Physics: Conference Series*, 1272(1), 012018. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1272/1/012018>
- González-Correa, C. A., Brown, B. H., Smallwood, R. H., Kalia, N., Stoddard, C. J., Stephenson, T. J., Haggie, S. J., Slater, D. N., & Bardhan, K. D. (2000). Assessing the conditions for in vivo electrical virtual biopsies in Barrett's oesophagus. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 38(4), 373-376. <https://doi.org/10.1007/BF02345004>
- González-Correa, C. A., Jaimes, S. A., & Cárdenas-Jiménez, J. I. (2022). Preliminary study on parameterization of raw electrical bioimpedance data with 3 frequencies. *Scientific Reports*, 12(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13299-7>
- González-Correa, C. A., Mulett-Vásquez, E., Osorio-Chica, M., Dussán-Lubert, C., & Miranda, D. (2019). Rectal electrical bio-impedance spectroscopy in the detection of colorectal anomalies associated with cancer. *Journal of Physics: Conference Series*, 1272(1), 012012. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1272/1/012012>
- Gonzalez-Correa, C.-A. (2018). Clinical Applications of Electrical Impedance Spectroscopy. En *Bioimpedance in Biomedical Applications and Research* (pp. 187-218). [https://doi.org/10.1007/978-3-319-74388-2\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-319-74388-2_10)
- Gonzalez-Correa, C.-A., Mulett, E., Osorio-Chica, M., Dussán-Lubert, C., & Miranda, D. (2019). Rectal electrical bio-impedance spectroscopy in the detection of colorectal anomalies associated with cancer. *Journal of Physics: Conference Series*, 1272, 012012. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1272/1/012012>
- Gonzalez-Correa, C.-A., Mulett-Vásquez, E., Miranda, D. A., Gonzalez-Correa, C. H., & Gómez-Buitrago, P. A. (2017). The colon revisited or the key to wellness, health and disease. *Medical Hypotheses*, 108, 133-143. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2017.07.032>
- Gonzalez-Correa et al. (2016). *Rectal Bioelectrical impedance (REBI) as a possible screening tool for colorectal cancer (CRC)*. 27(Supplement 2), 2016.

<https://doi.org/10.1093/annonc/mdw199.218>

- Grimnes, S., & Martinsen, Ø. G. (2006). Sources of error in tetrapolar impedance measurements on biomaterials and other ionic conductors. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 40(1), 9. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/40/1/S02>
- Heinritz, S. N., Mosenthin, R., & Weiss, E. (2013). Use of pigs as a potential model for research into dietary modulation of the human gut microbiota. *Nutrition Research Reviews*, 26(2), 191-209. <https://doi.org/10.1017/S0954422413000152>
- Jaimes, S. A. (2019). Development and testing of a customizable and portable bioimpedance spectroscopy meter (BioZspectra-v1). *Journal of Physics: Conference Series*, 1272(1), 012024. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1272/1/012024>
- Johansson, M. E. V., Larsson, J. M. H., & Hansson, G. C. (2011). The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host–microbial interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(supplement\_1), 4659-4665. <https://doi.org/10.1073/pnas.1006451107>
- Johansson, M. E. V., Sjövall, H., & Hansson, G. C. (2013). The gastrointestinal mucus system in health and disease. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, 10(6), 352-361. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.35>
- Junko, F., Moore, D., Omari, T., Seiboth, G., Abu-Assi, R., Hammond, P., & Couper, R. (2021). Multichannel impedance monitoring for distinguishing nonerosive reflux esophagitis with minor changes on endoscopy in children. *Therapeutic Advances in Gastrointestinal Endoscopy*, 14, 26317745211030464. <https://doi.org/10.1177/26317745211030466>
- Kadir, M., & Rabbani, K. (2018). Use of a Conical Conducting Layer with an Electrical Impedance Probe to Enhance Sensitivity in Epithelial Tissues. *Journal of Electrical Bioimpedance*, 9, 176-183. <https://doi.org/10.2478/joeb-2018-0022>
- Kararli, T. T. (1995). Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. *Biopharmaceutics & Drug*

- Disposition*, 16(5), 351-380. <https://doi.org/10.1002/bdd.2510160502>
- Kassanos, P., Ip, H. M. D., & Yang, G.-Z. (2015). A tetrapolar bio-impedance sensing system for gastrointestinal tract monitoring. *2015 IEEE 12th International Conference on Wearable and Implantable Body Sensor Networks (BSN)*, 1-6.  
<https://doi.org/10.1109/BSN.2015.7299403>
- Keshtkar, A., Salehnia, Z., Somi, M. H., & Eftekharsadat, A. T. (2012). Some early results related to electrical impedance of normal and abnormal gastric tissue. *Physica Medica*, 28(1), 19-24. <https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2011.01.002>
- Komin, A., Russell, L. M., Hristova, K. A., & Searson, P. C. (2017). Peptide-based strategies for enhanced cell uptake, transcellular transport, and circulation: Mechanisms and challenges. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 110-111, 52-64.  
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.06.002>
- Komori, K., Ihara, E., Minoda, Y., Ogino, H., Sasaki, T., Fujiwara, M., Oda, Y., & Ogawa, Y. (2019). The Altered Mucosal Barrier Function in the Duodenum Plays a Role in the Pathogenesis of Functional Dyspepsia. *Digestive Diseases and Sciences*, 64(11), 3228-3239. <https://doi.org/10.1007/s10620-019-5470-8>
- Kuang, W., & Nelson, S. (1998). *Low-frequency dielectric properties of biological tissues: A review with some new insights*. 41. <https://doi.org/10.13031/2013.17142>
- Kuang, W., & Nelson, S. O. (1997). Low-Frequency Dielectric Dispersion from Ion Permeability of Membranes. *Journal of Colloid and Interface Science*, 193(2), 242-249.  
<https://doi.org/10.1006/jcis.1997.5073>
- Kunzelmann, K., & Mall, M. (2002). Electrolyte transport in the mammalian colon: Mechanisms and implications for disease. *Physiological Reviews*, 82(1), 245-289.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2001>
- Laukoetter, M. G., Bruewer, M., & Nusrat, A. (2006). Regulation of the intestinal epithelial barrier by the apical junctional complex. *Current Opinion in Gastroenterology*, 22(2), 85-89.

<https://doi.org/10.1097/01.mog.0000203864.48255.4f>

Lee, H., Lee, Y., Song, C., Cho, H. R., Ghaffari, R., Choi, T. K., Kim, K. H., Lee, Y. B., Ling, D.,

Lee, H., Yu, S. J., Choi, S. H., Hyeon, T., & Kim, D.-H. (2015). An endoscope with integrated transparent bioelectronics and theranostic nanoparticles for colon cancer treatment. *Nature Communications*, 6(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/ncomms10059>

Markx, G. H., & Davey, C. L. (1999). The dielectric properties of biological cells at

radiofrequencies: Applications in biotechnology. *Enzyme and Microbial Technology*,

25(3), 161-171. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(99\)00008-3](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(99)00008-3)

Martinsen, O., & Grimnes, S. (2008). *Bioimpedance and Bioelectricity Basics* (2.<sup>a</sup> ed.).

<https://www.elsevier.com/books/bioimpedance-and-bioelectricity-basics/grimnes/978-0-12-374004-5>

McGuckin, M. A., Lindén, S. K., Sutton, P., & Florin, T. H. (2011). Mucin dynamics and enteric pathogens. *Nature Reviews Microbiology*, 9(4), Article 4.

<https://doi.org/10.1038/nrmicro2538>

Meng, W., & Takeichi, M. (2009). Adherens Junction: Molecular Architecture and Regulation.

*Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 1(6), a002899.

<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a002899>

Młyńczak, M., Rosoł, M., Spinelli, A., Dzikowski, A., Wlazlak, E., Surkont, G., Krzycka, M., Pajak, P.,

Dzikowski, Ł., Mik, M., & Borycka-Kiciak, K. (2021). Obstetric Anal Sphincter Injury Detection

Using Impedance Spectroscopy with the ONIRY Probe. *Applied Sciences*, 11(2), Article

2. <https://doi.org/10.3390/app11020637>

Mulasi, U., Kuchnia, A. J., Cole, A. J., & Earthman, C. P. (2015). Bioimpedance at the bedside:

Current applications, limitations, and opportunities. *Nutrition in Clinical Practice: Official*

*Publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition*, 30(2), 180-193.

<https://doi.org/10.1177/0884533614568155>

Mulett-Vásquez, E., Correa-Florez, A., Dussán-Lubert, C., Miranda-Mercado, D.-A., & González-

- Correa, C.-A. (2016). In Vitro Luminal Measurements of Colon Electrical Impedance in Rabbits. En F. Simini & P. Bertemes-Filho (Eds.), *II Latin American Conference on Bioimpedance* (pp. 28-31). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-287-928-8\\_8](https://doi.org/10.1007/978-981-287-928-8_8)
- Mulett-Vásquez, E., Gonzalez-Correa, C.-A., Miranda-Mercado, D.-A., Osorio-Chica, M., & Dussan-Lubert, C. (2016). In vivo Electrical-Impedance Spectroscopy (EIS) Readings in the Human Rectum. En F. Simini & P. Bertemes-Filho (Eds.), *II Latin American Conference on Bioimpedance* (pp. 68-71). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-287-928-8\\_18](https://doi.org/10.1007/978-981-287-928-8_18)
- Mullin, J. M., Agostino, N., Rendon-Huerta, E., & Thornton, J. J. (2005). Keynote review: Epithelial and endothelial barriers in human disease. *Drug Discovery Today*, 10(6), 395-408. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(05\)03379-9](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(05)03379-9)
- Nguyen, K. T., Kim, H. Y., Park, J.-O., Choi, E., & Kim, C.-S. (2022). Tripolar Electrode Electrochemical Impedance Spectroscopy for Endoscopic Devices toward Early Colorectal Tumor Detection. *ACS Sensors*, 7(2), 632-640. <https://doi.org/10.1021/acssensors.1c02571>
- Nielsen, M. S., Axelsen, L. N., Sorgen, P. L., Verma, V., Delmar, M., & Holstein-Rathlou, N.-H. (2012). Gap Junctions. *Comprehensive Physiology*, 2(3), 10.1002/cphy.c110051. <https://doi.org/10.1002/cphy.c110051>
- Park, S., Song, C. S., Yang, H., Jung, Y. S., Choi, K. Y., Koo, D. H., Eun, K., Jeong, K. U., Kim, H. O., Kim, H., Chun, H., & Park, D. I. (2016). *Field Cancerization in Sporadic Colon Cancer*. 10(5), 773-780.
- Pathiraja, A., Ziprin, P., Shiraz, A., Mirnezami, R., Tizzard, A., Brown, B., Demosthenous, A., & Bayford, R. (2017). Detecting colorectal cancer using electrical impedance spectroscopy: An ex vivo feasibility study. *Physiological Measurement*, 38(6), 1278-1288. <https://doi.org/10.1088/1361-6579/aa68ce>
- Payne, S. C., Alexandrovics, J., Thomas, R., Shepherd, R. K., Furness, J. B., & Fallon, J. B.

- (2020). Transmural impedance detects graded changes of inflammation in experimental colitis. *Royal Society Open Science*, 7(2), 191819. <https://doi.org/10.1098/rsos.191819>
- Payne, S. C., Shepherd, R. K., Sedo, A., Fallon, J. B., & Furness, J. B. (2018). An objective in vivo diagnostic method for inflammatory bowel disease. *Royal Society Open Science*, 5(3), 180107. <https://doi.org/10.1098/rsos.180107>
- Plakhotnyi, R. O., Kerechanyin, I. V., Fedoniuk, L. Ya., Kovalchuk, N. V., Dehtiarova, O. V., & Singh, G. (2021). Comparative structure of mucosa coat of the pig's and the human's rectum. *Wiadomości Lekarskie*, 74(7), 1718-1721. <https://doi.org/10.36740/WLek202107128>
- Plakhotnyi, R. O., Kerechanyin, I. V., Fedoniuk, L. Ya., Trunina, T. I., & Yaremenko, L. M. (2020). Comparative morphology of the pig's rectum and human's rectum via 3d reconstruction. *Wiadomości Lekarskie*, 73(11), 2354-2357. <https://doi.org/10.36740/WLek202011106>
- Pullan, R. D., Thomas, G. A., Rhodes, M., Newcombe, R. G., Williams, G. T., Allen, A., & Rhodes, J. (1994). Thickness of adherent mucus gel on colonic mucosa in humans and its relevance to colitis. *Gut*, 35(3), 353-359. <https://doi.org/10.1136/gut.35.3.353>
- Ross, M., & Pawlina, W. (2007). *Histología. Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular* (Quinta). Panamericana.
- Roy, H. K., & Backman, V. (2012). Spectroscopic applications in gastrointestinal endoscopy. *Clinical Gastroenterology and Hepatology: The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association*, 10(12), 1335-1341. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2012.10.002>
- Ruiz-Vargas, A., Ivorra, A., & Arkwright, J. W. (2018a). Design, Construction and Validation of an Electrical Impedance Probe with Contact Force and Temperature Sensors Suitable for in-vivo Measurements. *Scientific Reports*, 8(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33221-4>
- Ruiz-Vargas, A., Ivorra, A., & Arkwright, J. W. (2018b). Monitoring the Effect of Contact Pressure

- on Bioimpedance Measurements. *Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Annual International Conference, 2018*, 4949-4952.  
<https://doi.org/10.1109/EMBC.2018.8513173>
- Sabuncu, A. C., Shen, J., Zaki, M. H., & Beskok, A. (2018). Changes in the dielectric spectra of murine colon during neoplastic progression. *Biomedical Physics & Engineering Express*, 4(3), 035003. <https://doi.org/10.1088/2057-1976/aaad81>
- Schaaf, C. R., & Gonzalez, L. M. (2022). Use of Translational, Genetically Modified Porcine Models to Ultimately Improve Intestinal Disease Treatment. *Frontiers in Veterinary Science*, 9. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2022.878952>
- Shackelford, J. F. (1995). *Ciencia de materiales para ingenieros* (3.<sup>a</sup> ed.). Prentice-Hall.  
<https://www.urbe.edu/UDWLibrary/InfoBook.do?id=5334>
- Shellikeri, S., Yunusova, Y., Green, J. R., Pattee, G. L., Berry, J. D., Rutkove, S. B., & Zinman, L. (2015). Electrical impedance myography in the evaluation of the tongue musculature in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle & Nerve*, 52(4), 584-591.  
<https://doi.org/10.1002/mus.24565>
- Sisson, S., & Grossman, J. D. (2002). *Anatomia de los animales domesticos* (Quinta). MASSON.
- Slaughter, D. P., Southwick, H. W., & Smejkal, W. (1953). Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer*, 6(5), 963-968.  
[https://doi.org/10.1002/1097-0142\(195309\)6:5<963::aid-cnrc2820060515>3.0.co;2-q](https://doi.org/10.1002/1097-0142(195309)6:5<963::aid-cnrc2820060515>3.0.co;2-q)
- Soler, A. P., Miller, R. D., Laughlin, K. V., Carp, N. Z., Klurfeld, D. M., & Mullin, J. M. (1999). Increased tight junctional permeability is associated with the development of colon cancer. *Carcinogenesis*, 20(8), 1425-1431. <https://doi.org/10.1093/carcin/20.8.1425>
- Steed, E., Balda, M. S., & Matter, K. (2010). Dynamics and functions of tight junctions. *Trends in Cell Biology*, 20(3), 142-149. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2009.12.002>



- Suriano, F., Nyström, E. E. L., Sergi, D., & Gustafsson, J. K. (2022). Diet, microbiota, and the mucus layer: The guardians of our health. *Frontiers in Immunology*, *13*, 953196. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.953196>
- Thomson, H. J., Busuttil, A., Eastwood, M. A., Smith, A. N., & Elton, R. A. (1986). The submucosa of the human colon. *Journal of Ultrastructure and Molecular Structure Research*, *96*(1-3), 22-30. [https://doi.org/10.1016/0889-1605\(86\)90004-2](https://doi.org/10.1016/0889-1605(86)90004-2)
- Thornton, C., & Choi, J. (2019). Design of an Impedance-Controlled Hot Snare Polypectomy Device. *Sensors (Basel, Switzerland)*, *20*(1), 142. <https://doi.org/10.3390/s20010142>
- Tsukita, S., Furuse, M., & Itoh, M. (2001). Multifunctional strands in tight junctions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *2*(4), Article 4. <https://doi.org/10.1038/35067088>
- Varum, F. J. O., Veiga, F., Sousa, J. S., & Basit, A. W. (2012). Mucus thickness in the gastrointestinal tract of laboratory animals. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *64*(2), 218-227. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2011.01399.x>
- Zhao, L., Zhou, Y., Song, C., Wang, Z., & Cuschieri, A. (2017). Predicting burst pressure of radiofrequency-induced colorectal anastomosis by bio-impedance measurement. *Physiological Measurement*, *38*(3), 489-500. <https://doi.org/10.1088/1361-6579/38/3/489>

# Anexos

## Aprobación del Comité de Ética de la Universidad de Caldas



UNIVERSIDAD DE CALDAS  
FACULTAD DE CIENCIAS PARA LA SALUD  
COMITÉ DE BIOÉTICA

FECHA	12 de julio de 2022
CONSECUTIVO	CBCS-035

Nombre del Investigador	Victoria Eugenia Aguirre Cardona Samuel Alberto Jaimés
Facultad	Ciencias para la Salud
Doctorado	Ciencias Biomédicas
Proyecto de Investigación	Propiedades eléctricas pasivas, de tejido de recto porcino <i>ex vivo</i> basado en la espectroscopia de bioimpedancia eléctrica

**EVALUACIÓN:**

Al no ser una investigación en seres humanos debe tener en cuenta el concepto del Comité de Bioética en Animales.

**CONSIDERACIONES:**

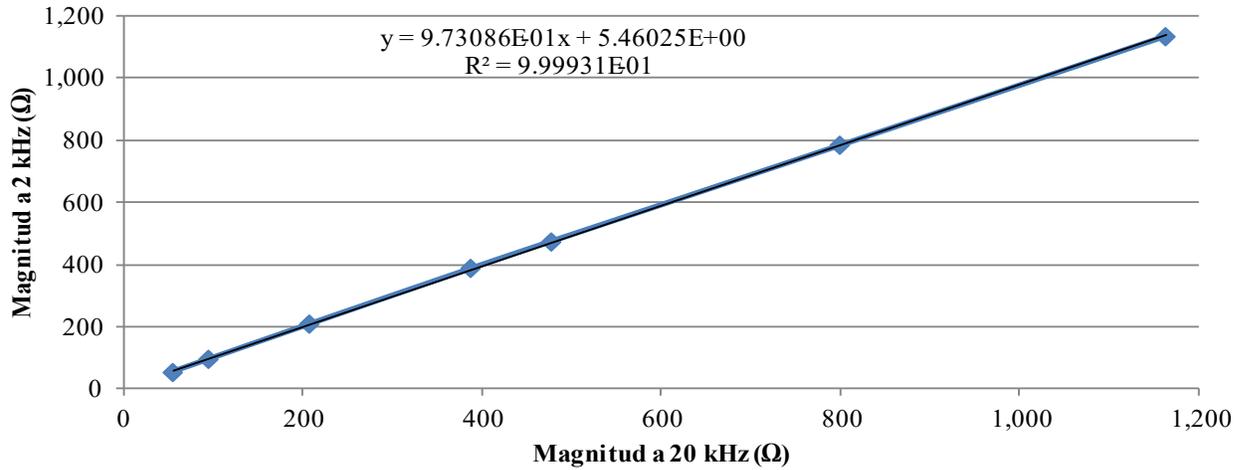
Se deben tener en cuenta los aspectos de Bioseguridad relacionados con los tejidos obtenidos de la central de sacrificio.

ACTA No 009 de 2022
SE APRUEBA ( x )
SE APRUEBA CON RECOMENDACIONES ( )
NO SE APRUEBA ( )

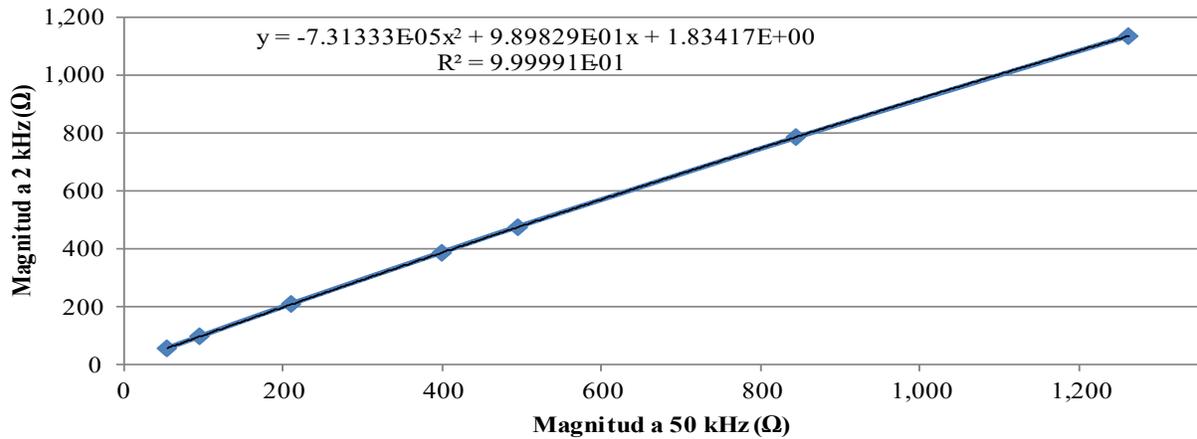
NATALIA GARCÍA RESTREPO  
Presidente

# Apéndice

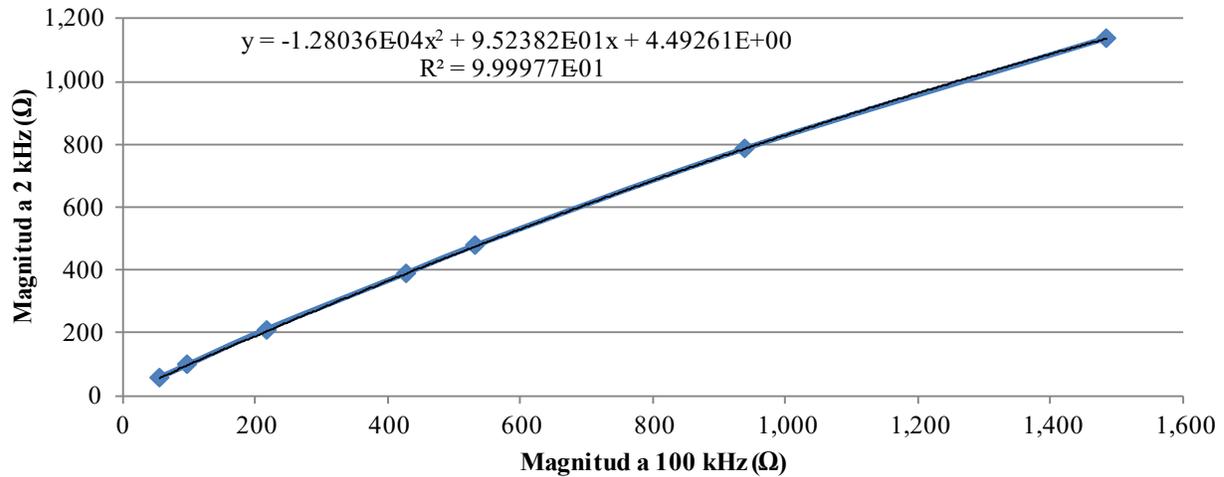
## Apéndice A: Funciones de ajuste para la Magnitud de la impedancia



Apéndice A.1. Función de ajuste de la magnitud para 20 kHz.

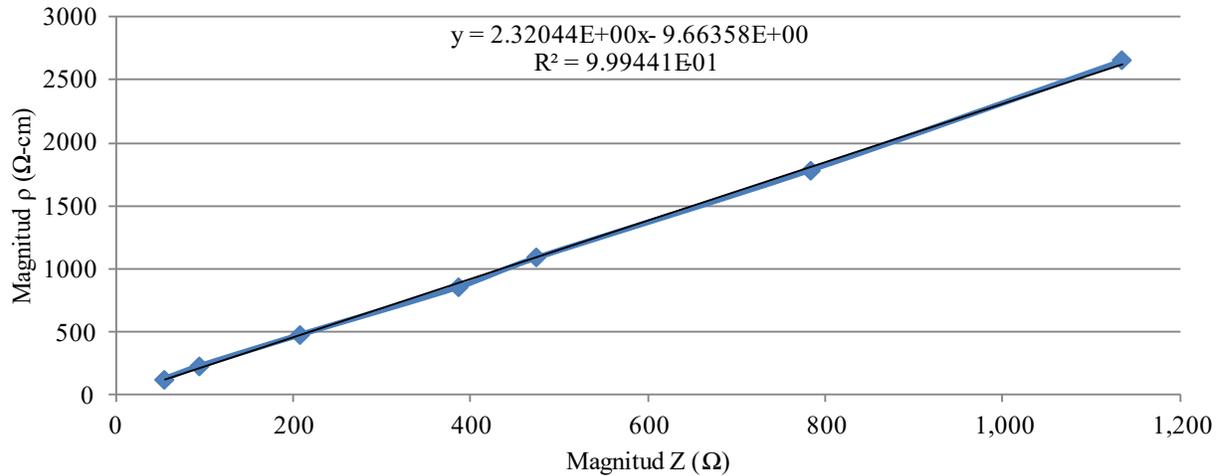


Apéndice A.1. Función de ajuste de la magnitud para 50 kHz.

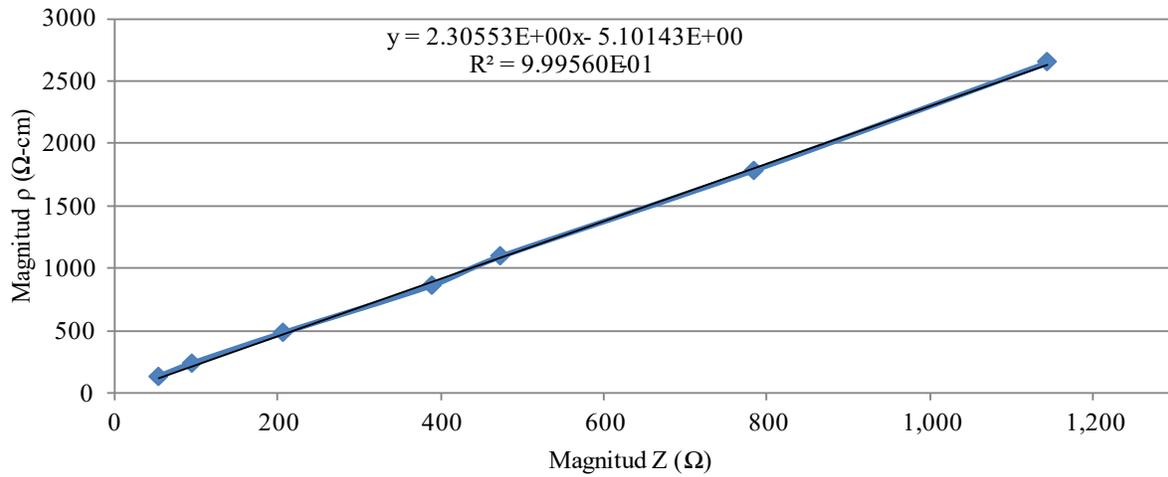


Apéndice A 2. Función de ajuste de la magnitud para 100 kHz.

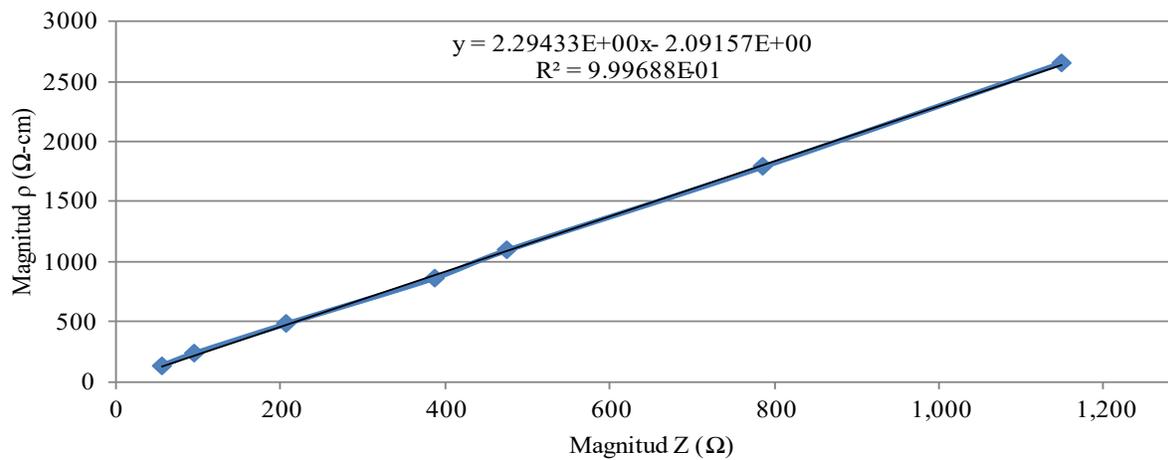
## Apéndice B: Funciones de ajuste para la conversión de los datos de impedancia a resistividad eléctrica



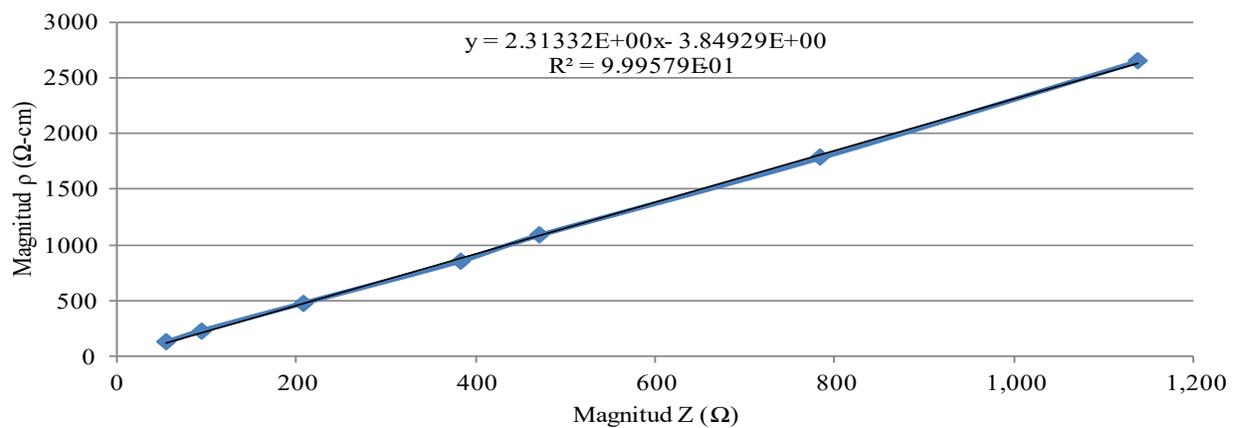
Apéndice B.1. Función de ajuste para el cálculo de la resistividad eléctrica a 2 kHz.



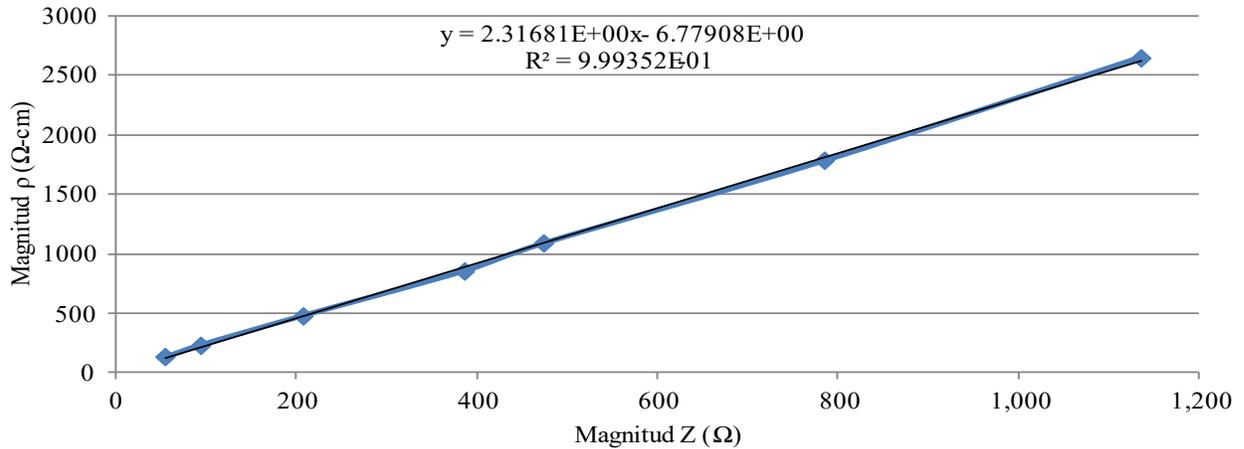
Apéndice C.2. Función de ajuste para el cálculo de la resistividad eléctrica a 5 kHz.



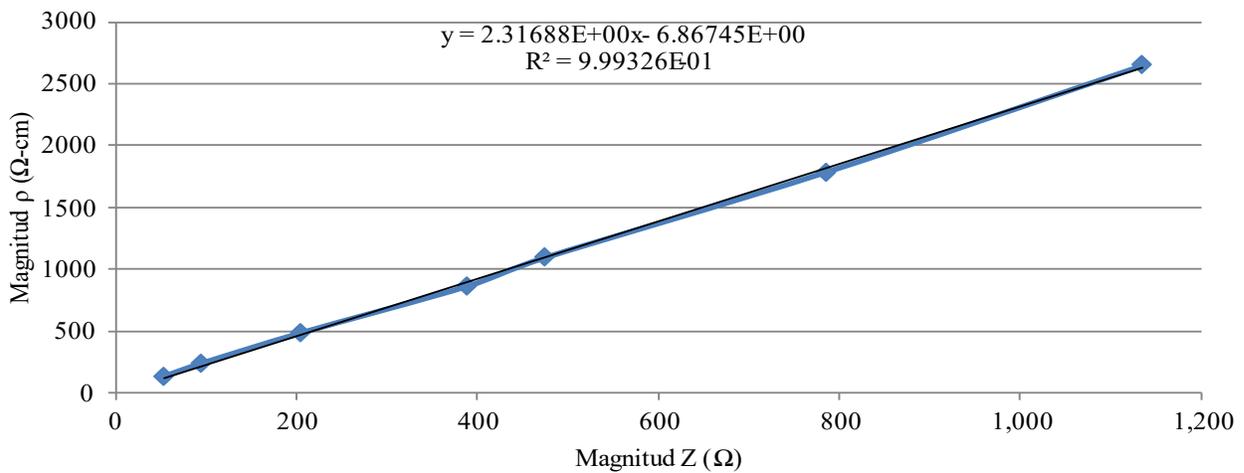
Apéndice D.3. Función de ajuste para el cálculo de la resistividad eléctrica a 10 kHz.



Apéndice E.4. Función de ajuste para el cálculo de la resistividad eléctrica a 20 kHz.



Apéndice F.5. Función de ajuste para el cálculo de la resistividad eléctrica a 50 kHz.



Apéndice G.5. Función de ajuste para el cálculo de la resistividad eléctrica a 100 kHz.

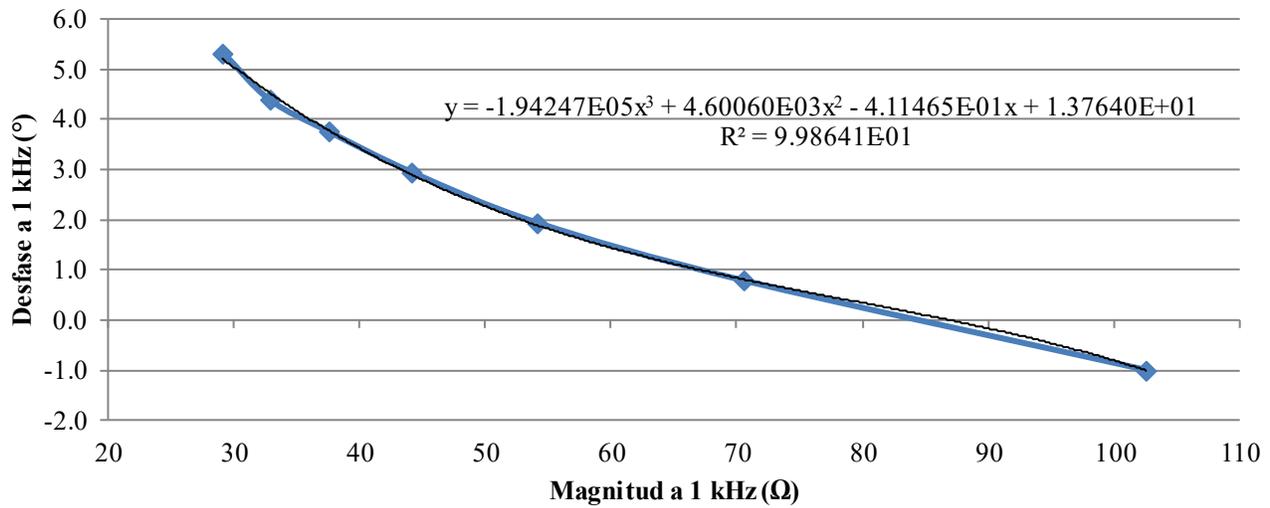
## Apéndice C: Tabla de conductividades y resistividades para calibración a baja impedancia

	Conductividad (mS/cm)	Resistividad en $\Omega$ -cm
SL1	4.11	243.31
SL2	6.05	165.29
SL3	8.03	124.53
SL4	9.94	100.60
SL5	11.8	84.75

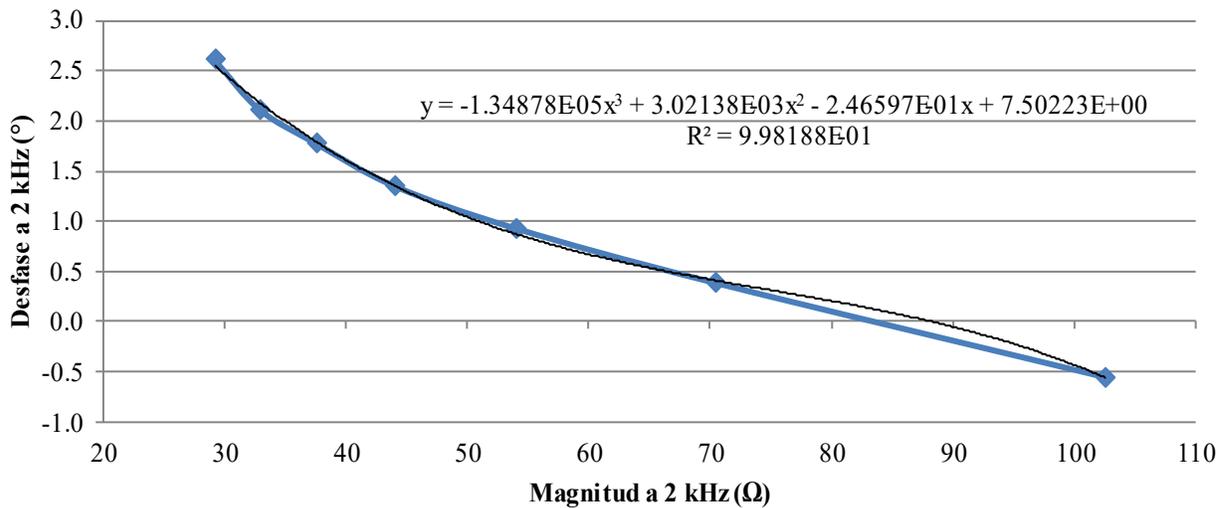


SL6	13.7	72.99
SL7	15.6	64.10

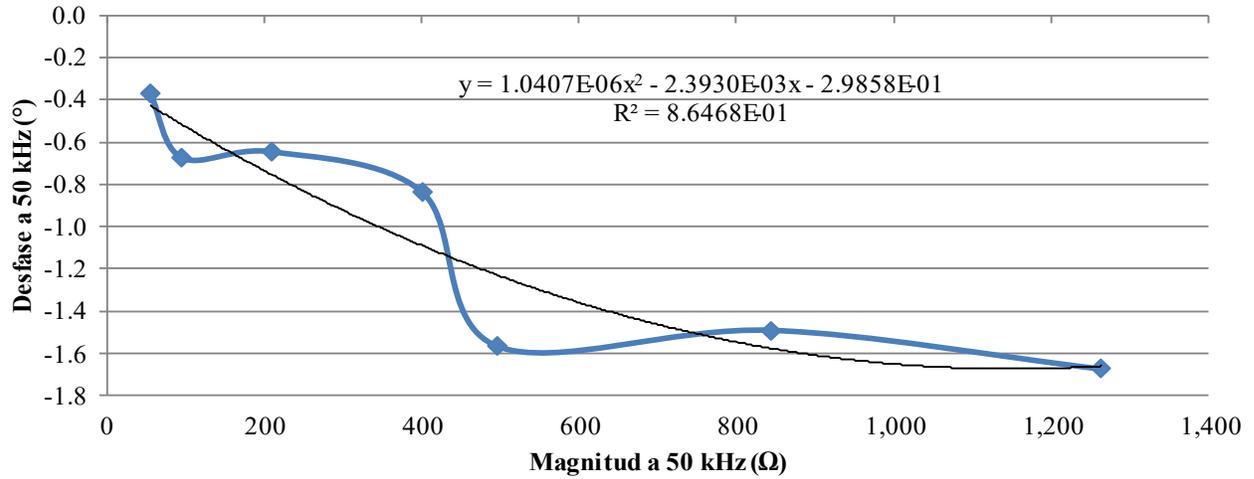
### Apéndice D: Funciones de ajuste para el desfase



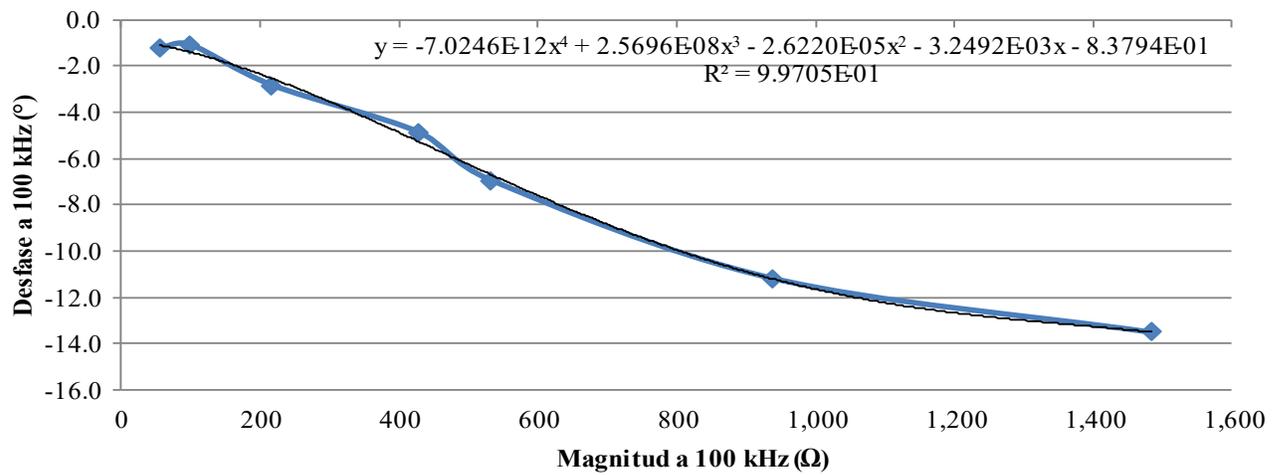
Apéndice D.1. Función de ajuste para el desfase a 1 kHz.



Apéndice D.2. Función de ajuste para el desfase a 2 kHz.



Apéndice D.3. Función de ajuste para el desfase a 50 kHz.



Apéndice D.4. Función de ajuste para el desfase a 100 kHz.

## Apéndice E: Pruebas de normalidad y homocedasticidad

		D1	D2	D3	D4	D5
Real	L1	0.000	0.200	0.200	0.200	0.200
	L2	0.000	0.200	0.200	0.200	0.200
	L3	0.000	0.200	0.200	0.200	0.200
Imaginario	L1	0.000	0.200	0.200	0.09	0.001
	L2	0.000	0.200	0.200	0.012	0.009
	L3	0.000	0.200	0.200	0.035	0.005

Apéndice E.1. Resultados de significancia de la prueba de normalidad, por cada distancia.

	D1	D2	D3	D4	D5
Real	0.961	0.997	0.999	0.996	0.904
Imaginario	0.996	0.926	0.954	0.982	0.987

Apéndice E.2. Resultados de significancia de la prueba de homocedasticidad, por cada distancia.

		P1	P2	P3
Real	L1	0.000	0.000	0.004
	L2	0.000	0.000	0.004
	L3	0.000	0.000	0.003
Imaginario	L1	0.000	0.000	0.200
	L2	0.000	0.000	0.200
	L3	0.000	0.000	0.200

Apéndice E.3. Resultados de significancia de la prueba de normalidad, por cada punto.

	P1	P2	P3
Real	0.970	0.961	0.983
Imaginario	0.996	0.999	0.978

Apéndice E.4. Resultados de significancia de la prueba de homocedasticidad, para cada punto.

		D1	D2	D3	D4	D5
Real	P1	0.000	0.200	0.200	0.200	0.200
	P2	0.200	0.200	0.191	0.200	0.200
	P3	0.025	0.200	0.200	0.200	0.200
Imaginario	P1	0.000	0.200	0.200	0.200	0.200
	P2	0.110	0.001	0.200	0.200	0.200
	P3	0.006	0.070	0.200	0.053	0.000

Apéndice E.5. Resultados de significancia de la prueba de normalidad, por cada distancia.

	D1	D2	D3	D4	D5
Real	0.006	0.474	0.818	0.227	0.205
Imaginario	0.017	0.117	0.428	0.187	0.453

Apéndice E.6. Resultados de significancia de la prueba de homocedasticidad, para cada distancia.

## Apéndice F: Potencia de la prueba y tamaño del efecto del análisis respecto a distancia

Se realizó el cálculo post-hoc de la potencia de la prueba y del tamaño del efecto haciendo uso del software G-Power. A partir de allí se obtuvo:

	Desviación estándar entre grupos	Tamaño del efecto	Potencia de la prueba
$\rho'$	167.14	1.067	1
$\rho''$	25.14	0.64	1

## Apéndice G: Ajuste de los espectros promedio para cada distancia.

