

MODELIZACION CARDIOVASCULAR IN VIVO E IN VITRO

(CAPITULO EN LIBRO ESPAÑOL DE RECIENTE APARICIÓN)

Dr. Ing. Ricardo L. Armentano

Introducción

Cuando se aborda la modelización de la circulación sanguínea, es frecuente pensar en el corazón como el elemento principal, el único que tiene una real importancia en el funcionamiento del sistema y de esta forma se relega a los vasos sanguíneos a simples conductos que unen la bomba cardíaca con los órganos. Un abordaje tan primario estaría menospreciando el destacado protagonismo exhibido por los vasos sanguíneos en general y las arterias en particular (especialmente la aorta) en la regulación del flujo sanguíneo impuesto periódicamente por la eyección cardíaca. El estudio del sistema arterial tiene entonces una gran importancia, sea para comprender su funcionamiento intrínseco como para evaluar las condiciones de acoplamiento óptimo con el corazón. La carga hidráulica arterial presentada por la circulación al ventrículo izquierdo podría concentrarse en una terna de componentes fundamentales: la resistencia vascular sistémica, la elasticidad de las arterias y la onda reflejada presente en la circulación por tratarse de un sistema de naturaleza distribuida (Nichols et al 1987). Si bien la resistencia arterial ejerce el efecto más significativo sobre la eyección ventricular, es bien conocido que un aumento en la rigidez arterial trae aparejado un acoplamiento menos eficiente entre el corazón y las arterias concomitante con un desaprovechamiento de la energía entregada por el ventrículo izquierdo (Fitchett, 1991, Elzinga y Westerhof, 1991). Específicamente una disminución de la capacitancia arterial podría imponer un aumento en la presión sistólica (Simon y Levenson, 1987) y de este modo producir una carga suplementaria al corazón (Cohn 1973, Randall 1982). Por otro lado la sangre (Baskurt et al, 2007), a pesar de ser un líquido heterogéneo y no newtoniano y por lo tanto de difícil abordaje, conlleva como contrapartida información de inmensa utilidad. La viscosidad sanguínea depende de las condiciones de la velocidad del flujo sanguíneo, la cual a su vez va a depender fundamentalmente de la ubicación del eritrocito dentro del eje del vaso (Cabrera Fischer et al, 2002). El conjunto de las velocidades de desplazamiento da un lugar geométrico definido como perfil de velocidad (Pessana et al, 2003). Este perfil presenta tensiones y deformaciones por cizallamiento contra la pared. La deformación de tal perfil en las bifurcaciones arteriales suele asignarse como una de las causas principales de desarrollo de las placas de ateroma. De igual forma la tensión de cizallamiento contra la pared arterial actúa sobre el endotelio disminuyendo la rigidez cuando aumenta el rozamiento en estadios de normalidad (Cabrera Fischer et al, 2002), el cual a través de mediadores químicos enviaría la información sobre el contenido al continente; esto cerraría un proceso de control interno en ambos componentes. La viscosidad sanguínea, altamente dependiente del hematocrito, juega un papel clave en la relación entre las tensiones y las deformaciones por cizallamiento en la interface pared-fluido y dentro del vaso (Pessana et al, 2003). El propósito de este capítulo consiste en abundar en unos de los tantos abordajes para modelar las propiedades mecánicas de la pared arterial (Holzapfel y Ogden 2010, Armentano et al, 1995a) y de esta forma contribuir a la evaluación y seguimiento de los factores intervinientes en la fisiopatología de las cardiometabólicas y en el envejecimiento humano. Es de esperar un arduo camino dado que, algunos aspectos se presentan banales para un mecanicista y muy complejos para un lector proveniente de la biología o medicina y viceversa. El estudio de las propiedades reológicas de los materiales vivos posee un cierto número de problemas específicos y necesita frecuentemente un abordaje sustancialmente distinto que el que está habituado el

reólogo. Las relaciones entre las magnitudes mensurables y las propiedades reológicas de un material de este tipo son en general complejas e imponen modelos matemáticos más o menos complicados fundados sobre aproximaciones que deben esforzarse por ser más realistas a medida que las técnicas de medición se hacen más precisas. Por otro lado es imprescindible utilizar un modelo reológico que permita representar de manera formal las propiedades del material de marras.

La Ingeniería Tisular emerge como una alternativa futurista que ha comenzado a tomar vida, desembarcando desde el laboratorio al paciente, dando origen a la Medicina Regenerativa. La Ingeniería Tisular se define como la aplicación de los principios y métodos de las ciencias de la ingeniería y de la vida hacia el entendimiento de las relaciones estructura-función en condiciones normales o patológicas. Esta tecnología multidisciplinaria esta siendo utilizada para desarrollar sustitutos biológicos para reparar o regenerar tejidos y órganos funcionales. Los tres pilares que constituyen la Ingeniería Tisular son la biología celular, las ciencias de la ingeniería y la medicina clínica. Desde estas disciplinas se desprenden los siguientes desafíos: la identificación de tejidos y órganos capaces de ser reemplazados; la obtención de células madre tanto embrionarias como adultas; el entendimiento de la señalización celular; llevar a cabo vascularización tanto in vitro como in vivo; la construcción de matrices; y el desarrollo de biorreactores.

El abordaje que se detalla en este capítulo tuvo la trascendente meta de incrementar y fomentar la creación de un grupo multidisciplinario para investigar y formar recursos humanos, cumpliendo la inevitable función social de acceder a la innovación tecnológica para el mejoramiento de la salud pública a través de la sinergia entre el grupo de Acústica Ultrasonora, del Instituto de Física de la Facultad de Ciencias (Universidad de la República, Uruguay), el Instituto Langevin (Paris VII Diderot, Francia), el Instituto Jean le Rond D'Alembert, (Sorbonne Universités, Francia) y el Laboratorio de Polímeros Biomédicos del Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de los Materiales (INTEMA, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Mar Del Plata, Argentina). Trabajando integradamente con los mencionados grupos, venimos investigando el desarrollo de técnicas que permitan cuantificar en forma localizada y con un elevado grado de precisión, las propiedades dinámicas arteriales. La fortaleza del trabajo conjunto se encuentra basada en la sólida experiencia en el campo de la ingeniería biomédica, fisiología, biomecánica y técnicas, que presentan los integrantes de los cuatro equipos. Esta interacción, además de potenciar la generación de tecnología a partir de desarrollos innovadores en las ciencias básicas, permite el desafío de la utilización de tecnología nacional, en unos de los centros de excelencia mundial en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades cardiovasculares relevantes (Universidad Favaloro y su Hospital Universitario). El abordaje multidisciplinario que converge en este proyecto permite completar prácticamente todas las etapas de un proceso de investigación científica moderno: modelización matemática, simulación numérica, equipamiento “a medida”, innovación tecnológica y fisiopatología, sentando las bases para un grupo con orientación a la biología molecular e ingeniería de tejidos.

La metodología propuesta está sustentada por el marco conceptual de la Ingeniería Cardiovascular, que integra elementos de biología, ingeniería, matemática y física, para describir y comprender el sistema cardiovascular. Su objetivo es desarrollar, comprobar y validar una comprensión predictiva y cuantitativa del sistema cardiovascular a un nivel detallado, y aplicar dichos conceptos hacia la solución de diversas patologías. Esta plataforma nos posibilita desarrollar un mayor grado de especificidad al encarar el estudio de los fenómenos ligados a la interface pared arterial y sangre, donde se desarrollan los principales emergentes de enfermedades cardiometabólicas. Para este fin se desarrolló una estación de ensayos para estudios hemodinámicos in-vitro de venas y arterias, para estudiar el comportamiento in-vitro de interfaces pared fluido, en ambientes fisiológicos simulados (Temperatura, Presión, PH), de vasos, arterias y prótesis vasculares. Este conjunto que funciona como un corazón y sistema vascular artificial, permite interponer un segmento vascular y sobre el mismo imponer las mismas condiciones hemodinámicas que tenía el sistema in vivo del cual fue obtenido el segmento vascular (Armentano et al, 2007). Este

sistema permite la inclusión de un biorreactor para su aplicación a la ingeniería de tejidos. Por otro lado, como las técnicas usuales para la estimación de la estructura arterial sólo se encuentran basadas en la medición de la respuesta parietal ante estímulos mecánicos se han sumado las técnicas de ultrasonografía y escaneo en modo A (A-Scan). Partiendo entonces de la obtención de los datos de presión, diámetro arterial y el campo de velocidades eritrocitarias intrarteriales, este abordaje incorpora la técnica de interferometría de speckle ultrasónico para realizar el método de seguimiento de la fase por correlación (con el fin de obtener una señal de diámetro instantáneo) (Brum et al, 2012) en conjunto con un sistema Doppler multipuerta para medir un máximo de 224 velocidades dentro del lumen arterial.

Modelos experimentales e instrumentación ad-hoc

Animales crónicamente instrumentados

Se entiende por animal crónicamente instrumentado a aquél que ha sido sometido a una cirugía, bajo estrictas normas de asepsia, en la cual se han implantado los instrumentos de medición (transductores de presión, catéteres intravasculares o intracardíacos, sensores de dimensiones, dispositivos para alterar o interrumpir el flujo sanguíneo por un determinado vaso, etc.) en una primera etapa, y que luego de un período de recuperación postoperatoria es estudiado usando aquellos instrumentos (Barra, 2002). Debido a que la instrumentación ha sido realizada con antelación, el investigador dispone de un acceso directo e inmediato de las variables a estudiar sin necesidad de anestésicar al animal, pudiéndose hacer estos estudios con el animal en estado consciente. Entiéndase por animal consciente, al animal que, sin ningún tipo de sedación y en estado de vigilia, conserva íntegramente su relación con el medio, es decir, que durante las sesiones experimentales tanto el sistema nervioso central como el sistema nervioso autónomo están trabajando normalmente. Esto es muy importante cuando se está estudiando el sistema cardiovascular dada la activa participación del sistema nervioso en la regulación hemodinámica. Es importante remarcar que es un modelo de fisiología integrativa donde los mecanismos compensatorios fisiológicos están operativos e intactos (Barra, 2002). Si bien esto dificulta el “control de variables”, facilita la extrapolación de los resultados a la situación clínica.

Todos los procedimientos realizados para la concreción de este trabajo han estado de acuerdo a las normas de ética de nuestra institución, las cuales están en concordancia con los lineamientos de la American Physiological Society y de la Declaración de Helsinki concernientes al cuidado y uso de animales de laboratorio publicada por el US National Institutes of Health (NIH publication No 85-23, revised 1985).

Microtransductor intravascular de estado sólido

Otra forma de medir una presión dentro del sistema cardiovascular es por medio de microtransductores de estado sólido. Este tipo de microtransductores de presión tiene la ventaja de no requerir una columna fluida porque la parte sensora queda en contacto directo con la sangre, y por lo tanto poseen mayor respuesta en frecuencia que el sistema de catéter con columna fluida. Un tipo de estos microtransductores varía sus dimensiones entre 2.5 y 7 mm, y han sido diseñados para que puedan permanecer dentro del organismo por períodos largos de tiempo (Barra, 2002). Los mayores inconvenientes de los microtransductores intravasculares son su difícil calibración, su inestabilidad térmica y en algunos casos su fragilidad. Dado que una vez implantados dentro del organismo no pueden ser recalibrados, es conveniente colocar un catéter con columna fluida junto al microtransductor intravascular para constatar la calibración. Existe otro tipo de microtransductores intravasculares de estado sólido que están preparados para ser usados por cateterismo, pero no pueden quedar implantados en forma crónica dentro de un animal. Sin embargo, estos cuentan con la posibilidad de ser calibrados in vitro inmediatamente antes de ser usados. Consisten en un catéter que en su extremo posee un sensor de presión en sentido lateral al eje longitudinal.

Una variante de este tipo de catéteres de estado sólido posee dos sensores de presión separados por una distancia de 10 cm.

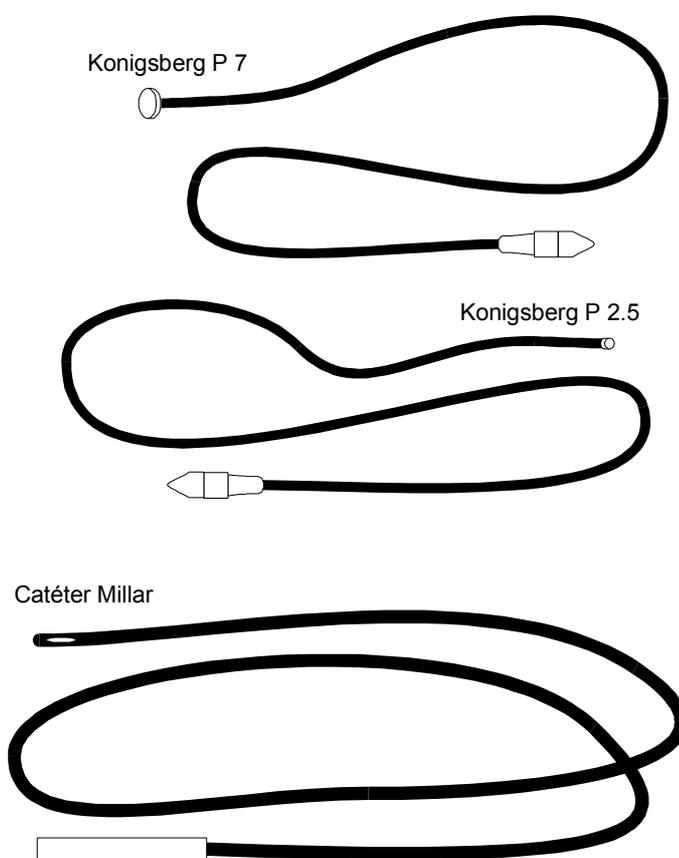


Figura 1. Tipos de microtransductores de estado sólido (Konigsberg y Millar) (Barra, 2002).

Medición de dimensiones cardiovasculares (Técnica sonomicrométrica)

La sonomicrometría es una técnica que mide la distancia entre pares de pequeños transductores implantados en el músculo o en tejidos similares. Franklin y Rushmer fueron los primeros en describir esta técnica en 1956 (Barra, 2002). A partir de entonces, Franklin y otros han mejorado y refinado la sonomicrometría (Barra, 2002).

La distancia es determinada midiendo el tiempo de tránsito del ultrasonido entre el par de transductores (microcristales ultrasónicos). El tiempo es calibrado a una distancia equivalente. Para que la medición sea válida, la velocidad del sonido en el medio debe ser conocida y constante, independiente del tiempo, temperatura, orientación de las fibras, etc. Es sabido que la velocidad del sonido en el músculo cardíaco y en la sangre es muy cercana a un mismo valor (aproximadamente 1580 m/s).

La enorme ventaja de esta técnica es que permite estudiar dimensiones cardiovasculares en animales crónicamente instrumentados a tórax cerrado. Los microcristales son fabricados en nuestro laboratorio con cerámica de zirconato titanato de plomo, de forma circular, con una frecuencia de emisión de 3 ó 5 MHz, con un diámetro que varía de 2 a 7 mm. La cerámica piezoeléctrica tiene soldado un cable a cada una de sus caras, las cuales están

recubiertas con resina poliuretánica en forma semiesférica a modo de lente. La morfología de los pares de microcristales depende de la distancia y el tejido para el cual han sido contruidos. La figura 2 muestra, esquemáticamente, un microcristal ultrasónico.

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

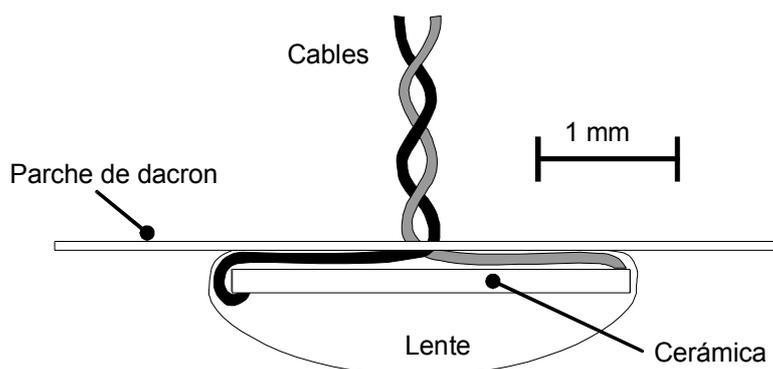


Figura 2. Esquema de un microcristal usado para medir diámetro vascular. En todos los casos la cerámica piezoeléctrica se halla soldada a un cable bipolar y recubierta por una lente de resina poliuretánica ([Barra, 2002](#)).

Instrumentación quirúrgica

En el presente trabajo se ha seleccionado al perro como unidad experimental. Durante los 30 días previos a la cirugía los animales fueron controlados clínicamente. En este período los animales recibieron tratamiento contra endo y ectoparásitos, además de las vacunaciones contra las enfermedades propias de la especie. Por último, mediante análisis de sangre y orina se verificó un óptimo estado de salud antes de ser sometidos a la intervención quirúrgica.

La cirugía de instrumentación fue realizada bajo anestesia general, inducida con tiopental sódico (20 mg/kg intravenoso). Luego de realizada la intubación endotraqueal, la anestesia fue mantenida con enflurano (1.5% en oxígeno a 4 L/min) a través de un tubo de Bain conectado a un respirador Bird Mark VIII ([Palm Springs, California](#)). Una toracotomía a nivel del quinto espacio intercostal permite visualizar al corazón, envuelto en el pericardio, al cayado aórtico y sus ramas y la aorta torácica descendente, luego de haber desplazado hacia el diafragma al pulmón izquierdo ([figura 3](#)).

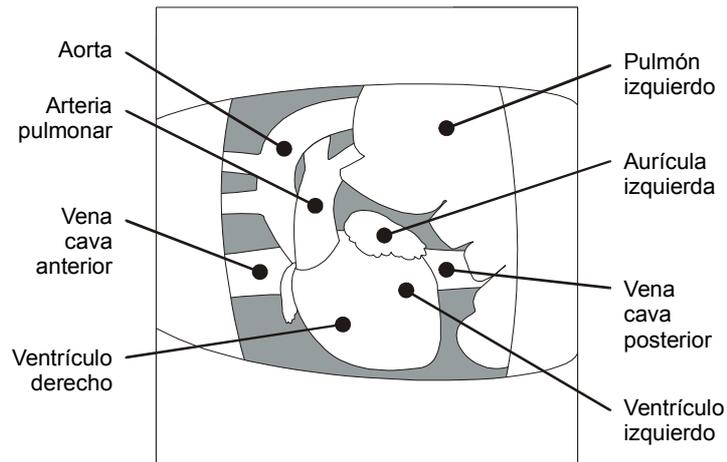


Figura 3. Esquema mostrando los órganos internos del tórax de un perro luego de realizada una toracotomía a nivel del quinto espacio intercostal. El pulmón izquierdo ha sido desplazado hacia el diafragma (Barra, 2002).

La medición del diámetro externo de la aorta se realiza por medio de microcristales de 5 MHz, cuya lente es relativamente plana. Por encima de la lente el microcristal tiene adherido un parche de dacron por el cual es suturado a la pared vascular con puntos no perforantes. La implantación se hace en el tercio superior de la aorta torácica descendente, la cual es liberada mínimamente de sus tejidos circundantes para evitar proliferación de tejido cicatrizal. Una vez colocado el primer microcristal en la superficie de la pared aórtica, se mapea con el segundo cristal hasta obtener una óptima calidad en la señal aportada por el sonomicrómetro, en este caso se busca la máxima distancia para garantizar que se está midiendo el diámetro y no una cuerda de la circunferencia vascular (figura 4).

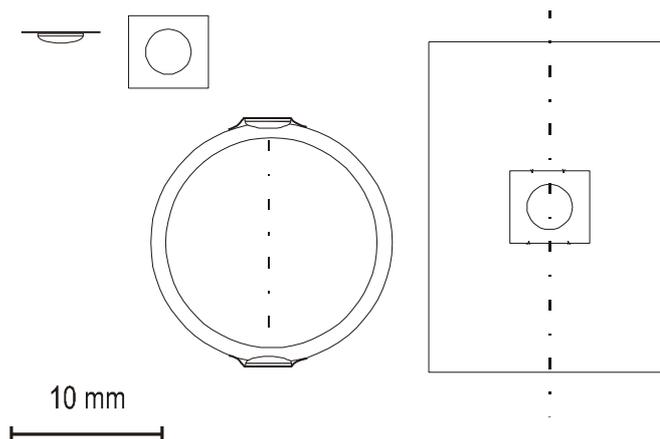


Figura 4. Vista transversal (izquierda) y longitudinal (derecha) de un par de microcristales implantado sobre la pared aórtica para medir el diámetro externo. Cada microcristal se sutura a la pared arterial con puntos no perforantes utilizando sutura de seda, nylon o poliéster 5-0 (Barra, 2002).

En la medición del diámetro aórtico la ubicación relativa de un microcristal respecto del otro es muy crítica, debido a la pequeñez de las cerámicas que se deben utilizar en estos casos y a la corta distancia que se está midiendo. Un par de microcristales perfectamente posicionado (figura 5) proporciona una señal de radiofrecuencia que presenta una serie de picos positivos, todos de la misma amplitud. Durante el ciclo cardíaco la distancia que separa a ambos microcristales varía, y por lo tanto la señal de radiofrecuencia deberá presentar un desplazamiento lateral concomitante con la variación en la distancia entre microcristales, pero sin variaciones en la amplitud de los picos. Estas características en la señal indican que los dos microcristales están alineados axialmente sobre un mismo eje imaginario. Si esto no ocurre, ya sea por una desviación de la lente, ya sea por incorrecta ubicación del microcristal, la señal de radiofrecuencia proporcionada por el sonomicrómetro se alterará en algún momento del ciclo cardíaco, dejando ver que existe una irregularidad en la amplitud de la misma. Este fenómeno se conoce con el nombre de rotación y es indicativo del mal posicionamiento de los microcristales (Barra, 2002).

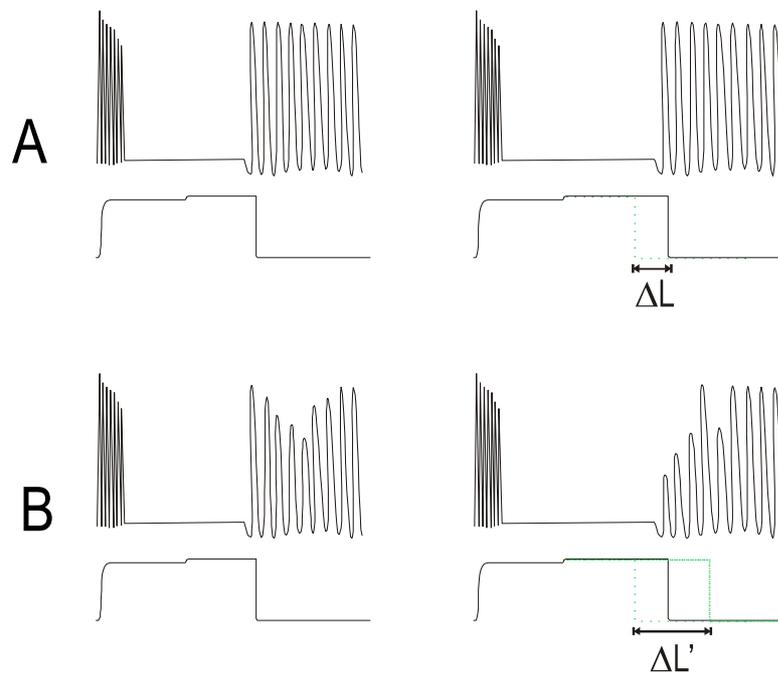


Figura 5.A: Imagen de la señal de radio proporcionada por un sonomicrómetro cuando ambos microcristales están correctamente alineados. La imagen de la izquierda es luego de que los cristales se han separado entre sí a una mayor distancia (DL). B: Defecto de "rotación" mostrando la irregularidad en la amplitud de la señal. Esta irregularidad produce una lectura errónea de la distancia real que existe entre ambos cristales (DL') (Barra, 2002).

Velocímetros Pulsados Multipuertas

La velocimetría pulsada monopuerta, descrita anteriormente, permite determinar la velocidad de partículas situadas a una profundidad específica. La elección de esta profundidad queda determinada por el valor del retardo τ_d , correspondiente al tiempo de viaje de los ultrasonidos para recorrer el camino de ida y vuelta entre el transductor y el blanco. Si se desea medir la velocidad de partículas en diferentes ubicaciones, la primera solución es aumentar el número de vías de medición. Cada vía tiene su propio retardo, τ_d , correspondiente a un punto de exploración. Bajo este principio, velocímetros con 8 y hasta 16 vías son comúnmente utilizados. Esta solución, simple en un principio, tiene el inconveniente mayor que resulta en montajes complejos y como consecuencia un elevado costo. La solución

actualmente usada es el tratamiento serie de la información en lugar del tratamiento paralelo descrito anteriormente. El velocímetro multipuerta DOP1000 (Pessana, 2013), trabaja con 224 vías como máximo (figura 6).

Para una mayor descripción sobre los métodos y sistemas empleados para la detección y demodulación de la frecuencia Doppler de corrimiento f_d , puede consultarse una bibliografía específica del tema (Pessana, 2013).

El principio de funcionamiento del velocímetro se ilustra en la Figura 6. El mismo transductor se utiliza para transmitir y recibir las señales ultrasónicas. La señal proveniente del oscilador principal provee el disparo para la señal emitida y con el PRF seleccionado.

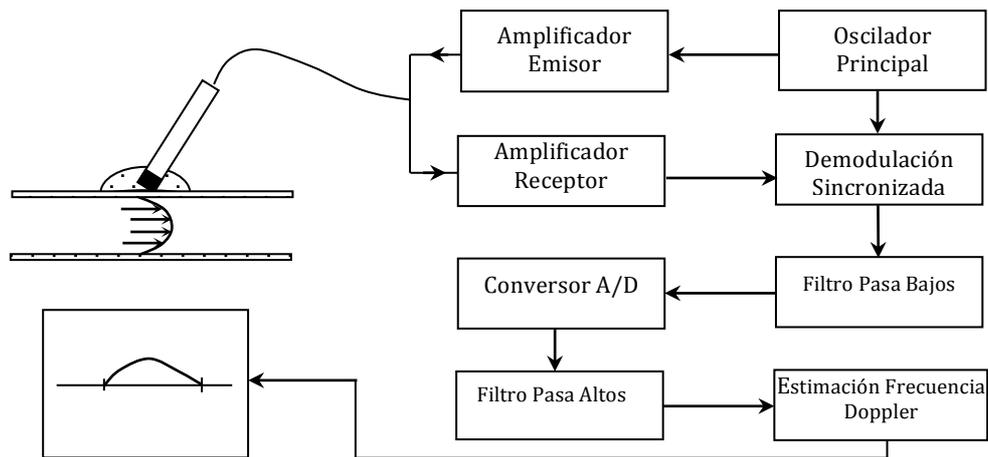


Figura 6. Diagrama en bloques del Velocímetro Doppler Multipuerta DOP1000. (Pessana, 2013)

La amplificación de la señal de eco se incrementa de acuerdo con la profundidad de la zona evaluada (Time Gain Control o TGC), para compensar la atenuación de las ondas producidas por la penetración de las señales en el tejido. Siguiendo a la etapa de amplificación, la señal de eco es demodulada y filtrada para aislar la información Doppler. Un filtro pasa bajos suprime los artefactos de frecuencias el espectro que fue generado por la demodulación.

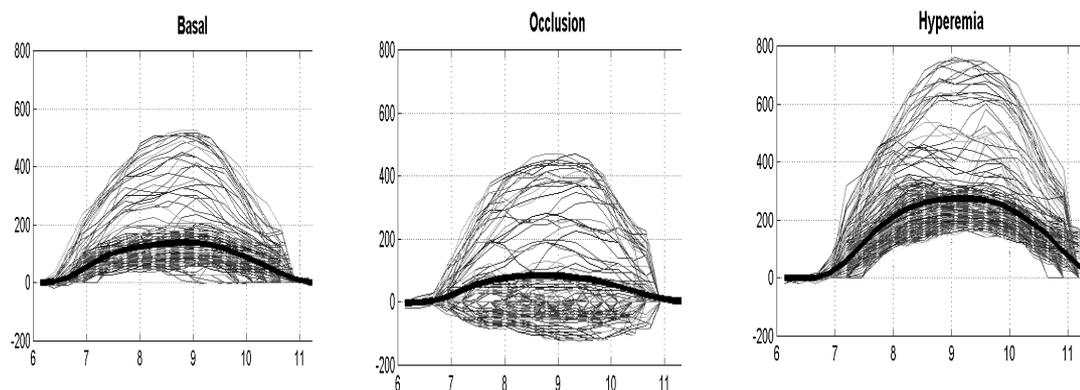


Figura 7. Imagen bidimensional de los perfiles de velocidad en una arteria braquial derecha en estado basal (izquierda); oclusión distal a los 3 minutos (centro) y al primer minuto de iniciada la hiperemia reactiva (derecha). Pueden observarse en línea sólida gruesa, los perfiles medios de velocidad a partir del cual se realizan los cálculos de diámetro y la tasa de cizallamiento arterial media (Pessana, 2013).

La señal de Doppler se muestrea y se convierte entonces en digital, mediante un conversor analógico digital (CAD) rápido (flash converter). El tiempo entre adquisiciones determina el espacio axial entre volúmenes muestrales, mientras que el retardo entre la emisión y la recepción de señales de eco, determina la distancia al volumen muestral. La

señal que viene del conversor A/D se guarda en memoria y es filtrada por un filtro pasa altos que elimina el régimen permanente y cuasi estable de la señal digitalizada. Finalmente, se estima la frecuencia de la señal Doppler. Esta estimación se utiliza para calcular la velocidad del volumen muestral analizado.

En la [figura 7](#), pueden apreciarse los perfiles de velocidad determinados por este velocímetro multipuerta, para 3 estados bien diferenciados de la arteria braquial ([Pessana, 2013](#)).

En la [figura 8](#) se aprecia el desarrollo tridimensional del perfil de velocidad de la arteria braquial en un estado de hiperemia reactiva.

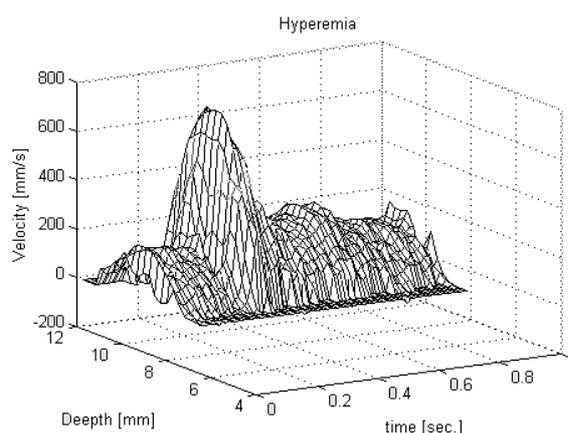


Figura 8. Imagen tridimensional del perfil de velocidad adquirido con el velocímetro Doppler multipuerta DOP1000.

Módulo de interferométríaspeckle ultrasónico

Es de crucial importancia contar con técnicas alternativas para la medición de la variación del diámetro y la elasticidad arterial dinámica ([Gamero et al. 1999](#); [Inagaki et al., 2005](#); [Hasegawa et al, 2006](#)). Estas medidas se realizan mediante la técnica de interferometría de speckle (ISU) ultrasónico y elastografía impulsional 1D ([Brum et al., 2012](#)), para el método de seguimiento de la fase por correlación. La señal de speckle acústico se modifica debido al movimiento de los difusores que le dan origen ([Gamero et al. 1999](#); [Graf et al., 1999](#); [Hasegawa et al., 2004](#); [Hasegawa et al, 2006](#)). La habilidad en detectar el desplazamiento temporal se basa en la habilidad para comparar dos señales ecográficas entre sí, lo cual se logra mediante un algoritmo de correlación entre señales ecográficas consecutivas. Se utilizará un transductor ultrasónico en modo emisión recepción. ([Brum et al., 2010a](#); [Brum et al., 2010b](#)). A partir de la técnica ISU implementada se medirá además la elasticidad y viscosidad intraparietal, con discriminación radial espacial de algunas decenas de micras al interior de la pared arterial.

Módulo de excitación y detección de ondas de baja frecuencia.

Excitando con ondas de baja frecuencia las paredes arteriales se logra medir la propagación axial de las mismas en la guía de ondas que forman las mismas. Para ello se utiliza un elastógrafo OPEN (LeCoeur-Electronique) de 32 canales de emisión recepción de señales ultrasónicas, que permite generar ondas de baja frecuencia por presión de radiación acústica ([de Korte et al, 1998](#)) en el interior de la pared focalizando localmente el ultrasonido en el interior de la misma. Ello permite generar ondas de Lamb de baja frecuencia ([Dabagh et al, 2009](#); [Shajii et al, 1992](#)) y obtener la relación de dispersión, de la cual se obtiene la elasticidad y la viscosidad dinámicas de la pared. De esta forma se obtendrán parámetros de la dinámica vascular en función de las características del flujo. Todas las técnicas ultrasónicas y elastográficas de ultra resolución se implementarán para ser utilizadas in vitro e in vivo,

teniendo la ventaja en este último caso de ser no invasivas a diferencia de las técnicas IVUS (intravascular ultrasound).

Biorreactor

Dicha plataforma permite generar condiciones de temperatura, tensión de cizallamiento, PH y presión, cuyo correcto establecimiento es vital para asegurar la viabilidad de las células en cultivo. El diseño se encuentra sustentado por procesamientos numéricos computarizados (CFD), para la simulación dinámica de fluidos dentro de la cámara de flujo del biorreactor y simulación del fenómeno de conducción térmica en el material constitutivo del mismo. Esta última asegura una temperatura constante en el área de cultivo. Otro aspecto de relevancia, consiste en la selección de las geometrías adecuadas para realizar este tipo de experiencias y la solución a distintos tipos de problemas para el uso del dispositivo con microscopia en tiempo real. Es por ello que en lo concerniente al estudio de los resultados, resulta necesario el uso de microscopia de fluorescencia y de contraste de fases. Esta técnica permite efectuar un estudio sobre la orientación celular, diferenciación y respuesta a estímulos de distintas índoles, obteniéndose así una caracterización de la evolución del tejido en función del tiempo. Adicionalmente, son necesarias mediciones espaciales de óxido nítrico, tensión de cizallamiento y glucosa, con el objeto de determinar la capacidad de difusión. Las mismas se realizan mediante kits de medición especializados que se adquirirán durante el presente proyecto.

Módulo Integrado (adquisición y almacenamiento) de señales fisiológicas

Este módulo es el encargado de acondicionar las señales provenientes de sensores de presión invasivos de alta respuesta en frecuencia (Königsberg, 1200Hz), señales de electrocardiografía (ECG), señales de velocidad Doppler (velocidad center line) y señales de diámetros arteriales provenientes de cristales piezoeléctricos (sonomicrometría). Este módulo permite conectar los distintos tipos de sensores, teniendo en cuenta que se requieren 2 canales de diámetros, 2 de tonometría o mecanográficos, 3 canales de ECG (derivaciones), 2 de velocidad Doppler y 2 de presión invasiva (Königsberg). Para realizar un pre-procesamiento de las señales y convertir al módulo en un sistema semi-independiente, se dispone de un microcontrolador de bajo consumo, conversores analógico/digital (12bits, 5KHz max.) integrados y una conexión a la PC. Tanto para las mediciones invasivas como para las no invasivas se deben respetar las normativas eléctricas correspondientes y asegurar el nivel de ruido dentro de límites establecidos para ensayos y experimentación médica. El módulo debe permitir ajustes de offset y ganancia. Todo el procesamiento, visualización, almacenamiento, impresión y confección de resultados se realiza directamente a través de un software especialmente diseñado que cuente con las prestaciones de cada caso particular. Un sistema de bases de datos integrado, permite enviar los datos en formatos estándar para el intercambio de información remota con cualquier otra estación de trabajo, aún dentro de una red local. El sistema permite el ingreso de imágenes (secuencias), provenientes de un ecógrafo en modo B. Estas imágenes tienen un formato estándar (NTSC/PAL) y son ingresadas a través de una placa digitalizadora de imágenes. El software especializado se encarga del procesamiento de las imágenes y su almacenamiento en tiempo real, siendo crítica la velocidad de 15 imágenes/segundo, mínima indispensable para adquirir secuencias completas. El software cuenta con un sistema de visualización y adquisición (almacenamiento) simultáneo. La placa de adquisición cuenta con una señal de disparo que podrá ser calibrada con la señal de ECG proveniente del módulo de adquisición de señales para coordinar determinados estudios no invasivos.

Modelización multi-escala:

La información adquirida tanto a nivel molecular, estructural y funcional es integrada por medio de la modelización multi-escala. Se utilizan lenguajes de modelización computacional (Armentano, 2012).

Modelado del Árbol Arterial

La implementación de modelos tiene como objetivo base la representación de un fenómeno real, mediante la utilización de un dispositivo que mucho o poco tiene que ver con el sistema a modelar, de manera de contribuir al entendimiento de una característica particular del mismo. La obtención de variaciones temporales precisas de presión arterial (P_A) y flujo arterial (Q_A) *in vivo* en zonas específicas del árbol arterial (sobre todo en aquellas cercanas al corazón) reviste una gran dificultad metodológica. Es por ello que en ausencia de un acceso adecuado al sistema en sí mismo, la única posibilidad existente para su entendimiento es la utilización de un modelo teorizado (Zamir, 2010). El arreglo de conductos arteriales ha sido evaluado a partir de modelos de parámetros concentrados, modelos de conductos y modelos de distribución, según la anatomía lo requiriera (Van den Wijngaard *et al.*, 2009). Si bien el comportamiento mecánico de las grandes arterias resulta complejo debido a su marcada anisotropía y no linealidad, los modelos de parámetros concentrados y aquellos fundados en la *teoría propagatoria* (de concepción distribuida), han contribuido de manera significativa tanto al aspecto explicativo del fenómeno bajo estudio, como a la predicción en el desarrollo y evolución de enfermedades cardiovasculares (Laurent *et al.*, 2006). En los modelos Windkessel (W_K), se desestima el carácter distribuido de la vasculatura arterial, de modo que un único conducto resume las propiedades físicas de la red, a partir del análisis de la relación P_A vs Q_A . En contraposición, los modelos de parámetros distribuidos son utilizados para inferir propiedades dinámicas basadas en la estructura misma de las ramificaciones arteriales (Zamir, 2010).

Parámetros Concentrados. El Modelo Windkessel (W_K)

Durante la eyección ventricular izquierda (o fase sistólica), las grandes arterias receptoras (principalmente la aorta) se distienden de modo de dar lugar a su función de almacenamiento del fluido sanguíneo. Posteriormente, durante el transcurso de la fase diastólica (identificada por el descanso ventricular), la contracción elástica de los grandes vasos impulsa el fluido almacenado hacia los vasos periféricos (Nichols, 2005). Se ha mencionado previamente que las arterias se caracterizan a través de dos funciones básicas, la de conducción y la de amortiguamiento. El modelo W_K , modeliza la función de *conducción global* del árbol arterial (por ello es un modelo de parámetros concentrados) a través de una única resistencia hidráulica, determinada por la resistencia periférica (R_P). La ley de Poiseuille establece que el valor de resistencia a la circulación del flujo es inversamente proporcional a la cuarta potencia del radio del conducto. Es por ello la mayor contribución de la circulación a R_P se encuentran a nivel de los conductos arteriales de menor diámetro, como las arterias más pequeñas y arteriolas. La función de *amortiguamiento global* del sistema arterial, está constituida por el aporte conjunto de la capacidad de almacenamiento de los vasos arteriales del sistema y se denomina *compliance arterial* (C_A). Este efecto de almacenamiento de fluido se aprecia en la diferencia existente entre el flujo de entrada y el de salida (Zamir, 2010). El mayor aporte lo determinan las grandes arterias, debido a que son las que denotan mayor elasticidad. Resultado de ello, el parámetro representativo de dicho comportamiento constituye una *capacitancia hidráulica* (C_H). Ambos parámetros pueden determinarse de acuerdo a las siguientes expresiones:

$$R_P = \frac{P_{ao,med} - P_{ven,med}}{Q_{med}}, \quad ; \quad C_A = \frac{\Delta V}{\Delta P},$$

donde $P_{ao,med}$ y $P_{ven,med}$ son las presiones medias aórtica y venosa, respectivamente. La presión venosa, P_{VEN} , es la presión de referencia y suele considerarse cercana a un valor nulo o a aquel valor de presión hacia el cual el ventrículo se relajaría si no se reiniciara el ciclo. Q_{med} es el volumen de sangre medio expulsado por el ventrículo izquierdo por unidad de

tiempo. Adicionalmente, ΔV es el cambio de volumen sanguíneo, resultado de un cambio de presión ΔP .

Consecuencia de lo expuesto, las variables hemodinámicas que gobiernan el modelo W_K están constituidas por el ingreso de flujo aórtico (Q_{AO}) y la presión aórtica resultante (P_{AO}), tal como puede apreciarse en la figura 9.

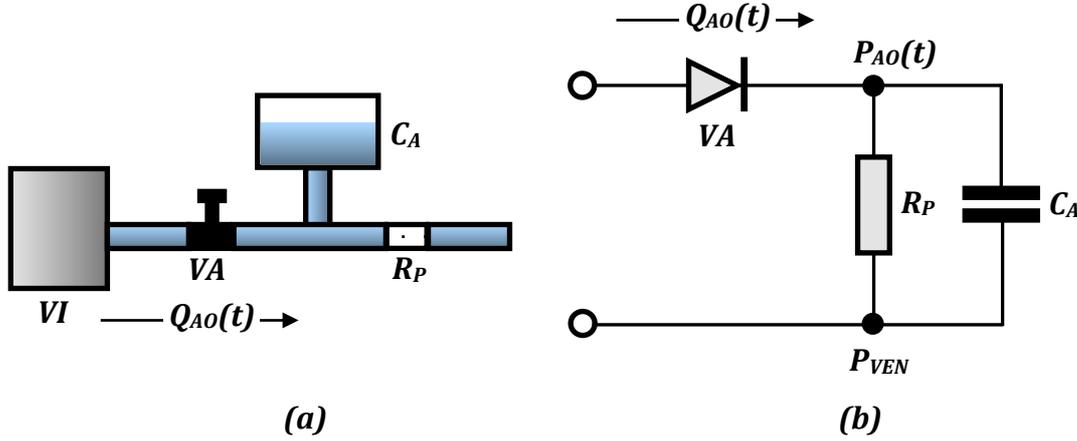


Figura 9 Modelo Windkessel de dos elementos. **(a)** Esquema hidráulico. **(b)** Esquema eléctrico. **VI** representa la eyección ventricular izquierda. La función de conducción del árbol arterial está contemplada en la resistencia periférica R_P . La función de amortiguamiento arterial está contemplada en capacitancia arterial C_A . La función $Q_{AO}(t)$ representa el flujo aórtico y $P_{AO}(t)$ a la presión aórtica. **VA** representa a la válvula aórtica. P_{VEN} es la presión de referencia a la cual relajaría el ventrículo si no se reiniciara el ciclo.

La resistencia y capacitancia hidráulicas disponen de sus equivalencias en el modelo eléctrico, constituidas por un resistor (que representa la disipación de energía) y un capacitor (cuya función es el almacenamiento de cargas), respectivamente. Es por ello que la determinación de Q_{AO} (cuyo equivalente es la corriente eléctrica) y P_{AO} (cuyo equivalente es la tensión eléctrica) pueden evaluarse mediante herramientas de análisis de circuitos eléctricos. Conceptos tales como la *impedancia arterial* (Z_A), que describe la relación existente entre P y Q , resultan de gran utilidad en la evaluación de la función de conducción (Avolio, 2009). Las ecuaciones resultantes del análisis del modelo sugieren que, ante la presencia de un flujo pulsátil, P_D (intervalo en ausencia de flujo) presenta un decaimiento exponencial, determinado por el producto entre R_P y C_A (constante temporal), tal como puede observarse en las siguientes expresiones (Westerhof *et al.*, 2008):

$$Q_{AO}(t) = C_A \frac{dP_{AO}(t)}{dt} + \frac{1}{R_P} [P_{AO}(t) - P_{VEN}], \quad ($$

$$P_D(t) - P_{VEN} = P_{D0} e^{-\frac{t}{R_P C_A}},$$

Donde P_{D0} constituye la presión aórtica al inicio de la fase diastólica.

Este modelo proporciona información sustantiva acerca de la *carga arterial* (dada por el valor de Z_A) que enfrenta el músculo cardíaco, representada por dos elementos con igual relevancia (R_P y C_A) de significado fisiológico concreto (Westerhof *et al.*, 2008). La constante de tiempo del sistema, $R_P C_A$, caracteriza la capacidad (en términos globales) que presenta la red arterial para amortiguar la pulsatilidad cardíaca, reflejando el comportamiento vascular parietal. Asimismo, facilita una idea efectiva del retorno o energía vascular almacenada

durante la eyección del ventrículo izquierdo (Grignola *et al.*, 2003). En la Figura 10 puede verificarse el resultado descrito previamente, en la estimación de P_{AO} a partir de mediciones efectuadas de Q_{AO} , aplicando el modelo W_K .

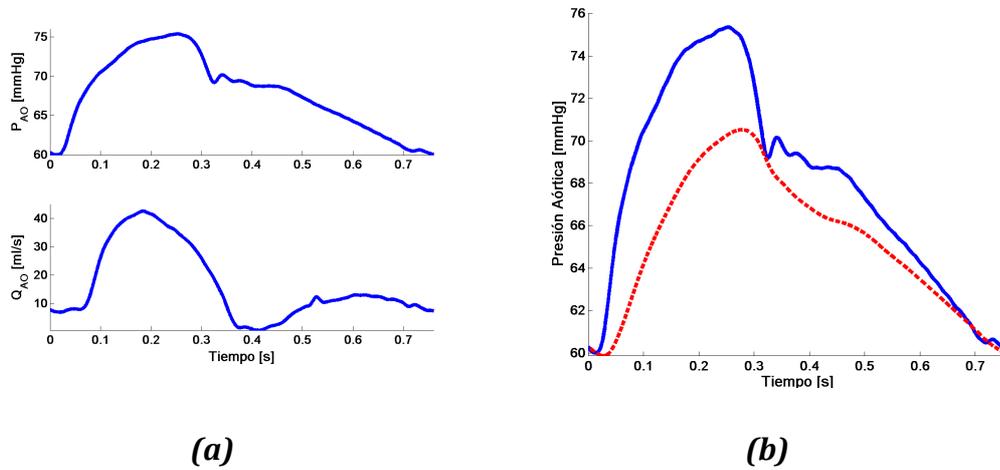


Figura10 (a) Series temporales adquiridas de presión arterial aórtica (P_{AO} , panel superior) y flujo arterial aórtico (Q_{AO} , panel inferior). **(b) Línea sólida:** Serie temporal adquirida de P_{AO} . **Línea a rayas:** Serie temporal de P_{AO} estimada a partir de la aplicación del modelo Windkessel de dos elementos (W_{K2}).

Debido a que este modelo Windkessel está constituido sólo por dos elementos, se lo suele denominar en forma abreviada W_{K2} .

En virtud de las mejoras en los mecanismos de adquisición de variables hemodinámicas y debido a las deficiencias existentes en relación al grado de ajuste de la fase sistólica de P_{AO} , se incorporó un tercer elemento al modelo W_{K2} , denominado impedancia característica de la aorta proximal (Z_{CAO} , Westerhof *et al.*, 2008). La impedancia característica establece la relación existente entre P y Q , fuera de la influencia de la reflexión de ondas. El consecuente resultado derivó en un modelo W_K de tres elementos, que en forma abreviada se denota como W_{K3} (Westerhof *et al.*, 2010) (Figura 11).

En Cymberknopet *al.*, (2011) se utilizó el modelo W_{K3} con el fin de determinar el impacto de las diferencias de género sobre valores representativos de P_{RES} , denominada *presión de reservorio*. Asimismo, se efectuó un análisis similar sobre la diferencia entre P_{AO} y esta última, denominada presión en exceso (P_{EXC}) (Davies *et al.*, 2010). Los parámetros del modelo fueron obtenidos mediante un ajuste no lineal exponencial de la caída de presión en diástole, conjuntamente con un proceso iterativo, debido al desconocimiento de Q_{AO} . La separación de P_{AO} en sus componentes de reservorio y exceso permitió diferenciar fenómenos de carácter sistémico (a partir de P_{RES}) y aquellos relacionados con la propagación de ondas (en relación a P_{EXC}) (figura 12).

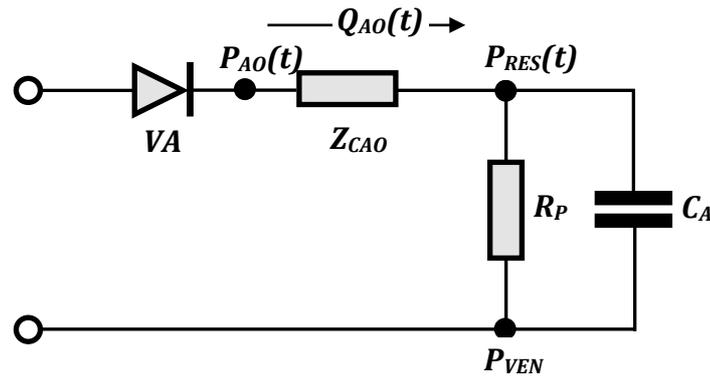


Figura 11. Modelo Windkessel modificado (tres elementos, W_{K3}). P_{AO} es la presión aórtica, Q_{AO} es el flujo aórtico y VA la válvula aórtica. P_{RES} constituye la caída de presión sobre el conjunto $R_P C_A$. P_{VEN} es la presión de referencia a la cual relajaría el ventrículo si no se reiniciara el ciclo. El modelo incorpora la impedancia característica de la aorta proximal en serie (Z_{CAO}), de manera de incrementar su capacidad predictiva durante la fase sistólica. Esta última se encuentra relacionada con la velocidad de propagación de las ondas pulsátiles de presión que se propagan por el árbol arterial.

La impedancia característica puede ser considerada simplemente como un resistor eléctrico, cuyo valor puede ser estimado a partir del cociente de los valores medios de P_{AO} y Q_{AO} (pulsatilidad nula), quedando así en serie con R_P . No obstante, persisten los errores de estimación en el rango de las bajas frecuencias, al momento de la evaluación de la impedancia de entrada (Westerhof *et al*, 2008). Estos últimos pueden subsanarse mediante la adición de un cuarto elemento (modelo W_{K4}) que representa la suma de todas las *inertancias* presentes en el árbol arterial. Físicamente, la inercia se define como la inercia que presenta la columna del fluido sanguíneo. Esta última puede ser cuantificada en términos de la relación existente entre la densidad sanguínea y el área del lumen arterial (Nichols *et al*, 2005). El modelo eléctrico equivalente de la inercia es un inductor y se dispone en forma paralela a Z_{CAO} (Westerhof *et al*, 2008). De esta manera, el modelo W_{K4} proporciona resultados aceptables en la totalidad del intervalo frecuencial de análisis. A pesar de ello, debe tenerse en consideración que la estimación de la inercia es dificultosa de obtener con precisión.

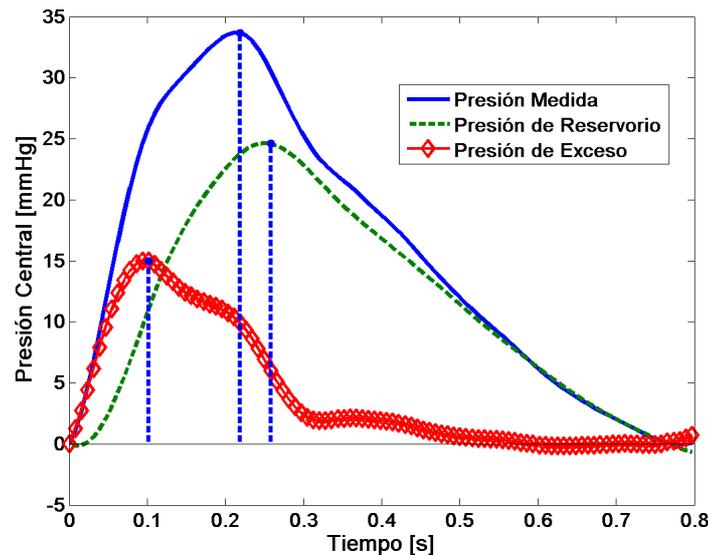


Figura 12. Separación de la presión aórtica central (P_{AO} , línea sólida) en sus componentes de reservorio (P_{RES} , línea a rayas) y exceso (P_{EXC} , línea a rombos) a partir de un modelo Windkessel de tres elementos. Todas las formas de onda se encuentran referidas a su valor inicial (Fuente de gráfico: Cymbarknop *et al.*, 2011).

Hemos hallado que los valores máximos y medios de la presión de reservorio (windkessel) sufren un incremento con la edad, con un promedio de 6,7 mmHg/década ($y=6,70x+85,15$; $p<0,05$) y 4,6 mmHg/decada ($y=4,63x+79,26$; $p<0,05$), respectivamente (figura 13)

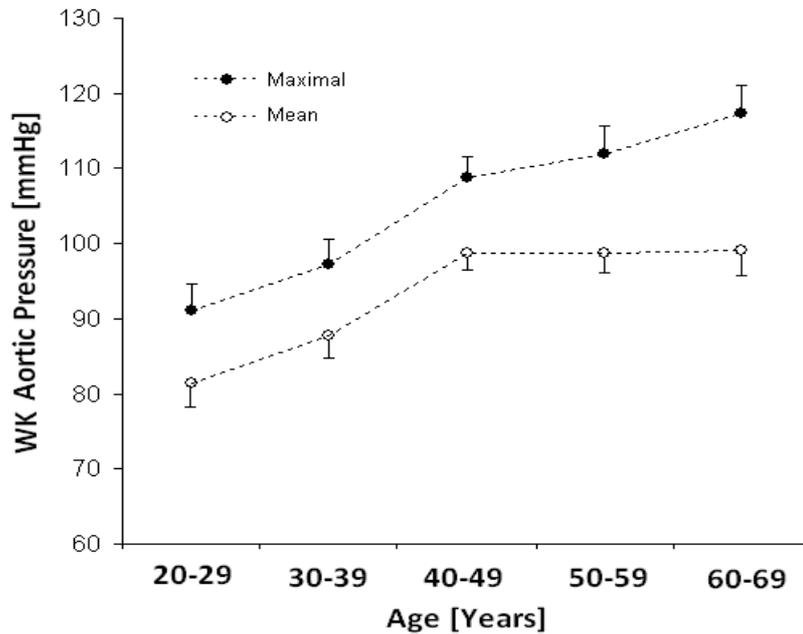


Figura 13. Perfiles de la presión de reservorio relacionados con la edad. Línea de puntos: Presión máxima. Línea de círculos: Presión media

El comportamiento de la presión de exceso en relación a la edad, mostró resultados no lineales. Pasados los 40 años, manifestó un incremento significativo. El incremento en la presión máxima denotó un promedio de 4,9 mmHg/década ($y=4,91x- 4,93$; $p<0.05$) entre la 6^{ta} y 7^{ma} década (figura 14).

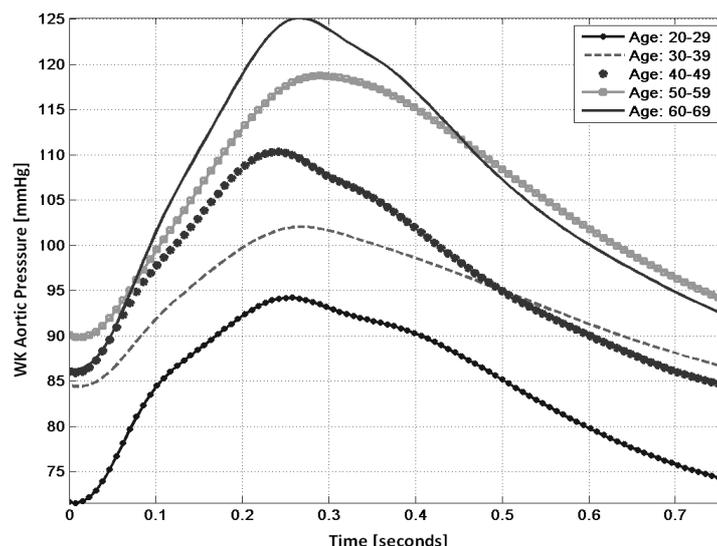


Figura 14. Cambios relacionados con la edad en las formas de onda de la presión de reservorio.

Se trabajó en la evaluación de los cambios relacionados con la edad, sufridos por las componentes medidas de presión de reservorio y exceso, cuyo conjunto constituye la presión aórtica central. La intención fue determinar si los cambios potenciales relacionados con la edad, están concentrados en décadas particulares de la vida.

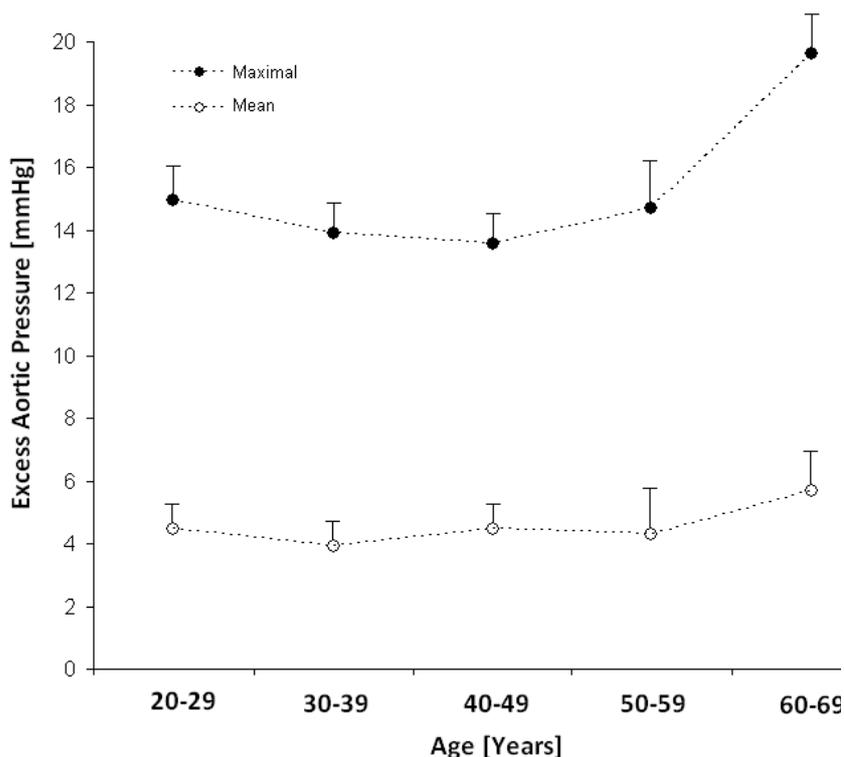


Figura 15. Perfiles de la presión aórtica de exceso conforme grupo etario. Línea de puntos: Presión máxima. Línea de círculos: Presión media

Numerosos estudios han cuantificado cambios en la presión arterial, en relación al avance de la edad. Se ha descrito que la presión sistólica se incrementa en edades avanzadas, a pesar de que las variaciones de la presión relacionadas con la edad pueden no ser uniformes y podrían manifestar diferencias dependiendo de las características de la

población (Nichols *et al.*, 2005). A diferencia de ello, se han descrito cambios mínimos relacionados con la presión diastólica, observándose una reducción por arriba de los 60 años (Nichols *et al.*, 2005). Nuestra población manifestó cambios en la presión arterial relacionados con la edad, acorde a la tendencia esperada (figura 15).

La presión de reservorio, está relacionada con propiedades sistémicas. En consecuencia, los cambios vinculados a esta última son el resultado de la combinación de variaciones del mismo tipo. En un plano opuesto, la presión en exceso acusa mejor los comportamientos locales, dado que la respuesta sistémica (componente de reservorio) no participa en la evaluación. Puede obtenerse entonces, información diferente y complementaria en el análisis de ambas presiones. En relación a ello, una forma de onda de presión en particular (niveles y morfología) experimentaría un procesamiento más adecuado, si fueran individualizadas previamente las componentes que la constituyen. Resulta notable que una onda de presión arterial constituya el resultado de combinaciones de diferentes componentes. Bajo este contexto, el conocimiento de los perfiles de presión esperados, relacionados con la edad, así como de sus componentes individualizadas, sería de gran valor en la diferenciación de los cambios normales de aquellos anormales, producto de cambios vasculares.

Parámetros Distribuidos. Modelos Propagatorios

En el modelo W_K se asume en forma explícita que las presiones en las grandes arterias aumentan y disminuyen en forma simultánea, resultado equivalente a la presencia de una velocidad de onda del pulso (*VOP*) infinita. Dicha suposición es considerada como la limitación de mayor relevancia del modelo de parámetros concentrados (Mohiuddin *et al.*, 2007). Partiendo de aproximaciones linealizadas de las ecuaciones de Navier Stokes y considerando tanto la longitud de cada segmento vascular así como la inercia sanguínea, el modelo de parámetros distribuidos no sólo predice la existencia de una *VOP* finita sino que P_A se encuentra constituida por ondas que viajan hacia y desde la periferia de la red arterial (Mohiuddin *et al.*, 2007).

La concepción de un modelo en el cual *VOP* manifiesta valores finitos, implica una conexión de mayor consistencia con el fenómeno real (Laurent *et al.*, 2006). El árbol arterial se encuentra sometido a la presencia de ondas mecánicas que se propagan, reflejan y superponen, en forma análoga al comportamiento observado en las líneas de transmisión utilizadas en los sistemas de comunicaciones (Van den Wijngaard *et al.*, 2009). El fenómeno de reflexión tiene lugar cuando una onda cambia el sentido de su propagación ante la presencia de un medio diferente de transmisión (Nichols *et al.*, 2005). Un ejemplo de ello son las bifurcaciones y discontinuidades características de la red arterial. Más aún, la mayor parte de las reflexiones ocurre a nivel arteriolar, donde se evidencia gran cantidad de ramificaciones a cortas distancias. Este fenómeno da lugar a una reflexión difusa, debido al retorno de ondas provenientes de distintas distancias que arriban a la aorta proximal en forma aleatoria. Como consecuencia de ello, se observan distintas morfologías de la onda de P_A a lo largo de la red arterial, producto de la distancia del sitio de reflexión, el valor de *VOP* en el conducto y la manera en que la onda es efectivamente reflejada (Westerhof *et al.*, 2008). Resultado de lo expuesto, la teoría propagatoria de ondas desarrollada para líneas de transmisión eléctricas, presenta un alto grado de aplicabilidad, con resultados altamente explicativos. Si bien se han dedicado numerosos esfuerzos al desarrollo de un modelo W_K con capacidad de contemplar la reflexión de ondas, no fue hasta la adopción de un modelo de líneas de transmisión en que fue posible concebir la naturaleza integral del fenómeno. A raíz de ello, se ha concluido que las reflexiones que se generan en el sistema vascular son el resultado de una *desadaptación de impedancias* (Milnor, 1989). Los modelos distribuidos implementan resistencias, capacitancias e impedancias equivalentes por unidad de longitud, de modo que los segmentos arteriales pueden ser descritos en términos de redes de tubos uniformes (Avolio, 2009). El análisis propuesto posibilita la aplicación del concepto de *impedancia vascular de entrada* (Z_{VE}), producto de la relación existente (en módulo y fase)

entre las componentes frecuenciales de P_A y Q_A . De igual manera, se introduce la noción de *coeficiente de reflexión* (Γ^*), definido a partir de la relación entre la evolución de las ondas incidente (O_I) y reflejada (O_R) constitutivas tanto de P_A como de Q_A , en virtud de las siguientes expresiones (Milnor, 1989):

$$Z_{VE} = \frac{P_A}{Q_A} = \frac{|P_A|e^{j(2\pi f_0 t - \phi)}}{|Q_A|e^{j(2\pi f_0 t - \theta)}}, \quad (1); \quad \Gamma^* = \frac{O_R}{O_I} = \frac{Z_T - Z_C}{Z_T + Z_C}, \quad (2)$$

donde f_0 es la frecuencia de la pulsatilidad, n es un natural, f y q corresponden a las fases de los valores complejos de P_A y Q_A , respectivamente, Z_C es la impedancia característica y Z_T la impedancia terminal, correspondiente a la oposición que presentan las arteriolas a la circulación de flujo. Como puede inferirse, Z_{VE} presenta un módulo que corresponde al cociente de los módulos de P_A y Q_A y una fase, producto de la diferencia entre las fases de estos últimos. La determinación de los parámetros expresados, debe ser efectuada en el dominio frecuencial (por ejemplo mediante la aplicación de Series de Fourier) donde son contempladas las componentes armónicas constitutivas de las ondas de presión y flujo arterial.

Asumiendo que las series temporales de P_A y Q_A constituyen el resultado de la combinación de sus componentes incidente y reflejada, puede efectuarse la separación de dichas ondas partiendo de la determinación de Z_C (evaluación de Z_{VE} entre la 5ta y 8va componente frecuencial), de manera que (Nichols *et al*, 2005):

$$\begin{aligned} P &= P_I + P_R, & P_I &= (P + Z_C Q) / 2, \\ Q &= Q_I + Q_R, & P_R &= (P - Z_C Q) / 2, \\ P_I &= Z_C Q_I, & Q_I &= (Q + P / Z_C) / 2, \\ P_R &= -Z_C Q_R, & Q_R &= (P - Z_C Q) / 2. \end{aligned} ;$$

Análogamente a lo expresado durante el tratamiento de los modelos de parámetros concentrados, el entendimiento de patologías tales como *HTA* encuentra sustento en el fenómeno de reflexión de ondas. La existencia de R_P (cuantificada en la capacidad de conducción de los vasos arteriales), da pie a que las ondas mecánicas puedan reflejarse y propagarse en sentido opuesto al de su generación. Tal efecto es responsable de que la onda de presión arterial, pueda constituirse como la combinación de dos ondas que transitan los conductos arteriales en sentidos opuestos: la onda incidente, resultado de la eyección ventricular y la onda reflejada, consecuencia de las reflexiones ocurridas en el medio de transmisión (Van den Wijngaard *et al*, 2009). Un incremento en R_A , acelera el fenómeno de conducción (*VOP* se incrementa si el medio a transitar resulta más rígido), permitiendo que O_R combine con O_I , en una etapa temprana. Consecuencia de ello, el aumento sustancial en la presión sistólica da cuentas del fenómeno patológico observado (Laurent *et al*, 2006).

Lo expuesto precedentemente denota que el fenómeno de reflexión de ondas altera los patrones de las ondas pulsátiles así como los valores de Z_{VE} . El modelo propagatorio propuesto inicialmente por Taylor en los años 50, así como sus modelos derivados resultan consecuentes con dicho principio. Deben tenerse en consideración los efectos de reflexión variable en las terminaciones, las viscosidades del fluido y la pared, los efectos derivados del incremento en la R_A , y el impacto de la distancia al punto de reflexión. Lo notable radica en que los resultados que mejor condicen con una Z_{VA} determinada en forma experimental, son aquellos obtenidos a partir de estructuras aleatoriamente ramificadas, en niveles sucesivos. Es allí donde se encuentra la clave que conlleva a la definición morfológica de los parámetros hemodinámicos que caracterizan a la red arterial (Nichols *et al*, 2005). En la figura 16 puede apreciarse la red tubular elástica propuesta en Taylor (1966), donde la evaluación de la Z_{VE} se aproxima consistentemente al fenómeno observacional.



Figura 16. Esquema ramificado en forma aleatoria para la evaluación de la impedancia vascular de entrada. En el mismo se consideran los efectos derivados de la visco-elasticidad de la pared, la viscosidad del fluido, el gradiente de rigidez, y las longitudes de los segmentos vasculares (Fuente de gráfico: Taylor, 1966).

Fractalidad Estructural

La concepción del sistema arterial a partir de un conducto único, de propiedades constantes o variables a lo largo de su longitud y una terminación definida ha generado resultados aceptables en relación a las perturbaciones de bajas frecuencias (Taylor, 1966). Sin embargo, en el campo de las altas frecuencias, las discrepancias son manifiestas. La justificación de este último comportamiento radica en que si bien el sistema arterial no es un conducto único, está constituido por un conjunto de ramificaciones tubulares. Adicionalmente, debe considerarse el efecto de atenuación, producto de la viscosidad de la pared arterial, sobre las ondas que se propagan por la red (Taylor, 1966). Uno de los aspectos de mayor relevancia, es la relación inversa existente entre frecuencia y longitud de onda, ya que las longitudes de onda correspondientes a las altas frecuencias interpondrán diferencias de fase significativas entre las ondas provenientes de distintos sitios de reflexión. Es por ello que la consideración del gradiente de rigidez en conjunto con la naturaleza distribuida de las terminaciones constituye una contribución significativa en el comportamiento integral del sistema arterial (Taylor, 1966). En términos de procesamiento no lineal, dicho comportamiento puede ser expresado en múltiples escalas y consecuentemente evaluado a través de una medida fractal. La pérdida de componentes de alta frecuencia resulta característica de la pérdida de complejidad y puede ser vinculada a la presencia de patologías. Efectivamente, esta última apreciación forma parte del marco conceptual *salud/enfermedad y Dimensión Fractal (DF)*, adoptado según los lineamientos del presente trabajo. En este sentido, los modelos de redes de transmisión basados en fractalidad han sido empleados consistentemente en el estudio de la circulación (Milnor, 1989). En Brown, (1996) se desarrollaron simulaciones de redes arteriales concebidas en base a reglas fractales, donde son extendidas las premisas propuestas por Taylor. Uno de los hallazgos más prominentes radica en que independientemente de la distribución dicotómica de las ramificaciones y a la aplicación de una ley de potencia a la relación entre sus dimensiones, la asimetría característica de las bifurcaciones cumple un rol fundamental. Este fenómeno es responsable de una marcada reducción en el coeficiente de reflexión y por ende influencia las oscilaciones espectrales presentes en la impedancia de entrada.

Los fenómenos de dispersión en las mediciones fisiológicas constituyen una realidad inevitable. La problemática radica en la metodología para cuantificarlos, independientemente del tamaño del dominio considerado. Si bien resulta factible la coincidencia en los valores medios, no ocurre lo mismo con los de varianza relativa, ya que esta última depende de la escala de medición seleccionada para estimar el parámetro. En este tipo de situaciones es

donde el concepto de fractalidad interviene de manera irrefrenable (Bassingthwaighte, 1988). En Mandelbrot, (1983), dicha visión es asociada por primera vez a las estructuras fisiológicas. En este sentido, se efectúa referencia expresa a la conformación de redes vasculares a partir de reglas fractales. Derivado de ello, ha sido formulada una hipótesis de aceptable consistencia: si la geometría de los lechos vasculares responde a una estructura fractal, ¿no es esperable que la presión de perfusión y el flujo sean gobernados por dicha geometría? (Bassingthwaighte, 1988). El impacto de dicha estructura sobre P_A , su vinculación con estados patológicos ligados R_A y la presencia de reflexiones periféricas ha constituido la gran premisa del presente estudio.

La división dicotómica de las ramificaciones del árbol arterial le provee su primera característica fractal, pero de la manera más rudimentaria. Efectivamente, el resultado es una estructura abierta, constituida por segmentos vasculares y bifurcaciones, las cuales constituyen el bloque universal de la red arterial (Zamir, 1999). Conforme se ha expresado anteriormente, la asimetría presente en cada división vascular afecta las magnitudes de los ángulos, longitudes y diámetros asignados a las ramas generadas. Las bifurcaciones simétricas dan como resultado una red que progresa rápidamente, con una reducción pronunciada de sus diámetros. Dicha estructura arterial ha sido observada a nivel coronario, en aquellos vasos que se introducen en el miocardio para alcanzar el lecho capilar, conformando un patrón de *entrega* de fluido sanguíneo (Zamir, 2001). Situación contraria es la de bifurcaciones cuya asimetría es altamente marcada. La rama base mantiene su estructura, ya que su reducción es mínima en cada proceso. Nuevamente en términos de la circulación coronaria, dicha estructura es identificable con las grandes arterias que rodean al corazón y corresponde a patrones de *distribución* de fluido sanguíneo (Zamir, 2001). No obstante, si bien el factor de asimetría es preponderante para la formación de las estructuras mencionadas, presenta variabilidad en las redes vasculares, ya que no permanece constante de un nivel a otro. Debido a que no hay motivo para considerarlo puramente aleatorio, podría resultar dependiente de la anatomía local, o responder a requerimientos específicos de flujo (Zamir, 2001).

En virtud de lo expuesto, la génesis fractal de la red arterial resulta inobjetable. Por esta razón, se ha evaluado el comportamiento temporal de sus variables hemodinámicas asociadas, partiendo de metodologías de procesamiento acordes a dicha concepción. No obstante, si bien han sido reportados estudios en relación a la asignación de los parámetros geométricos correspondientes a cada ramificación (Murray, 1926; Pollanen, 1992; Zamir, 1999), no han sido evaluadas asignaciones vinculadas a la conformación intrínseca de la pared arterial. Se ha puesto de manifiesto previamente, que la acción de los componentes viscoelásticos de esta última resulta altamente determinante en términos de impedancia arterial. Consiguientemente, el fenómeno auto-afín observado en las series de P_A podría ser modelado a partir de la interacción de las componentes propagatorias reflejadas, cuya distribución dentro de la morfología es producto de las alteraciones biomecánicas locales (o eventualmente sistémicas) de la vasculatura arterial.

Efecto Estiramiento (Unwrinkling)

La caracterización de los cambios morfológicos experimentados por la forma de onda de P_A derivó en la implementación del término *unwrinkling* (*en inglés*). Dicha manifestación fue observada inicialmente en las experiencias invasivas efectuadas sobre la red coronaria. El incremento en la rigidez vascular, inducido por la activación de ML , resultó concomitante con un aumento y la pérdida de rugosidad en la estructura de la serie temporal. El mismo comportamiento pudo ser apreciado además, ante eventos obstructivos de la aorta descendente (ausencia de ondas periféricas reflejadas) y en los análisis de las variaciones morfológicas de presión en las arterias carótida y femoral. De esta manera, el fenómeno de escalamiento acusado por ondas mecánicas en su recorrido desde el miocardio, podría ser conceptualizado en términos de un *estiramiento* (*unwrinkling*), según puede ser apreciado en la [figura 17](#).

Influencia de la Onda Reflejada

Nótese que en los ensayos *in vitro* sobre el sistema cardiovascular SCV , la variación de R_A propia del conducto pudo verse reflejada en pérdidas de complejidad estructural en P_A y D_A , en ausencia de un SCV distribuido. Efectivamente, las ondas resultaron modificadas estructuralmente como resultado de la presencia de un reservorio de líquido que actuó como complianza (efecto W_K) y un marcado sitio de reflexión de ondas proporcionado por la obstrucción hidráulica. Es por ello que se ha sugerido que los cambios experimentados por la respuesta vascular entre variaciones de flujo, fueron determinantes en la conformación de la estructura fina de las ondas generadas. Considerando los efectos sistémicos, el SCV emplea el efecto W_K (a través de los grandes conductos arteriales) de modo de atenuar la pulsatilidad del fluido y asegurar un régimen cuasi-estable a nivel capilar ([figura 17](#)).

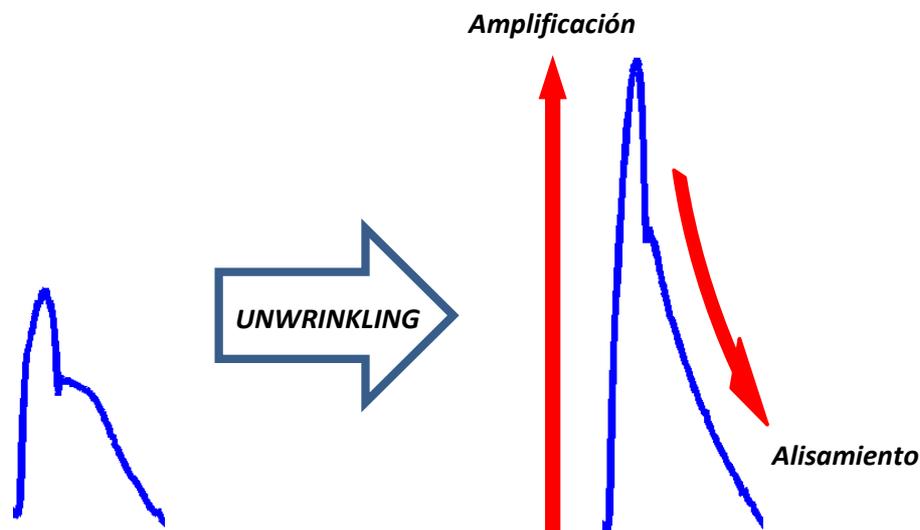


Figura 17. Efecto *unwrinkling* (estiramiento) denotado por acciones de amplificación y pérdida de rugosidad en la forma de onda (Fuente de datos: [Cymberknop et al., 2011](#)).

La complejidad estructural de la onda de presión aórtica pesar de encontrarse limitada en su contenido frecuencial (producto de la acción de amortiguamiento), manifiesta elevada irregularidad en términos morfológicos. La presencia de reflexiones de ondas, provenientes de los múltiples sitios de ramificación vascular, modifica su contorno de manera sustantiva. Se ha expresado previamente, que bajo estados patológicos tales como HTA , el incremento en R_A representa una disminución en la complianza global del sistema. Como consecuencia de

ello, la eliminación de las fluctuaciones de frecuencia elevada resulta menos eficiente. Asimismo, el incremento resultante en *VOP* genera un retorno temprano de las ondas periféricas hacia el músculo cardíaco, incrementando la presión en la región de la aorta abdominal (Westerhof *et al.*, 2010). En términos de fractalidad, el procesamiento de las formas de onda de P_{AO} denota que las mismas acusan menos rugosidad, respecto de estados de normalidad. A partir de lo expuesto, podría inferirse que la *dispersión* de las reflexiones en torno a la estructura ejerce un rol fundamental. El retorno temprano de la onda reflejada no sólo aumenta el valor máximo de P_A durante el transcurso de su excursión sistólica, sino que influye sobre la *distribución de las singularidades* que conforman la morfología de latido. Dichas alteraciones son diferenciadas de manera rotunda por la variación de *DF*, que efectivamente acusa el fenómeno de *unwrinkling*.

Fractalidad y Patologías Cardiovasculares

Usualmente, el procesamiento de variables fisiológicas en la diferenciación de salud y enfermedad, supone la aplicación de métodos estadísticos (Goldberger *et al.*, 2002). Seguidamente, se aplican modelos lineales basados en resistencias y complianzas, ya sea de tipo concentrado (W_K) o distribuido. Sin embargo, el empleo de teorías lineales sobre relaciones puramente no lineales implica pérdida específica de información. Una demostración de ello se sustenta en que deja ser válido el principio de superposición (Henry *et al.*, 2000). Es por ello que tanto los procesos estadísticos como los modelos lineales resultan incapaces de distinguir la complejidad estructural (o rugosidad fina, no observable a simple vista) presente en la serie bajo estudio. La composición morfológica de la serie puede apreciarse a través del ordenamiento de sus puntos o en virtud de la presencia de patrones característicos (Goldberger *et al.*, 2002). De acuerdo a lo expuesto, el comportamiento complejo manifestado por los sistemas vasculares debería ser evaluado a partir de herramientas más apropiadas, derivadas de la dinámica no lineal.

En términos generales, la cuantificación de complejidad puede efectuarse a través de métodos pertenecientes a la teoría del caos (Kaplan *et al.*, 1991). El caos está presente en un subtipo específico de sistemas no lineales, los cuales son altamente sensibles a las condiciones iniciales. Resultado de ello, se presenta la imposibilidad de predecir fácilmente su comportamiento a largo plazo (Henry *et al.*, 2000). Varios estudios han demostrado que en oposición al principio homeostático, ciertos sistemas fisiológicos exhiben *caos determinístico*. Este tipo de caos, no involucra elementos de carácter aleatorio y converge a un estado complejo de predecir, resultado explícito del grado de sensibilidad mencionado. En este sentido, en la actualidad se asume a la evolución caótica como de tipo determinístico, considerando a los procesos aleatorios como una aproximación válida en numerosos casos prácticos. La diferencia entre ambas situaciones no constituye entonces una propiedad del sistema, sino una limitación propia del observador (Schuster, 1995). Consecuentemente, el desarrollo de determinadas patologías podría implicar el detrimento de un comportamiento de estas características (Goldberger *et al.*, 2002). Los sistemas no lineales, exhiben ciertos patrones bien definidos cuando transitan desde un comportamiento oscilatorio regular, perfectamente identificable a través de las series de Fourier, hacia un estado caótico (Stergiopoulos *et al.*, 1998). Por esta razón, diversos sistemas complejos ligados a un estado de caos determinístico, se encuentran representados por series temporales que se manifiestan en múltiples escalas temporales (información multi-escala). Dicha condición resulta indicativa del desarrollo de una naturaleza fractal (Goldberger *et al.*, 2002).

El análisis no lineal de parámetros fisiológicos a través de *DF* ha sido reportado por varios autores (Sharma *et al.*, 2009). El procesamiento de series patológicas sobre la frecuencia cardíaca, ha puesto de manifiesto una disminución en *DF*, resultado de la ausencia de múltiples escalas temporales, vinculadas a las altas frecuencias. En el contexto de la falla cardíaca crónica, se ha observado una merma en la complejidad fractal de las series y dicha disminución es la que se encuentra asociada a un incremento en la mortalidad (Sharma *et al.*, 2009). A partir de lo expuesto, las metodologías derivadas de la dinámica no lineal para el

análisis de la *VFC* han sido reportadas extensamente en *Voss et al, (2009)*. Las fluctuaciones complejas han sido observadas además en la respiración, la presión sanguínea sistémica, el andar humano, el conteo de glóbulos blancos y en la cinética de los canales iónicos, entre otros (*Goldberger, 2002*). Asimismo, la estimación de *DF* (conjuntamente con otras técnicas no lineales) se ha aplicado consistentemente al procesamiento de *ECG*, con el fin de identificar estados específicos de la salud miocárdica, basados en la clasificación de arritmias (*Mishra y Raghav, 2010; Tavassoli, 2012*).

Ecuación Constitutiva de la Pared Arterial

El desarrollo de un modelo representativo del comportamiento de la pared arterial implica, como primera premisa, la identificación apropiada de los parámetros que gobiernan su función. En el análisis de la respuesta mecánica vascular, P_A constituye el fenómeno responsable de la excitación del modelo, mientras que la variación de D_A se manifiesta como su respuesta asociada. El enfoque clásico, sugiere utilizar componentes elementales que presentan una característica dominante, con el objeto de que su respuesta combinada permita estimar el comportamiento observado (*Milnor, 1989*). El análisis del recorrido del bucle tensión-deformación, da cuenta de la presencia de componentes elásticas puras (resortes ideales), inerciales puras (masas ideales) y viscosas puras (amortiguadores ideales). La acción conjunta de las mismas representará a la tensión ejercida por la pared para oponerse al estiramiento o demanda mecánica aplicada la misma (*Armentano et al, 2005*).

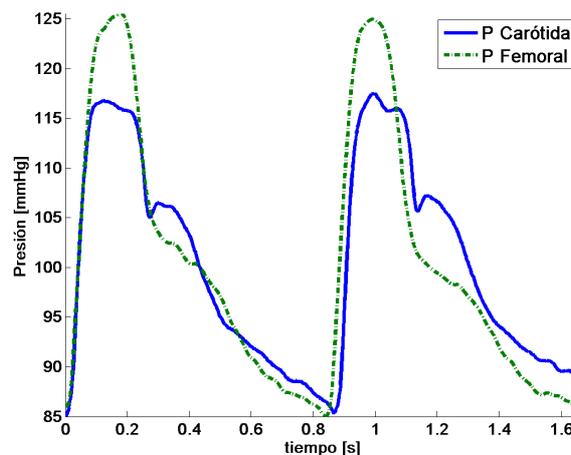


Figura 18. Series temporales de presión arterial en arteria carótida (línea sólida) y arteria femoral (línea a rayas) donde pueden observarse en forma simultánea las variaciones morfológicas vinculadas a la presencia del factor de amplificación.

Los resortes ideales se encuentran caracterizados por su constante elástica E_H , conforme lo expresado por la ley de Hooke. La misma supone una relación lineal entre la tensión aplicada (σ) y la deformación longitudinal experimentada (e). En el caso de los amortiguadores ideales, la constante de amortiguamiento (η_p) constituye la relación existente entre s y la tasa de cambio temporal de e . Las componentes elásticas presentan reacción a la magnitud de la deformación, mientras que las componentes viscosas reaccionan a la velocidad con que dicha deformación tiene lugar. En virtud de lo expuesto, las componentes inerciales (M) reaccionan a la tasa de cambio de la velocidad. Estas últimas suelen ser despreciadas debido a su escasa contribución. Las expresiones resultantes, para las componentes mencionadas, se resumen a continuación (*Milnor, 1989*):

$$\sigma_E = E_H \varepsilon \quad ; \quad \sigma_\eta = \eta_P \frac{d\varepsilon}{dt} \quad ; \quad \sigma_M = M \frac{d^2}{dt^2}$$

Se define como elemento de *Maxwell*, a la combinación de un componente elástico y otro viscoso, dispuestos en serie. Por otra parte, el elemento de *Kelvin-Voigt* utiliza los mismos componentes pero dispuestos en paralelo. Una tercera combinación es denominada elemento de *St. Venant*, donde se incorpora un componente elástico en serie al elemento de Kelvin-Voigt. Esta última es la que más se aproxima, en un principio, al comportamiento viscoelástico manifestado por los conductos arteriales (Figura 18). La misión del componente elástico es la de absorber los impactos producidos por la pulsatilidad característica de la onda de P_A . El mismo acumula energía cinética durante la sístole, la cual será devuelta durante la diástole, ante la ausencia del estímulo. El objetivo del amortiguador viscoso es el controlar la intensidad en la devolución de dicha energía, protegiendo al elemento elástico de reacciones bruscas que conduzcan a la pared, al impactar contra el fluido, hacia un régimen de oscilación permanente. Resumidamente, la función del amortiguador es la de *disipar* en forma de calor parte de la energía entregada por el elemento elástico (Milnor 1989, Armentano et al, 2005, 2007).

Resulta necesario destacar, que el modelo adoptado para representar la conducta de la pared arterial, deberá contemplar la capacidad de la misma para regular *activamente* su efecto de amortiguamiento. El tejido vascular se comporta como un material inteligente, con capacidad de ajustar los valores correspondientes a las componentes elástica y viscosa, con el fin de adaptarse en forma óptima a las diversas condiciones de pulsatilidad u oscilación, ya sea a corto, mediano o largo plazo (Armentano et al, 2005).

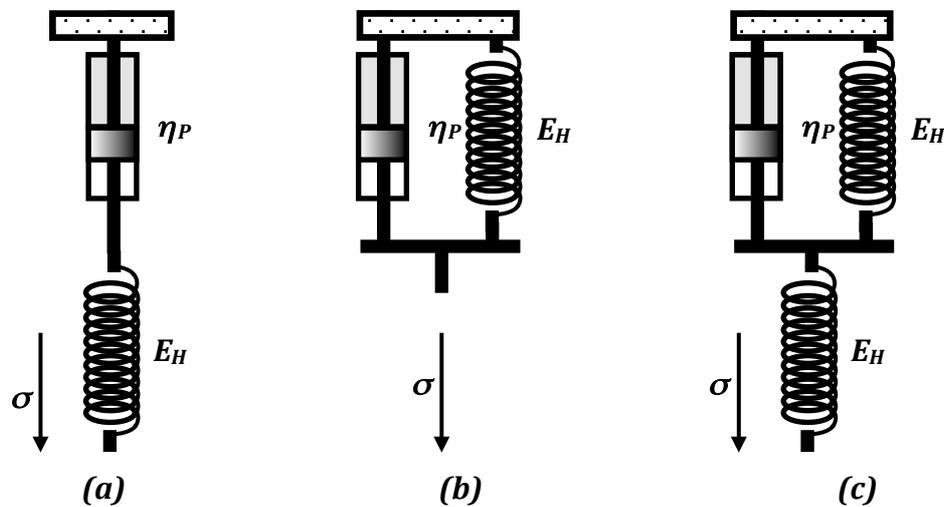


Figura 19 Modelado de la pared arterial en base a componentes elásticos (E_H) y viscosos (η_P) conforme la tensión aplicada (σ). (a) Modelo de Maxwell (b) Modelo de Voigt (c) Modelo de St. Venant.

Modelado de la Conducta Elástica de la Pared Arterial

La conducta no lineal de la respuesta elástica pasiva (representada por el conjunto elastina-colágeno) puede representarse en función de la combinación de dos módulos elásticos, uno de ellos para las fibras de elastina (E_E) y el otro correspondiente a las de colágeno (E_C). Este último se encuentra afectado por una función no lineal (f_C) que representa

la proporción de fibras de colágeno que se encuentran soportando la tensión (Armentano et al, 2005), y puede expresarse de la siguiente forma:

$$E_{PEC} = E_E + E_C f_C,$$

A niveles de P_A no elevados, la C_{TD} manifiesta un comportamiento lineal, dominado exclusivamente por la acción de las fibras de elastina. Lo expresado implica que la acción de las fibras de colágeno recién toma lugar una vez superado un umbral de excitación, relacionado con deformaciones exigentes. Físicamente las fibras de elastina son modeladas a partir de un elemento elástico. Por su parte, las fibras de colágeno son modeladas en forma similar, pero se diferencian de estas últimas debido a que son *reclutadas* conforme el nivel de tensión alcanzado. Dicha acción de reclutamiento puede asociarse a un conjunto de componentes elásticos los cuales se van tomando lugar (se activan) en relación al grado de deformación al que se encuentra sometida la pared arterial. Como consecuencia de ello, puede observarse una oposición gradual (figura 20), de respuesta no lineal, al estiramiento impuesto por P_A en el interior del lumen del conducto (Armentano et al, 2005):

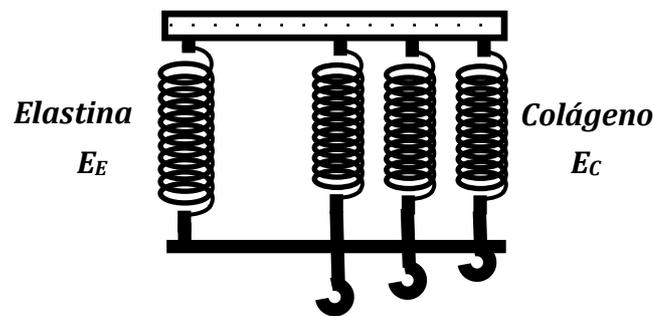


Figura 20 Modelado de la pared arterial e incorporación de la función de reclutamiento de las fibras de colágeno. Estas últimas se activan (enganchan) conforme el nivel de tensión ejercido sobre la pared, denotando una respuesta de tipo no lineal.

La función de reclutamiento de las fibras colágenas puede expresarse mediante una función de morfología normal, cuyos coeficientes se obtienen mediante ajustes no lineales. A bajos niveles de tensión, f_C tiende a ser nula, siendo coherente con una respuesta elástica pura, vinculada exclusivamente a las fibras de elastina (Armentano et al, 1991). En relación a ML , que en rigor de verdad no es considerado elástico pasivo sino elástico activo, el modelo propuesto por Kelvin resulta el más adecuado para su representación (Armentano et al, 1995). El mismo está constituido por un componente elástico en serie con un componente contráctil (generador de fuerza) con propiedades viscosas. Paralelo a éste se dispone un componente de viscosidad que sólo se encuentra presente durante la activación (η_A). En forma semejante a las fibras de colágeno, la respuesta desarrollada por ML se encuentra gobernada por un módulo de elasticidad (E_{ML}) afectado por una función de activación no lineal (f_{ML}) (Armentano et al, 1995).

Resultado de lo expuesto, la conducta de la pared puede expresarse como la combinación de las respuestas elásticas, viscosas e inerciales definidas en párrafos precedentes. El parámetro E conjuga el comportamiento elástico relacionado con la acción de las fibras de colágeno, elastina y músculo liso, en estado de activación. Los efectos físicos relacionados con velocidad de la deformación se encuentran contemplados por el parámetro viscoso que modela al músculo liso en reposo (η_P). Aquellos efectos relacionados con la aceleración de la deformación son representados por conducta inercial propia de la pared (M). Resumidamente,

la ecuación gobernante de la relación tensión-deformación arterial puede expresarse de la siguiente manera:

$$\sigma = E\varepsilon + (\eta_A + \eta_P) \frac{d\varepsilon}{dt} + M \frac{d^2\varepsilon}{dt^2},$$

$$E\varepsilon = E_E(\varepsilon - \varepsilon_0) + E_C f_C \varepsilon + E_{ML} f_{ML} \varepsilon,$$

donde pueden contemplarse en cada término las conductas correspondientes a las fibras de elastina, colágeno y células de músculo liso (E_E , E_C y E_{ML} respectivamente) y los efectos inerciales y viscosos (M y η_P) representados en el modelo de Kelvin-Voigt, σ constituye la excitación a la que se encuentra sometida la pared mientras que ε es la deformación experimentada por la misma y ε_0 representa el estado de deformación arterial previo a la excitación.

Por definición la relación tensión-deformación elástica pura se desarrolla siguiendo el mismo lugar geométrico ya sea para aumentos en la deformación como para la disminución, por lo tanto en este diagrama el lazo de histéresis no aparece. Bajo tales bases hemos desarrollado un algoritmo para encontrar la relación elástica pura, sustrayendo las tensiones viscosas e inerciales hasta hallar un valor óptimo utilizando el criterio de la desaparición del lazo de histéresis que se desarrolla a partir de la ecuación anterior. En un primer paso, M fue considerado nulo y se incrementó los valores de η desde cero hasta un valor en el cual la superficie de la relación tensión-deformación encuentra un mínimo sin alterar el sentido horario de circulación. Se fija ese valor de viscosidad y se comienza a incrementar M hasta lograr la desaparición total del lazo de histéresis. El procedimiento anteriormente descrito se ha graficado en la [figura 21](#).

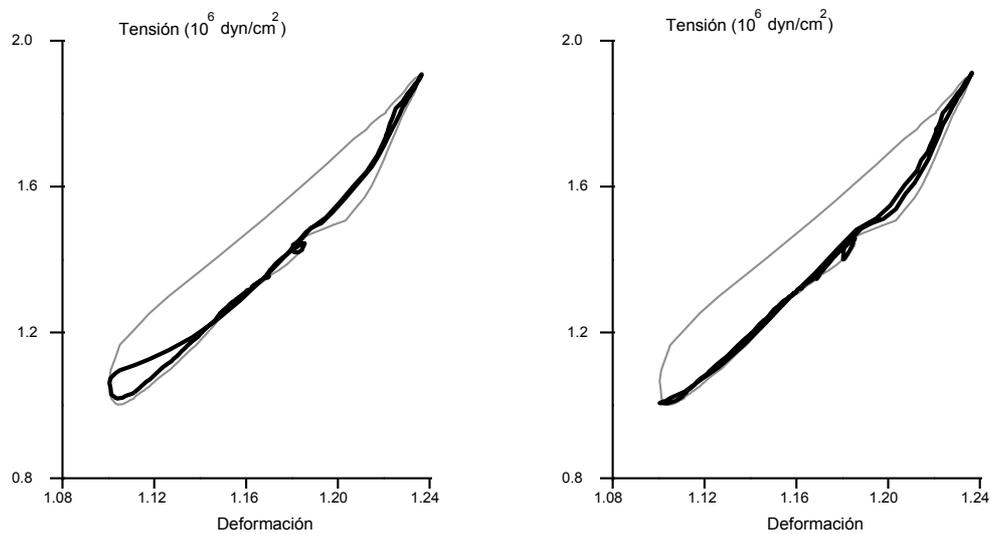


Figura 21. Determinación de la relación tensión-deformación elástica pura. La relación tensión-deformación aórtica (línea fina) involucra las propiedades elásticas, viscosas e inerciales conformando un lazo de histéresis. Izquierda: Mínimo valor de superficie encontrada mediante la sustracción viscosa (línea gruesa). Obsérvese el área remanente correspondiente al comienzo del rulo. Derecha: Incrementos ulteriores del módulo inercial producen la desaparición total del lazo de histéresis. La relación elástica pura (línea gruesa) es coincidente con la relación tensión-deformación diastólica (Armentano, 2012).

Como se desprende en la [figura 22](#) la conducta mecánica de la pared arterial es esencialmente viscoelástica. Es interesante destacar que bajo activación del músculo liso por fenilefrina ($5\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$), además de aumentar la rigidez de la pared arterial, la viscosidad de la pared se incrementa notoriamente sugiriendo que la conducta viscosa

refleja el estado de actividad de las células de músculo liso, material viscoso por excelencia (Armentano, 1995). Lo más destacado de esta conducta es que el aumento en viscosidad podría estar relacionado con el aumento en presión (propio de un estado generalizado de vasoconstricción mediado por la activación del músculo liso) como cualquier material de uso industrial. Pero se ha demostrado que la viscosidad es independiente de los cambios en presión y sólo aumenta por cambios en las fibras de músculo liso (Armentano, 1996).

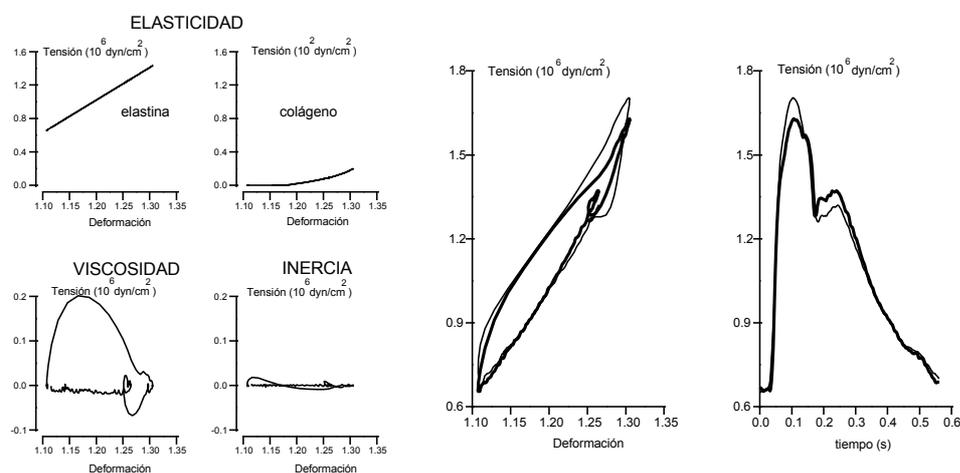


Figura 22. Contribución individual de las propiedades elásticas, viscosas e inerciales a la conducta mecánica de la pared arterial en un latido cardíaco. Izquierda: Conducta individual de los componentes simulada a partir de la ecuación constitutiva de la pared y tomando como entrada la deformación medida en un animal en situación control (sin el músculo liso activado). Derecha: Obsérvese en trazo grueso la relación tensión-deformación simulada a partir de las relaciones individuales presentadas en el panel izquierdo. En trazo fino la relación tensión-deformación medida para ese animal (Armentano, 2012).

Mecánica Endotelial

La *dinámica del sistema arterial* involucra el análisis de sus componentes: la pared de las arterias, la sangre y la interrelación entre ambas, que puede estar relacionada con procesos complejos que ocasionan enfermedades arteriales (Pessana, 2013).

El objetivo de esta sección es evidenciar una relación entre el comportamiento elástico de la pared y el cizallamiento de la sangre sobre la pared mediado por el endotelio. Para este fin se caracterizó el comportamiento elástico arterial en segmentos arteriales bovinos intactos y desendotelizados, sometidos a diferentes niveles de viscosidad sanguínea y manteniendo niveles constantes de flujo.

Se trabajó con 7 segmentos arteriales ovinos del tronco braquiocefálico. Todos los segmentos arteriales intactos y luego de la remoción de endotelio, fueron colocados en un sistema de circulación in vitro (Pessana, 2013). La viscosidad sanguínea se obtuvo con un software especializado del viscosímetro empleado (Brookfield Digital Viscometer, LVDT-II+, Stoughton, MA, U.S.A.).

Para establecer una relación entre la pared arterial y su comportamiento con y sin endotelio ante diferentes viscosidades sanguíneas. Los estudios histológicos realizados en los segmentos arteriales confirmaron la remoción de endotelio y la integridad de las tunicas media y adventicia. Los incrementos en el hematocrito sanguíneo siempre resultaron en incrementos en el diámetro arterial medio (en valores absolutos). Esencialmente, los cambios en el diámetro arterial medio inducidos por incrementos de viscosidad sanguínea fueron más pronunciados en arterias intactas respecto a las arterias sin endotelio (figura 23), (Pessana, 2013).

Para resumir en una sola variable los cambios de diámetro pulsátil opuestos experimentados en las arterias intactas y desendotelizadas, se definió una nueva variable DPD expresada como:

$$\Delta PD = (PDIA_a - PDIA_0) - (PDDE_a - PDDE_0)$$

donde $PDIA_a$ es el diámetro pulsátil verdadero a cada nivel de viscosidad diferente y $PDIA_0$ es el valor inicial del diámetro, ambos definidos para arterias intactas. De la misma manera, $PDDE_a$ y $PDDE_0$ son el diámetro pulsátil verdadero a cada nivel de viscosidad diferente y el valor inicial del diámetro de los segmentos arteriales sin endotelio.

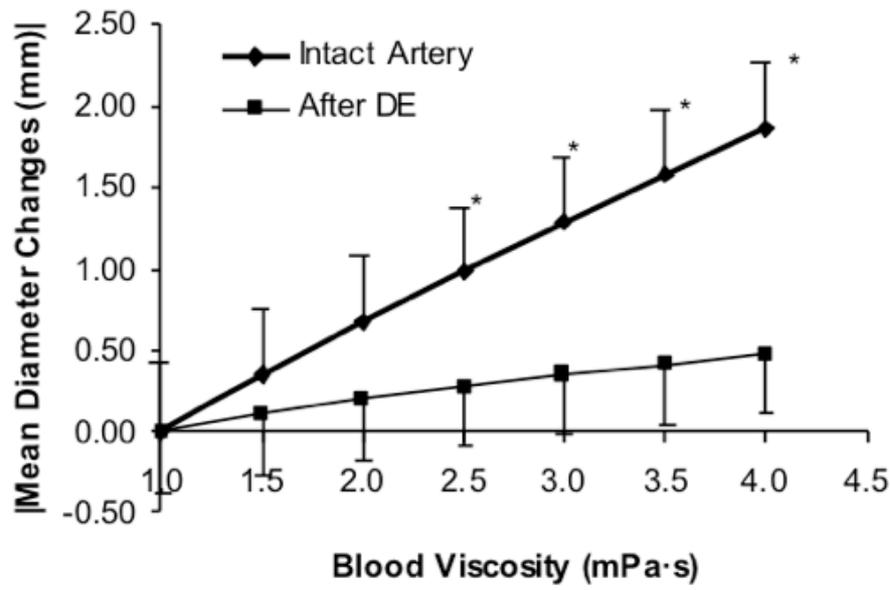


Figura 23. Cambios de diámetro (en valores absolutos) para arterias intactas y luego de la remoción de endotelio (DE), para diferentes niveles de viscosidad sanguínea. * $p < 0.05$ (Pessana, 2013).

Se pudieron observar diferencias significativas en DPD para niveles de viscosidad sanguínea superior a los 2.50 mPa·s, como puede apreciarse en la figura 24.

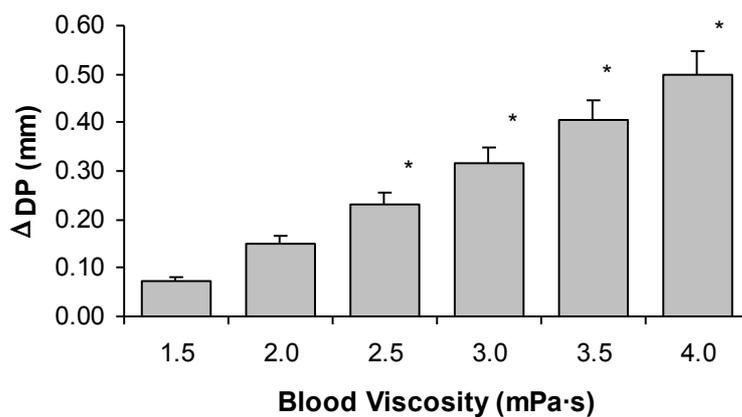


Figura 24. Cambios de diámetros pulsátiles medios (DPD) para diferentes niveles de viscosidad sanguínea. * $p < 0.05$ (Pessana, 2013).

Como se observa en la Figura 25, se encontró una relación inversa entre el módulo elástico incremental (E_{inc}) y los valores de viscosidad sanguínea.

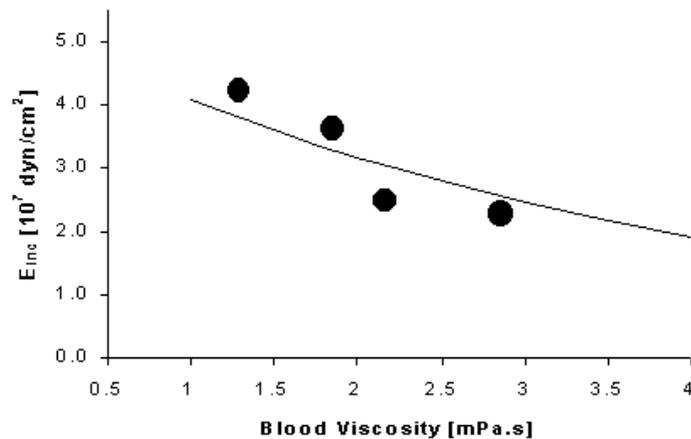


Figura 25. Análisis de regresión exponencial medio (línea sólida) para el módulo elástico incremental E_{inc} versus viscosidad sanguínea (círculos sólidos), correspondiente a una arteria intacta (Pessana, 2013).

Este comportamiento fue ajustado usando una regresión exponencial. Este procedimiento permitió un análisis de regresión exponencial en cada segmento arterial intacto y una regresión logarítmica para los segmentos arteriales desendotelizados. En ambos casos, se observaron altos coeficientes de correlación: $r=0.87\pm 0.12$ y $r=0.90\pm 0.09$, respectivamente. A partir de las curvas de regresión exponencial y logarítmica, se seleccionaron los valores de E_{inc} correspondiente a cada nivel de viscosidad sanguínea.

Tabla 1. Valores absolutos del módulo elástico incremental (E_{inc}) en arterias con y sin endotelio, a diferentes niveles de viscosidad sanguínea

Viscosidad sanguínea (mPa·s)	E_{inc} con endotelio (10^7 dyn/cm ²)	E_{inc} sin endotelio (10^7 dyn/cm ²)
2.00	3.11 ± 0.96	3.16 ± 0.89
2.50	2.82 ± 0.84	3.44 ± 1.05*
3.00	2.55 ± 0.77	3.68 ± 1.19*
3.50	2.31 ± 0.73	3.90 ± 1.31*
4.00	2.09 ± 0.74	4.10 ± 1.40*

Valores medios ± desvío estándar. E_{inc} , módulo elástico incremental. * $p < 0.05$ [52].

En la Tabla 1, pueden apreciarse los valores del módulo elástico incremental para diferentes valores de viscosidad, de los segmentos arteriales intactos y sin endotelio, obtenidos a partir de las regresiones exponenciales y logarítmicas (Pessana, 2013).

Finalmente, para los mismos niveles de viscosidad sanguínea, las variaciones del módulo elástico incremental respecto a su valor basal, ΔE_{inc} antes y después de la remoción del endotelio fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$), como puede apreciarse en la Figura 26, (Pessana, 2013).

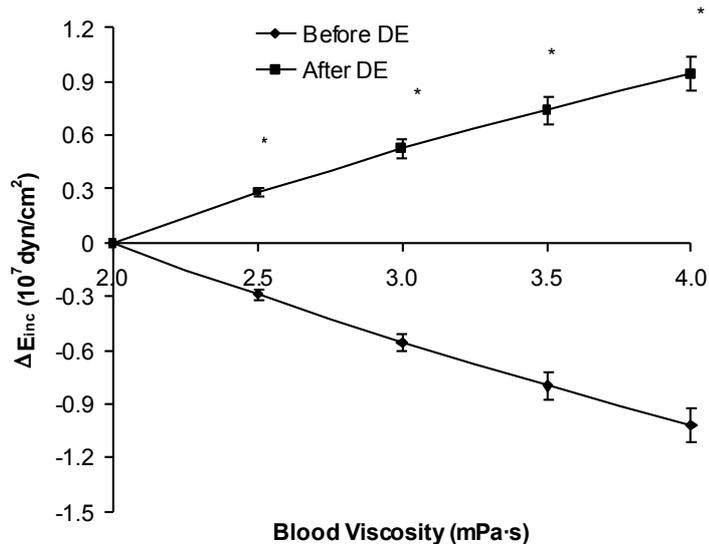


Figura 26. Valores de ΔE_{inc} para cada nivel de viscosidad sanguínea antes y después de la remoción de endotelio, indicando diferencia estadística ($p < 0.05$). Los valores de ΔE_{inc} fueron siempre significativamente diferentes comparados con el valor basal ($\Delta E_{inc} = 0$) (Pessana, 2013).

El mayor logro de este estudio fue que los incrementos en la viscosidad sanguínea determinaron disminuciones en el módulo elástico incremental para arterias intactas, mientras que similares incrementos en viscosidad sanguínea elevaron el módulo elástico en arterias desendotelizadas. Asimismo, se observaron que los aumentos en la viscosidad sanguínea indujeron cambios en los diámetros arteriales. Debido a que el efecto de un incremento en la viscosidad sanguínea podría ser comparado con las variaciones encontradas bajo modificaciones de tono del músculo liso, se pudo observar que incrementos en el tono del músculo liso (incrementos en viscosidad sanguínea después de la remoción de endotelio), tendieron a incrementar E_{inc} y a disminuir el diámetro pulsátil. Una disminución en el tono del músculo liso (aumento de viscosidad sanguínea en arterias intactas), tendieron a disminuir E_{inc} e incrementar el diámetro medio y pulsátil. La conjunción de estas condiciones fue una disminución de E_{inc} y una tendencia a la vasodilatación e incremento de diámetro pulsátil.

Por lo anteriormente dicho, la existencia del endotelio permite un incremento en la complacencia (inversa del módulo elástico), incluso aún más marcado que los factores relajantes dependientes de endotelio. En efecto, la elasticidad arterial fue modulada por la tensión de corte (a su vez dependiente de la viscosidad sanguínea). Definitivamente, la respuesta del módulo elástico incremental pareció estar mediada por factores de endotelio cuando la viscosidad aumentó. Los incrementos de E_{inc} luego de la remoción de endotelio contrastaron marcadamente con el comportamiento de las arterias intactas y esto fue consistente con trabajos previos (Pessana, 2013). Este efecto fisiológico podría proteger la integridad del acoplamiento ventrículo–arterial y podría sugerir que en una disfunción endotelial, los aumentos en la viscosidad sanguínea involucrarían cambios en el tono muscular y la rigidez arterial, perjudicando el funcionamiento del ventrículo izquierdo en su función como bomba de presión adaptativa.

Finalmente, estos resultados muestran que la elasticidad de la pared arterial determinada a partir de su módulo incremental E_{inc} estuvo fuertemente influenciada por la viscosidad sanguínea (y en consecuencia la tensión de corte), probablemente debido a la presencia o ausencia de factores relajantes del endotelio o activación del músculo liso arterial por esfuerzo e corte directo cuando las células endoteliales fueron removidas.

Las principales funciones del sistema cardiovascular se cumplen mediante acciones e interacciones mecánicas de sus componentes. La función de cada circuito hemodinámico puede analizarse estudiando la bomba (ventrículo) y los conductos (vasos sanguíneos), que funcionan latido a latido, en forma interrelacionada o acoplada (“acoplamiento ventrículo–arterial”). Un acoplamiento adecuado ventrículo–arterial se logra cuando la eficiencia

(relación trabajo efectivo o externo/consumo de oxígeno) de la bomba es elevada (Pessana, 2013). La frecuencia cardíaca se reconoce como uno de los principales factores determinantes del trabajo efectivo ventricular y del consumo de oxígeno miocárdico (Pessana, 2013). Sin embargo, la valoración de los efectos de la frecuencia cardíaca sobre la eficiencia ventricular es compleja, dado que en el sistema cardiovascular intacto, las modificaciones de la frecuencia se asocian a cambios en otros determinantes del trabajo y consumo de oxígeno miocárdico (por ejemplo inotropismo, precarga y poscarga ventricular) (Pessana, 2013). Al respecto, durante el ejercicio, el aumento del gasto cardíaco estaría determinado principalmente por el aumento del inotropismo ventricular y/o por la reducción de la poscarga (por ejemplo vasodilatación arteriolar en el músculo esquelético) (Pessana, 2013). En esta condición, el aumento de la frecuencia cardíaca no determinaría directamente un incremento significativo del gasto cardíaco, sino que tendría un rol permisivo en el aumento, que se explicaría por las modificaciones en los otros determinantes del trabajo miocárdico, debidas a los cambios en frecuencia (por ejemplo incremento frecuencia-dependiente del inotropismo) (Pessana, 2013). Asimismo, a diferencia de lo descrito para el inotropismo y la precarga, existen controversias acerca de cuáles son los efectos de los cambios en la frecuencia cardíaca sobre la poscarga dinámica ventricular.

La poscarga ventricular externa puede analizarse como la suma de dos componentes: el estático, que constituye aproximadamente un 80–95% de la poscarga externa total y es determinado por la resistencia vascular periférica, y el dinámico, que es fundamentalmente determinado por las propiedades geométricas y viscoelásticas arteriales (Pessana, 2013). Estas últimas determinan la impedancia al flujo durante la eyección, la función arterial de conducción y amortiguamiento y la capacidad de la arteria de disipar y almacenar energía en cada eyección (Pessana, 2013). Una pared arterial con mayores niveles de respuesta viscosa y elástica, determina una mayor impedancia al flujo (menor capacidad de conducción), mayor disipación de energía como calor (trabajo viscoso), a la vez que requiere un mayor gasto energético para la distensión de la pared arterial (trabajo elástico) [(Pessana, 2013)]. En trabajos previos se evidenció que los niveles de respuesta viscosa y elástica, así también como el trabajo elástico y viscoso, son modificados por la activación del músculo liso arterial (Pessana, 2013). Factores neurohumorales, entre los que se destacan los factores endoteliales vasoconstrictores y vasorrelajantes, regulan la actividad muscular lisa arterial, y consecuentemente el comportamiento biomecánico arterial (Pessana, 2013). El rol endotelial en el control del comportamiento biomecánico arterial ha sido caracterizado en términos de cambios en la complacencia y/o la respuesta elástica arterial (Pessana, 2013). Sin embargo, restan por ser establecidos los efectos del endotelio sobre la viscosidad, la función de conducción y amortiguamiento arterial, y sobre los determinantes de la poscarga dinámica ventricular externa (trabajo elástico y viscoso). Adicionalmente, se desconoce si el control endotelial de la poscarga dinámica varía a distintos niveles de frecuencia cardíaca.

Los objetivos de esta sección fueron caracterizar: 1) el rol del endotelio en la determinación de los niveles de respuesta viscosa, función arterial de conducción y amortiguamiento, trabajo elástico y viscoso realizado en cada latido, y 2) analizar el efecto del endotelio sobre los determinantes de la poscarga dinámica ante diferentes frecuencias cardíacas. Así, esta sección busca contribuir al conocimiento del rol fisiológico del endotelio en la determinación de la capacidad funcional arterial y de la poscarga dinámica ventricular. Para el cumplimiento de estos objetivos se realizaron estudios in-vitro que permitieron mantener controladas diversas variables que podrían influenciar los niveles de los parámetros biomecánicos y funcionales analizados.

Para poder comparar los cambios biomecánicos relacionados con la remoción endotelial y/o los cambios en frecuencia de estimulación, con independencia de los niveles de presión y flujo, se realizaron estudios isobáricos e isoflujo.

Los estudios histológicos confirmaron la adecuada remoción del endotelio, manteniéndose la integridad de la capa media y la adventicia.

La Tabla 2 presenta los valores hemodinámicos obtenidos durante las experiencias. Se observa que no hubo diferencias significativas en presión ni en flujo entre las diferentes condiciones experimentales, permitiendo el análisis isobárico e isoflujo de los datos.

Adicionalmente, puede notarse que para cada frecuencia, los cambios en diámetro producidos por la eliminación del endotelio no alcanzaron significancia estadística

Tabla 2. Parámetros hemodinámicos

Estado		60 (ciclos/minuto)	80 (ciclos/minuto)	100 (ciclos/minuto)
PS	CE	133 ± 6	132 ± 8	130 ± 8
	SE	129 ± 7	130 ± 9	132 ± 5
PD	CE	64 ± 4	65 ± 4	64 ± 6
	SE	62 ± 6	65 ± 6	63 ± 5
FM	CE	459 ± 32	460 ± 20	453 ± 31
	SE	456 ± 30	464 ± 27	455 ± 40
DM	CE	11.02 ± 1.08	10.87 ± 1.00	10.97 ± 1.24
	SE	10.94 ± 1.06	10.84 ± 1.19	10.89 ± 1.06

Resultados expresados como VM±DE. CE y SE: arterias con endotelio intacto y sin endotelio respectivamente. PS y PD: presión sistólica y diastólica respectivamente. FM: flujo sanguíneo medio. DM: diámetro arterial medio, (Pessana, 2013).

La Tabla 3 presenta los valores del módulo elástico, viscoso y de los parámetros calculados para cuantificar la función arterial. Para todas las condiciones de frecuencia de estimulación, la eliminación del endotelio determinó aumento del módulo elástico y viscoso, y de la velocidad de propagación del pulso ($p < 0.05$), mientras que redujo la función de conducción ($p < 0.05$) y no modificó la capacidad de amortiguamiento arterial. Se observa adicionalmente la reducción del módulo viscoso a mayor frecuencia de estimulación, particularmente cuando la capa endotelial estuvo intacta

Tabla 3. Parámetros viscoelásticos y de función arterial

Estado		60 (ciclos/minuto)	80 (ciclos/minuto)	100 (ciclos/minuto)
Elasticidad [10^6 Pa]	CE	2.1 ± 0.7	2.2 ± 0.6	1.9 ± 0.8
	SE	2.4 ± 0.8 ^a	2.5 ± 0.7 ^a	2.4 ± 0.7 ^a
Viscosidad [10^4 Pa·s]	CE	2.3 ± 0.4	2.2 ± 0.4	1.1 ± 0.5
	SE	2.6 ± 0.6 ^a	2.5 ± 0.6 ^a	1.9 ± 0.7 ^a
FA [10^{-2} Hz ⁻¹]	CE	7.1 ± 1.8	7 ± 1.2	7.2 ± 1.6
	SE	6.9 ± 1.1	7.1 ± 1.5	6.9 ± 1.4
FC [10^4 dina·s·cm ⁻⁵]	CE	10.83 ± 2.12	10.28 ± 1.95	10.84 ± 2.2
	SE	9.4 ± 1.94 ^a	8.99 ± 1.93 ^a	9.37 ± 1.72 ^a
VOP [m·s ⁻¹]	CE	8.26 ± 2.11	8.5 ± 1	8.09 ± 1.34
	SE	9.43 ± 1.98 ^a	9.55 ± 1.24 ^a	9.31 ± 1.78 ^a

Resultados expresados como VM±DE. CE y SE: arterias con endotelio intacto y sin endotelio respectivamente. FA: función de amortiguamiento. FC: función de conducción. VOP: velocidad de la onda de presión. ^a $p < 0.05$, respecto al estado con endotelio, (Pessana, 2013).

La Tabla 4 presenta los niveles de trabajo elástico y trabajo viscoso obtenidos al remover el endotelio y/o variar los niveles de frecuencia de estimulación de los segmentos. Para todas las condiciones de frecuencia de estimulación, la existencia de endotelio intacto permitió mantener reducido el trabajo elástico y viscoso ($p < 0.05$) necesarios para distender la pared arterial. El efecto reductor del trabajo elástico y viscoso fue mayor al aumentar la frecuencia cardíaca ($p < 0.05$), como puede observarse en la [figura 27](#).

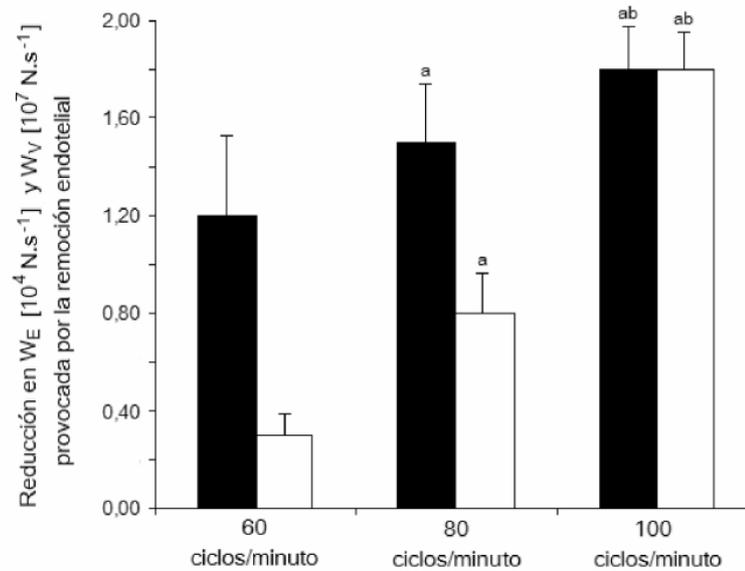


Figura 27. Cambios en trabajo elástico (W_E) (columnas negras) y trabajo viscoso (W_V) (columnas blancas), provocados por la eliminación del endotelio, para las tres frecuencias estudiadas. Datos expresados como $VM \pm DS$. Estadística: a y b: $p < 0,05$ respecto del cambio producido a frecuencia 60 y frecuencia 80 ciclos/minuto, respectivamente, (Pessana, 2013).

Tabla 4 Parámetros indicadores de poscarga dinámica ventricular

Estado		60 (ciclos/minuto)	80 (ciclos/minuto)	100 (ciclos/minuto)
W_{DE} [$10^4 N \cdot s^{-1}$]	CE	5.1 ± 1.7	7 ± 2.7	8 ± 3.1
	SE	6.1 ± 2.2^a	8.3 ± 3^a	$9.8 \pm 3.2^{a,b}$
W_{DV} [$10^7 N \cdot s^{-1}$]	CE	1.9 ± 0.5	3.3 ± 1.1	2.6 ± 1.5
	SE	2.3 ± 0.6^a	4 ± 1.2^a	$4.1 \pm 1.6^{a,b}$

Resultados expresados como $VM \pm DE$. CE y SE: arterias con endotelio intacto y sin endotelio respectivamente. W_{DE} : trabajo de disipación elástico. W_{DV} : trabajo de disipación viscoso. ^a $p < 0.05$, respecto al estado con endotelio. ^b $p < 0.05$, respecto del parámetro a 60 ciclos/minuto, (Pessana, 2013).

La presente sección contribuye al conocimiento del rol del endotelio en la determinación de los niveles de función arterial y poscarga dinámica ventricular por sus dos hallazgos principales:

- El endotelio permitió mantener bajos niveles de respuesta elástica y viscosa de la pared arterial, contribuyendo a mantener reducido el trabajo elástico y viscoso que debe realizar el ventrículo izquierdo en cada eyección, y elevada la capacidad de conducción arterial.
- El efecto reductor de la poscarga dinámica producido por el endotelio, fue mayor a medida que se incrementó la frecuencia de estimulación.

Como fue mencionado en la introducción, las respuestas elástica y viscosa de la pared arterial son determinantes de la función arterial y de los niveles de poscarga dinámica ventricular. En cada ciclo, el ventrículo entrega energía al sistema arterial. Parte de la energía entregada se emplea para distender la arteria (trabajo elástico), y depende del nivel de respuesta elástica del vaso, mientras que otra parte de la energía entregada por el ventrículo es disipada en la pared arterial como calor (trabajo viscoso), y depende del nivel de respuesta viscosa parietal. Cuanto mayor sean los módulos o respuestas elástica y viscosa, mayor será la poscarga dinámica ventricular.

Para todos los niveles de frecuencia de estimulación estudiados en presencia de endotelio, las respuestas elástica y viscosa se mantuvieron en niveles bajos (Tabla 3), contribuyendo a mantener reducidos el trabajo elástico y viscoso ventricular (Tabla 4). A pesar de no haberse obtenido reducciones significativas en los diámetros arteriales, la remoción del endotelio determinó un incremento de la respuesta viscosa y un aumento isobárico de la elasticidad, ambos fenómenos compatibles con un patrón de activación muscular (incremento del tono muscular liso) (Tabla 3). Consecuentemente, podría postularse que el endotelio regula la poscarga dinámica, contribuyendo a reducir el costo energético de la eyección ventricular, mediante un mecanismo activación del músculo liso dependiente.

Adicionalmente, el endotelio permitió mantener elevada la capacidad de conducción sanguínea arterial, con independencia del nivel de frecuencia (Tabla 3). Esto representaría un efecto beneficioso adicional para el sistema cardiovascular, ya que se facilitaría la conducción sanguínea (Pessana, 2013). Los cambios en la función de conducción fueron determinados fundamentalmente por la regulación de las propiedades parietales arteriales, más que por modificaciones en la luz vascular, ya que al remover el endotelio los cambios en el diámetro arterial no alcanzaron significancia estadística (Tabla 1). En este sentido, al igual que en trabajos previos, se evidencia que modificaciones en el tono muscular liso pueden tener importantes efectos sobre las funciones arteriales, sin determinar modificaciones en el diámetro arterial (Pessana, 2013). Finalmente, la función de amortiguamiento arterial no se modificó al eliminar el endotelio en ninguno de los niveles de frecuencia estudiados.

El efecto reductor del trabajo elástico y viscoso producido por el endotelio fue mayor a medida que el segmento arterial se sometió a mayores frecuencias de estimulación (Figura 28). Estos efectos podrían haber sido mediados por modificaciones en otros determinantes del comportamiento biomecánico vascular. Sin embargo, ajustes en los controles del simulador circulatorio, posibilitaron estudiar los segmentos en similares condiciones de presión, flujo, temperatura y viscosidad sanguínea, por lo que las modificaciones en el control endotelial de la poscarga dinámica a distintos niveles de frecuencia de estimulación no estarían vinculadas con cambios en esas variables.

Mediante una mayor reducción del trabajo elástico y viscoso –en condiciones de aumento de la frecuencia cardíaca– el endotelio permitiría mantener reducida la poscarga dinámica. Consecuentemente, al aumentar la frecuencia cardíaca, el gasto cardíaco podría incrementarse, además de por cambios frecuencia–dependientes en el inotropismo ventricular, por modificaciones en el control endotelial de la poscarga dinámica. En este sentido, ante aumentos de la frecuencia cardíaca (Pessana, 2013) (que provocarían un incremento proporcional del consumo de oxígeno ventricular), el endotelio mediante mecanismos dependientes de la frecuencia, reduciría la poscarga dinámica ventricular, y por tanto, el incremento resultante en el consumo de oxígeno miocárdico.

Como corolario de esta discusión, se puede concluir que el endotelio permitió mantener bajos los niveles de respuesta elástica y viscosa de la pared arterial, contribuyendo a mantener elevada la capacidad funcional arterial, y reducidos el trabajo elástico y viscoso que debe realizar el ventrículo izquierdo en cada eyección. El efecto reductor de la poscarga dinámica producido por el endotelio fue mayor a medida que se incrementó la frecuencia de estimulación. La mayor capacidad de reducir la poscarga, al aumentar el consumo de oxígeno (mayores frecuencias), supone un beneficio adicional para el corazón que contribuye a mantener elevada la eficiencia ventricular.

Comentarios finales

Hasta en presente, se han realizado estudios de las propiedades mecánicas de la aorta torácica descendente en animales conscientes en estados fisiológicos, bajo la acción de distintas drogas vasoactivas (angiotensina II, nitroglicerina, adrenalina y noradrenalina), en diversas condiciones de bloqueos farmacológicos (atropina, propranolol y atropina asociada con propranolol) y en condiciones fisiológicas normales sin ningún tipo de bloqueo. Por otro lado, fueron estudiados los efectos de la calcinosis experimental inducida por vitamina D3

sobre las propiedades viscoelásticas de la pared arterial en perros conscientes (Cabrera Fischer et al, 1991). A los mismos, se les indujo calcinosis a través de una dieta conteniendo 500000 UI de vitamina D3 por día durante 10 días. Antes y durante la administración de la vitamina D3 se estudiaron las propiedades viscoelásticas de la pared arterial. Este trabajo mostró que la calcinosis severa y acelerada que produce significativos depósitos de calcio a lo largo de todo el árbol arterial, está paradójicamente acompañada de una reducción en la rigidez de la pared aórtica, debido principalmente a los cambios estructurales y funcionales a las que fueron sometidas las fibras colágenas. Este fenómeno tiene importantes implicancias fisiopatológicas concernientes al desarrollo de aneurismas. En animales con hipertensión renovascular (Cabrera Fischer et al, 1993), se demostró que la acción de un inhibidor de la enzima convertidora actúa sobre la elasticidad de la pared arterial distendiéndola hasta restaurar los niveles compatibles con la normalidad además de la consabida disminución de la presión arterial, principalmente actuando sobre la conducta elástica de las fibras de elastina y músculo liso. Se ha demostrado (Armentano et al, 1991) que la relación entre la tensión y la deformación de la pared aórtica en animales conscientes es estrictamente no lineal y dicha relación está constituida por la característica elástica de las fibras de elastina, las cuales soportan la resistencia a la deformación a bajos niveles de presión, la característica elástica de las fibras de colágeno, las cuales soportan la resistencia a la deformación a muy altos niveles de presión, y una función no lineal que representa el reclutamiento de las fibras de colágeno conforme la arteria es distendida.

La contribución elástica del músculo liso vascular en animales conscientes ha sido llevada a cabo (Barra et al, 1993), utilizando un modelo de Maxwell modificado de tres elementos consistiendo en un componente contráctil (CEL) que actúa como un simple elemento viscoso (en el músculo en reposo no ofrece resistencia permanente al estiramiento). Se completa el modelo con un resorte elástico puro en serie (SEC) con CEL y un componente elástico en paralelo (PEC), que representa la conducta de la pared arterial cuando el músculo está relajado o bajo tono vasomotor normal con efectos elásticos despreciables. La caracterización total de las propiedades mecánicas que posee la pared arterial como todo sistema físico: elasticidad, viscosidad e inercia se realizó en animales crónicamente instrumentados (Armentano et al, 1995). La parte elástica pura se subdividió en las correspondientes a elastina, colágeno y músculo liso. Se desarrollaron un conjunto de procedimientos para la cuantificación de la histéresis que presenta la relación presión-diámetro de la pared arterial en términos de viscosidad e inercia. Con la totalidad de las propiedades mecánicas parietales identificadas, se desarrolló un modelo para una mejor comprensión de la fisiología y fisiopatología de las arterias. La aplicación del modelo desarrollado en la parte básica, a la relación presión-diámetro obtenida en forma no-invasiva en pacientes, ha sido llevada a cabo mediante un sistema de ecografía vascular para la medición instantánea del diámetro arterial y un método de aplanación vascular mediante un tonómetro de estado sólido para la medición de la presión. Esta metodología fue aplicada en las arterias superficiales de mayor interés como lo son las arterias carótidas y femorales, en presencia y ausencia de placas de ateroma no estenosantes. (Armentano et al, 1998). Se han estudiado las alteraciones de la viscosidad parietal en pacientes hipertensos y su relación con el espesor íntima-media (IMT) (Armentano et al, 1998). Para realizar este estudio se utilizó, un sistema de adquisición y procesamiento de imágenes ecográficas previamente validado mediante mediciones obtenidas por sonomicrometría (Graf et al, 1999). La correlación existente entre el espesor íntima-media (IMT) y el índice viscoso, en forma estadísticamente independiente de la presión, indica que la hipertrofia vascular se debe a una alteración predominante de la capa media de la arteria y no tanto de la capa íntima. La inercia parietal de la arteria carótida, también fue evaluada en personas normotensas e hipertensas, utilizando un modelo lineal discreto y autorregresivo (ARMA), que permite la estimación simultánea de la contribución elástica, viscosa e inercial de la dinámica parietal. El índice inercial se encontró elevado en los sujetos hipertensos y relacionados con el espesamiento íntima-medial de la arteria. Esto refuerza la idea de que la hipertrofia arterial está ligada a un fenómeno de crecimiento vascular en esta patología (Gamero et al, 1999). Para estudiar las propiedades

viscoelásticas de las arterias, y determinar el comportamiento dinámico de la pared, se desarrolló un modelo simplificado para la obtención simultánea de los módulos elásticos, inerciales y viscosos y se evaluó el módulo complejo de Young en función de la frecuencia, en animales conscientes. Se utilizó un modelo paramétrico para caracterizar la dinámica del sistema a partir de la medición de presión y diámetro de las arterias en condiciones basales y después de activación del músculo liso. En activación por fenilefrina, los tres módulos anteriores aumentaron significativamente. El módulo complejo de elasticidad normalizado (entre 1-10 Hz) mostró un valor similar a la literatura. Este módulo paramétrico permite verificar en una serie temporal, que la activación del músculo liso produce aumentos en los tres módulos, lo que sugiere una disminución de la función de amortiguamiento. (Gamero et al, 2001). Se realizó otro estudio, para investigar el rol del colesterol sobre los efectos arteriales de los medicamentos antihipertensivos. El análisis no invasivo del bucle presión-diámetro de las arterias carótidas de sujetos hipertensos, mostró que el colesterol sanguíneo tiene influencia en el tratamiento con drogas antihipertensivas. Estos resultados permiten demostrar que los medicamentos antihipertensivos producen un efecto vascular diferente en los sujetos hipertensos hipercolesterolémicos. (Armentano et al, 1995). Recientemente, para determinar la influencia del endotelio sobre el comportamiento biomecánico de la pared arterial, se han desarrollado dos protocolos distintos. El primero, estudió la dependencia endotelial de la elasticidad arterial modulada por la viscosidad sanguínea y la frecuencia cardíaca (Cabrera Fischer et al, 2001; Pessana et al, 2013). Dichos trabajos muestran que la elasticidad parietal de las arterias está influenciada por las condiciones reológicas de la sangre, probablemente debido a la presencia o ausencia de factores de relajación endotelial. Una acción directa del cizallamiento sobre el músculo liso vascular, a través de las células endoteliales, aumenta su elasticidad. En otro, se estudió la función endotelial de las arterias humanas. Para ello se desarrolló una nueva técnica para el estudio de la reactividad arterial, que ofrece la posibilidad de detectar una alteración de la función arterial ligada a un proceso de aterosclerosis precoz. Dicha alteración se traduce en una disminución de la vasodilatación, ante un aumento del débito arterial y depende de la integridad funcional del endotelio. Nuestra tecnología está basada en la manipulación automática de una sonda Doppler, comandada por un robot, que permite obtener un perfil de velocidades permanente, la estimación simultánea del cizallamiento y del diámetro arterial. Con la ayuda de esta tecnología, hemos testeado en sujetos sanos, la variación del diámetro de la arteria humeral en respuesta a una disminución y aumento del débito sanguíneo, provocado por una oclusión de la circulación del antebrazo, mediante un manguito neumático. La cinética del cizallamiento y del diámetro de la arteria humeral ha sido analizada antes, durante y después de la liberación de la oclusión de la circulación del antebrazo (Levenson et al, 2001). El estudio demostró que en la mujer existe una vasoconstricción y una vasodilatación, más pronunciada que aquella obtenida en el hombre. Se sugiere que existen sensibilidades diferentes, ligadas a cada sexo, en la regulación del tono muscular de las arterias de mediano calibre. Se realizó la unificación de la dinámica arterial, que está sustentada por todos los trabajos anteriores realizados por el grupo y la vasomotricidad de la pared arterial y su relación con el endotelio. Se unificó la ecuación constitutiva de la pared arterial, que analiza el continente de la arteria (pared), con la ecuación de Poiseuille, que caracteriza el continente (sangre).

Se ha desarrollado una sólida experiencia en valoración biomecánica y funcional de homoinjertos vasculares humanos y animales criopreservados: con análisis pre-implante y post-implante. Debido a la urgente necesidad mundial de contar con sustitutos vasculares (SV) que superen limitaciones biomecánicas existentes en los más utilizados en la actualidad (venas y sintéticos) y de contar con redes internacionales de intercambio de tejidos cardiovasculares, se ha propuesto utilizar arterias humanas como sustitutos vasculares. Esto constituye una alternativa interesante, pero se desconoce si las arterias obtenidas de donantes presentan un adecuado comportamiento hemodinámico y biomecánico, ya que las propias técnicas de procesamiento/almacenamiento usadas en bancos de tejidos, los procedimientos de envío de tejidos a distancia, y/o la propia interacción de la arteria con los tejidos del receptor, podrían alterar su funcionalidad. Nuestro grupo evalúa pre- y post-implante en

pacientes, las características biomecánicas y hemodinámicas de homoinjertos arteriales criopreservados utilizados con fines terapéuticos. Adicionalmente, trabajamos en el diseño de sistemas de intercambio intercontinental de tejidos Vasculares con el laboratorio de Materiales de la Universidad Politécnica de Madrid, analizado si los mismos permiten mantener inalteradas las propiedades biomecánicas de los tejidos (Bia et al, 2005; Bia et al, 2008a; Bia et al, 2008b, Zocalo et al, 2006). Posteriormente, se realizó un estudio piloto en un grupo de 78 pacientes hemodializados ambulatorios. En dichos pacientes, además de los parámetros bioquímicos, se evaluó la rigidez arterial de los mismos, de manera de evaluar el impacto de las fistulas arteriovenosas en las propiedades mecánicas (Bia et al., 2011; Graf y Cabrera Fischer, 2011; Galli et al., 2011). En lo concerniente a la aplicación de técnicas de ultrasonografía, se han perfeccionado métodos ultrasónicos para evaluar la elasticidad de las paredes arteriales, preferentemente en la utilización de la técnica de interferometría de speckle ultrasónico para realizar el método de seguimiento de la fase por correlación. Mediante este método, se ha estimado el incremento de tensión en la dirección radial arterial a partir del desplazamiento de las cuatro paredes arteriales sometidas en primera instancia a una variación de presión estática (cubriendo el rango fisiológico de presiones arteriales), y a partir de estos desplazamientos se ha calculado el módulo elástico del tejido de las paredes arteriales. La referencia a cuatro paredes implica la concepción de "pared externa" (límite adventicia-medio extravascular), "pared interna" (límite endotelio-líquido intravascular) y de las paredes arteriales cercana y distal al transductor ultrasónico (Benech y Negreira, 2005; Benech et al, 2007), donde se miden en forma no invasiva las propiedades elásticas de tejidos blandos, cuyo módulo elástico de compresión es mucho mayor que el módulo elástico de corte. A su vez, es posible estimar el módulo de corte a partir de la propagación de ondas de corte de baja frecuencia (~100 Hz) dentro del medio. La medición de la dinámica intraparietal se basa en el método de "push" acústico. El mismo consiste en excitar con presión de radiación acústica el interior de las paredes arteriales para generar ondas guiadas y de cizalla en las mismas. De esta manera, resulta posible evaluar su elasticidad y viscosidad dinámica. La técnica elastográfica "pasiva" a partir de un elastógrafo de 32 canales de recepción se utiliza para obtener los desplazamientos espaciales en el interior de la pared arterial producidos por la tensión de cizallamiento entre la misma y el flujo.

El estudio del envejecimiento humano presenta dificultades cuando se intenta diferenciar el proceso en si mismo de la enfermedad concomitante, así como también en la definición de normalidad o anormalidad de la progresión. El envejecimiento conjuga cambios estructurales y funcionales que se evidencian en variaciones de los parámetros vasculares. La falta herramientas adecuadas que posibiliten diferenciar los cambios vasculares esperados (normales, relacionados con el envejecimiento) de aquellos vinculados con la enfermedad vascular, no es un tema menor. Un diagnóstico temprano, relacionado con una enfermedad vascular, debería ser tan relevante como el diagnóstico de un envejecimiento vascular saludable. Estudios recientes han propuesto que la función de almacenamiento o reservorio, característica de la aorta y de las grandes arterias, juega un papel fundamental en la determinación de la morfología de la forma de la onda de pulso. La forma de onda de la presión arterial puede concebirse en términos de una componente de "reservorio", relacionada con la complacencia del sistema arterial y una presión de "exceso", vinculada con el fenómeno propagatorio.

Referencias

- Armentano R. L., Cymberknop L. J., Legnani W., Pessana F. M., Craiem D., Graf S. y Barra J. G., "Arterial pressure fractality is highly dependent on wave reflection", en *35th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society* (2013).
- Armentano R. L. *Innovación en Biomecánica orientada a la ingeniería de tejidos: Ingeniería Cardiovascular para a la caracterización de la pared arterial, de la sangre y de su interacción endotelial. (Spanish Edition). Autor: Ricardo L. Armentano. Paperback: 80 pages. Publisher: Editorial Académica Española (March 14, 2012). ISBN-10: 3847368125. ISBN-13: 978-3847368120*
- Armentano RL, Barra JG, Pessana FM, Craiem DO, Graf S, Santana DB, Sanchez RA. *Smart smooth muscle spring-dampers. Smooth muscle smart filtering helps to more efficiently protect the arterial wall. IEEE Eng Med Biol Mag* 26:62-70; 2007
- Armentano RL, Barra JG, Bia Santana D, Pessana FM, Graf S, Craiem D, Brandani LM, Baglivo HP, Sanchez RA. *Smart damping modulation of carotid wall energetics in human hypertension: effects of angiotensin-converting enzyme inhibition. Hypertension* 47:384-90; 2006.
- Armentano RL, Bia D, Craiem D, Gamero L, Levenson J, Grignola JC, Gines FF. *Respuesta en frecuencia de la pared arterial: ¿inocente o culpable de las discrepancias entre filtrados sistémico y pulmonar? Rev Mex Ing Biomed* 24:45-54; 2003
- Armentano R. L., Graf S., Barra J., Velikovskiy G., Baglivo H., Sánchez R., Simon A., Pichel R., Levenson J., "Carotid Wall Viscosity Increase Is Related to Intima-Media Thickening in Hypertensive Patients", en *Hypertension* (1998), 31(1):534 -539.
- Armentano R., Megnien J. L., Simon A., Bellenfant F., Barra J., y Levenson J., "Effects of hypertension on viscoelasticity of carotid and femoral arteries in humans", en *Hypertension* (1995), 26(1): 48-54.
- Armentano RL, Barra JG, Levenson J, Simon A, Pichel RH. *Arterial wall mechanics in conscious dogs: assessment of viscous, inertial, and elastic moduli to characterize the aortic wall behavior. Circ Res*; 76: 468-478; 1995.
- Armentano RL, Levenson J, Barra JG, Cabrera Fischer EI, Breitbart GJ, Pichel RH, Simon A. *Assessment of elastin and collagen contribution to aortic elasticity in conscious dogs. Am J Physiol*; 260: H1870-H1877; 1991.
- Barra 2002. *Tesis doctoral. Contribución del músculo liso vascular a la dinámica de la circulación en el estado normotenso y en la hipertensión experimental y clínica. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Juan Gabriel Barra. 2002.*
- Barra JG, Armentano RL, Levenson J, Cabrera Fischer EI, Pichel RH, Simon A. *Assessment of smooth muscle contribution to descending thoracic aortic elastic mechanics in conscious dogs. Circ Res* 73: 1040-1050; 1993.
- Baskurt O.K., M.R. Hardeman, M.W. Rampling, H.J. Meiselman *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics - Volume 69 Biomedical and Health Research. IOS press; 2007*
- Bassingthwaite J. B., "Physiological Heterogeneity: Fractals Link Determinism and Randomness in Structures and Functions", *News Physiol Sci*(1988), 3(1), 5-10.
- Benech N, et al. *Elasticity estimation by time-reversal of shear waves. Proceedings of the IEEE 2007. Ultrasonics Symposium*, 2263-2266, 2007.
- Benech N, Negreira C. *Lateral and longitudinal head wave analysis in soft media. J. Acoust. Soc. Am* 117 (6): 3424-3431, 2005.

- Bia D, Armentano R. L, Zócalo Y., Barmak W., Migliaro E. y Cabrera Fischer E.I., “In vitro model to study arterial wall dynamics through pressure-diameter relationship analysis”, en *Latin. Amer. Appl. Res.*(2005), 35:217-224
- Bia D, Cabrera-Fischer E.I, Zócalo Y, Galli C, Graf S, Valtuille R, Pérez H, Saldías M, Álvarez I, Armentano R.L. Vascular accesses for haemodialysis in the arm cause greater reduction in the carotid-brachial stiffness than those in the forearm: study of gender differences. *Congreso Artery 11, Paris Francia Octubre 2011*. P6.20 Pág. 97.
- Bia D, Cabrera-Fischer EIC, Zócalo Y, Galli C, Graf S, Valtuille R, Pérez H, Saldías M, Álvarez I, Armentano RL. Vascular accesses for haemodialysis in the arm cause greater reduction in the carotid-brachial stiffness than those in the forearm: study of gender differences. *Heart and Vessels*. Aceptado para publicar, 2012.
- Bia D, et al. Functional properties of fresh and cryopreserved carotid and femoral arteries, and of venous and synthetic grafts: comparison with arteries from normotensives and hypertensive patients. *Cell Tissue Bank*. 2008b.
- Bia D, et al. Increased reversal and oscillatory shear stress cause smooth muscle contraction-dependent changes in sheep aortic dynamics: role in aortic balloon pump circulatory support. *Acta Physiol (Oxf)*. 192(4):487-503, 2008a.
- Bia D., Zócalo Y., Pessana F., Armentano R.L., Pérez H., Cabrera Fischer E. I., M. Saldías, y Álvarez I., “Acoplamiento viscoelástico y funcional entre arterias femorales nativas y homoinjertos arteriales y venosos, frescos y criopreservados”, *RevEspCardiol*(2006), 59(7): 679-687.
- Brown D. J., “Input impedance and reflection coefficient in fractal-like models of asymmetrically branching compliant tubes”, *IEEE Trans Biomed Eng*(1996), 43(7), 715-722.
- Brum J., Gennisson J.-L., Nguyen T.-M., Benech N., Fink M., Tanter M., Negreira C.. Application of 1D Transient Elastography for the shear modulus assessment of thin layered soft tissue: comparison with Supersonic Shear Imaging technique, *IEEE Trans. Ultras. Ferroelec. Freq. Control*, en prensa, 2012.
- Cabrera Fischer E, Armentano R, Pessana F, Graf S, Romero L, Christen A, Simon A, Levenson J. Endothelium-dependent arterial wall elasticity modulated by blood viscosity. *American Journal of Physiology – Heart Circulation Physiology* 2002; 282: H389-H394.
- Cabrera Fischer EI, Armentano RL, Levenson J, Barra JG, Morales MC, Breitbart GJ, Pichel RH, Simon AC. Paradoxically decreased aortic wall stiffness in response to vitamin D3-induced calcinosis: a biphasic analysis of segmental elastic properties in conscious dogs. *Circ Res* 1991; 68: 1549-1559.
- Cohn JN. Blood pressure and cardiac performance. *Am J Med* 55: 351-361; 1973.
- Craiem D., Grignola J., C. Molas, y Armentano R. L., “A Transfer Function to Evaluate the Ventricular-Arterial Interaction”, *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering* (2003).
- Cymberek L. J., Bia D., Zocalo Y., Farro I., Torrado J., Farro F., Pessana F., y Armentano R. L., “Gender-related differences in the excess pressure component of central aortic pressure waveform of healthy young”, *ConfProc IEEE Eng Med BiolSoc*(2011), 2011:207-210.
- DabaghMahsa, JalaliPayman, KontinenYrjö T., The study of wall deformation and flow distribution with transmural pressure by three-dimensional model of thoracic aorta wall, *Medical Engineering & Physics* 2009; 31:816-824.
- deKorte CL, et al. Intravascular ultrasound elastography of human arteries: initial experience in vitro. *Ultrasound in Med. Biol.* 24: 401-408, 1998.
- Elzinga G., Westerhoff N. Matching between ventricle and arterial load. *Circ Res* 68: 1495-1500; 1991.
- Fitchett DH. LV-arterial coupling: interactive model to predict effect of wave reflections on LV energetics. *Am J Physiol* 261: H1026-H1033; 1991.
- Galli CN, Fischer EIC, Graf DS, Valtuille R. Estudios no invasivos del acceso vascular. En: *El acceso vascular parahemodiálisis: Fundamentos biomecánicos para su estudio*

en la Clínica Médica. Capítulo 10; Pág. 191-219; Editorial AICAVA. ISBN 978-987-27347-0-1. Año 2011 (248 Pág.).

- Gamero L, Levenson J, Armentano R, Graf S, Brandani L, Baglivo H, Sánchez R. Carotid wall inertial index increases is related to intima-media thickening in hypertensive patients. *Journal of Hypertension*, 1999, 17: 1825-1829.
- Gamero L.G., Armentano R.L., Barra J.G., Simon A. y Levenson J., "Identification of arterial wall dynamics in conscious dogs", en *Experimental Physiology* (2001), 86:519-528.
- Gamero LH, Armentano RL, Barra JG, Simon A, Levenson J. Identification of arterial wall dynamics in conscious dogs. *ExpPhysiol* 86(4):519-28; 2001.
- Goldberger A. L., "Fractal dynamics in physiology: Alterations with disease and aging", en *Proceedings of the National Academy of Sciences* (2002), 99: 2466-2472.
- Graf S, EIC Fischer. Evaluación del estado de las arterias. Pacientes hemodializados. Índice de rigidez arterial. En: *El acceso vascular para hemodiálisis: Fundamentos biomecánicos para su estudio en la Clínica Médica. Capítulo 11; Pág. 203-220; Editorial AICAVA. ISBN 978-987-27347-0-1. Año 2011 (248 Pág.).*
- Graf S, Garipey Jerome, Massoneau M, Armentano RL, Masour S, Barra JG, Simon A, Levenson J. Experimental and Clinical Validation Of Arterial Diameter Waveform and Intimal Media Thickness Obtained from B-Mode Ultrasound Images Processing. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 25 (9): 1353-1363. 1999.
- Henry B., Lovell N. y Camacho F., "Nonlinear dynamics time series analysis", en *Nonlinear Biomedical Signal Processing, Dynamic Analysis and Modeling*, ed. Akay M., (IEEE Press Series on Biomedical Engineering). Wiley-IEEE Press, (2000).
- Holzapfel, G. y Ogden, RW. Constitutive modelling of arteries *Proceedings of the Royal Society of London - A Mathematical and Physical Sciences* vol 466, pp. 1551-1596. [Online] DOI: 10.1098/rspa.2010.0058; 2010.
- Kaplan D. T., Furman M. I., Pincus S. M., Ryan S. M., Lipsitz L. A. y Goldberger A. L., "Aging and the complexity of cardiovascular dynamics", en *Biophys J* (1991), 59: 945-949.
- Laurent S., Cockcroft J., Van Bortel L., Boutouyrie P., Giannattasio C., Hayoz D., Panner B., Vlachopoulos V., Wilkinson I. y Struijker-Boudier H., "Expert consensus on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications", en *Eur. Heart. J* (2006), 27:2588-2605.
- Levenson J, Pessana F, Garipey J, Armentano R, Simon A. "Gender differences in wall shear-mediated brachial artery vasoconstriction and vasodilatation". *J Am CollCardiol* 38: 1668-1674; 2001..
- Milnor W. R., *Hemodynamics*, 2o ed. Williams & Wilkins, (1989).
- Mishra A. K. y Raghav S., "Local fractal dimension based ECG arrhythmia classification", en *Biomedical Signal Processing and Control* (2010), 5(2): 114-123.
- Mohiuddin M. W., Laine G. A., y Quick C. M., "Increase in pulse wavelength causes the systemic arterial tree to degenerate into a classical windkessel", en *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*(2007), 293(2): H1164 -H1171.
- Murray, C. D., "The physiological principle of minimum work applied to the angle of branching of arteries", *J. Gen. Physiol*(1926), 9:835-841.
- Nichols WW, O'Rourke M., editors. *Mc Donald's Blood Flow in Arteries: Theoretical, Experimental and Clinical Principles*, 4th edn. Edward Arnold Publishers, London, UK, 2005; 49-65, 67-93.
- Pessana FM "Influencia del Cizallamiento Sanguíneo sobre la vasomotricidad de las Arterias Periféricas en Humanos". Tesis de Maestría. Magister en Ingeniería Biomédica. Facultad de Ingeniería y Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Favaloro; 2003.
- Pollanen, M.S., "Dimensional optimization at different levels of the arterial hierarchy", *J. Theor. Biol.*(1992), 159:267-270.

- Schuster H. G., *Deterministic Chaos: An Introduction*, 3.^a ed. Wiley-VCH, (1995).
- Shajii J, Ng, KY, Schmidt, MA, *A microfabricated floating element shear stress sensor using wafer bonding technology. J. of Microelectromechanicals systems*, 1992, 89-94
- Sharma V., “*Deterministic Chaos and Fractal Complexity in the Dynamics of Cardiovascular Behavior: Perspectives on a New Frontier*”, *Open Cardiovasc Med J.*(2009), 3: 110-123.
- Simon A, Levenson J. *Overview on atherosclerotic systolic hypertension. Int J Cardiol* 1987; 16: 1-18.
- Stergiopoulos N., Porret, S. De Brouwer C. A. y Meister J. J., “*Arterial vasomotion: effect of flow and evidence of nonlinear dynamics Am. J. Physiol.* (1998),274: 1858–1864.
- Tavassoli E., “*Classification of cardiac arrhythmia with respect to ECG and HRV signal by genetic programming*”, en *Canadian Journal on Artificial Intelligence, Machine Learning and Pattern Recognition* (2012), 3(1): 1–13.
- Taylor M. G., “*The input impedance of an assembly randomly branching elastic tubes*”, en *Biophys. J.*(1966); 6(1): 29-51.
- Van den Wijngaard J., Siebes M., Westerhof B. E. “*Comparison of arterial waves derived by classical wave separation and wave intensity analysis in a model of aortic coarctation*”, en *Med BiolEngComput*(2009), 47:211–220.
- Voss A., Schulz S., Schroeder R., Baumert M., and Caminal P., “*Methods derived from nonlinear dynamics for analysing heart rate variability*”, en *Philos Transact A Math Phys Eng Sci.* (2009), 367(1887): 277–296.
- Westerhof N., Stergiopoulos N., y Noble M. I. M., *Snapshots of Hemodynamics: An Aid for Clinical Research and Graduate Education*, 2nd ed., Springer, (2010).
- Westerhof, N, Lankhaar J-W., y Westerhof B. E. “*The arterial Windkessel*”, en
- Zamir M., “*Arterial Branching within the Confines of Fractal L-System Formalism*”, en *The Journal of General Physiology* (2001),118(3): 267-276
- Zamir M., “*On Fractal Properties of Arterial Trees*”, en *J. Theor. Biol.*(1999), 197: 517-526.
- Zamir M., *The Physics of Coronary Blood Flow*, 1^{ra} ed. Springer, (2010).
- Zócalo Y, et al. *Regional differences in vein wall dynamics under arterial hemodynamic conditions: comparison with arteries. Artif Organs.* 30(4): 265-75, 2006.